

Influence de la composition spécifique de couverts végétaux sur les paramètres physiques, chimiques et biologiques du système sol-plante : Étude des racines

Présenté par Diane Heymans

Promoteur(s) : Prof. Pierre Bertin (UCL/ELI/ELIA)
Prof. Xavier Draye (UCL/ELI/ELIA)

Lecteurs : Ir. Frédéric Muratori (Régénacterre)
Dr. Dominique Mingeot (CRAW)

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Pierre Bertin, mon promoteur, d'avoir permis ce mémoire au sein du laboratoire ECAV. Je remercie également Xavier Draye, mon co-promoteur, pour ses conseils sur mes résultats. Ils m'ont aidé à améliorer mon travail et m'ont guidé dans mes choix tout au long de l'année.

Je remercie de tout cœur Dominique Mingéot et son équipe du laboratoire de biologie moléculaire du CRAW, Département Sciences du Vivant, Unité de Génie biologique (Laurence, Agnès et les autres) pour leur accueil. Leurs idées et conseils pour l'analyse ADN des racines m'ont beaucoup aidé dans l'avancement de ce mémoire.

Je remercie les membres du laboratoire ECAV ; Thomas Dagbert et Pierre Van Thor pour leur aide lors des prélèvements de carottes en champ ; les doctorants et autres petites mains pour leur soutien lors du lavage manuel des racines. Merci également à Guillaume Lobet pour ses explications concernant le logiciel *R*.

Je remercie les autres mémorants travaillant sur ce projet de couverts végétaux, Adeline Lefèvre, Isaure Lohest et Denis Allard. Je suis heureuse du travail que l'on a réalisé ensemble et je vous remercie pour les moments de mesures sur le champ ou en laboratoire. Merci aussi à Benoît Destrée pour ses covoiturages jusqu'à Gembloux et sa bonne humeur en laboratoire.

Je voudrais également remercier Frédéric Muratori pour la mise en place de ce projet. Je le remercie pour le temps qu'il consacrera à la lecture de ce travail.

Je remercie mes parents, Bénédicte et Marc, pour leurs relectures et leurs précieux conseils. Je remercie également Louise, Adrien ainsi que mes amis pour leur soutien moral.

Enfin, merci Guillian pour ton support lors la rédaction de nos mémoires respectifs.

Table des matières

Liste des abréviations	7
Liste des figures	8
Liste des tableaux	11
Introduction	13
1. État de l'Art.....	14
1.1. Objectifs des couverts végétaux	14
1.1.1. Gestion des minéraux par les couverts végétaux.....	14
1.1.2. Réduction de l'érosion	15
1.1.3. Influence sur la matière organique	17
1.1.4. Une vie au sein des couverts végétaux.....	18
1.1.5. Suppression d'adventices	19
1.1.6. La multifonctionnalité des mélanges de couverts	20
1.1.7. Influence dans un système cultural simplifié	20
1.1.8. Législation en vigueur	21
1.2. Interaction entre les racines et les organismes du sol	21
1.2.1. Rhizodéposition.....	22
1.2.2. Entraide dans le sous-sol	23
1.3. Influence des racines sur propriété physico-chimique du sol.....	25
1.3.1. Actions sur la structure physique du sol.....	25
1.3.2. Actions sur l'eau dans le sol.....	26
1.3.3. Gestion de la disponibilité des nutriments dans le sol	27
1.3.4. Études sur les racines des couverts végétaux	27
1.4. Méthodes d'identification des racines sur base de l'ADN	28
1.5. Inventaire des espèces utilisées	30
1.5.1. Graminées.....	30
1.5.2. Brassicacées/crucifères.....	31
1.5.3. Légumineuses.....	31
1.5.4. Autres familles	32
1.5.5. Tableau récapitulatif.....	34

2. Objectifs du mémoire.....	35
3. Matériels et méthodes	36
3.1. Contexte de l'étude.....	36
3.2. Parcelle expérimentale.....	37
3.3. Mesures communes	40
3.3.1. Couverture du sol	40
3.3.2. Identification et comptage des espèces	40
3.3.3. Green Area Index (GAI)	40
3.3.4. Biomasse aérienne.....	41
3.4. Analyses de densités racinaires	41
3.4.1. Carottage	42
3.4.2. Méthode de « <i>core-break</i> » : mesure de densité d'impacts de racines.....	43
3.4.3. Biomasse racinaire	45
3.5. Analyses ADN.....	46
3.5.1. Mise au point de la méthode	46
3.5.2. Analyses d'échantillons de décembre	47
3.6. Analyse des données.....	51
3.6.1. Correction des données	51
3.6.2. Analyses statistiques	51
4. Résultats.....	54
4.1. Mesures communes	54
4.1.1. Couverture du sol	54
4.1.2. Comptage d'espèces.....	55
4.1.3. Green Area Index	57
4.1.4. Biomasse aérienne.....	58
4.2. Mesures de densité d'impacts racinaires	60
4.2.1. Dates de prélèvement	60
4.2.2. Profondeur.....	61
4.2.3. Traitements.....	62
4.3. Trou de vers de terre	64
4.4. Biomasse racinaire.....	64

4.5.	Biomasse totale	66
4.6.	Analyse ADN des racines	67
4.6.1.	Mise au point	67
4.6.2.	Analyse des échantillons prélevés en champ en décembre	69
5.	Discussion	74
5.1.	Contexte et méthodologie d'étude	74
5.2.	Mesures communes	74
5.2.1.	Couverture du sol	74
5.2.2.	Biomasse aérienne	76
5.3.	Densité de racines dans le sol	77
5.3.1.	Densité surfacique de racines	78
5.3.2.	Critique de la méthodologie d'étude	80
5.4.	Racines des espèces au sein des mélanges	81
5.4.1.	Analyse des résultats issus de l'analyse ADN des racines	81
5.4.2.	Analyse de la méthode	83
5.5.	Bilan des différentes variables étudiées	84
	Conclusion et perspectives	86
6.	Bibliographie	88
7.	Annexes	97
7.1.	Vue aérienne de la parcelle	97
7.2.	Protocoles pour l'analyse ADN des racines	98
7.2.1.	Extraction de l'ADN des échantillons	98
7.2.2.	Utilisation de l'appareil LI-COR (Westburg) DNA 4300	99
7.3.	Graphes des densités d'impacts de racines en fonction des dates de prélèvement ..	101
7.4.	Tableaux des estimations des paramètres du modèle de couverture du sol pour les D1 et D2	102
7.5.	Gel de mise au point : mélanges artificiels	103
7.6.	Gels provenant des échantillons de décembre	104

Liste des abréviations

INRA	Institut National de Recherche Agronomique
CIVE	Culture Intermédiaire à Vocation Énergétique
CIPAN	Culture Intermédiaire Piège à Nitrate
Rapport C/N	Rapport carbone (C) sur azote (N)
MO	Matière Organique
PGDA	Programme de Gestion Durable de l'Azote
SPW	Services Public de Wallonie
SIE	Surface d'Intérêt Écologique
CRAW	Centre de Recherche Agronomique Wallon
RLD	<i>Root Length Density</i> : Densité de longueur racinaire
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> : Réaction en chaîne par polymérase
ADN	Acide désoxyribonucléique
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i> : séquençage de nouvelle génération
FAFLP	<i>Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphisms</i>
FFLP	<i>Fluorescent Fragment Length Polymorphisms</i>
D1 et D2	Densité de semis 1 et Densité de semis 2
T de MS/ha	Tonnes de matières sèches par hectare
GAI	Green Area Index
DO	Densité Optique
ANOVA	Analyse of variance
V(i)	Taux d'expansion au point d'inflexion
t0(i)	Nombre de jours après le semis
μ	Moyenne
σ	Écart-type
Bp	<i>Base pairs</i> : Paires de base

Liste des figures

Figure 1 : Schéma des différentes formes d'azote et leurs teneurs (%) dans les sols, réalisé sur base des livres de Juste (2017) et Thomas et al. (2013).	15
Figure 2 : Micro- et macroagrégat présent dans le sol. (Duchaufour 2018)	17
Figure 3 : Schéma de la distribution des différentes formes de rhizodéposition. Traduction de Waligora (2014) du schéma original présent dans l'article de (Dennis et al. 2010).	22
Figure 4 : Composants et limites de la rhizosphère (image réalisée avec des rayons X) (York et al 2016).	25
Figure 5 : Représentation 3D des systèmes racinaires cultivés dans des colonnes de sol compactés au niveau de la flèche - changement de densité massique du sol de 1,2 g.cm ⁻³ à 1,4 g.cm ⁻³ . (A et B) Radis fourragé après 20 et 58 jours de croissance ; (C et D) Vesce commune après 20 et 58 jours de croissance et (E et F) avoine brésilienne après 20 et 58 jours de croissance. (Burr-Hersey et al. 2017)	26
Figure 6 : Carte du génome chloroplastique avec les marqueurs utilisé dans la méthode FALP. Les zones codantes sont en noire. Les marqueurs décrits sont entourés. (Small et al. 1998).	29
Figure 7 : Radis chinois présent sur notre parcelle.	31
Figure 8 : Carte de visualisation de la localisation de la parcelle expérimentale.	37
Figure 9 : Schéma de la parcelle reprenant les bandes de traitements (T1, T2, T3, T4 et R) intercalés en vert entre les bandes références (R) en blanc. Les traitements sont présents en 2 densités (D1-vert clair et D2-vert foncé). Les positions en x vont de 1 à 19.	39
Figure 10 : Cadre d'observation de la couverture du sol découpé en 100 carrés (50 cm x 50 cm).	40
Figure 11 : Scanneur LI-3100c Area Meter de la société LI-COR utilisé pour mesurer la surface verte.	41
Figure 12 : Schéma des zones de prélèvements racinaires. Les rectangles correspondent aux zones dégagées à l'issue de la mesure du GAI. Les formes de couleurs proches de ces rectangles correspondent aux différentes dates de prélèvements (rond- bleu : octobre, triangle-rouge : novembre et croix-grise : décembre).	42
Figure 13 : Tomas et Pierre pendant l'enfoncement de la carotte dans le sol (A). Extraction de la carotte hors de la terre à gauche (B).	43
Figure 14 : Racines sortant d'un trou de vers de terre.	44
Figure 15 : Schéma de la carotte extraite, son découpage en horizons et les zones d'observation pour les comptages d'impacts.	44
Figure 16 : Table-tamis utilisée lors des lavages des horizons racinaires.	45
Figure 17 : Les douze espèces plantées en pot dans les serres de l'UCL.	46

Figure 18 : Regroupement de deux carottes et de deux profondeurs.	47
Figure 19 : Broyage des racines dans des mortiers à -80 °C.....	48
Figure 20 : évolution de la couverture du sol (%) pour les différents traitements avec une estimation de la dynamique de croissance selon le modèle défini. Les couverts ont été semés le 20 juillet 2017.....	55
Figure 21 : Nombre d'individus présents par espèces par m ² dans les différents traitements pour la D1 et la D2. En moyenne pour les 2 dates d'observations. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.....	57
Figure 22 : Green Area Index en fonction des différents traitements réalisé la semaine du 18 octobre pour la D1.....	57
Figure 23 : Régression linéaire de la biomasse aérienne en fonction du nombre d'espèces dans les mélanges.	59
Figure 24 : Biomasse aérienne (T de MS.ha-1) prélevée le 18 décembre 2017 en fonction des différents traitements pour la D1 et la D2. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.	59
Figure 25 : Evolution de la densité d'impacts racinaires pour les différentes dates de prélèvements et selon les traitements.	61
Figure 26 : Densité d'impacts racinaires moyens (nombre d'impact.m ⁻²) en fonction de la profondeur pour les différents traitements. Issus des prélèvements de décembre 2017.	63
Figure 27 : Moyennes de mesures de biomasse racinaire en fonction des traitements pour les différents horizons. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.	65
Figure 28 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des espèces purs pour le marqueur moléculaire trnL-Intron. Les espèces en rouge sont celles qui présentent des tailles de fragments identiques pour le marqueur trnL-Intron.	68
Figure 29 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement sans couvert (2 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres. .	70
Figure 30 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement moutarde (4 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.	70
Figure 31 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement de référence composé d'avoine brésilienne et de trèfle d'Alexandrie (10 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.	71

Figure 32 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement de 5 espèces composé d'avoine brésilienne, de trèfle d'Alexandrie, de phacélie, de tournesol et de lin (4 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.....	72
Figure 33 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement de 5 espèces composé d'avoine brésilienne, de trèfle d'Alexandrie, de phacélie, de tournesol, de lin, de féverole, de radis chinois, de vesce commune, de sarrasin et de nyger (4 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.	73
Figure 34 : Vue aérienne de la parcelle expérimentale où les blocs de répétitions sont représentés en rouge. Image satellite réalisée le 24/09/2017 (Google Earth).	97
Figure 35 : Densité d'impacts racinaires moyens (nombre d'impacts. $10^3.m^{-2}$) en fonction de la profondeur pour les différents traitements. Observation des trois dates des prélèvements ...	101
Figure 36 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). A : marqueur trn-Intron et B : marqueur trnL-trnF.....	103
Figure 37 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). Première série d'échantillons sur le marquer trnL-intron. Les 1 et 2 représentent les blocs de répétitions.....	104
Figure 38 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). Première série d'échantillons sur le marquer trnL-trnF.....	105
Figure 39 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). Deuxième série d'échantillons sur le marquer trnL-intron.	106
Figure 40 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). Deuxième série d'échantillons sur le marquer trnL-trnF.....	107

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des espèces présentes dans notre essai. Pour chaque espèce présente dans les couverts : Prix (€/ha ⁻¹), densité de semis recommandé, poids de mille grains (PMG), familles végétales, types racinaires, rapport C/N des parties aériennes et racinaires, biomasses aériennes et racinaires (T de MS. ha ⁻¹) et la sensibilité au gel.....	34
Tableau 2 : Dates des mesures réalisées sur quelles zones d'études (2017). Les mesures sur fond bleu sont celles réalisées en commun avec les autres étudiants.	36
Tableau 3 : Ensemble des traitements, leur composition en terme d'espèce, la densité de celles-ci au sein de chaque mélange, le poids de mille grains (PMG) de chaque espèce et le nombre d'individus attendus pour la D1 sur un m ² de sol (nbr.m ⁻²).	39
Tableau 4 : Composition des mélanges PCR pour les deux marqueurs moléculaires étudiés.	48
Tableau 5 : Cycle d'amplification des séquences ADN.....	49
Tableau 6 : Estimations et écarts-types des paramètres du modèle de l'évolution de la couverture du sol des couverts végétaux selon les 2 densités (D1 et D2).....	54
Tableau 7 : Estimation et écarts-types des paramètres du modèle de l'évolution de la couverture du sol ($V_{[i]}$ - taux d'expansion au point d'inflexion et $t0_{[i]}$ – nombre de jours après le semis au point d'inflexion) selon les différents traitements pour la D1. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes. Au plus un R ² est élevé au plus la qualité du modèle est grande.....	55
Tableau 8 : Pourcentages attendus en fonction des proportions de semences, observés en D1 et observés en D2 des différentes espèces présentes dans les couverts en moyenne sur les deux dates d'observations (1/09 et 08/09/2017).	56
Tableau 9 : Moyennes et écarts-types des mesures de GAI pour les différents traitements. ...	58
Tableau 10 : Moyennes et écarts-types des mesures de biomasse aérienne (T de MS. ha ⁻¹) pour les densités de semis D1 et D2. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.	58
Tableau 11 : Moyennes et écarts-types des mesures de biomasse aériennes en fonction du facteur « Traitement » pour la D1. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes. Et teneurs en matière sèche des traitements (%). ..	58
Tableau 12 : Table d'ANOVA 3 des mesures de densité d'impacts racinaires en fonction des traitements, des dates de prélèvement et des profondeurs. Le caractère significatif de la p-valeur se lit comme suit : 0<***<0.001<**<0.01<*<0.05. Au plus un R ² est élevé au plus la qualité du modèle est élevée.	60
Tableau 13 : Moyennes et écarts-types des densités racinaires pour les différentes dates de prélèvement. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.	60

Tableau 14 : Moyennes et écarts-types des densités d'impacts racinaires selon le facteur « Profondeur ». Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.	62
Tableau 15 : Moyennes et écarts-types des densités d'impacts racinaires selon le facteur « Traitement ». Des lettres de groupe identique signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.	62
Tableau 16 : Moyennes et écarts-types des densités d'impacts racinaires (nombre d'impacts. $10^3.m^{-2}$) pour les différents traitements et selon des horizons. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.	63
Tableau 17 : Table d'ANOVA 2 des mesures de biomasse racinaires en fonction des traitements et des profondeurs. Le caractère significatif de la p-valeur se lit comme suit : $0<***<0.001<*<0.01<*<0.05$. Le R^2 du modèle est également renseigné.	64
Tableau 18 : Moyennes et écarts-types des mesures de biomasses racines (g. m^{-2}) en fonction du facteur « Traitement » pour la D1, prélèvements racinaires de décembre. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.....	65
Tableau 19 : Moyennes des biomasses racinaires= Br (matière fraîche $\times 0.2$), des biomasses aériennes= Ba (matière sèche), biomasses totales calculées et rapport Ba/Br	66
Tableau 20 : Moyennes des biomasses racinaires= Br (matière fraîche), des biomasses aériennes= Ba (matière fraîche), biomasses totales (Bt) calculées et rapport Ba/Br	66
Tableau 21 : Tailles des fragments d'ADN (paire de bases bp) des différentes espèces en fonction des trois marqueurs moléculaires étudiés. Les couleurs montrent les espèces ayant des tailles de segments similaires pour un des marqueurs. - = absence d'amplification.....	67
Tableau 22 : Moyennes et écarts-types de densités d'impacts de racines pour les différents couverts en fonction des trois dates de prélèvements. Les lettres de groupes identiques ne sont pas significativement différentes.....	102
Tableau 23 : Estimation des paramètres $V(i)$ et $t0(i)$ pour les différents traitements et pour les 2 densités.	102

Introduction

L'agriculture aujourd'hui fait face à de nombreux challenges pour répondre aux demandes alimentaires des populations de plus en plus nombreuses. Les productions sont soutenues, mais causent des dommages environnementaux ainsi qu'au système agraire (Clark and Tilman 2017). L'agriculture fortement demandeuse en produits issus de l'industrie chimique et de la mécanisation est pointée du doigt à cause de ses dérives polluantes.

Ce mémoire sur l'étude des couverts végétaux et plus particulièrement sur l'étude des racines de mélanges de couverts végétaux entre ainsi dans le contexte d'une volonté de transition vers une agriculture respectueuse de l'agroécosystème et de l'environnement en général. De nouvelles techniques ou des techniques anciennes revisitées telles que l'installation des couverts végétaux s'inscrivent dans cette dynamique.

Les services rendus par les couverts végétaux sont nombreux et seront explicités dans la première partie de ce mémoire qui fait office d'état de l'Art. Les couverts végétaux en couvrant le sol pendant la période d'interculture jouent un rôle de protection contre l'érosion et de recyclage des nutriments dans le sol. Ils fournissent également de la matière pour les organismes du sol et aident à la formation d'un sol stable riche en humus. Les racines renforcent ces rôles et en sont souvent les initiatrices. Des études identifient et classifient les espèces en fonction de leurs capacités et de leurs avantages (Wendling *et al.* 2016). Cependant, peu d'entre elles s'attardent sur les capacités des mélanges à combiner les services offerts par les couverts en étant composés d'une diversité d'espèces.

La seconde partie du mémoire détaillera la méthodologie utilisée lors de cette étude. Des explications sur le contexte du mémoire ainsi que sur la parcelle expérimentale mise en place pour cet essai ouvrent cette partie. Une série de mesures ont été réalisées sur les parties aériennes de couverts végétaux. L'étude des racines en champ constitue encore un challenge à ce jour et les méthodes d'observation réalisées dans le cadre de ce mémoire portent à la fois sur des mesures plus générales sur les densités racinaires des mélanges et sur une observation plus détaillée des espèces présentes dans le profil de sol.

La troisième partie expose les résultats. Les mesures réalisées sur les parties aériennes et sur les racines des couverts végétaux y seront décrites et analysées statistiquement.

Finalement, une analyse de ces résultats formera la quatrième partie de ce mémoire. Cette discussion présentera les réflexions découlant des résultats décrits précédemment.

1. État de l'Art

1.1. Objectifs des couverts végétaux

Selon l'INRA (2012), l'interculture est la période qui se situe entre la récolte d'une culture principale et le semis de la suivante. Pour éviter de laisser le sol nu, une culture intermédiaire est préconisée durant cette période. Les cultures intermédiaires remplissent de nombreux objectifs. Elles peuvent être récoltées avant le semis de la culture suivante ou pas. En cas de récolte et d'utilisation en tant qu'intrant dans une unité de méthanisation agricole, elles sont appelées Culture Intermédiaire à Vocation Énergétique (CIVE) (Ministère de l'agriculture et de l'alimentation 2014). Elles peuvent être utilisées pour du fourrage en tant que culture dérobée (Morand *et al.* 2013).

Les cultures intermédiaires prennent le nom de couverts végétaux lorsqu'elles ne sont pas récoltées. On les nomme souvent selon l'acronyme CIPAN pour Culture Intermédiaire Piège à Nitrate, rôle joué avant destruction du couvert. Ce rôle a retrouvé son intérêt depuis que les préoccupations environnementales veulent éviter la lixiviation des nitrates (Destain *et al.* 2009). Elles sont également appelées engrais vert lorsqu'il y a un intérêt en terme de fertilisation et de production d'humus après la destruction du couvert (Pousset 2002). Les couverts végétaux possèdent de nombreuses autres fonctions telles que la suppression des adventices ou la réduction de l'érosion en évitant la création de la croûte de battance (INRA 2012). Ces fonctions sont généralement liées au type de couverts utilisés. Dans le cadre de ce mémoire, l'importance des racines dans ces fonctions sera mise en avant.

Une distinction entre les couverts végétaux en monoculture et les mélanges de couverts végétaux est nécessaire lorsque l'on s'intéresse à leur fonction.

1.1.1. Gestion des minéraux par les couverts végétaux

Après la récolte de la culture principale, lorsqu'un sol est laissé nu, les reliquats d'azote présents dans la matière organique sont libérés par l'activité biologique et risquent d'être lixiviés par les pluies d'automne (De Toffoli *et al.* 2010).

Azote

Historiquement d'abord utilisés pour améliorer la disponibilité en azote et en humus pour les cultures suivantes en cas de présence de légumineuses, les couverts végétaux vont ensuite évoluer vers des pièges à nitrate lorsque les rejets d'azote agricole deviennent problématiques d'un point de vue environnemental (Destain *et al.* 2009). Actuellement, les couverts végétaux reprennent un rôle de fertilisation azotée naturelle par l'ajout de légumineuses dans les couverts en plus du captage des nitrates par les plantes.

L'azote est présent dans les sols sous différentes formes, la majeure partie est stockée dans l'humus et inaccessible pour les plantes (Figure 1). La minéralisation de l'azote doit se faire au

bon moment pour qu'il soit disponible pour la culture suivante sans qu'il y ait trop de lixiviation (Baggs *et al.* 2000; Justes 2017).

Les espèces légumineuses peuvent fixer l'azote atmosphérique. Leurs nodules, présents sur les racines, permettent un apport d'azote au système sol-plante. Lorsqu'un sol est riche en azote, les capacités de fixation des légumineuses sont réduites (Thomas *et al.* 2013). Les légumineuses piègent également l'azote soluble du sol, mais en moindre quantité que les espèces non légumineuses qui absorbent les nitrates par leurs racines. Le rapport C/N des légumineuses étant faible, elles rejettent progressivement cet azote à la culture suivante lors de la minéralisation des résidus du couvert (Vandenberghe *et al.* 2010; Justes 2017).

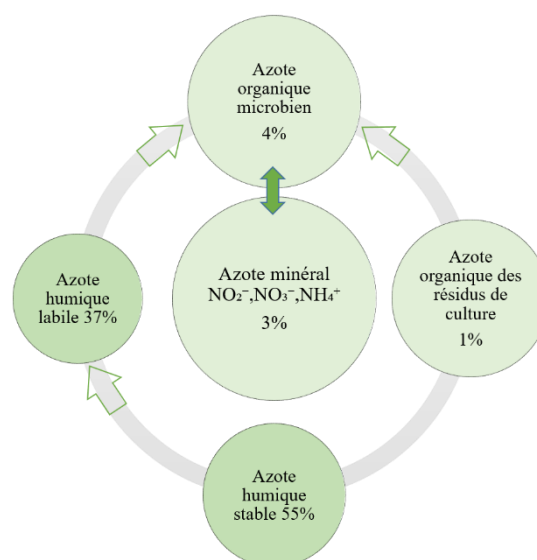


Figure 1 : Schéma des différentes formes d'azote et leurs teneurs (%) dans les sols, réalisé sur base des livres de Juste (2017) et Thomas *et al.* (2013).

Le captage doit également se faire avant que les nitrates ne soient lessivés. Les couverts végétaux s'implantant rapidement avant le début des périodes de drainage en automne seront d'autant plus efficaces (Destain *et al.* 2009).

Un mélange combinant des espèces non légumineuses qui diminuent plus efficacement la lixiviation des nitrates et des légumineuses qui jouent le rôle de fertilisants naturels semble être une combinaison avantageuse. Ce mélange sera développé dans la section 2.1.5.

Phosphore

Contrairement aux nitrates, le phosphore est un élément peu mobile qui ne va pas être lessivé durant l'hiver. Cependant, sa disponibilité pour les plantes est faible les contraignant dans leur croissance. La présence de couverts végétaux et de *mulch* en sortie d'hiver aidera à son assimilation lors de la culture suivante (Kamh *et al.* 1999). Selon la Chambre d'agriculture Isère (2016), un couvert produisant 2 T de MS.ha⁻¹ apporte en moyenne 10 unités de phosphore et 60 unités d'azote. Les exsudats racinaires aident à la mobilisation du phosphate. Cette partie est développée dans la section 1.3.3.

Les couverts végétaux ont donc un rôle en termes de gestion des minéraux. La question qui se pose est donc de savoir comment les différents couverts monospécifiques et les différents mélanges de couverts vont pouvoir jouer ce rôle.

1.1.2. Réduction de l'érosion

La deuxième grande fonction des couverts végétaux est celle de protection des sols contre les processus d'érosion. L'érosion est un processus d'altération de la surface du sol et de modification du relief, impliquant un détachement des particules du sol et leurs transports sous

l'action de l'eau, du vent, du travail du sol, de la récolte (Biielders 2018). La perte en terre des sols agricoles est un enjeu majeur pour le monde agricole sachant que les sols sont perdus entre 13 et 40 fois plus vite que leur taux de renouvellement (Zuazo and Pleguezuelo 2008). Les couverts végétaux permettent de limiter l'érosion en diminuant les écoulements latéraux de l'eau tout en favorisant l'infiltration. Ils forment un frein au ruissellement et ils participent à la formation de nouveaux sols. La couverture créée va agir comme une barrière vis-à-vis des gouttes en diminuant l'énergie cinétique de celles-ci. Elle évite l'effet « *splash* » ou battance qui disperse les particules de sol lors de l'arrivée des gouttes d'eau sur le sol (Biielders 2018). La présence des résidus en sortie d'hiver protégera aussi la surface du sol. Sur le long terme, la végétation influence la stabilité structurale et la cohésion du sol grâce à la formation d'agrégats (Dabney *et al.* 2001). La majeure partie de l'érosion se produit sur quelques jours par an lors d'évènements extrêmes. Or ceux-ci sont en augmentation à cause des changements climatiques (Cerdan *et al.* 2002). Il est donc important de comprendre et mettre en place des mécanismes préventifs par rapport à ces évènements.

Le processus d'érosion passe par deux phases. Dans un premier temps, des pertes en carbone modifient l'équilibre environnemental des sols agricoles et diminuent leur stabilité, sans pour autant être visibles. Ensuite, le sol est plus sensible et commence à perdre physiquement des particules telles que la matière organique (Shaxson 2009). L'érosion des sols influence leur productivité notamment à travers une modification de leur structure et diminue leur capacité de stockage d'eau. Comme la productivité est liée une structure favorisant la rétention d'eau et des minéraux, lorsque cette structure est détériorée, la productivité diminue (Hartwig and Ammon 2002). De plus, les pertes en terre agissent sur la composition minérale du sol. En effet, ce sont les particules les plus fines et les moins stables qui sont évacuées. Un sol moins riche en nutriments est un sol qui produit moins. Les pertes économiques de l'érosion peuvent également venir d'une destruction de la culture en place par des écoulements préférentiels ayant lieu après de grosses pluies (Boardman *et al.* 2003).

L'influence des racines dans les processus d'érosion est souvent mise de côté. de Baets *et al.* (2007) montrent que le potentiel de réduction de l'érosion des racines dépend de leur architecture. Ces chercheurs ont observé des variations de taux de détachement du sol qui s'expliquent notamment par des variations de densité racinaire. En effet, lorsque les densités racinaires augmentent de 0 à 2 kg.m⁻³ dans des sols limoneux, le taux de détachement du sol diminue de 1 à 0.001 pour des racines fasciculées et de 1 à 0.03 pour des pivots (de Baets *et al.* 2007). Ils montrent que les racines fasciculées auront plus d'influence pour diminuer l'érosion issue de flux préférentiel (de Baets *et al.* 2011).

Cependant, il serait intéressant de savoir si des mélanges de couverts végétaux composés de racines pivotantes et fasciculées développent une densité racinaire limitant plus le phénomène d'érosion.

1.1.3. Influence sur la matière organique

Sous le terme matière organique (MO) se cachent de nombreux concepts qu'il est nécessaire de comprendre avant de s'intéresser aux influences des couverts végétaux sur cette MO. Dans un premier temps, la MO fraîche provenant de sources diverses subit des transformations. La MO labile est décomposée par des microorganismes qui cassent les chaînes carbonées les moins stables lors de leur respiration. Une première vague de nutriments est ainsi libérée par minéralisation (Tisdall and Oades 1982). Par ailleurs, une humification produit des composés organiques plus stables qui se minéraliseront progressivement dans le temps (Magdoff 2004). Ces composés humiques peuvent se lier avec les argiles présents dans les sols pour former deux types d'agrégats, les microagrégats et les macroagrégats (Figure 2). Au plus l'humus est stable, au plus la quantité de carbone dans les agrégats est élevée (Tobiašová *et al.* 2017).

Cette structure en agrégat va permettre une aération des sols et augmenter la capacité de rétention de l'eau notamment pour les sols sableux. Pour des sols dont la granulométrie est déséquilibrée (argileux ou limoneux), une MO de qualité améliore la perméabilité. De manière générale, la MO retiendra les engrais et stimule l'absorption racinaire du phosphore et de l'azote (Duchaufour 2018).

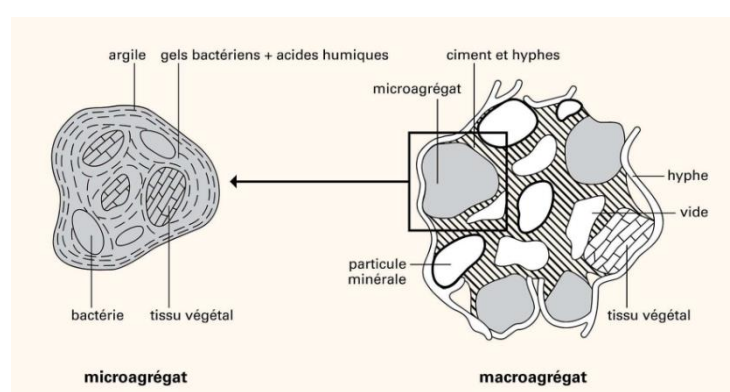


Figure 2 : Micro- et macro-agrégat présent dans le sol. (Duchaufour 2018)

Les couverts végétaux ont une influence sur la quantité et la qualité de la MO présente dans les sols notamment par l'incorporation des résidus (Ding *et al.* 2006). Au plus la quantité de MO dans un sol est élevée, au plus le pourcentage d'agrégats stables le sera aussi (Magdoff 2004). En évitant qu'une grande partie de cette MO ne retourne dans l'atmosphère au moyen de la respiration microbienne du sol, les couverts végétaux peuvent contribuer au stockage de C dans les sols.

Biomasse aérienne et racinaire

La qualité des apports de MO est un facteur non négligeable. La présence de couverts végétaux ajoute de la biomasse racinaire dans le sol et de la biomasse issue des parties aériennes en surface. Cette biomasse va se dégrader après destruction des couverts et fournir au sol de quoi former des agrégats stables (McDaniel *et al.* 2014). Puget et Drinkwater (2001) ont étudié le destin du C incorporé dans un sol venant soit de racines soit des parties aériennes de vesce velue. Ils ont découvert que seulement 13 % du C venant des parties aériennes restaient dans le sol alors que 50 % de celui venant des racines étaient encore présents à la fin de la saison de culture suivant la destruction des couverts. Ils en déduisent que la matière issue des racines serait plus récalcitrante à se dégrader. Le continuum entre les apports de C issus des exsudats

racinaires et le C des racines aiderait à la rétention de la MO. Une autre étude montre que le C incorporé plus profondément dans les sols (entre 20 et 70 cm) est moins rapidement dégradé que celui déposé à la surface et le C issu des rotations de légumineuses présente une résistance biologique (plus de C aromatique)(Gregorich *et al.* 2001).

La quantité de biomasses produite par les racines des couverts végétaux a été mesurée par Frasier *et al.* (2016) à des profondeurs de 0 à 6 cm et de 6 à 12 cm sur une période de 3 ans. Ils observent une forte relation entre la biomasse racinaire et celle des microorganismes. Une autre étude a comparé les biomasses racinaires de couverts légumineux, non légumineux et un mélange des deux (Sainju *et al.* 2005). Le mélange présente la plus grande biomasse racinaire et les plus grands contenus en C et en N.

Des mesures sur les quantités de biomasses produites par des mélanges plus complexes et sur les apports de cette biomasse sur le sol aideraient à avoir une connaissance plus complète sur les couverts végétaux.

Le rapport C/N

Le rapport C/N d'un sol sain est d'environ 10. Pour la plupart des espèces présentes dans les couverts végétaux, le rapport C/N va augmenter avec la maturité des tissus (Wivstad 1999). Le couvert doit être détruit plus jeune pour avoir une disponibilité en N plus élevée (Coppens *et al.* 2007). Cependant, augmenter la disponibilité en N n'augmente pas directement le pool de MO. Cela favoriserait tout de même l'activité microbienne (Justes 2017). En détruisant plus tardivement les couverts, la quantité de C fournie au sol sera plus élevée, mais la disponibilité en nutriments sera plus faible. À quantité égale de matière sèche apportée sur le champ, les couverts végétaux vont augmenter la quantité de MO dans le sol de manière beaucoup moins significative que des fertilisants comme du fumier ou de la tourbe (Gerzabek *et al.* 2001). Les pailles (C/N de 100) ont besoin d'azote pour fournir le sol en MO (Justes 2017). La présence de légumineuses dans les couverts est un atout pour éviter cette soif d'azote lors de la dégradation du couvert. Finney *et al.* (2016) montrent que l'apport en azote pour la culture suivante est plus souvent corrélé avec le rapport C/N qu'avec la biomasse.

Séquestration du carbone

Aujourd'hui, des études montrent que la séquestration moyenne est de 300 kg de C/ha avec une grande variabilité (entre 150 et 450 kg de C/ha) qui dépend fortement de la quantité de biomasses totale produite qui est incorporée dans le sol (Poeplau and Don 2015; Justes 2017)

1.1.4. Une vie au sein des couverts végétaux

La présence de couverts végétaux durant l'hiver permet un apport de nourriture à toute la faune et microorganismes du sol toute l'année (McDaniel *et al.* 2014). Les 250 millions d'individus présents par m² jouent une multitude de rôles nécessaires à la bonne dynamique des sols notamment au niveau du cycle du carbone (Shaxson 2009). Ceux-ci sont généralement classés par taille :

- La **macrofaune** : (> 2 mm) constituée de vers de terre, araignée, larves d'insectes...
- La **mésafaune** : (entre 0,1 mm et 2 mm) constituée de mites, collemboles...
- La **microflore** et la **microfaune** : (< 0,1 mm) constituées respectivement
 - des bactéries, champignons, actinomycètes
 - des protozoaires et des nématodes

Les fonctions bénéfiques pour la culture suivante de ces organismes dans le sol sont décrites dans la section 1.2.2. sur l'entraide dans le sous-sol. Cependant, en offrant un toit à certains organismes bénéfiques, les couverts végétaux risquent d'être les hôtes d'organismes parasites ou ravageurs (Grünwald *et al.* 2000). Ce sont souvent les premiers à s'installer. Il est possible de limiter leur présence. Par exemple, pour éviter la présence de limaces, le choix d'un couvert qui s'installe rapidement permet de prendre de la vitesse par rapport à leur attaque (Thomas *et al.* 2013). Les prédateurs des organismes néfastes arriveront par la suite en cas de lutte raisonnée tel que les carabidés en tant que prédateurs naturels peuvent diminuer les attaques. Cela implique de laisser le temps à la nature d'atteindre un équilibre biologique (Pullaro *et al.* 2006). Une étude sur les couverts favorisant ces prédateurs serait utile.

Les maladies fongiques peuvent être transmises ou amplifiées par les couverts végétaux. La rouille risque d'être transmise par l'avoine. En cas d'utilisation d'avoine rude résistante, ce problème est résolu. Le *sclerotinia* est une maladie transmise par de nombreuses familles (crucifère, légumineuses...) qui peut être évitée lorsque le couvert est stoppé par le gel. En cas de culture suivante hôte, il est prudent d'éviter les couverts qui sont sensibles au *sclerotinia* (Woodward *et al.* 2006). Pour finir, plus l'activité biologique est développée, au plus les maladies fongiques peuvent être en concurrence avec les champignons sains du sol (de type décomposeur ou mycorhiziens) (Archambeaud 2016).

Les couverts végétaux en tant que fournisseur de pollens et d'abris pour les organismes favorisent la biodiversité.

1.1.5. Suppression d'adventices

Un autre avantage des couverts végétaux est leur capacité à limiter le développement d'adventices en couvrant le sol plus rapidement. Les couverts vont s'installer dans des niches écologiques qui ne seront plus disponibles pour les adventices à travers une utilisation des ressources et de l'espace (Lemessa and Wakjira 2014). Cela permet également à une diminution de la banque de graines d'adventice en cas de germination (Conklin *et al.* 2002). La destruction de couverts et l'incorporation de leurs résidus peuvent inhiber ou retarder la germination des adventices lors de la mise en place de la culture suivante (Kruidhof *et al.* 2009).

Une connaissance des couverts/mélanges de couverts qui couvrent rapidement le sol permettrait d'éviter le développement des adventices et ainsi l'usage de produits phytosanitaires.

1.1.6. La multifonctionnalité des mélanges de couverts

Les mélanges de couverts végétaux permettent d'associer des espèces présentant des avantages multiples pour tendre vers des propriétés optimales. Des traits complémentaires comme la fixation biologique d'azote, la suppression des adventices durant la saison de couverture et la rétention d'azote dans les parties aériennes apportent une multifonctionnalité au couvert. Une particularité des mélanges est leur capacité de production de biomasse aérienne plus élevée (Brooker *et al.* 2015). Finney *et al.* (2016) démontrent d'autre part que les mélanges contenant plus d'espèces différentes produisent autant que les espèces individuelles produisant le plus de biomasses. Et cette production est corrélée positivement à la suppression d'adventices, à la rétention d'azote et à la fixation biologique d'azote (Blesh and Adam 2017). Les mélanges améliorent l'acquisition d'eau et de nutriments grâce à une distribution complémentaire des racines.

Des connaissances supplémentaires sur les mélanges de couverts végétaux et leur multifonctionnalité seraient intéressantes à acquérir. Il serait également utile pour une pratique plus appropriée des couverts de faire le lien entre des densités de racines élevées et des services fournis par les couverts végétaux.

Mélange de légumineux et non légumineux

Selon Justes (2017), la mise en place d'un couvert de familles non légumineuses permet une réduction du lessivage des nitrates entre 30 et 85 % contre de 0 à 40 % pour les légumineuses. L'association entre ces deux familles évite le lessivage entre 20 et 60 %. La disponibilité en azote peut ainsi être contrôlée. L'influence de la date de destruction des couverts par rapport la disponibilité pour les cultures suivantes est un facteur non négligeable. Ce mélange amène à une facilitation pour la culture suivante grâce à la mise à disposition d'azote soluble pour la non-légumineuse qui est dû à la présence de la légumineuse (Sainju *et al.* 2005; Finney *et al.* 2016). La qualité de la matière organique introduite suite destruction du couvert sera élevée grâce à un rapport C/N des résidus optimal.

1.1.7. Influence dans un système cultural simplifié

Dans le système de culture avec un travail du sol réduit, la structure du sol et principalement la macroporosité est préservée. Le travail réalisé par les couverts végétaux sur l'apport de matière organique et sur la structuration du sol sera d'autant plus valorisé (Snapp *et al.* 2005; Frasier *et al.* 2016). Afin de compenser la porosité développée par l'homme dans un système en labour, la mise en place de couverts végétaux va permettre au sol une aération et une porosité favorisant l'infiltration de l'eau. L'hétérogénéité des pores créés par les racines de mélange de couverts permettra une amélioration de la structure du sol (Bodner *et al.* 2013).

Le passage d'un système en labour vers un système cultural simplifié ou d'agriculture de conservation nécessite de préserver tous les avantages du labour dans le nouveau système. Les couverts végétaux forment un outil non négligeable pour obtenir ces avantages. Leur utilisation évite un déstockage et une minéralisation trop rapide de la matière organique (Archambeaud

2015). Les racines travaillent le sol de manière à obtenir une aération et une porosité naturelle. Le labour évite en partie le salissement (développement d'adventices). Les couverts végétaux qui couvrent le sol complètement limitent le salissement de la parcelle. Certaines adventices vont pousser avec le couvert réduisant la réserve de semences dans le sol et seront détruites avec le couvert en cas de destruction mécanique (Friedrich 2005).

1.1.8. Législation en vigueur

En 2007, le programme de gestion durable de l'azote (PGDA) a été mis à jour (SPW 2016b). Depuis lors, en zone vulnérable, une obligation d'avoir un sol couvert (qui peut être les repousses de la culture précédente si elles couvrent 75 % de la parcelle) est de mise lorsque la culture est récoltée avant le 1^{er} septembre et qu'une culture de printemps est implantée après le 1^{er} novembre. Ce couvert doit être implanté avant le 15 septembre et couvrir 90 % de la surface cultivée. Il en est de même pour les cultures de légumineuses récoltées avant le 1^{er} août et qui sont suivantes d'un froment. Dans ce cas, l'implantation doit avoir lieu pour le 1^{er} septembre.

Partout en Wallonie et en Union européenne, une législation de verdissement des campagnes a vu le jour en 2015. Les cultures principales peuvent être détruites seulement après 3 mois d'implantation. Une CIPAN doit être implantée après épandage de la matière organique entre le 1^{er} juillet et le 15 septembre. La destruction peut se faire à partir du 15 novembre et les légumineuses peuvent se retrouver dans les mélanges jusqu'à 50 % du poids des semences (Nitrawal and Agr'eau 2015).

En plus de la législation sur le verdissement, il est interdit en Wallonie d'utiliser du Glyphosate sur un couvert en floraison et sur les couverts de type SIE (Surface d'intérêt écologique)(SPW 2016b).

Nous pouvons ainsi observer une augmentation des réglementations liées aux pratiques agricoles en faveur d'une agriculture plus durable. Cependant, les essais scientifiques sur les couverts végétaux en Belgique sont peu nombreux à part ceux réalisés par l'ASBL Greenotec (Cloet *et al.* 2016) et le CRAW (Jamar 2016). Selon Wauters *et al.* (2010), seulement 50 % des agriculteurs provenant de zones vulnérables au nitrate ou pas qu'ils ont questionnés ont adopté les couverts végétaux. À l'UCL, depuis 2001, des essais sur les couverts végétaux puis sur les mélanges de couverts ont eu lieu dans une optique d'observation des prélèvements d'azote (De Toffoli *et al.* 2010). Une étude complète et scientifique sur les services apportés par les couverts végétaux dans un contexte belge serait un plus pour encourager les agriculteurs à évoluer vers une agriculture plus durable.

1.2. Interaction entre les racines et les organismes du sol

Une étude des racines et de leurs impacts sur le sol et sur les organismes qui y vivent aiderait à mieux comprendre les services qu'offrent les couverts végétaux.

1.2.1. Rhizodéposition

Les racines produisent des substances/molécules de nature organique et les libèrent dans l'environnement racinaire. Ce processus est appelé rhizodéposition (Nguyen 2003). Les substances ou rhizodépôts vont constituer un apport en C et rentrer en contact avec les organismes présents dans les sols. La littérature propose trois grands types de rhizodépôts (Jones *et al.* 2009) (Figure 3) :

- Les cellules du bord des racines qui se détachent forment un premier apport. Leur production serait influencée par la pluie, l'irrigation et la microporosité du sol. Ces cellules réguleraient les populations de microbes et protégeraient le méristème apical. Les détachements peuvent aussi venir de la sénescence de cellules de l'épiderme racinaire.
- Le mucilage est une sorte de gel produit par les cellules racinaires et est composé en grande partie de sucres complexes (polysaccharides) et de quelques protéines (environ 6 %). Ces molécules sont produites au niveau de la coiffe et sont issues d'éléments de la photosynthèse. Le mucilage a un rôle sur la pénétration des racines dans le sol, la structure du sol et sur l'hydratation des racines (Czarnes *et al.* 2000).
- Les exsudats racinaires sont des molécules de faible poids et solubles qui sont diffusées passivement par le cytoplasme en réponse à un stimulus. Ces exsudats peuvent être des sucres, des aminoacides, des acides organiques, phénols et autres composés. Ceux-ci sont rapidement assimilés par les microorganismes du sol.

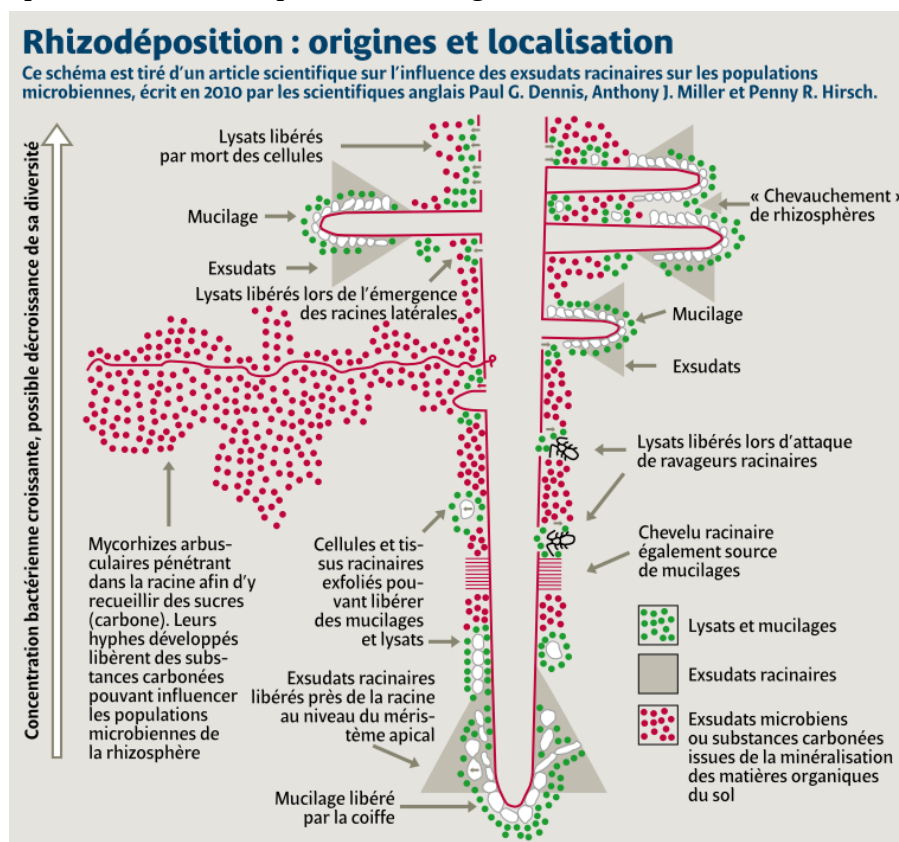


Figure 3 : Schéma de la distribution des différentes formes de rhizodéposition. Traduction de Waligora (2014) du schéma original présent dans l'article de (Dennis *et al.* 2010).

Des études ont montré qu'environ 10 à 20 % des carbones issus de la photosynthèse se retrouvent dans les sols par la rhizodéposition. Une part importante du C est ainsi libérée durant la vie de la plante et ne sert pas à la production de matière sèche, mais à l'augmentation de l'activité biologique du sol (Nguyen 2003).

Cette rhizodéposition remplit donc plusieurs rôles :

- Facilite l'agrégation des particules de sol. Rôles que le mucilage partage avec les mucus de vers de terre et les hyphes mycorhiziens. Les groupes COO^- peuvent se lier aux argiles et ainsi agir sur la structure du sol.
- Alimente le réseau d'organismes présents dans les sols. En effet, les molécules produites sont directement assimilables par une large gamme de bactéries et autres microorganismes du sol.
- Sers de moyen de communication entre la plante et ces mêmes organismes. Les exsudats produits dans des quantités extrêmement faibles peuvent servir de signaux spécifiques de reconnaissance, de protection ou de mise en garde pour certains microorganismes.
- Aide à la mobilisation de certains nutriments (Fe, P) (voir 1.3.3)

La diversité des molécules présentes dans ces rhizodépositions laisse supposer que ces fonctions doivent être étudiées plus en profondeur et que d'autres mécanismes peuvent encore être découverts (Waligora 2014). Un manque de connaissance sur les structures chimiques de ces composés nous bloque dans la compréhension des mécanismes (Bertin *et al.* 2003). Les exsudats ne sont pas souvent pris en compte dans les recherches agronomiques, car leurs rôles sont moins nécessaires en cas d'apport externe de matière organique ou de fertilisation minérale. Ces études démontrent cependant le rôle primordial des racines en termes de fertilisation naturelle et pour le développement de la vie du sous-sol (Dennis *et al.* 2010).

1.2.2. Entraide dans le sous-sol

Les rhizodépôts organisent la rhizosphère sous forme d'un lieu d'échange entre les organismes et les racines. Ces organismes peuvent être de différentes tailles allant de la microfaune/flore (protozoaire et autres) à la macrofaune (vertébrés). Leur spécificité va jouer un rôle dans la dynamique de la communauté qui est régie par un réseau de signalisation complexe (Bais *et al.* 2006). Les bactéries et les champignons sont les premiers à profiter des exsudats. Une chaîne alimentaire issue des apports racinaires va en découler. Par exemple, les collembolles et autres consommateurs vont se nourrir de matières végétales décomposées, de champignons...

En retour, les microorganismes serviront aux racines à travers des mécanismes comme la solubilisation d'éléments nutritifs, la décomposition de la matière organique, la synthèse de molécules comme des hormones, le contrôle biologique des pathogènes ou la fixation atmosphérique de l'azote (Gregory 2006). En favorisant ces microorganismes à travers la rhizodéposition et le don de C, les racines se donnent le moyen d'avoir un accès direct à du nitrate assimilable (Verhallen 2005) et d'avoir un contrôle sur la communauté de microorganismes qui en découlent (York *et al.* 2016).

Les racines de couverts végétaux développent un réseau de champignons spécifiques à l'espèce présente dans le couvert implanté et restent dans les sols lors de la culture suivante biologique (Manici *et al.* 2018). Des études sur les communautés de champignons et sur les autres types microorganismes favorisés par des mélanges de couverts végétaux pourraient aider à connaître les impacts de ceux-ci sur la culture suivante.

La mycorhization

Environ 95 % des espèces végétales sont associés à des mycorhizes. Elles sont présentes dans toutes les familles végétales sauf notamment les Brassicacées et les Chénopodiacees qui en sont dépourvues et ont développé d'autres mécanismes (voir 1.3.3). Ces structures fongiques en symbiose avec les plantes s'insèrent dans leurs racines. La plante fournit des éléments carbonés issus de la photosynthèse et le symbiote permet un élargissement de la rhizosphère qui sera alors nommée hyphosphère (York *et al.* 2016). Les apports en eau et en éléments minéraux, principalement pour l'azote et le phosphore, seront favorisés par les hyphes de ces mycorhizes. Chez les légumineuses, la double symbiose - bactérienne avec le genre rhizobium et fongique avec les mycorhizes - exerce un effet synergique (Teng *et al.* 2008). La présence de ce réseau de mycélium en plus de renforcer les plantes par les apports en nutriment les protège contre d'autres agressions. La quantité fongique d'un type empêcherait les populations fongiques de se développer au-delà d'un certain seuil dans les tissus racinaires et au niveau de la rhizosphère (Waligora 2010).

Les vers de terre

Les racines interagissent également avec des organismes de plus grande taille. La macrofaune travaille le sol de manière à créer des chemins préférentiels pour les racines tout en agissant sur la texture du sol à différentes échelles. Edwards et Fetcher (1988) écrivent que durant le processus de digestion des vers de terre, la matière organique est soumise à 1000 fois plus de microorganismes que dans le sol. La MO se décompose et se dépose sur les parois des galeries. Les vers de terre sont capables de creuser 400 à 500 m de galeries sous un m² de sol (Thomas *et al.* 2013). Les agrotubules permettent l'infiltration d'eau et des gaz. Les parois des galeries de vers de terre sont recouvertes de leurs déjections formées de MO décomposée et d'agrégats stables. Celle-ci sera répartie de manière plus homogène suite à leur va-et-vient dans ces galeries (Lamandé *et al.* 2003).

Les vers de terre aident au développement des racines. Une connaissance des couverts favorisant les vers de terre ajouterait une information sur les types de couverts à adopter.

1.3. Influence des racines sur propriété physico-chimique du sol

La zone d'influence des racines sur l'environnement autour d'elle est la rhizosphère. Lorsqu'un réseau racinaire est bien déployé, son champ d'action autour l'est aussi. York et al. (2016) proposent une estimation des limites de la rhizosphère en fonction des zones d'influence (Figure 4) :

- Zone d'exsudation (environ 2 mm)
- Zone d'épuisement en phosphore (~3 mm)
- Zone d'épuisement en azote (~2 cm)
- Zone d'épuisement en eau

Selon Kim et Silk (2002), en présence d'eau les racines influencent le pH du sol sur des centimètres, mais en cas de sol sec, elles l'influencent sur des millimètres. De grandes disparités en ce qui concerne les masses racinaires sont observables entre les terres agricoles et les zones forestières. En moyenne, on retrouve sur les terres agricoles en dessous de $1.5 \text{ kg de racines.m}^{-2}$ pour 5 kg.m^{-2} en forêt (Jackson *et al.* 1996). Ces données montrent implicitement que les racines fournissent au sol et à ses microorganismes une quantité de matière non négligeable (Gregory 2006).

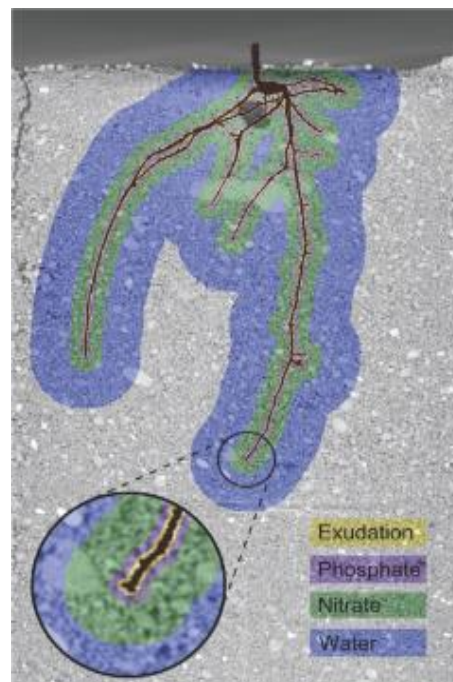


Figure 4 : Composants et limites de la rhizosphère (image réalisée avec des rayons X) (York et al 2016).

1.3.1. Actions sur la structure physique du sol

Lors de leur croissance, les racines créent une zone de modification de la structure du sol autour d'elles. Les particules du sol sont déplacées et forment une zone où la densité massique du sol est plus élevée (Aravena *et al.* 2011). Cette zone réduit la porosité le long des racines tout en augmentant la surface de contact entre le sol et les racines. Cette compaction augmente la conductivité hydraulique ce qui induit une augmentation du flux d'eau vers la racine.

Feeney *et al.* (2006) montrent que sur le long terme, les racines sont des micro-ingénieurs du sol et changent la porosité à travers la formation des agrégats. Cependant, les principaux facteurs de modification de la structure seront les microorganismes nourris à travers les exsudats racinaires.

Les racines tracent des chemins permettant de créer des biopores et peuvent jouer un rôle de labour biologique en atténuant la compaction (Williams and Weil 2004; Chen and Weil 2010). Lorsqu'un sol est compacté, la croissance racinaire et celle de la plante sont restreintes. Cela réduit également sa capacité d'absorption d'eau et des nutriments. Pour pallier à ce problème, les agriculteurs se tournent vers le labour qui leur permet une aération et une décompaction du sol. Or des racines, principalement pivotantes, permettent également de réaliser ce travail. Selon

Chen et Weil (2010), les racines de brassicacées améliorent la pénétrabilité du sol. Burr-Hersey *et al.* (2017) montrent que les racines des radis fourragers et de l'avoine brésilienne semblent mieux adaptées que la vesce commune pour l'amélioration de la structure du sol (Figure 5).

En plus de rendre le sol plus poreux, les racines créent des passages pour les racines de la culture suivante. Celles-ci passeront à travers de chemins préférentiels pour pousser. La quantité de racines présentes l'année suivante sera alors plus importante (Han *et al.* 2015). Il est donc judicieux de planter un couvert dont les racines auront plus ou moins la même profondeur d'enracinement que les celles de la culture suivante. Ces profondeurs se regroupent selon les horizons de travail du sol avec des enracinements soit superficiel, intermédiaire ou profond. Cette structuration aura alors un impact sur les flux d'eau et de minéraux dans le sol. Cependant, les connaissances sur les longueurs racinaires des couverts végétaux sont restreintes.

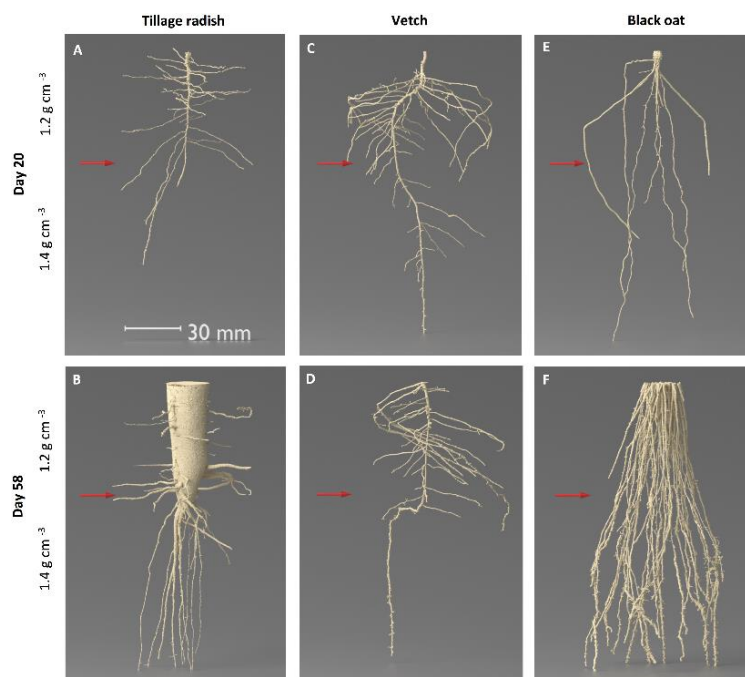


Figure 5 : Représentation 3D des systèmes racinaires cultivés dans des colonnes de sol compactés au niveau de la flèche - changement de densité massique du sol de 1,2 g.cm⁻³ à 1,4 g.cm⁻³. (A et B) Radis fourragé après 20 et 58 jours de croissance ; (C et D) Vesce commune après 20 et 58 jours de croissance et (E et F) avoine brésilienne après 20 et 58 jours de croissance. (Burr-Hersey *et al.* 2017)

1.3.2. Actions sur l'eau dans le sol

Les racines exercent une succion de l'eau à travers le sol. Tant qu'il y a de l'eau en surface, les racines la puiseront préférentiellement dans cette zone. La disponibilité en eau du sol va varier selon trois paramètres (Callot *et al.* 1982) : la teneur en eau du sol ; la dynamique de l'eau liée aux différences de potentiel entre deux zones du sol (ex. : remontée capillaire) ; l'importance de la succion racinaire, l'évapotranspiration des plantes et les transports de solutés.

De là découlent trois types d'horizons d'absorption de l'eau. L'horizon superficiel généralement constitué de sols arables et soumis aux effets climatiques. Les variations de teneur en eau dans cet horizon seront plus importantes tout comme la densité racinaire (Pohlmeier *et al.* 2008). C'est à travers le développement des racines de cet horizon que les ruissellements peuvent être atténués par une infiltration facilitée (Yu *et al.* 2016). L'horizon intermédiaire est très différent d'une parcelle à l'autre et est fortement conditionné par la présence des racines dans celui-ci. L'horizon profond subit peu de variation en eau et est alimenté par les nappes souterraines par remontée capillaire. Avoir des racines dans tous les horizons offre une utilisation optimale des ressources en eau disponibles (Brooker *et al.* 2015).

1.3.3. Gestion de la disponibilité des nutriments dans le sol

Les exsudats vus précédemment ont également un rôle sur la disponibilité des nutriments dans la zone d'action qui lui correspond. Les excréments d'anions organiques tels que le citrate qui se lie avec des métaux rendant disponible le phosphate immobilisé par ces métaux (Gregory 2006). Ces exsudations de citrate ont lieu en plus grande quantité sur les racines en amas que sur les extrémités racinaires sur le lupin de la famille des fabacées (Kamh *et al.* 1999). La famille des brassicacées réalise également cette exsudation de citrate et de malate pour rendre le phosphore plus disponible (Hunter *et al.* 2014). Ces mécanismes sont développés par des familles végétales ne développant pas de symbiose avec les mycorhizes. De plus, la baisse de pH induite par la production d'exsudats agit positivement sur la disponibilité du phosphate (El-Shatnawi et Makhadmeh 2001).

Les nutriments sont également rendus disponibles par les microorganismes favorisés par les exsudats racinaires. En effet, les exsudats sont bloqués dans les bactéries. Des protozoaires et nématodes vont les remobiliser et les rendre sous forme assimilable par les plantes (Bonkowski 2004).

Des essais sur des couverts végétaux en serre, les céréales et les mélanges de couverts ont un plus grand impact sur le phosphore du sol que les légumineuses (Maltais-Landry 2015). Cependant, les légumineuses auraient tendance à augmenter l'activité de la rhizosphère, les acides organiques et les enzymes plus fortement que les autres espèces.

L'absorption d'eau par la plante mène à une accumulation des éléments solubles dans la rhizosphère qui est donc liée au taux de transpiration de la plante. La disponibilité d'éléments de diffusion tels que l'eau est un facteur clé concernant les interactions entre racines. En cas de faible disponibilité, les nutriments absorbés sont ceux proches de racines. Les espèces possédant un grand nombre de racines absorberont les nutriments proportionnellement à celui-ci. Lorsque les nutriments sont disponibles à grande échelle, les racines sont en compétition et les espèces occupant le plus l'espace auront le contrôle sur les absorptions (Raynaud *et al.* 2008). Cependant, les interactions entre racines au sein d'un système sont plus souvent des facilitations ou pas d'interactions que des compétitions (de Parseval *et al.* 2017).

Au sein des couverts végétaux, la présence quasi constante des racines dans le sol agricole permettrait de conserver les bénéfices qu'elles apportent tout au long de l'année tout en apportant des services complémentaires. Une étude sur la localisation des racines des couverts végétaux au sein des mélanges permettrait peut-être de faire le lien entre la présence d'une espèce et les services qu'elle apporte.

1.3.4. Études sur les racines des couverts végétaux

Les études caractérisant les racines des couverts végétaux sont peu nombreuses et expriment toutes une volonté de combler ce manque dans la littérature. Les deux études majeures étudient la densité de longueur de racines (*Root length density* ou RLD [cm.cm^{-3}]) exprimant la longueur totale des racines dans un volume de sol déterminé. Celle de Bodner *et al.* (2010) décrit

l'importance des racines des couverts végétaux pour le contrôle de l'érosion en zone semi-aride et compare le seigle, la phacélie, la vesce et la moutarde. Wendling *et al.* (2016) décrivent 20 espèces de couverts végétaux selon leur biomasse aérienne et leur concentration en nutriment, leur biomasse racinaire avec leur concentration en nutriment également et les observent jusque 50 cm de profondeur. Cependant, aucun des deux ne cherche à caractériser des mélanges de couverts.

1.4. Méthodes d'identification des racines sur base de l'ADN

Afin d'atteindre nos objectifs d'observation des racines, nous avons besoin d'une technique permettant d'étudier la répartition des racines dans le sol. Les techniques visuelles pour distinguer les espèces peuvent être réalisées pour des espèces forestières à partir de différences morphologiques et anatomiques (Yanai *et al.* 2008). Cependant, ces techniques restent très limitées pour les identifications de racines d'herbacées. Pour pallier ce problème, différentes techniques ont été développées afin d'identifier les espèces présentes dans des mélanges racinaires. Certains chercheurs tentent de distinguer et d'obtenir des proportions d'espèces en mélanges à partir d'analyses dans le proche infrarouge (Lei and Bauhus 2010). Cette technique se développe, mais dépend encore de variations liées au terrain. D'autres techniques proposent des méthodes d'identifications par analyse de l'ADN.

La PCR quantitative (qPCR) permet de mesurer la quantité d'une séquence d'ADN présente dans un échantillon. Cette méthode nécessite de développer des marqueurs spécifiques qui sont des outils tels que de couples d'amorces ou des sondes Taqman spécifiques à chaque espèce et qui permettent la visualisation des séquences désirées. Zeng *et al.* (2017) ont mis au point des marqueurs spécifiques pour les 6 espèces d'arbres qu'ils étudient sur base de résultats ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*). Toutefois, ces chercheurs ont démontré que la proportion des espèces observables au-dessus du sol ne reflète pas celle des racines. Cette technique nécessite une mise au point considérable lorsque des marqueurs n'ont pas encore été développés pour les espèces étudiées.

Une seconde méthode est la NGS (Next Generation Sequencing). Elle consiste à amplifier une séquence de type « barcode » tel que la séquence *rbcL* utilisée par (Kesanakurti *et al.* 2011) puis de la séquencer. Ces chercheurs ont déterminé les espèces présentes dans leurs échantillons en comparant les séquences avec une base de données établie précédemment. Cette méthode permet également une estimation des proportions des différentes espèces sur base des proportions des séquences correspondantes. Cependant, elle est encore fort coûteuse.

La méthode que nous utilisons dans cette recherche permet l'identification des racines d'espèce en évaluant la taille de séquences présentes sur une partie non-codante de l'ADN chloroplastique à partir de marqueurs universels. Ces types de marqueurs permettent de visualiser une séquence d'ADN présente sur un grand nombre d'espèces. Cette méthode se nomme FAFLP pour « *Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphisms* » ou FFLP « *Fluorescent Fragment Length Polymorphisme* ». Le marquage d'une des amorces par une molécule fluorescente permet la visualisation de ces fragments lors de l'électrophorèse sur un

appareil de type séquenceur. Cette méthode a été utilisée par Taggart *et al.* (2010) et Randall *et al.* (2014) pour déterminer la présence ou l'absence de certaines espèces dans des communautés d'arbres ou d'herbacées. Les trois marqueurs décrits dans ces références sont (Figure 6) :

- trnL-trnF : *intergenic spacer*
- trnL-Intron : *intron*
- trnT-trnL : *intergenic spacer*.

Ces marqueurs dits universels ont permis d'amplifier l'ADN dans de nombreux groupes de plantes. En ce sens, les applications qui en découlent peuvent être multiples.

Taggart *et al.* (2010) ont prouvé leur efficacité sur des mélanges d'espèces issues des racines caractéristiques des prairies proche de l'université d'Alberta, Canada. Les différences dans les tailles de segments d'ADN ont permis la distinction de 82 espèces sur les 95 présentes en utilisant les marqueurs trnL-trnF et trnL-Intron sans prendre en compte le marqueur trnT-trnL. La distinction entre les espèces présentes et absentes nécessite une clé d'identification établie

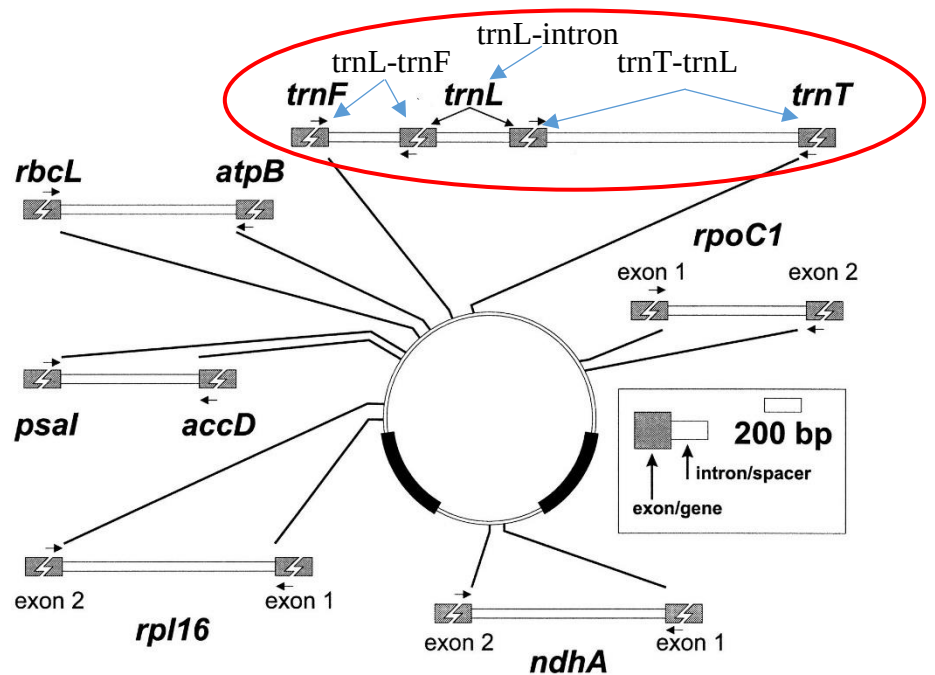


Figure 6 : Carte du génome chloroplastique avec les marqueurs utilisés dans la méthode FALP. Les zones codantes sont en noir. Les marqueurs décrits sont entourés. (Small *et al.* 1998)

préalablement sur base de la taille des signaux de l'ensemble des espèces étudiées.

Ces mêmes auteurs ont créé des mélanges de 4 à 16 espèces à partir de l'ADN extrait des racines afin d'observer les compétitions entre les espèces au sein de la PCR. Les différents marqueurs PCR n'amplifient pas toutes les espèces de la même manière. Ils ont ainsi décidé de prendre en compte un signal à partir du moment où il est observable dans un répliqua. Pour déduire la présence ou l'absence d'une espèce dans un mélange, deux techniques sont possibles :

- La méthode libérale : Une espèce est considérée comme présente lorsqu'un signal est observé pour au moins un des deux marqueurs.
- La méthode conservatrice : Une espèce est considérée comme présente lorsqu'un signal correspondant à l'espèce est observé avec les deux marqueurs.

Cette technique a cependant des désavantages. Au vu de la compétition entre les espèces durant la PCR, certaines espèces ne sont pas distinguables dans le mélange (faux-négatifs). Au plus il y a d'espèces dans un mélange, au plus le nombre de faux-négatifs augmente.

Randall *et al.* (2014) ont utilisé la méthode libérale définie par Taggart *et al.* (2010) pour observer des espèces d'arbres sur le terrain. Après avoir testé l'efficacité de la technique sur des mélanges connus issus de l'ADN des feuilles des arbres, ils ont pris des échantillons racinaires sur le terrain. Sur les sept espèces d'arbres différents observables, ils n'ont pas réussi à distinguer deux congénères de la famille des *Picea*. En plus des espèces espérées dans les mélanges, ils ont pu observer cinq espèces qui n'étaient pas présentes dans leur grille d'identification.

1.5. Inventaire des espèces utilisées

Un choix ingénieux des espèces est nécessaire pour obtenir des résultats intéressants en termes d'apport à la culture suivante. Un état des lieux des espèces présentes dans nos mélanges est donc une manière de comprendre les propriétés individuelles de chaque espèce et d'évaluer ses possibilités d'interaction au sein des mélanges. La majeure partie des informations est issue des fiches espèces présentées par l'institut Arvalis, des fiches établit par Protect'eau, des fiches de Supagro et des descriptions d'espèces provenant du livre de (Thomas *et al.* 2013). L'architecture racinaire des espèces peut se classer en quatre catégories :

- Pivotant : P
- Fasciculé profond : FP
- Intermédiaire : I
- Superficiel : S

L'ensemble des espèces choisies pour notre essai est gélif pour que la destruction soit plus aisée. Cependant, les espèces peuvent se classer en deux catégories : gélives (pas de résistance à des températures négatives) et sensibles (si elles sont à un stade suffisamment avancé en hivers, elles subiront les dommages du froid). Selon des essais réalisés dans l'Isère en France, les couverts végétaux produisent en moyenne entre 2,5 et 3,3 T MS/ha, mais que certaines compositions de mélanges avec des légumineuses peuvent monter jusqu'à 6,5 T produit en début d'hiver. Il faudrait une production de biomasse d'au moins 3,5 T MS pour éviter le salissement de 85 % par rapport à un sol avec repousses (Archambeaud 2015). Un récapitulatif des espèces termine la section (Tableau 1).

1.5.1. Graminées

Avoine brésilienne

L'avoine brésilienne ou *Avena strigosa scherb*, aussi appelée avoine rude ou avoine fourragère, est une plante diploïde. En plus de ses propriétés alimentaires et de son faible coût, cette graminée possède d'autres caractéristiques intéressantes faisant d'elle un de choix des agriculteurs pour leur couvert hivernaux (Lefebvre and Weymans 2008; Archambeaud 2012).

Elle possède un système racinaire de type fasciculé puissant lui permettant de passer dans des sols légèrement compactés. Ces racines atteignent entre 80 et 200 cm de profondeur environ. Cette avoine est plus précoce à la montaison, mais produit plus de biomasses (+15 %) et absorbe

plus d'azote (+37 %) que l'avoine de printemps et d'hivers. Elle produira facilement 2 T de MS/ha de biomasse aérienne pour 0.6 T de MS/ha de racines. De plus, elle a une résistance au gel plus faible et est facile d'implantation (Arvalis 2012).

En tant que graminée, l'avoine brésilienne est un transmetteur de maladie lorsque la culture suivante est une céréale. Cependant, elle aura de bons effets allopathiques, évite le lessivage d'azote et peut servir de tuteur en association.

1.5.2. Brassicacées/crucifères

Les brassicacées sont connues pour leur effet anti-nématode, mais qui dépendent des variétés utilisées. Cet effet est lié à leur capacité de production de résidus contenant du glucosinolate (Snapp *et al.* 2005). De plus, cette famille ne développant pas de réseaux mycorhiziens produit des exsudats qui permettent la mobilisation de nutriment comme le phosphore.

Moutarde

La moutarde blanche ou *Sinapis Alba* est une crucifère des plus communes en termes de couverts végétaux, car peu couteuse, avec une croissance rapide (une des espèces les plus rapides) et connue des agriculteurs. C'est une plante mellifère, attirant tout type de pollinisateurs et neutre vis-à-vis des limaces.

Cependant, elle risque d'étouffer les légumineuses lorsqu'elle est en mélange et monte en graine de manière précoce en se lignifiant. Son rapport C/N sera alors fort élevé. Elle possède une bonne capacité de piégeage d'azote, mais la restitution est compromise en cas de lignification.

Son système racinaire est peu performant, la structuration a lieu principalement en surface (Thomas *et al.* 2013).

Radis chinois

Le radis chinois ou *Raphanus sativus longipinnatus* est souvent confondu avec le radis fourrager. Son grand avantage est sa racine pivotante de large diamètre permettant un décompactage du sol et développant une macroporosité intéressante en surface (Figure 7). Elle est également résistante à la sécheresse.

Contrairement au radis fourrager, la racine dépasse en partie du sol, ce qui permet une destruction mécanique facile. De plus, cette espèce est plus sensible au gel, produit plus de biomasses et absorbe plus d'azote.



Figure 7 : Radis chinois présent sur notre parcelle.

1.5.3. Légumineuses

Les légumineuses sont intéressantes en termes de couvert végétal pour leur capacité de fixation de l'azote atmosphérique. Un couvert composé uniquement de légumineuse serait capable de redistribuer 50 % de l'azote qu'il a accumulé. Cependant, elles ne couvrent pas rapidement le

sol et ne sont pas fortement concurrentielles avec des adventices. Il est donc approprié de les associer avec d'autres familles afin de développer un humus de qualité pour la culture suivante.

Trèfle d'Alexandrie

Le trèfle d'Alexandrie ou *Trifolium alexandrinum* est une légumineuse généralement présente en association. Ce trèfle est facile d'implantation, couvre rapidement le sol et produit une source de fourrage de qualité. Il est gélif donc facilement destructible surtout à un stade avancé.

Son système racinaire est composé de courtes racines pivotantes allant jusqu'à environ 30 cm de profondeur. Un avantage de ce trèfle est sa capacité à abriter les insectes pollinisateurs. Et possède un rapport C/N faible (Verhallen 2001).

Féverole

La féverole ou *Vicia faba* est une légumineuse qui couvre moyennement le sol et est peu concurrentielle. Elle est donc plus intéressante en association. Les variétés de printemps se développent mieux en automne et sont plus facilement détruites par le gel (-8° à -10°).

La féverole est une bonne fixatrice et restitutrice d'azote tout en produisant une quantité de biomasses élevées. Son système racinaire pivotant structure le sol.

Vesce commune

La vesce commune ou *Vicia sativa* est une légumineuse ayant un bon effet en tant qu'engrais vert qui produit un fourrage riche en protéine. Elle produit une biomasse élevée, mais nécessite d'être en association avec des plantes tuteurs pour éviter de pourrir sur le sol. Sa couverture sur le sol évite le salissement même après destruction.

Son système racinaire agit en surface et aide au développement de l'activité biologique grâce à sa grande production d'exsudats racinaires.

1.5.4. Autres familles

Tournesol

Le tournesol ou *Helianthus annuus* est une espèce peu étouffante pour les autres cultures et se présente donc bien dans les mélanges de couverts dont il peut être le tuteur. Grâce à ses fleurs, le tournesol est un couvert mellifère.

Cette espèce possède un enracinement de type pivot qui sera profond (jusqu'à 3 m de profondeur) et puissant en plus d'un développement plus important dans les 40 premiers centimètres du sol. Lorsque sa croissance est limitée lorsqu'elle se fait sur un sol compacté. Le tournesol permet un pompage de l'azote, du phosphore et de la potasse (Bourgeois *et al.* 2018).

Nyger

Le nyger ou *Guizotia abyssinica* est une Astéracée à la base cultivée pour ses graines et son huile. Son taux et sa vitesse d'implantation dépendent respectivement des résidus d'herbicides et de la concurrence avec d'autres espèces en mélange. Cependant, une fois implanté, le nyger

offre une couverture du sol intéressante. Comme la phacélie, cette espèce présente un risque de transmission de *sclerotinia* et attire les limaces.

Le nyger possède un système racinaire pivotant en profondeur et produit des ramifications puissantes qui permet une structuration du sol.

Phacélie

La phacélie ou *Phacelia tanacetifolia* est une espèce de couvert facilement implantable et destructible qui possède une production de biomasse importante. Elle est conseillée dans de nombreuses rotations sauf en cas de production de légumes industriels étant donné les risques de transmission de *sclerotinia*.

Elle possède un système racinaire dense, mais en surface. En raison de sa capacité de couverture rapide du sol, elle empêche le développement d'adventices. En floraison, elle présente une bonne capacité mellifère (Duval 1992). Une fois détruits, les résidus noirs aident au réchauffement du sol (Thomas and Archambeaud 2015).

Lin

Le lin de printemps ou *Linum usitatissimum* est une linacée souvent mise en complément dans les mélanges. Cette espèce s'installe facilement même en cas de sécheresse et avec peu d'azote disponible. Tout comme le tournesol, cette espèce présente un système racinaire en fin pivot permettant l'infiltration de l'eau et aide le travail des lombrics. Cependant, ce travail est plus superficiel.

La biomasse produite par le lin est fortement ligneuse et sa tige droite peut servir de support à d'autres espèces.

Sarrasin

Le sarrasin, le blé noir ou *Fagopyrum esculentum* est une pseudo-céréale annuelle de la famille des polygonacées avec une croissance rapide et très sensible au froid. Ses racines pivotantes sont fibreuses et modérément vigoureuses avec une concentration au-dessus de la semelle de labour. En général, sa biomasse racinaire est moins importante que d'autres céréales.

Le sarrasin risque d'être réprimé en cas de présence d'anti-cotylédons contenant de la triazine. Ses avantages comme couvert végétal sont liés à son efficacité à empêcher le développement d'adventices à travers un effet allopathique, sa capacité à mobiliser le phosphore du sol et à attirer les insectes pollinisateurs (Hayes 2005).

1.5.5. Tableau récapitulatif

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des espèces présentes dans notre essai. Pour chaque espèce présente dans les couverts : Prix (€/ha⁻¹), densité de semis recommandé, poids de mille grains (PMG), familles végétales, types racinaires, rapport C/N des parties aériennes et racinaires, biomasses aériennes et racinaires (T de MS/ha⁻¹) et la sensibilité au gel.

Espèces de couvert	Prix (€/ha ⁻¹) ¹	Densité de semis individuel (kg/ha ⁻¹) ¹	PMG	Famille végétale	Type racinaire ²	C/N aérien ³	C/N racinaire ³	Biomasse aérienne (tMS/ha ⁻¹) ³	Biomasse racinaire (tMS/ha ⁻¹) ³	Destruction au gel ⁴
Avoine brésilienne	46.2	35	16,9	Graminée	Fasciculée : I	24,1	25,6	6,4-6,6	1,2-1,6	S
Trèfle d'Alexandrie	33	15	3,1	Légumineuse	Pivotante : I	15,7	14,6	5,6-7,6	1-1, 8	S
Vesce commune	60	50	30 à 75	Légumineuse	Pivotante : S	12,4	13,4	3,3-6,8	0,5-1	S
Féverole	120	100-200	350-700 ⁵	Légumineuse	Pivotante : P	21,4	22,5	7-8,6	1,5-2	S
Moutarde	11.25	8-10	7	Crucifère	Pivotante : P	35,3	59	6-7,4	1,1-2,7	S
Radis chinois	66	10-12	14	Crucifère	Pivotante : P	18,6	26,1	4,3-8,3	2,8-4,8	S
Tournesol	15 ⁶	20	47,3	Astéracée	FP	29,8	66,8	9,2-11	1,5-2,7	G
Nyger	16.9 ⁶	8-12	3	Astéracée	FP	25	50,4	6,5-8,7	1,6-3	G
Lin	34 ⁶	50	7	Linacées	Pivotante : S	22,4	27,4	4,3-6,5	0,6-1,2	S
Phacélie	22.16	8	2	Hydrophyllacée	Pivotante : S	20,6	31,1	5-7,6	0,9-1,5	S
Sarrasin	37.5 ⁶	40-60	21,5	Polygonacée	Pivotante : S	28,9	23,6	2,4-3,2	0,6-1	G

¹ Les prix viennent de ceux proposés par Régénacterre dans leur groupe d'achats de semence.

² S : surface, I : intermédiaire, P : profondeur, FP : fasciculé profond

³ Les rapports C/N et les biomasses viennent de l'article de (Wendling *et al.* 2016). Les biomasses aériennes ont été réalisées 85 jours après avoir semé et les biomasses racinaires ont été prélevées 118 jours après avoir semé les couverts sur une profondeur de 50 cm.

⁴ S : sensible au gel (si la plante atteint un stade de croissance où la plante ne résiste pas à des températures trop froides) et G : gélif (détruit dans tous les cas par des températures négatives)

⁵ Essayer d'avoir le plus petit possible pour une plus grande densité de semis

⁶ Selon les prix de semences alimentaires

2. Objectifs du mémoire

Les études sur les couverts végétaux sont de plus en plus nombreuses. Cependant, elles portent généralement sur leur capacité en termes de gestion des nutriments ou sont souvent des indications pour les agriculteurs sur les pratiques à mettre en œuvre pour obtenir un bon couvert. Peu d'entre elles couvrent le sujet des mélanges de couverts végétaux et des services écosystémiques qu'une biodiversité d'espèces peut fournir au système sol-plante. De plus, il existe peu de moyens pour mesurer les services apportés par les couverts mis à part la biomasse aérienne, la rétention d'azote dans les sols et la suppression d'adventices (Finney *et al.* 2016; Blesh and Adam 2017).

Notre but est d'observer *in situ* le développement de différents couverts végétaux et leur influence sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols. Nous allons étudier cinq types de couverts en deux densités (D1 et D2): sans couverture du sol, une moutarde, un mélange de 2, de 5 et de 10 espèces (Tableau 3). Nous voulons comprendre si un couvert possédant une plus grande diversité d'espèces apporte plus de services. Cependant, faire une étude approfondie en champ n'est pas simple étant donné que de nombreux paramètres ne sont pas contrôlables.

Nous avons ainsi travaillé sur les paramètres physico-chimiques du sol (Denis Allard), sur la macrofaune (Adelise Lefèvre), sur les mycorhizes (Isaure Lohest) et sur les racines pour ma part.

L'analyse racinaire des couverts végétaux a pour objectifs de :

- Développer une méthodologie d'observation des racines dans un champ afin de connaître leur densité en fonction de la profondeur et d'en dégager les mélanges de couverts explorant le sol en surface et/ou en profondeur de manière à optimiser certains services offerts par les racines (captage des nitrates, fourniture de matière organique, contrôle de l'érosion).
- De situer les espèces au sein des mélanges et d'observer les espèces dont les racines sont les plus présentes en fonction de la profondeur.

Nous voulons répondre à des questions du type comment les mélanges de couverts vont jouer un rôle en termes de gestion des nutriments ; quels sont les mélanges de couverts favorisant les prédateurs naturels, la macrofaune permettant une structuration du sol et aidant à un développement des communautés fongiques du sol ; les mélanges de couverts produisent-ils plus de biomasses aériennes et racinaires ? Cette production est-elle liée à une augmentation des services apportés par les couverts ?

3. Matériels et méthodes

3.1. Contexte de l'étude

Dans le cadre de cette étude sur les mélanges de couverts végétaux, nous sommes un groupe de quatre étudiants à travailler sur une parcelle expérimentale de l'UCL. Afin de caractériser au mieux les mélanges et de faire ressortir les services écosystémiques de ceux-ci, nous nous sommes penchés sur quatre thématiques particulières.

- Denis Allard travaille sur l'analyse des caractères physico-chimiques du sol. Il a établi un profil de l'homogénéité de la parcelle. Ensuite, une observation de différents paramètres du sol pour les différents couverts a été réalisée.
- Adeline Lefèvre a pour objectif d'observer la macrofaune du sol. Pour ce faire, elle a mis sur la parcelle une série de pièges à insectes et les a analysés par la suite. Elle a également étudié la respiration du sol et observé les vers de terre.
- Isaure Lohest se focalise sur les mycorhizes et a observé les taux de colonisation racinaire, les densités d'inoculum et la biodiversité des mycorhizes.
- Ce mémoire consiste en une étude du développement des racines des différents mélanges à travers des observations et une étude ADN sur les racines.

Ensemble, notre but est donner un aperçu de l'influence des mélanges de couverts végétaux sur les paramètres étudiés et d'aboutir à une meilleure compréhension des mélanges d'espèces et de leurs impacts dans le contexte d'une agriculture en transition.

Des mesures sont réalisées en commun avec les trois autres étudiants travaillant sur la même parcelle, et d'autres sont spécifiques à chaque étudiant. Le Tableau 2 reprend les mesures réalisées dans le temps, en commun et pour la spécifique aux racines.

Tableau 2 : Dates des mesures réalisées sur quelles zones d'études (2017). Les mesures sur fond bleu sont celles réalisées en commun avec les autres étudiants.

Dates	Mesures	Zones d'étude
02/08, 10/08, 18/08 et 23/08	➤ Couverture du sol	Blocs 1, 2 et 3 – D1 et D2
01/09 et 08/09	➤ Couverture du sol	Blocs 1, 2 et 3 – D1 et D2
	➤ Comptage des espèces	Blocs 1, 2 et 3 – D1 et D2
Du 18 au 27 octobre	➤ Green area index	Bloc 1, 2 et 3 – D1
	• Prélèvement 1 racinaire	
	➤ Core – break	Bloc 1 – D1
	➤ Biomasse racinaire	Bloc 1 – D1
Du 08 au 10 novembre	• Prélèvement 2 racinaire	
	➤ Core – break	Bloc 1 – D1
	➤ Biomasse racinaire	Bloc 1 – D1
Du 04 au 06 décembre	• Prélèvement 3 racinaire	
	➤ Core – break	Bloc 1, 2 et 3 – D1
	➤ Biomasse racinaire	Bloc 1 et 2 – D1 (sauf T1 bloc 2)
	➤ Analyse ADN	Bloc 1 et 2 – D1 (sauf T1 bloc 2)
18 Décembre	• Biomasse aérienne	Bloc 1, 2 et 3 – D1 et D2

3.2. Parcelle expérimentale

La parcelle expérimentale, propriété de l'UCL, se situe dans la commune de Chaumont-Gistoux en Belgique dans le village de Vieux Sart. Les coordonnées géographiques de la parcelle sont approximativement 50° 40' 55" N. et 4° 38' 13" E. Le champ possède une superficie de 6,4 ha et la parcelle expérimentale se trouvant à l'intérieur du champ possède une superficie de 0,85 ha. Une zone tampon sépare la parcelle expérimentale des environnements extérieurs qui risquerait de perturber les mesures. Sur la Figure 8, cette bande tampon est représentée comme la grande parcelle tandis que la zone de mesure sur ce champ est considérée comme la parcelle expérimentale. Une vue aérienne de la parcelle est disponible dans l'Annexe 7.1.

Localisation de la parcelle expérimentale

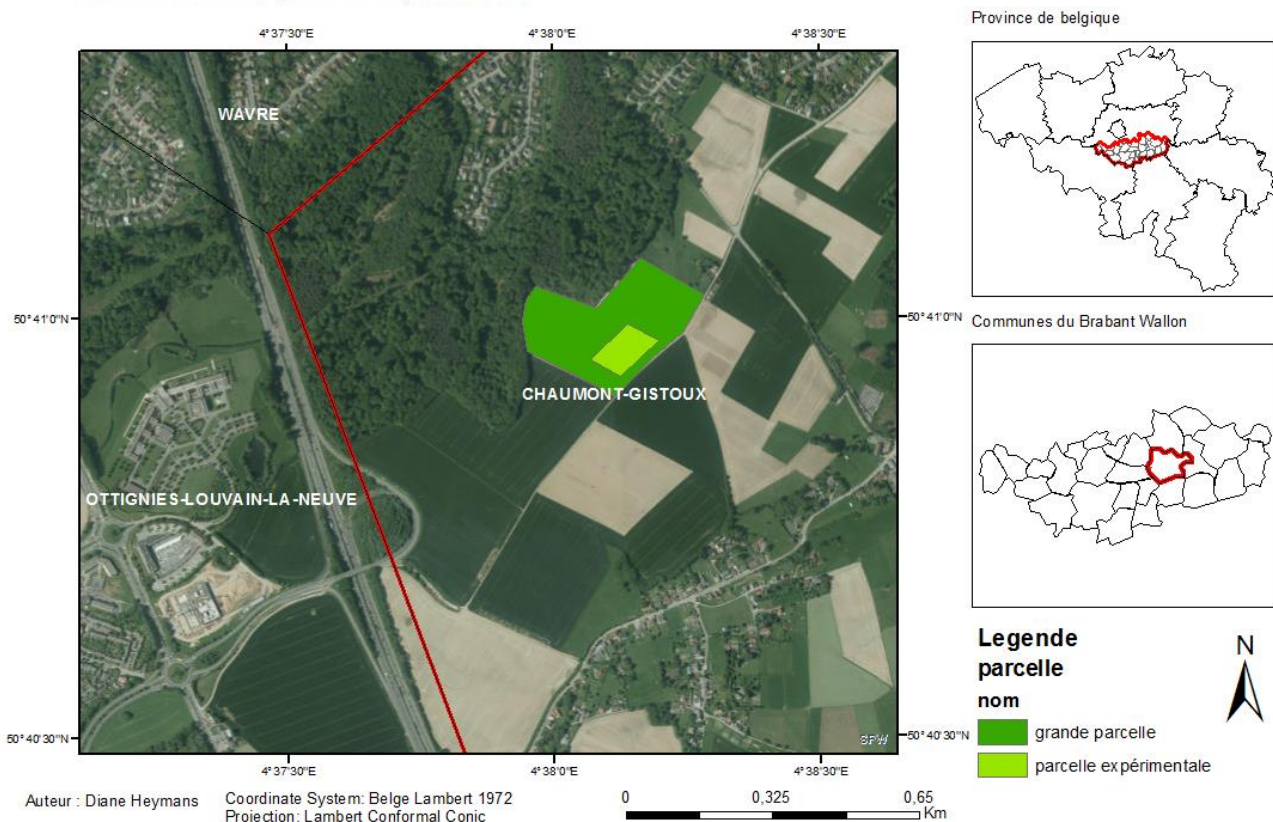


Figure 8 : Carte de visualisation de la localisation de la parcelle expérimentale.

Selon la carte des sols de Wallonie (SPW 2016a), la parcelle est composée d'un sol limoneux à drainage naturel favorable avec un horizon B textural.

Le sol a été labouré le 19 septembre 2016. La culture précédant la mise en place du couvert est un escourgeon de variété Tonic semée à 120 kg/ha le 21/09/2016. La culture a été traitée à l'herbicide Hérold (0,6 l/ha) le 6 octobre 2016. Durant le printemps, le sol a été amendé en azote (NH_4NO_3) : 14/03 – 190 kg/ha, 06/04 – 200 kg/ha et le 02/05/2017 – 240 kg/ha faisant un total de 170 kg/ha d'N. Les fongicides Comet et Stéréo ont été appliqués le 07/04 en même temps qu'un régulateur de croissance (Medax+).

La moisson de l'escourgeon a eu lieu le 05 juillet. Ensuite, la parcelle a été déchaumée et sous-solée le 10 et le 18 juillet, un deuxième déchaumage a eu lieu. L'ensemble de ces travaux a été réalisé par Gérard Colignon du centre de Marbaix qui a repris la gestion de la parcelle depuis l'acquisition par l'UCL. Le couvert a été semé le 20 juillet 2017, perpendiculairement aux bandes de la culture précédente. C'est Nicolas Braibant qui possède un semoir adapté (capable de gérer les différentes tailles de graines) qui a réalisé les semis (semoir Horsch de 4 m de large).

Les espèces présentes dans les mélanges ont été choisies par Frédéric Muratori de Regenacterre sur base des fiches espèces et fiches mélanges développées par Thomas *et al.* (2013). La moutarde pure est classiquement utilisée dans nos régions. Le mélange de 2 espèces contenant de l'avoine brésilienne et du trèfle d'Alexandrie ont été choisis en raison de leur caractère économique, leur facilité d'implantation et pour l'association graminée – légumineuse. Ce mélange constitue le mélange de référence (2 espèces) qui sera également étudié comme un traitement. Des mélanges plus complexes avec respectivement 5 et 10 espèces sont également étudiés pour comprendre en quoi la diversité des espèces aurait une influence plus élevée sur les services écosystémiques par rapport au mélange de 2 espèces. Ils sont composés de familles d'espèces complémentaires pour différents aspects.

La conduite d'une expérimentation en milieu agricole réel plutôt qu'en station expérimentale présente une série de contraintes liées au matériel agricole. Cela demande le recours à un dispositif expérimental particulier. Il n'est en effet pas possible de réaliser un dispositif tel que les blocs aléatoires complets, qui requièrent un semoir adapté à la mise en place de petites parcelles successives correspondant à des traitements chaque fois différents. Au contraire, chaque traitement ici présent correspond à un couvert et une densité et est appliqué une et une seule fois en bande longue de 100 m. les traitements sont référés par des bandes d'un même mélange à une même densité qui sert de référence. L'effet du traitement est alors déterminé par comparaison avec une bande de référence voisine.

Nous avons cinq traitements présents en deux densités de semis repris dans le Tableau 3. Il explique également les proportions de chaque espèce selon leur densité dans les mélanges ainsi que les densités de semis appliqué. Sur la parcelle, les traitements sont présents en deux densités. La densité 1 (D1) est celle généralement appliquée par les agriculteurs. La densité 2 (D2) est la D1 augmentée de 30 %. Le tableau donne aussi le poids de mille grains en gramme (PMG) pour chaque espèce déterminée par la littérature (Tableau 1). À partir de la densité de chaque espèce dans le mélange et des PMG, le nombre d'individus attendus par m² a été calculé. Cependant, ce calcul ne prend pas en compte le taux de germination des différentes espèces.

3. Matériels et méthodes

Tableau 3 : Ensemble des traitements, leur composition en terme d'espèce, la densité de celles-ci au sein de chaque mélange, le poids de mille grains (PMG) de chaque espèce et le nombre d'individus attendus pour la D1 sur un m² de sol (nbr.m⁻²).

Traitement	Espèces	Densité (kg/ha)	Semis D1 (kg/ha)	Semis D2 (kg/ha)	PMG	Nbr.m ⁻² D1
Couvert T1	Sans couvert	/	/	/	/	/
Couvert T2	Moutarde	8	8	10,4	7	86
Référence R	Avoine brésilienne	20	27	35,1	16,9	118
	Trèfle Alexandrie	7			3,1	226
Couvert T3	Avoine brésilienne	10	21,5	27,95	16,9	59
	Trèfle Alexandrie	5			3,1	161
	Lin	1,5			7	21
	Phacélie	2			2	100
	Tournesol	3			47,3	6
Couvert T4	Avoine brésilienne	4	33	42,9	16,9	24
	Trèfle Alexandrie	2,5			3,1	81
	Lin	3			7	43
	Phacélie	2			2	100
	Tournesol	3			47,3	6
	Nyger	1			3	33
	Sarrasin	2,5			21,5	12
	Radis chinois	1			14	7
	Vesce commune	4			45	9
	Féverole	10			100	2,5

Le choix de la position des traitements a été déterminé aléatoirement excepté pour le traitement sans couvert (T1) qui devait éviter de se trouver sur les bords de la parcelle. Nous avons observé lors de la croissance des couverts que de nombreuses repousses d'escourgeon étaient présentes un peu partout sur la parcelle expérimentale, mais plus particulièrement sur le traitement sans couverts qui en était recouvert.

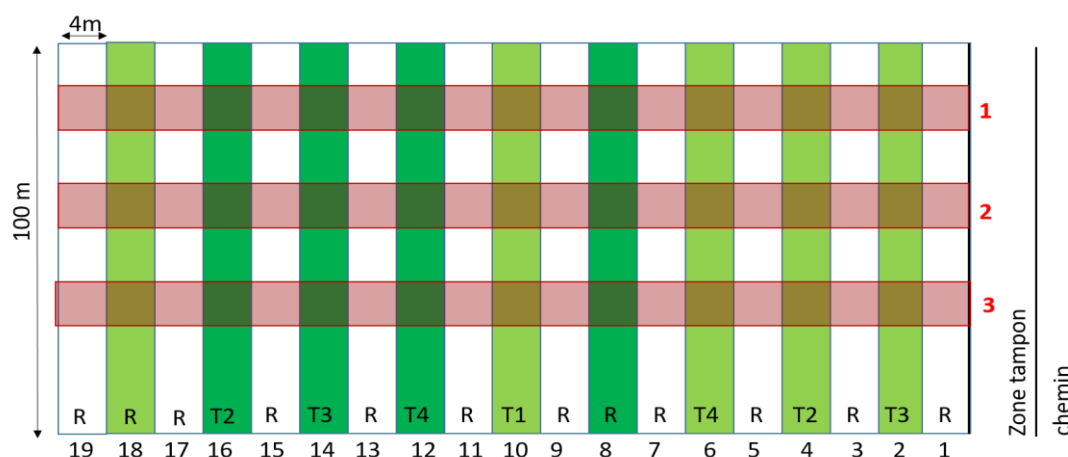


Figure 9 : Schéma de la parcelle reprenant les bandes de traitements (T1, T2, T3, T4 et R) intercalés en vert entre les bandes références (R) en blanc. Les traitements sont présents en 2 densités (D1-vert clair et D2-vert foncé). Les positions en x vont de 1 à 19.

La parcelle expérimentale a été divisée en trois blocs de répétitions des mesures (Figure 9). Ces blocs sont perpendiculaires au sens des bandes de traitement et permettent d'avoir des mesures caractérisant l'hétérogénéité spatiale de la parcelle. Afin de localiser les échantillons

précisément, une nomenclature permettant de les reconnaître a été établie. Chaque bande d'étude, « traitement » (T) ou « référence » (R), correspond à une position allant de 1 à 19. Les intersections entre les bandes d'études et les blocs correspondent aux « zones d'étude » d'une surface d'environ 2 m².

3.3. Mesures communes

3.3.1. Couverture du sol

L'évolution de la couverture végétale a été mesurée six fois dans le temps. Ceux-ci sont espacés d'environ une semaine entre chaque prise de mesure (les 02/08, 10/08, 18/08, 23/08, 01/09 et 08/09/2017) et le dernier temps correspond à la fermeture de la canopée. Les mesures ont été réalisées avec un cadre en bois de 50 cm sur 50 cm, divisé en 100 carrés de 5x5 cm avec des cordes (Figure 10). Lorsqu'un carré est couvert à plus de 50 %, il est considéré comme rempli. Le résultat est une mesure en pourcentage de la couverture végétale du cadre.



Figure 10 : Cadre d'observation de la couverture du sol découpé en 100 carrés (50 cm x 50 cm).

Des piquets placés au centre de chaque zone de mesure indiquaient le lieu où placer le cadre. Celui-ci est placé dans le sens de la bande de mesure de manière à mesurer la même zone à chaque date. Les passages dans la parcelle s'effectuaient de manière à éviter au maximum le piétinement des couverts.

Ces mesures ont été répétées sur les trois blocs de répétitions et sur l'ensemble des bandes d'étude (Tableau 2).

3.3.2. Identification et comptage des espèces

La présence des différences espèces au sein de chaque traitement a également été observée. Durant les deux dernières observations de couverture du sol (01/09 et 08/09/2017) et avec le même cadre, le nombre d'individus de chaque espèce a été compté. Une mesure de la densité des espèces dans les traitements est donc disponible pour toutes les zones d'étude. Le cadre faisant une surface de 0,25 m², il faut donc multiplier par quatre les mesures pour les obtenir sur un m².

3.3.3. Green Area Index (GAI)

Après la fermeture de la canopée, un nouvel ensemble de mesures a été réalisé (semaine du 18 octobre 2017). Le Green Area Index (GAI) est une des mesures ayant eu lieu durant cette semaine. Le GAI est une mesure de la quantité totale de parties aériennes vertes (feuilles et tiges) par unité de surface du sol. Cette mesure nécessitant de prélever ces surfaces est donc destructive. La mesure de la GAI a été effectuée une fois la couverture foliaire bien installée pour avoir un bon aperçu de la quantité de surface capable de réaliser la photosynthèse.

Nous avons récolté un m² de couvert au sein des zones d'étude avec un petit sécateur permettant de raser le sol. L'ensemble des tiges et des feuilles ont été récoltés puis, le plus rapidement possible, ont été transférés dans une chambre froide. Le GAI a été mesuré avec un scanneur de type LI-3100c Area Meter de la société LI-COR, USA (Figure 11). Les feuilles ont été détachées de tiges pour que celles-ci soient bien à plat lors du scan. Pour limiter le bruit de fond, il est important de laver le scanneur régulièrement.

3.3.4. Biomasse aérienne

La biomasse aérienne est une mesure destructive permettant de connaître la quantité de matière sèche végétale présente sur une certaine surface. Cette mesure a été réalisée sur chaque zone d'étude, c'est-à-dire l'ensemble des bandes d'étude et sur les trois blocs de répétition (Tableau 2). La récolte de cette matière a été effectuée 150 jours après le semis (18/12/2017) et la mesure de biomasse s'est déroulée en trois temps.

- La récolte et la pesée de 2 m² de matière fraîche par zone d'étude sur le champ.
- De ces 2 m², des échantillons plus maniables ont été prélevés.
- Nous avons ensuite séché ces échantillons à l'étuve à 70°C jusqu'à stabilisation de la masse des échantillons. Cette petite quantité de matière sèche fut alors pesée.

Le poids de la matière sèche des 2 m² a pu être déterminé par extrapolation des poids des échantillons. Le tout a ensuite été transposé en T de MS/ha pour chaque traitement.

3.4. Analyses de densités racinaires

Les prélèvements racinaires ont été réalisés par carottage en trois temps pour obtenir une information sur l'évolution des racines dans le temps. Les premiers carottages ont été effectués dans la semaine après le dégagement d'un m² de couverture pour les mesures de GAI. Ces carrés sans couverture sont représentés sur la Figure 12 dans les zones d'étude.

1. Un premier prélèvement a été commencé le 18 au 28 octobre 2017. Cet étalement a été provoqué par la nécessité de remplacer du matériel cassé. Les prélèvements de cette date ont eu lieu sur le premier bloc de répétition contenant tous les traitements de la D1. Quatre carottes de terre ont été prélevées pour chaque traitement ainsi que pour toutes les références juxtaposant les zones de traitement dans les zones où les couverts ont été prélevés pour la mesure de GAI. Les carottes sont représentées en bleu sur la Figure 12.
2. Le deuxième prélèvement a eu lieu du 08 au 10 novembre et a été effectué également sur le premier bloc de répétition. Quatre carottes ont été prélevées dans le même ensemble des traitements, mais à l'extérieur des carrés récoltés précédemment. Ces carottes sont représentées en oranges sur la Figure 12.
3. Le troisième prélèvement s'est passé du 04 au 06 décembre et a été effectué sur les trois premières bandes contenant tous les traitements de la D1. Quatre carottes ont été prélevées



Figure 11 : Scanneur LI-3100c Area Meter de la société LI-COR utilisé pour mesurer la surface verte.

pour chaque traitement (T), mais seulement deux carottes par référence (R). En effet, comme les références se trouvent de part et d'autre des traitements, en prenant les deux références nous obtenons les quatre carottes qui permettent de prendre en compte de l'hétérogénéité de la parcelle.

Une fois les échantillons prélevés, une première mesure de type « *core-break* » aura lieu. Durant cette mesure, les carottes sont découpées en horizons de 15 cm de haut. Ces horizons sont alors nettoyés puis mis à -80°C pour être pesés et analysés génétiquement par la suite.

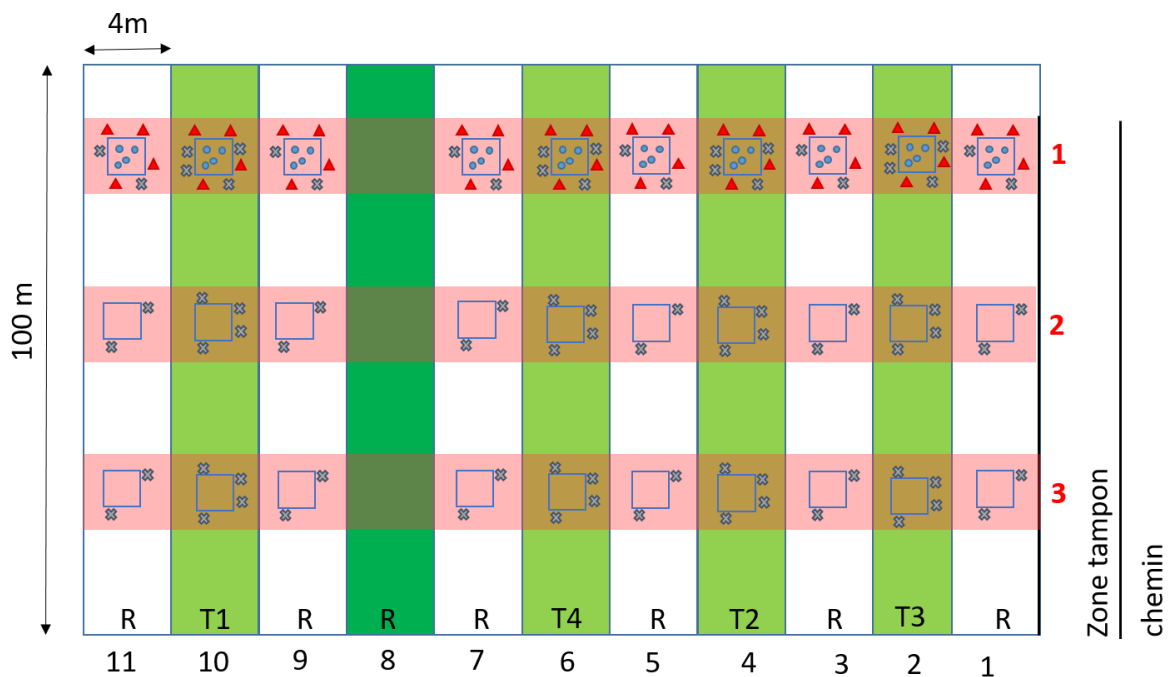


Figure 12 : Schéma des zones de prélèvements racinaires. Les rectangles correspondent aux zones dégagées à l'issu de la mesure du GAI. Les formes de couleurs proches de ces rectangles correspondent aux différentes dates de prélèvements (rond-bleu : octobre, triangle-rouge : novembre et croix-grise : décembre).

3.4.1. Carottage

Pour la récolte des échantillons de racines, après plusieurs tests avec des tarières manuelles, il a été décidé que les prélèvements racinaires se feraient avec une carotteuse mécanique empruntée en EliC. L'échantillonneur de carotte de 63 mm de diamètre fait partie du set de forage par percussion (Eijkelpamp percussion drilling set for heterogeneous soils, CobraTT) (Pays-Bas). Cet échantillonneur permet d'obtenir des carottes de terre de 50 cm de diamètre dans des tubes en PVC long de 1 m. Son utilisation se fait conformément à celle décrite sur le site⁷.

Un premier test, pour savoir combien d'échantillons par zone d'étude étaient nécessaires, a été réalisé. Suite à celui-ci, il a été décidé que nous prélèverions 4 carottes par parcelle. La carotteuse mécanique s'utilise selon le protocole suivant :

- Nettoyage et huilage de la tête de la carotte et des zones à visser

⁷<https://en.eijkelkamp.com/products/augering-soil-sampling-equipment/percussion-drilling-set-gasoline-percussion-hammer.html>

- Insertion du tube en PVC dans la carotte en acier prévu à cet effet.
- Mise en place de l'anneau avec ou sans l'antiretour. L'antiretour permet en cas de sol humide d'éviter une trop grande compaction de la terre et de faciliter le retrait du tube en PVC. Visser la tête de la carotte dans le sens anti-horloger.
- Planter manuellement la carotte dans la zone de prélèvement (environ 5 cm de profondeur)
- Insérer le moteur sur la pièce intermédiaire reliée au préalable avec la carotte (Figure 13-A). Une fois mis en route, il faut environ 3 à 4 minutes pour que la carotte s'enfonce totalement dans le sol. En fonction de l'humidité et de la compaction du sol, le temps pour enfoncer la carotte peut varier. Il faut éviter d'insérer la carotte trop profondément pour qu'il y ait une accroche suffisante lors de la sortie du sol de la pièce.
- L'extraction de la carotte se fait sur un triangle qui permet de faire un effet levier (Figure 13-B). Une chaîne est enroulée autour de la zone de la carotte sortant du sol et accrochée au tube d'insertion dans lequel la tige porteuse a été insérée. En cas de sol humide, une plaque en bois permet d'augmenter la surface d'appui du levier.
- Après avoir sorti le tube en acier du sol, la tête de la carotte est dévissée grâce aux pinces pileuses ou écrasantes. Une petite pince rouge au bout recourbé permet de retirer le tube en PVC de la carotte en acier.



Figure 13 : Tomas et Pierre pendant l'enfoncement de la carotte dans le sol (A). Extraction de la carotte hors de la terre à gauche (B).

Une fois les carottes prélevées nous avons réalisés trois types de mesures : une densité surfacique d'impacts de racines, une biomasse racinaire et une analyse ADN.

3.4.2. Méthode de « *core-break* » : mesure de densité d'impacts de racines

Le passage de carotte ou « *core-break* » est une méthode d'observation de carottes de sol qui permet d'obtenir une information de la densité surfacique des racines par m².

Elle consiste à casser à la main les échantillons à des profondeurs déterminées (Figure 15). Le nombre de racines sortant des surfaces cassées a été calculé. Comme les racines se cassent à une faible distance de la surface, elles en sortent et il est possible de compter le nombre de racines (Figure 14). Les racines sortantes des deux surfaces cassées sont donc comptées et additionnées (Chen and Weil 2010). L'ensemble des carottes prélevées donnera une mesure de densité surfacique de racines.



Figure 14 : Racines sortant d'un trou de vers de terre.

Après avoir sorti la carotte de terre de son tube en PVC avec l'aide d'un manche à balai dont le bout a été agrandi pour éviter la compaction, la carotte est positionnée de manière à pouvoir la découper en différents horizons. Les mesures de « core-break » ont été réalisées à huit profondeurs : à 7,5 cm, 15 cm, 22,5 cm, 30 cm, 45 cm, 60 cm, 75 cm et 90 cm. Ces profondeurs sont des indications de la zone d'observation plus que des profondeurs précises. Une gamme de +/- 1 cm autour des profondeurs est de mise pour prendre en compte l'incertitude liée à la profondeur.

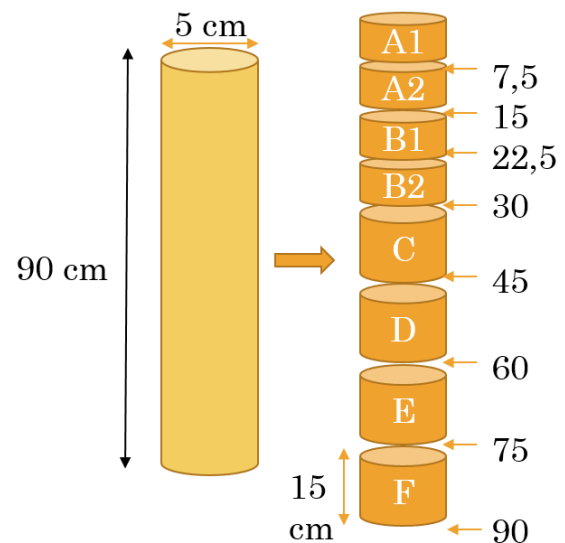


Figure 15 : Schéma de la carotte extraite, son découpage en horizons et les zones d'observation pour les comptages d'impacts.

Des comptages du nombre de trous de vers de terre ont également été effectués de la même manière. Cependant, entre 0 et 30 cm de profondeur, la terre étant fortement brassée, le comptage était trop subjectif pour donner un aperçu du nombre réel de trous dû aux vers de terre.

Nous obtenons ainsi des mesures contenant le nombre d'impacts racinaires pour une surface de $\pi R^2 = \pi * 2,5^2 = 19,64 \text{ cm}^2$. Afin d'obtenir une mesure en densité d'impacts de racines par m^2 , les mesures effectuées doivent donc être divisées par 19,64.

Pour les mesures des densités de trous de vers de terre, nous avons sommé les trous observés pour les 4 carottes prélevées par zone d'étude. Pour les prélèvements de décembre, les sommes de 2 carottes ont été multipliées par 2. En divisant ces sommes par la surface des 4 carottes, il est possible d'obtenir la densité de trous de vers de terre sur 1 m^2 .

La Figure 15 reprend les profondeurs observées par la méthode du core-break sur la droite. Les horizons A à F de 15 cm de long sont ceux dont les racines seront extraites et analysées.

Étant donné que les tailles des carottes variaient entre 90 cm et 1 m et qu'il était pratique d'avoir des horizons de taille égale, la terre au-delà de 90 cm a été jetée.

Lavage des horizons racinaires

Étant donné la longueur de lavage des racines (environ 40 min par carotte), les lavages ont été réalisés sur les carottes issues des deux premiers prélèvements et sur les deux premiers blocs de répétitions pour le troisième prélèvement en vue des mesures des biomasses racinaires et des analyses ADN.

Les segments de carottes de 15 cm de long (horizons A à F) sont placés dans des bacs de repiquage de 1,5 L dans une solution d'eau et de NaCl (sel de cuisine) en concentration approximative de 50 g/L. Les racines sont mises ainsi à tremper entre 2 h et 24 h avant d'en extraire les racines (Vancutsem *et al.* 2012).

L'extraction des racines du sol a été réalisée sur une table-tamis construite spécifiquement pour le projet (Figure 16). Le tamis a une maille de 1,5 mm. Le bac contenant les racines et la terre mélangées est versé sur le tamis. Un tuyau d'arrosage avec une puissance suffisante, mais pas trop concentrée est utilisé pour évacuer la terre. En cas de trop grande puissance, les petites racines risquent de passer à travers le tamis. Une fois que la majorité de la terre est passée à travers le tamis, les racines sont prélevées à la pince à épiler et placées sur un papier torque pour éponger l'eau entourant les racines. Elles sont ensuite placées dans de l'aluminium. Les échantillons sont alors stockés dans un congélateur à -80 °C pour éviter la dégradation de l'ADN avant de les analyser.



Figure 16 : Table-tamis utilisée lors des lavages des horizons racinaires.

Cette technique permet de ne pas prendre les pailles et autres éléments non racinaires. Une autre technique a été testée pour certains échantillons provenant des prélèvements de novembre (Vancutsem *et al.* 2012). Elle a été mise au point à Gembloux et consiste à faire tourner de l'eau dans un sceau. Les particules de sol se dissolvent progressivement et l'échantillon est considéré comme propre lorsque l'eau est claire. D'autres éléments que les racines étaient toujours présents.

3.4.3. Biomasse racinaire

Chaque échantillon racinaire est pesé séparément sur une balance de précision. Les échantillons pour lesquels les masses racinaires ont été effectuées sont les mêmes que ceux qui ont été lavés. La biomasse racinaire ou la densité volumique de racines est donc la masse des racines fraîches dans un volume de terre caractéristique à la portion de carotte. La densité volumique en kg.m⁻³ est donc calculée selon l'équation suivante :

$$M = \frac{\text{masse (g)} * 10000}{\pi R^2 * l} [kg.m^{-3}]$$

Équation 1 : densité volumique de racines

Où R = 2.5 cm et l = 15 cm

3.5. Analyses ADN

Les analyses ADN des racines permettent d'obtenir une localisation des espèces pour chaque échantillon racinaire en fonction des profondeurs de leurs racines. Les analyses ont été réalisées au laboratoire de biologie moléculaire du CRAW, Département Sciences du Vivant, Unité de Génie biologique en collaboration avec Dominique Mingeot et des techniciennes. L'analyse a été réalisée en 2 temps :

1) Mise au point de la méthode :

- Un premier test sur des échantillons issus de plantes en pots pour évaluer les tailles de fragments obtenus pour chaque espèce. Ces valeurs permettront de constituer une « échelle de référence » pour identifier les espèces en mélange par la suite.
- Un second test pour observer les espèces dans des mélanges artificiels à partir des plantes en pots afin d'évaluer le potentiel de chaque espèce à être détectée dans un mélange.

2) Les analyses sur les échantillons du terrain issus des prélèvements de décembre.

Sur les échantillons provenant du champ et lavés, nous avons décidé d'utiliser les échantillons de décembre pour l'analyse finale de l'ADN des racines (Tableau 2). Les prélèvements de cette date sont issus des blocs 1 et 2 de répétitions et nous permettent d'avoir de nous focalisé sur la période où les racines sont au maximum de leur croissance pour cette année.

3.5.1. Mise au point de la méthode

Un travail préliminaire de mise au point des méthodes d'amplification de l'ADN a été réalisé sur des échantillons « purs », spécifique à chaque espèce étudiée. Ceux-ci sont issus de toutes les espèces plantées individuellement en pots dans les serres de Louvain-La-Neuve avec des graines identiques à celles utilisées pour les semis (Figure 17). Les onze espèces étudiées dans les mélanges de couverts ainsi que l'escourgeon dont de nombreuses repousses ont été observées sur le champ ont été semées. Les feuilles et les racines ont été prélevées, nettoyées puis stockées à -80 °C.



Figure 17 : Les douze espèces plantées en pot dans les serres de l'UCL.

Tests sur les espèces « pures »

La première mise au point a été une observation de trois marqueurs chloroplastiques sur l'ADN des feuilles de ces espèces prises individuellement. Les trois marqueurs ont ensuite été testés sur l'ADN des racines de ces mêmes échantillons. Les trois marqueurs sont composés des amorces suivantes (Taberlet *et al.* 1991) :

- trnT-trnL *intergenic spacer* avec les amorces : (5'-ATTACAAATGCGATGCTCT-3') et (5'-TCTACCGATTTCGCCATATC-3')

- trnL intron avec les amorces : (5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3') et (5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3')
- trnL-trnF *intergenic spacer* avec les amorces : (5'-GGTTCAAGTCCCTCTATCCC) et (5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG)

Une des 2 amorces est couplée à un fluorophore IRDye800 pour permettre sa détection sur le séquenceur LI-COR (Westburg) DNA 4300.

Test sur des mélanges artificiels

La deuxième étape de mise au point consiste en un test de mélange d'ADN des racines provenant des espèces individuelles. Les ADN issus des plantes en pots ont été mélangés en proportion égale pour recréer de manière artificielle les mélanges d'espèces présents en champ.

Nous avons finalement choisi d'utiliser seulement les marqueurs trnL-trnF et le trnL intron suite à ces étapes de mises au point (voir 4.6.1).

3.5.2. Analyses d'échantillons de décembre

Matériel issu des essais en champ

Nous avons au départ quatre carottes par zone d'étude pour les couverts et deux carottes pour les références. Au vu du temps nécessaire pour les analyses, nous avons décidé de grouper les échantillons pour réduire leur nombre et avoir une quantité d'ADN suffisante dans les plus basses profondeurs :

- 1) Les échantillons de deux carottes ont été regroupés
- 2) Les échantillons de deux profondeurs ont été regroupés

Quatre échantillons initiaux ne forment donc plus qu'un échantillon combiné (Figure 18). Les analyses ADN porteront sur ces trois profondeurs : 0-30, 30-60 et 60-90 cm.

Pour rappel, les échantillons analysés sont ceux sur les blocs de répétition 1 et 2. Après regroupement, nous avons deux échantillons combinés par couvert et par profondeur pour chaque bloc. Une espèce dans une profondeur peut donc être présente dans 1 à 4 échantillons avec l'exception du traitement sans couvert qui n'ont été analysés que pour le premier bloc.

Pour les références, nous avons un échantillon combiné par profondeur pour chaque bloc. Comme les références sont présentes entre chaque traitement, nous en avons étudié 6 sur le premier bloc et 4 sur le deuxième bloc. Nous avons donc une chance sur 10 de trouver les espèces dans le mélange utilisé pour comme référence (Avoine et Trèfle).

Pour chaque échantillon combiné, nous avons d'abord broyé les racines. Nous avons ensuite extrait l'ADN de ce broyat et évalué la quantité d'ADN obtenue et finalement amplifié les

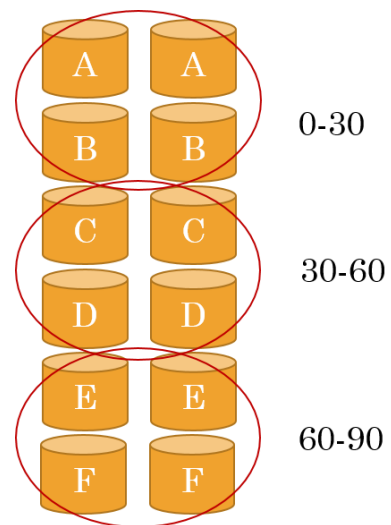


Figure 18 : Regroupement de deux carottes et de deux profondeurs.

séquences correspondantes au marqueur lors d'une PCR. La présence des espèces se visualise sur un gel d'électrophorèse.

Broyage

Le broyage est réalisé avec des pilons et des mortiers stérilisés dans une étuve à 180 °C pendant au moins 12 h.

Le regroupement des quatre échantillons se fait dans le mortier préalablement refroidi à – 80 °C avec de l'azote liquide. Les échantillons sont alors broyés dans ce mortier à l'aide d'un pilon également refroidi à cette température. Le broyage est terminé lorsque les racines forment une poudre uniforme (Figure 19). Les échantillons sont ensuite transférés dans des tubes de 50 ou 20 ml et placés au réfrigérateur de -80 °C en attendant l'extraction de leur l'ADN.



Figure 19 : Broyage des racines dans des mortiers à -80 °C.

Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est réalisée selon un protocole adapté de celui de Doyle et Doyle (1998) étant donné que nous travaillons avec des racines et non des feuilles.

Le protocole complet se trouve en annexe (7.2.1). Nous avons prélevé entre 0,1 et 0,15 g par échantillon broyé et nous en avons extrait et nettoyé l'ADN. À la fin de la manipulation, l'ADN se trouve alors dans une cupule de 2 ml en solution dans 50 µl de TE 1*. Après un traitement à la RNase pendant 30 min à 37 °C, les échantillons sont stockés à -20 °C.

La quantité d'ADN présente dans un échantillon est estimée par mesure spectrophotométrique à l'aide d'un nanodrop. Cette mesure nous permet d'obtenir la concentration de l'ADN dans les cupules en ng/µl. Le nanodrop nous fournit également une évaluation de la qualité de l'ADN à partir des densités optiques (DO). Un rapport de la DO à 260 nm sur celle à 280 nm devrait se situer entre 1,8 et 2 pour avoir un ADN de qualité et de pureté suffisantes. En effet, les acides nucléiques absorbent majoritairement à 260 nm tandis que les protéines absorbent à 280 nm. Lorsque la quantité de protéines est trop importante par rapport à la quantité d'ADN, le rapport DO₂₆₀/ DO₂₈₀ diminue et indique une contamination (Techozyme 2016).

Une fois la concentration connue, une dilution de l'ADN à 20 ng/µl a été effectuée.

PCR : Polymerase Chain Reaction

Les amplifications d'ADN des séquences issues des marqueurs moléculaires trnL intron et trnL-trnF décrit dans la section 3.5.1 sont réalisés dans un mélange composé de :

Tableau 4 : Composition des mélanges PCR pour les deux marqueurs moléculaires étudiés.

trnL- Intron	trnL-trnF
✓ 1 µl ADN	✓ 1 µl ADN
✓ 4 µl Tp PCR 5x	✓ 4 µl Tp PCR 5x
✓ 2 µl dNTPs (2 mM)	✓ 2 µl dNTPs (2 mM)

✓ 2 µl BSA 10 mg/l	✓ 2 µl BSA 10 mg/l
✓ 1.2 MgCl ₂ (25mM)	✓ 1.2 MgCl ₂ (25mM)
✓ 0.3 µl amorce trnL intron (10µM)	✓ 0.3 µl amorce trnL-trnF (10µM)
✓ 0.3 µl amorce trnL intron* (marqué) (10µM)	✓ 0.3 µl amorce trnL-trnF* (marqué) (10µM)
✓ 9.1 µl H ₂ O	✓ 9.1 µl H ₂ O
✓ 0.1 µl Taq 5U	✓ 0.1 µl Taq 5U
= 20 µl	= 20 µl

Les réactifs sont issus de la firme Promega pour la Taq, le MgCl₂ et le tampon, tandis que les dNTPs viennent de chez Thermo Fisher.

Le µl d'ADN est d'abord placé dans les cupules de PCR. Le mélange des réactifs pour la PCR réalisé en grande quantité pour éviter les contaminations et les oublis de l'un des composés. Les amorces marquées sont fortement sensibles à la lumière.

Les cycles d'amplification sont similaires pour le marqueur trnL-Intron et le trnL-trnF. Ils ont été réalisés sur un thermocycleur de marque Bio-Rad. Les cycles sont les suivants :

Tableau 5 : Cycle d'amplification des séquences ADN.

Température	Temps	
⇒ 94°	⇒ 5'	
⇒ 94°	⇒ 1'	x2
⇒ 60°	⇒ 1'	
⇒ 72°	⇒ 1' 20''	
⇒ 94°	⇒ 1'	X33 : diminution de -0,4 °C par cycle
⇒ 59.6°	⇒ 1'	
⇒ 72°	⇒ 1' 20''	
⇒ 72°	⇒ 10'	
⇒ 13°	⇒ Jusqu'au retrait	

Les échantillons sont retirés du thermocycleur puis placés à -20 °C.

Électrophorèse en gel d'acrylamide sur appareil LI-COR (Westburg) DNA 4300⁸

Une électrophorèse en gel d'acrylamide permet une visualisation des résultats. Les échantillons sont placés d'un côté du gel, un courant électrique traverse le gel et permet la migration des fragments d'ADN. Ceux-ci migrent en fonction de leur taille. L'appareil d'électrophorèse LICOR détecte les fragments fluorescents par un laser.

Les échantillons provenant de la PCR sont dilués pour l'électrophorèse. Nous avons testé plusieurs dilutions (200x, 100x et 20x). La dilution 20x permettait une visualisation d'un maximum de signaux.

⁸ https://www.licor.com/bio/applications/dna_sequencing/

Dans l'ensemble du processus d'analyse, une attention est accordée aux échantillons pour éviter les contaminations d'un échantillon à l'autre. Pour observer si le mélange de PCR n'est pas contaminé, un témoin négatif ne contenant aucun ADN est rajouté aux échantillons.

Les résultats d'électrophorèse ont été visualisés et analysés à l'aide du logiciel GeneImagIR. Pour chaque PCR, chaque signal correspondant à une taille d'amplification a été pointé comme détecté (1) ou non détecté (0). Les espèces ont été considérées comme détectées dans un échantillon si elles l'étaient par au moins un des deux marqueurs.

Les résultats obtenus vont être présentés sous forme de pourcentage de fois où l'espèce a été considérée comme détectée au sein des échantillons analysés. Une distinction entre les signaux correspondant au bruit de fond et ceux qui sont suffisamment amplifiés pour être considérés comme réels est faite.

3.6. Analyse des données

3.6.1. Correction des données

Dans un premier temps, les mesures effectuées ont été corrigées. En effet, au vu de l'hétérogénéité spatiale, une correction des mesures en fonction des références qui les juxtaposent est nécessaire. Pour l'ensemble des mesures, nous avons réalisé cette correction :

$$\text{Mesure corrigée (x)} = \text{Mesure (x)} + \text{Moyenne des mesures des références} - \text{Mesure de la référence (x-1)}$$

Équation 2 : Correction des mesures en fonction des références qui les juxtaposent.

Où x est la position sur laquelle la mesure a été réalisée et où la moyenne des mesures des références est calculée sur base de l'ensemble des valeurs obtenues à la même date de mesure.

Dès lors, lorsque la valeur de la référence (x-1) est plus élevée que la moyenne des références, la valeur de la différence entre ces deux dernières est retirée à celle du couvert et inversement. Grâce à cette correction, les mesures sont normalisées et peuvent être comparées entre elles.

La valeur du mélange de référence (composée d'avoine et de trèfle) est calculée sur la bande prévue à cet effet (pour la biomasse aérienne par exemple) (bande 18 sur la Figure 9). Dans la plupart des cas, nous n'avons pas calculé la valeur de la bande de traitement spécifique à ce mélange. La moyenne des références calculée pour réaliser la correction sera alors utilisée.

3.6.2. Analyses statistiques

Les inférences statistiques ont été calculées selon la méthodologie développée au cours de biométrie LBIRA2101. Les analyses ont été réalisées sur le logiciel R (version 3.4.4) en utilisant principalement les fonctions *aov* pour les ANOVA et *HSD.test* issu du package « agricolae » pour les tests de comparaison de moyennes (test de Tukey). Les analyses sont réalisées sur base du cours de Govaerts and Draye (2016).

Les résultats seront donc présentés dans la partie quatre de ce mémoire. Une première partie présentera les résultats des mesures réalisées en commun avec les étudiants travaillant sur la même parcelle expérimentale. La deuxième partie des résultats présentera les données issues des mesures de densité de racines et la dernière partie présentera les analyses ADN qui ne seront pas analysées statistiquement.

Chaque mesure réalisée correspond à une variable quantitative qu'il est possible d'expliquer au moyen de variables catégorielles également appelées facteurs de classifications. Ces facteurs vont dépendre des mesures. L'ensemble des mesures est caractérisé par un facteur de classification commun, le facteur « traitement ». Celui-ci comporte cinq niveaux correspondants aux cinq traitements différents (sans couvert, moutarde, 2, 5 et 10 espèces).

R² et R²_{ajusté}

Le R² d'un modèle est le coefficient de détermination du modèle. Il exprime la part de variabilité expliquée par le modèle et donc renseigne sur la qualité de prédiction d'un modèle linéaire. Il permet également de comparer des modèles entre eux.

$$R^2 = 1 - \frac{SSE}{SST} \text{ et } R^2_{ajusté} = 1 - \frac{MSE}{MST} = 1 - \frac{SSE/N - k}{SST/k - 1}$$

$$SST = SSM + SSE \rightarrow \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y})^2 = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_i - \bar{Y})^2 + \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2$$

Équation 3 : Coefficient de détermination (R²) et coefficient de détermination ajusté (R²_{ajusté}) en fonction des degrés de liberté. Décomposition de la Sum of Square total (SST).

Où :

- SST = estimation de la variabilité totale des données
- SSE = estimation de la variabilité des résidus (à l'intérieur d'un traitement)
- SSM = estimation de la variabilité entre les traitements
- Y_i = mesures du niveau i du traitement
- Y_{ij} = mesures j à l'intérieur du niveau i du traitement
- $\bar{Y}_i$ = moyenne du traitement i
- $\bar{Y}$ = moyenne de l'ensemble des mesures
- N – k = degré de liberté des résidus
- k – 1 = degré de liberté des traitements

Nous utiliserons le R²_{ajusté} pour expliquer la qualité des modèles.

Mesures communes : Couverture du sol

La couverture du sol peut être également expliquée par le facteur « densité de semis » (D1 et D2).

L'évolution de la couverture du sol peut être comparée à une expansion foliaire progressive qui peut être décrite selon l'équation suivante (Demotes-Mainard *et al.* 2013) :

$$L_{(i,t)} = \frac{L_{max}}{1 + \exp(4 * \frac{V_{(i)}}{L_{max}} * (t_{0(i)} - t))} \text{ où :}$$

Équation 4 : Évolution de la couverture du sol (%) en fonction de la couverture maximale du sol, de la vitesse d'expansion foliaire au point d'inflexion et du nombre de jours après le semis au point d'inflexion.

- L_(i, t) = couverture du sol prédite en fonction du temps et du traitement observé (i) [%]
- i = niveau du facteur « Traitement » ou « Densité de semis »
- t = nombre de jours après le semis
- L_{max} = couverture du sol maximum (=100 %)

- $V_{(i)}$ = taux d'expansion au point d'inflexion (taux maximal d'expansion) [% . jour⁻¹]
- $t0_{(i)}$ = nombre de jours après le semis au point d'inflexion (correspond au temps de la moitié de l'expansion) [jours]

Des ANOVA 1 de comparaison de moyennes ont été réalisées pour les deux paramètres et pour les deux facteurs.

Le modèle de Gompertz a également été testé pour observer l'évolution de la couverture du sol (Bodner *et al.* 2010). Cependant, nos résultats ont montré que le R^2 moyen de ce modèle est plus faible que celui réalisé pour le modèle décrit dans l'Équation 4 ($R^2 = 0.62$ contre $R^2 = 0.8$). Nous avons donc choisi de modéliser les mesures de la couverture du sol en fonction décrit par Demotes-Mainard *et al.* (2013).

Mesures communes : Green Area Index

Une ANOVA 1 de comparaison de moyennes en fonction du facteur « traitement » a été réalisée.

Mesures communes : Biomasse aérienne

Les mesures de biomasse aérienne ont été entrées dans une ANOVA 2 en fonction des facteurs de densité de semis et de traitements. Nous avons donc comparé les moyennes des différents traitements en fonction des deux densités de semis mesurés.

Nous avons également effectué une régression linéaire sur la biomasse racinaire en fonction du nombre d'espèces présentes dans les traitements observés.

Mesures racinaires : Densité d'impacts de racines

Pour les mesures de densité d'impact de racines, d'autres facteurs entre en ligne de compte, les facteurs « Date de prélèvement » et « Profondeur ». Malgré leurs tendances quantitatives, ces facteurs seront considérés comme catégoriels. En effet, pour les mesures de profondeur, il est possible de démontrer l'indépendance entre les mesures d'une profondeur par rapport aux mesures de la profondeur suivante. Il est également possible de le faire d'une date à l'autre.

Nous avons dans un premier temps réalisé une ANOVA 3 des mesures de densité racinaire en fonction des trois facteurs : « traitement », « date de prélèvement » et « profondeur ». Le facteur « date de prélèvement » a été supprimé en ne sélectionnant qu'une date. Une ANOVA 2 sur les deux facteurs restants a donc ensuite été réalisée ainsi que des ANOVA 1 en comparant les traitements pour chaque profondeur prise individuellement.

Mesures racinaires : Biomasse racinaire

Les mesures de biomasse racinaire présentent les mêmes caractéristiques que les mesures de densité d'impacts de racines. Les analyses statistiques réalisées sur cette variable sont donc similaires à la variable des densités d'impacts de racines.

4. Résultats

Les résultats présentent une visualisation des données obtenues à partir des différentes méthodes expliquées dans la partie précédente. À partir de celles-ci différents tests statistiques ont été effectués afin de comprendre les traitements qui sont significativement différents des autres ($\alpha=0,05$).

Les résultats des mesures communes sont présentés dans les quatre mémoires traitant des couverts végétaux et sont ici expliqués dans la première partie de mes résultats. Les parties spécifiques à l'étude des racines sont ensuite développées.

4.1. Mesures communes

4.1.1. Couverture du sol

La couverture du sol a été mesurée approximativement toutes les semaines après le semis des couverts (Tableau 2) et a été modélisée selon l'Équation 4.

Les deux paramètres variables à estimer sont donc $V_{(i)}$ et $t0_{(i)}$. Le modèle général d'évolution de la couverture du sol pour l'ensemble des traitements et les deux densités confondues nous donne une première estimation des paramètres. Le nombre de jours après le semis nécessaire pour atteindre 50 % du sol couvert ($t0_{[i]}$) est estimé à 29,34 jours pour l'ensemble des mesures et le taux d'expansion à ce moment-là ($V_{[i]}$) est estimé à une croissance de 3,96 % par jour. Lorsqu'on compare ces deux paramètres pour les deux densités de semis, nous obtenons le Tableau 6 :

Tableau 6 : Estimations et écarts-types des paramètres du modèle de l'évolution de la couverture du sol des couverts végétaux selon les 2 densités (D1 et D2).

Densités de semis	Estimation V	Écart-type V	Estimation t0	Écart-type t0
D1	3,98	+/- 0,38	29,38	+/- 0,61
D2	3,92	+/- 0,42	29,29	+/- 0,69

Nous avons observé qu'il n'y a pas de différence significative entre la D1 et la D2 pour l'évolution de la couverture du sol. Étant donné que nous nous intéressons principalement à la D1, la suite des résultats de couverture du sol s'appliquera seulement pour cette densité.

Pour l'évolution de la couverture du sol en fonction des différents traitements, nous pouvons observer que la moutarde suit une cinétique de mise en place légèrement différente et que le couvert de 5 espèces semble prendre le dessus par rapport aux autres traitements (Figure 20).

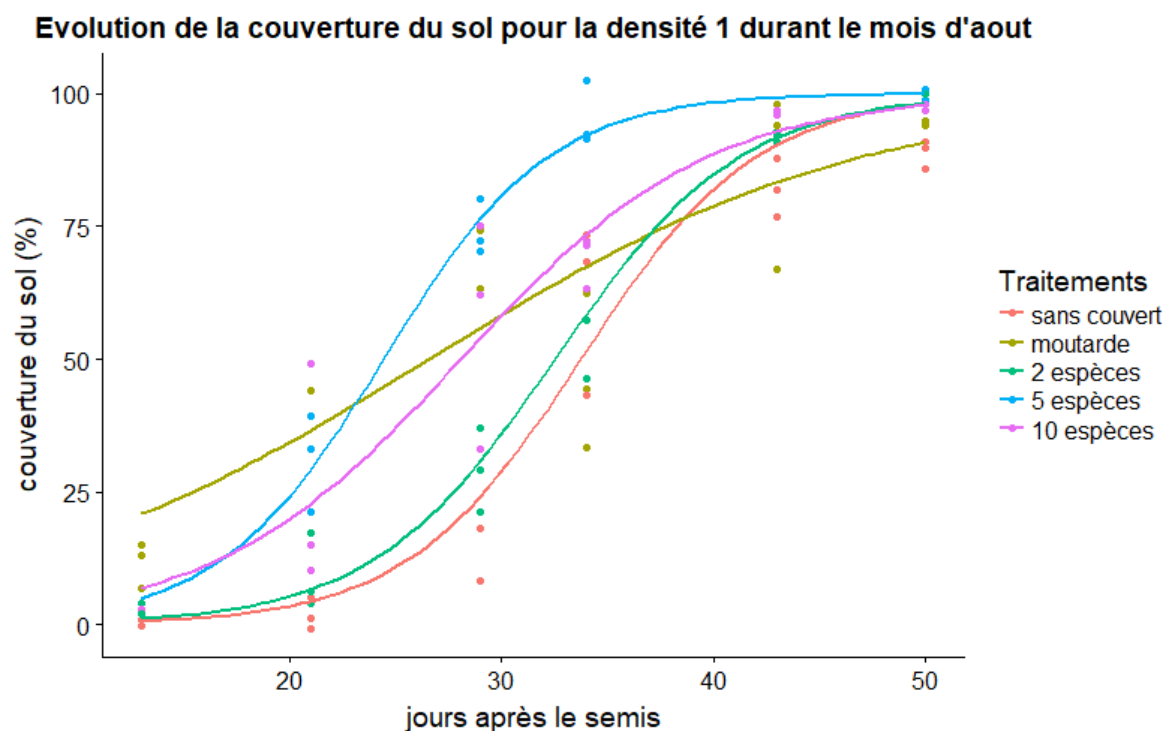


Figure 20 : évolution de la couverture du sol (%) pour les différents traitements avec une estimation de la dynamique de croissance selon le modèle défini. Les couverts ont été semés le 20 juillet 2017.

Après analyse statistique des paramètres (test de Tuckey), le paramètre du taux de croissance ($V_{[i]}$) ne présente pas de différence significative entre les différents traitements (Tableau 7). L'analyse du paramètre $t0_{(i)}$ fait ressortir différents groupes. Les traitements de 5 espèces, moutarde et 10 espèces s'installent plus rapidement que les autres avec une couverture de 50 % du sol après respectivement 24, 27 et 28 jours après le semis.

Lorsqu'on observe les R^2 , les modèles qui expliquent le mieux la variabilité des résultats sont les modèles de 5 et de 10 espèces.

Tableau 7 : Estimation et écarts-types des paramètres du modèle de l'évolution de la couverture du sol ($V_{[i]}$ - taux d'expansion au point d'inflexion et $t0_{[i]}$ - nombre de jours après le semis au point d'inflexion) selon les différents traitements pour la D1. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes. Au plus un R^2 est élevé au plus la qualité du modèle est grande.

Traitements	Estimation V	σV	Estimation $t0$	$\sigma t0$	Groupe	R^2
sans couvert	6,02	+/- 1,12	33,75	+/- 0,78	A	0,73
moutarde	2,45	+/- 0,35	26,59	+/- 1,32	BC	0,76
2 espèces	5,72	+/- 1,06	32,51	+/- 0,77	AB	0,75
5 espèces	6,43	+/- 1,06	24,41	+/- 0,80	A	0,90
10 espèces	4,29	+/- 0,66	28,07	+/- 0,93	ABC	0,85

4.1.2. Comptage d'espèces

Les comptages d'espèces nous donnent un aperçu des espèces et des proportions d'espèces au sein des différentes bandes de traitements.

Les pourcentages d'espèces attendues dans chaque traitement en fonction des proportions de semences dans les mélanges et les pourcentages d'espèces présentes sous les deux densités de

semis ont été établis pour les deux dates d'observation (Tableau 8). Pour ces deux dates, il n'y a pas de différence significative entre les traitements. Il est possible d'en ressortir que l'escourgeon est présent dans les observations suite aux repousses. Cependant, leur proportion est plus faible pour la D2. L'avoine brésilienne est largement sous les attentes sur base des proportions de semences, ce qui peut être lié à sa morphologie fortement similaire à celle de l'escourgeon au stade jeune pousse. Le nyger dans le traitement de 10 espèces également est observé en plus faible proportion par rapport à ce qu'on en attendrait. Les autres espèces présentent des proportions observées dans les mêmes gammes de valeurs que celles attendues sur base des proportions de semences. Nous avons pu observer la présence de chénopodes blancs sur la parcelle sans couvert. D'autres adventices ont pu être observées sur les autres traitements.

Tableau 8 : Pourcentages attendus en fonction des proportions de semences, observés en D1 et observés en D2 des différentes espèces présentes dans les couverts en moyenne sur les deux dates d'observations (1/09 et 08/09/2017).

Traitements	Espèces	% attendus	% observé D1	% observé D2
sans couvert	Sans couvert/Escourgeon		100,00 %	
moutarde	Moutarde	100,00 %	66,67 %	77,1 %
	escourgeon	0,00 %	33,33 %	22,9 %
2 espèces	Avoine brésilienne	34,30 %	4,76 %	15,4 %
	Trèfle Alexandrie	65,70 %	54,76 %	67,3 %
	escourgeon	0,00 %	40,48 %	17,3 %
5 espèces	Avoine brésilienne	17,00 %	1,06 %	5,1 %
	Trèfle Alexandrie	46,40 %	34,04 %	28,2 %
	Lin	6,05 %	5,32 %	11,5 %
	Phacélie	28,82 %	29,79 %	39,7 %
	Tournesol	1,73 %	3,19 %	2,6 %
	escourgeon	0,00 %	26,60 %	12,8 %
10 espèces	Avoine brésilienne	7,56 %	1,11 %	0,0 %
	Trèfle Alexandrie	25,51 %	22,22 %	23,3 %
	Lin	13,54 %	13,33 %	11,1 %
	Phacélie	31,50 %	24,44 %	30,0 %
	Tournesol	1,89 %	1,11 %	2,2 %
	Nyger	10,39 %	3,33 %	1,1 %
	Sarrasin	3,78 %	4,44 %	5,6 %
	Radis chinois	2,20 %	3,33 %	5,6 %
	Vesce commune	2,83 %	6,67 %	7,8 %
	Féverole	0,79 %	1,11 %	0,0 %
	escourgeon	0,00 %	18,89 %	13,3 %

La Figure 21 nous montre que les couverts de 5 et 10 espèces présentent le plus grand nombre d'individus observés et que la quantité d'escourgeon est à peu près similaire pour tous les traitements sauf pour le traitement sans couvert qui compte plus de 50 par m². Nous pouvons également observer que le nombre d'individus en D2 est significativement plus faible pour le traitement de 5 espèces, alors qu'il est plus élevé pour la moutarde et le mélange de 2 espèces (sans être pour autant significativement différent).

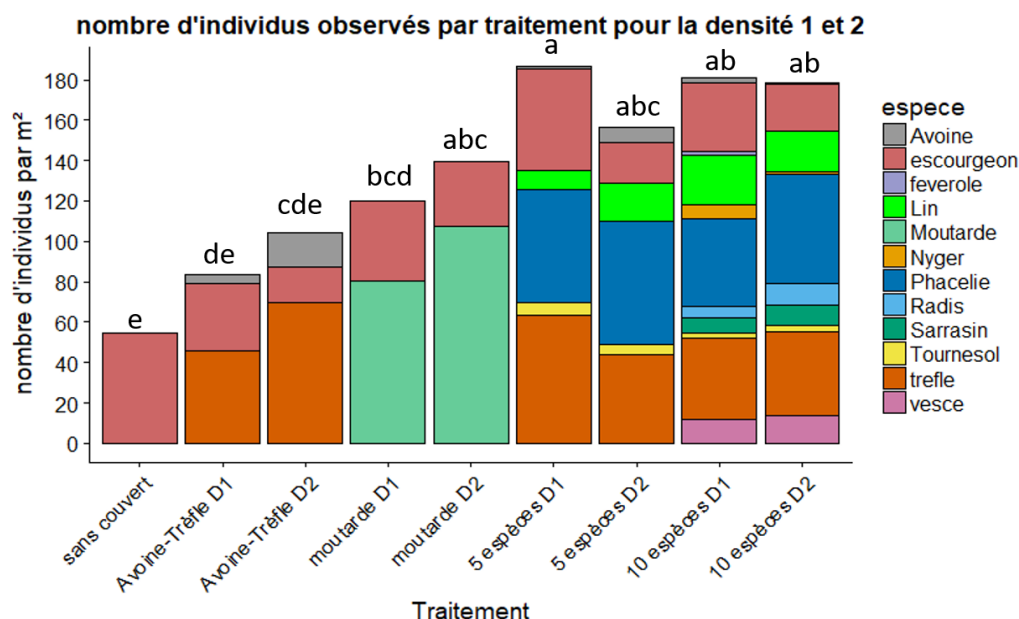


Figure 21 : Nombre d'individus présents par espèces par m² dans les différents traitements pour la D1 et la D2. En moyenne pour les 2 dates d'observations. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

4.1.3. Green Area Index

Une observation rapide des surfaces vertes totales (tiges et feuilles) sur la Figure 22 laisserait croire qu'il y a une différence entre les traitements comportant des mélanges d'espèces. En effet, le Tableau 9 expose que les moyennes des traitements de 10 espèces et 2 espèces possèdent des GAI légèrement au-dessus de 5 en comparaison avec ceux des traitements sans couvert et moutarde qui sont inférieurs à 1. Toutefois, après analyse statistique de type ANOVA du GAI en fonction du facteur « Traitement », les moyennes des traitements ne présentent pas de différence significative. Le R^2 est de 0,13. Ce qui montre que seulement 13 % de la variabilité des mesures est expliquée par le facteur traitement.

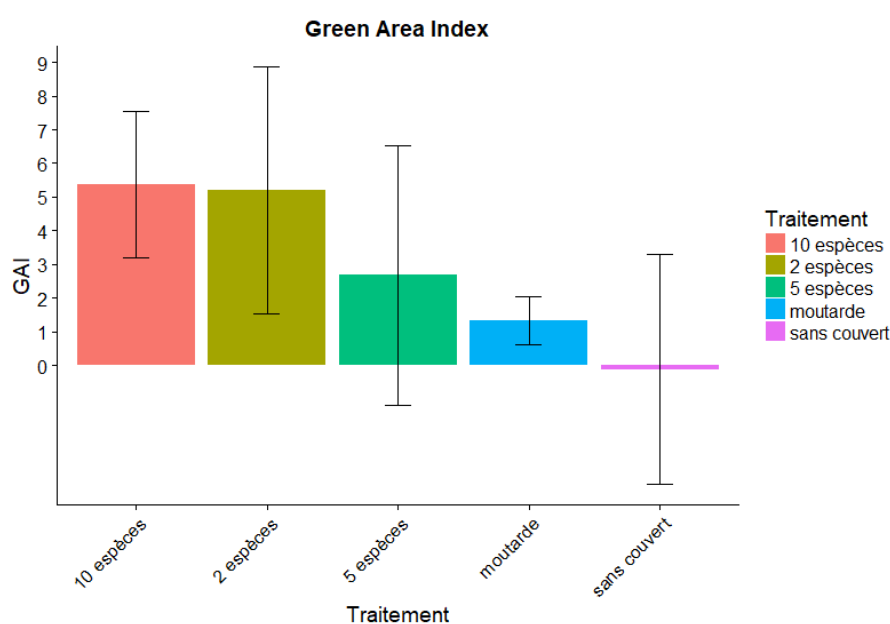


Figure 22 : Green Area Index en fonction des différents traitements réalisé la semaine du 18 octobre pour la D1.

Tableau 9 : Moyennes et écarts-types des mesures de GAI pour les différents traitements.

Traitements	μ [-]	σ
sans couvert	-0,12	+/- 3,40
moutarde	1,32	+/- 0,71
5 espèces	2,66	+/- 3,85
10 espèces	5,38	+/- 2,17
2 espèces	5,19	+/- 3,67

4.1.4. Biomasse aérienne

La biomasse aérienne est une variable quantitative qui peut être expliquée par deux facteurs catégoriels : « densité de semis » et « Traitement ». Une première ANOVA 2 de la biomasse en fonction de la densité de semis et des traitements nous montre qu'il y a une différence entre la D1 et la D2 (p-valeur < 0,05) (Tableau 10), cette deuxième est la plus élevée. Le R^2 du modèle est de 0,70. Donc, 70 % de la variabilité de la biomasse est expliquée par les densités de semis et les traitements, mais il n'y a pas d'interaction entre les deux.

Tableau 10 : Moyennes et écarts-types des mesures de biomasse aérienne (T de MS.ha⁻¹) pour les densités de semis D1 et D2. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Densités de semis	μ (T de MS.ha ⁻¹)	σ	Groupe
D1	3,24	+/- 1,46	A
D2	4,15	+/- 1,57	B

Nous savons donc que la densité de semis a un impact sur la biomasse. Nous nous intéressons maintenant aux différences entre traitements pour la D1. L'ANOVA 1 montre des différences significatives entre les traitements. En effet, le test de Tukey relève une différence entre les mélanges de 5 et 10 espèces dont les moyennes de biomasse sont respectivement de 4,00 et 4,90 T de MS.ha⁻¹, d'une part, et les traitements sans couvert et moutarde, d'autre part (Tableau 11). Le mélange de 2 espèces n'est pas significativement différent d'aucun autre traitement. Les teneurs en matière sèche de ce traitement sont les plus faibles tandis que la moutarde a les plus élevées.

Tableau 11 : Moyennes et écarts-types des mesures de biomasse aériennes en fonction du facteur « Traitement » pour la D1. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes. Et teneurs en matière sèche des traitements (%).

Traitements	μ (T de MS.ha ⁻¹)	σ	Groupe	Teneur en MS (%)
Sans couvert	1,83	+/- 0,48	B	17,86
Moutarde	1,73	+/- 0,46	B	24,39
2 espèces	3,77	+/- 0,63	AB	9,82
5 espèces	4,00	+/- 0,87	A	13,42
10 espèces	4,90	+/- 1,22	A	13,45

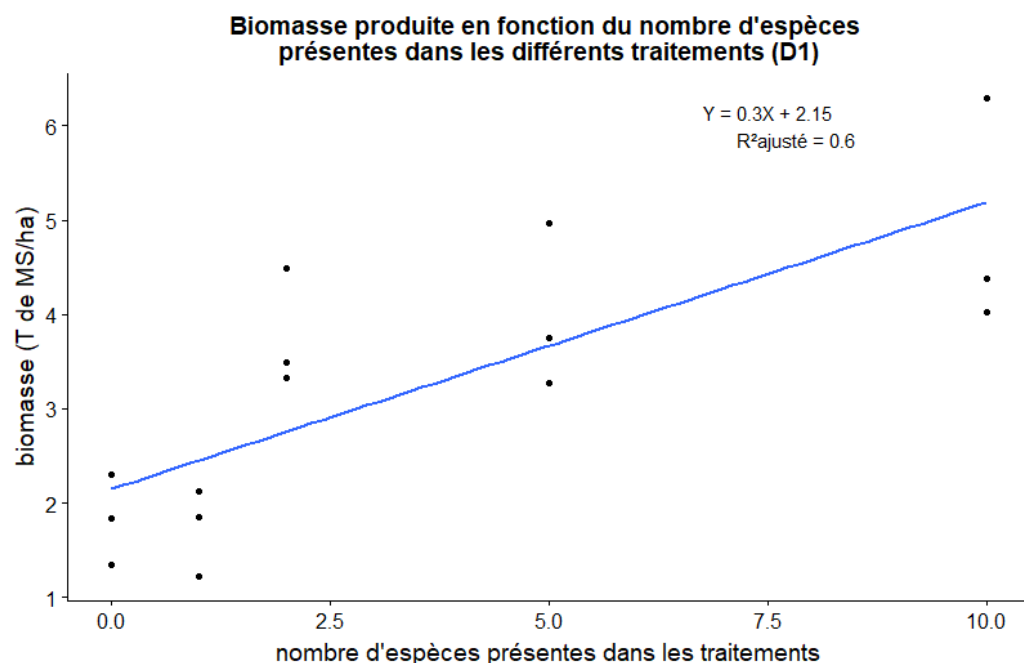


Figure 23 : Régression linéaire de la biomasse aérienne en fonction du nombre d'espèces dans les mélanges.

Nous avons également observé la biomasse aérienne en fonction du nombre d'espèces présentes dans les traitements (Figure 23). Nous pouvons observer pour la D1 que lorsqu'on ajoute une espèce au mélange, il produira en moyenne 300 kg de MS. ha⁻¹ en plus. Par contre, cette tendance n'est pas vérifiée pour la D2 qui présentait un R² négatif.

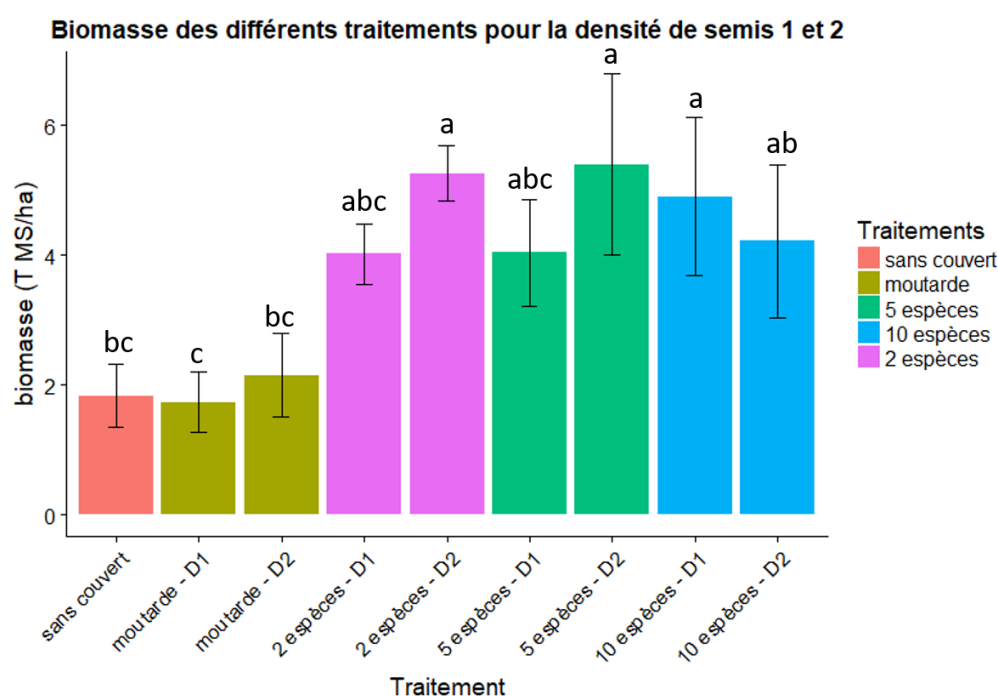


Figure 24 : Biomasse aérienne (T de MS.ha⁻¹) prélevée le 18 décembre 2017 en fonction des différents traitements pour la D1 et la D2. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Une analyse plus approfondie de la biomasse pour les différents traitements en fonction de D1 et de D2 nous montre que l'augmentation de densité de semis fait augmenter la production de biomasse pour tous les traitements à l'exception du traitement de 10 espèces (Figure 24).

4.2. Mesures de densité d'impacts racinaires

Trois facteurs de classification caractérisent la variable quantitative générée par les mesures de *core-break*. Dans un premier temps, l'indépendance des facteurs « Date de prélèvement », « Traitement » et « Profondeur » est vérifiée afin que la première hypothèse de l'ANOVA soit respectée. Les autres hypothèses ont également été testées et vérifiées.

Un premier modèle prenant en compte ces trois facteurs (ANOVA 3) nous donne un R^2 de 0,59. L'analyse d'ANOVA 3 des densités d'impacts racinaires en fonction des dates de prélèvement, des traitements et des profondeurs donne une p-valeur sous 0,05 pour les trois facteurs (Tableau 12). L'interaction entre les dates et les traitements, celle entre les traitements et les profondeurs, et l'interaction entre les trois facteurs sont significatives.

Tableau 12 : Table d'ANOVA 3 des mesures de densité d'impacts racinaires en fonction des traitements, des dates de prélèvement et des profondeurs. Le caractère significatif de la p-valeur se lit comme suit : $0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05$. Au plus un R^2 est élevé au plus la qualité du modèle est élevée.

	Degré de liberté	F	P-valeur	Significatif ?	R^2
Dates	1	39,14	$5,43.10^{-10}$	***	0,59
Traitement	4	4,98	0,00055	***	
Profondeur	1	1704,99	$< 2.10^{-16}$	***	
Dates*Traitement	4	5,85	0,00012	***	
Dates*profondeur	1	1,63	0,21		
Traitement*profondeur	4	2,05	0,085	*	
Dates*Traitement*profondeur	4	4,45	0,0014	**	

4.2.1. Dates de prélèvement

Lorsqu'on compare les moyennes de densité d'impacts racinaires deux à deux pour les différentes dates de prélèvement (test de Tukey), on obtient les moyennes et écarts-types présents dans le Tableau 13. Malgré des écarts-types qui paraissent très élevés, les p-valeurs issues du test de comparaison des moyennes sont inférieurs à 0,05 lorsqu'on compare les deux premières dates avec celle de décembre. Ces grands écarts-types peuvent être expliqués par le fait qu'on observe les moyennes d'impacts pour toutes les profondeurs et tous traitements confondus.

Tableau 13 : Moyennes et écarts-types des densités racinaires pour les différentes dates de prélèvement. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Dates	μ (nombre d'impacts.m ⁻²)	σ	Groupe
18 octobre	5963,86	+/- 6058,6	B
08 novembre	6049,26	+/- 5352,4	B
04 décembre	7375,65	+/- 6304,1	A

Nous pouvons en déduire que la quantité d'impact racinaire est plus importante en décembre que précédemment.

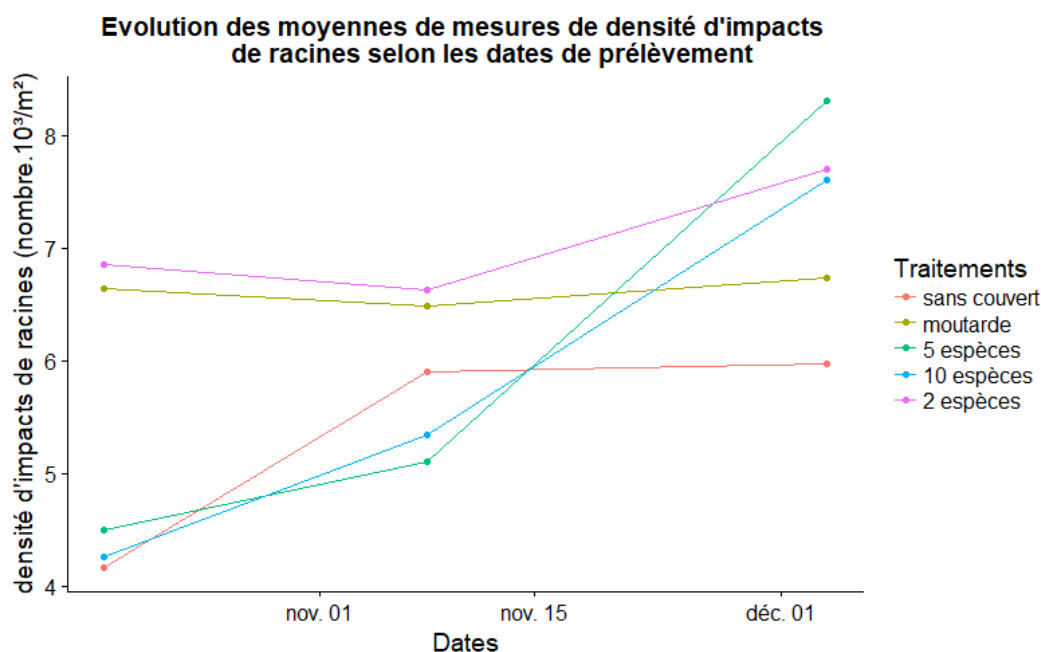


Figure 25 : Evolution de la densité d'impacts racinaires pour les différentes dates de prélèvements et selon les traitements.

La Figure 25 nous montre les interactions entre les dates et les traitements. Les traitements de 5 et 10 espèces présentent une forte augmentation du nombre d'impacts de racines entre le prélèvement de novembre et celui de décembre. Tandis que la moutarde et le mélange de 2 espèces évoluent peu.

En réalisant des analyses par traitement et par profondeur pour les différentes dates de prélèvements, nous avons pu observer qu'il y a des différences significatives entre les dates pour les traitements comportant des mélanges d'espèces. Les différences observées dans le Tableau 13 sont dues à ces mélanges dont le nombre d'impacts racinaires augmente significativement entre le prélèvement de novembre et celui de décembre. Une figure représentant cette évolution est présente dans l'Annexe 7.3.

Étant donné que les données de décembre couvrent les trois blocs de répétitions pour ces mesures, les analyses suivantes se feront uniquement sur cette date. Cela permet d'évaluer les densités d'impacts au moment où les racines sont au maximum de leur croissance.

4.2.2. Profondeur

Le Tableau 12 nous montre que les profondeurs et les traitements ont au moins une moyenne différente des autres. Pour les prélèvements de décembre, l'analyse d'ANOVA 2 des densités d'impacts racinaires selon le facteur « profondeur » et le facteur « traitement » donne un modèle expliquant 59 % de la variabilité des résidus. Le R^2 de ce modèle est de 0,59.

Dans le Tableau 14, nous pouvons observer que les moyennes pour les profondeurs tous traitements confondus varient peu au-dessus de 30 cm et qu'elles sont maximums à 22,5 cm de profondeur. De ces profondeurs, quatre groupes ressortent : le groupe A au-dessus de 30 cm, le groupe B à 30 cm puis les groupes C et D correspondant aux zones plus profondes.

Tableau 14 : Moyennes et écarts-types des densités d'impacts racinaires selon le facteur « Profondeur ». Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Profondeurs (cm)	μ (nombre d'impacts.m ⁻²)	σ	Groupe
7.5	13 012,1	+/- 4 916,4	A
15	12 577,8	+/- 5 307,9	A
22.5	13 179,6	+/- 6 425,5	A
30	8 292,9	+/- 4 306,1	B
45	4 670,1	+/- 2 641,3	C
60	3 276,4	+/- 2 678,4	CD
75	2 115,9	+/- 1 578,8	D
90	1 435,5	+/- 1 116,4	D

4.2.3. Traitements

L'analyse de ce facteur est plus complexe que pour les autres. Nous l'avons donc réalisé en quatre temps et toujours sur le prélèvement de décembre.

- 1) Tout d'abord, une analyse générale des densités d'impacts racinaires en fonction des traitements toutes profondeurs confondues a permis de comprendre les enjeux derrière ceux-ci.
 - 2) Ensuite, les données ont été visualisées par profondeur.
 - 3) Puis, une analyse des densités d'impacts pour le facteur « Traitement » a été effectuée en fonction de chaque profondeur.
 - 4) Enfin, des regroupements par zone d'intérêt ont permis une dernière analyse.
- 1) Les traitements ont un effet significatif sur le nombre d'impacts racinaires dans le sol toutes profondeurs confondues (Tableau 15). Le traitement de 5 espèces est significativement supérieur à celui du traitement sans couvert. Les écarts-types élevés peuvent être expliqués par les écarts entre les profondeurs.

Tableau 15 : Moyennes et écarts-types des densités d'impacts racinaires selon le facteur « Traitement ». Des lettres de groupe identique signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Traitements	μ (nombre d'impacts.m ⁻²)	σ	Groupe
Sans couvert	6 155,0	+/- 6 020,0	B
Moutarde	6 941,2	+/- 5 810,1	AB
2 espèces	7 702,0	+/- 5 366,6	AB
5 espèces	8 388,1	+/- 7 098,4	A
10 espèces	7 675,2	+/- 6 996,4	AB

- 2) Il est maintenant intéressant d'essayer de comprendre quels sont les mélanges dont le nombre d'impacts racinaire est le plus important pour chaque profondeur étudiée. Pour ce faire, une première visualisation des données des impacts en fonction de la profondeur pour chaque traitement donne lieu à la Figure 26. Nous pouvons en ressortir que les densités d'impacts diminuent fortement au niveau de la semelle de labour (vers 30 cm). Le traitement sans couvert semble contenir moins de racines que les autres traitements.

- 3) Des ANOVA 1 comparant les moyennes de densité d'impacts racinaires selon le facteur « Traitement » pour chaque profondeur prise individuellement ont été réalisées. Nous avons constaté qu'il n'y a aucune différence significative entre les traitements, et ce pour toutes les profondeurs prises individuellement.
- 4) Les découpages montrent une différence pour les horizons sélectionnés (Tableau 16). Lorsqu'on regarde en surface (entre 0 et 22,5 cm), une différence significative est observable entre les traitements de 2 et 5 espèces par rapport à la moutarde. Entre 30 cm et 60 cm, nous pouvons constater que le traitement de 10 espèces est différent du traitement sans couvert. Sous les 60 cm, les traitements de 5 et de 10 espèces sont significativement supérieurs au traitement sans couvert.

Tableau 16 : Moyennes et écarts-types des densités d'impacts racinaires (nombre d'impacts. $10^3.m^{-2}$) pour les différents traitements et selon des horizons. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Traitements	0 à 22,5 cm			30 à 60 cm			75 à 90 cm		
	μ	σ	Groupe	μ	σ	Groupe	μ	σ	Groupe
sans couverts	11,9	+/-5,5	AB	3,4	+/-3,4	B	0,8	+/-1,5	B
moutarde	11,2	+/-5,7	B	5,7	+/-3,9	AB	1,6	+/-2,0	AB
2 espèces	13,9	+/-3,9	A	5,5	+/-3,5	AB	1,6	+/-1,2	AB
5 espèces	15,2	+/-5,7	A	5,7	+/-4,9	AB	2,0	+/-1,4	A
10 espèces	12,6	+/-0,5	AB	6,3	+/-4,0	A	2,1	+/-1,7	A

Pour le mois de décembre où la densité d'impacts racinaires est la plus élevée, nous observons 3 horizons différents. Une zone au-dessus des 30 cm, dans laquelle le traitement de 5 espèces est supérieur en termes de nombre d'impacts. Sous 30 cm, les 2 horizons présentent les mêmes caractéristiques. Le traitement de 10 espèces présente un nombre supérieur d'impacts racinaires par m^2 .

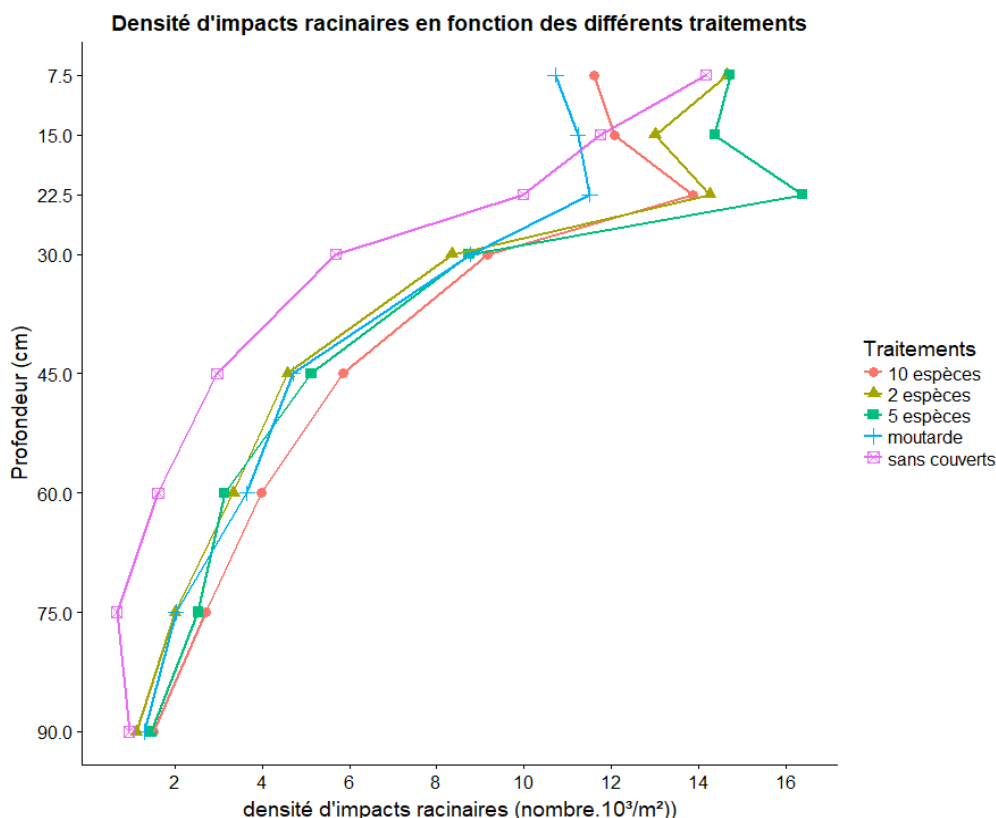


Figure 26 : Densité d'impacts racinaires moyens (nombre d'impact. m^{-2}) en fonction de la profondeur pour les différents traitements. Issus des prélèvements de décembre 2017.

4.3. Trou de vers de terre

Les trous de vers de terre seront analysés par Adeline Lefèvre travaillant sur la macrofaune.

4.4. Biomasse racinaire

Une première étude ANOVA 3 sur la biomasse racinaire en fonction des dates de prélèvements, des traitements et des profondeurs présente des effets significatifs pour tous les facteurs et toutes les interactions. Une observation des différences entre les dates révèle de fortes disparités entre celles-ci. En décembre, nous pouvons observer $0,45 \text{ kg.m}^{-3}$ de racines en moyenne avec un écart-type de $\pm 0,65$. En octobre et en novembre, des densités moyennes de plus de 1 kg.m^{-3} ont été mesurées avec des écarts-types de plus de 1,8. Étant donné la variabilité importante des mesures de biomasse racinaire pour les deux premières dates de prélèvement et les analyses réalisées sur le prélèvement de décembre pour les autres analyses, nous travaillerons avec ce prélèvement. Cette fois-ci, nous avons seulement deux blocs de répétitions pour les mesures (Tableau 2).

Une ANOVA 2 sur la biomasse racinaire en fonction des traitements et des profondeurs nous indique que les deux facteurs sont significatifs ainsi que l'interaction des deux (Tableau 17).

Tableau 17 : Table d'ANOVA 2 des mesures de biomasse racinaires en fonction des traitements et des profondeurs. Le caractère significatif de la p-valeur se lit comme suit : $0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05$. Le R^2 du modèle est également renseigné.

	Degré de liberté	F	P-valeur	Significatif ?	R^2
Traitement	4	5,653	0,000218	***	0,36
Profondeur	1	122,45	$< 2.10^{-16}$	***	
Traitement*Profondeur	4	5,85	0,00016	***	

Une première observation de la biomasse racinaire en fonction de la profondeur nous montre qu'au-dessus de 30 cm, il y a significativement plus de biomasses racinaires que dans les horizons les plus profonds tous traitements confondus. Comme pour les mesures des densités d'impacts racinaires, des ANOVA 1 en fonction de chaque profondeur ont été réalisées. Nous avons découvert que dans les 15 premiers cm ainsi qu'entre 15 et 30 cm, le traitement de 2 espèces a significativement plus de racines que le traitement moutarde. Des analyses par horizons identiques à celles réalisées pour les mesures de densité d'impacts racinaires nous montrent que les traitements de 2 et de 5 espèces sont significativement différents de la moutarde lorsqu'on prend les profondeurs au-dessus de 30 cm (Figure 27). Les horizons sous 30 cm ne montrent pas de différence.

En moyenne de 75 % de la biomasse se trouve au-dessus de 30 cm. Le traitement sans couvert aura plus de 90 % de sa biomasse concentré dans les 30 premiers cm tandis que la moutarde y aura seulement 50 % de sa biomasse. Les traitements de 2, de 5 et de 10 espèces auront respectivement 77, 87 % et 70 % de leur biomasse racinaire se situant dans les profondeurs au-dessus de la semelle de labour.

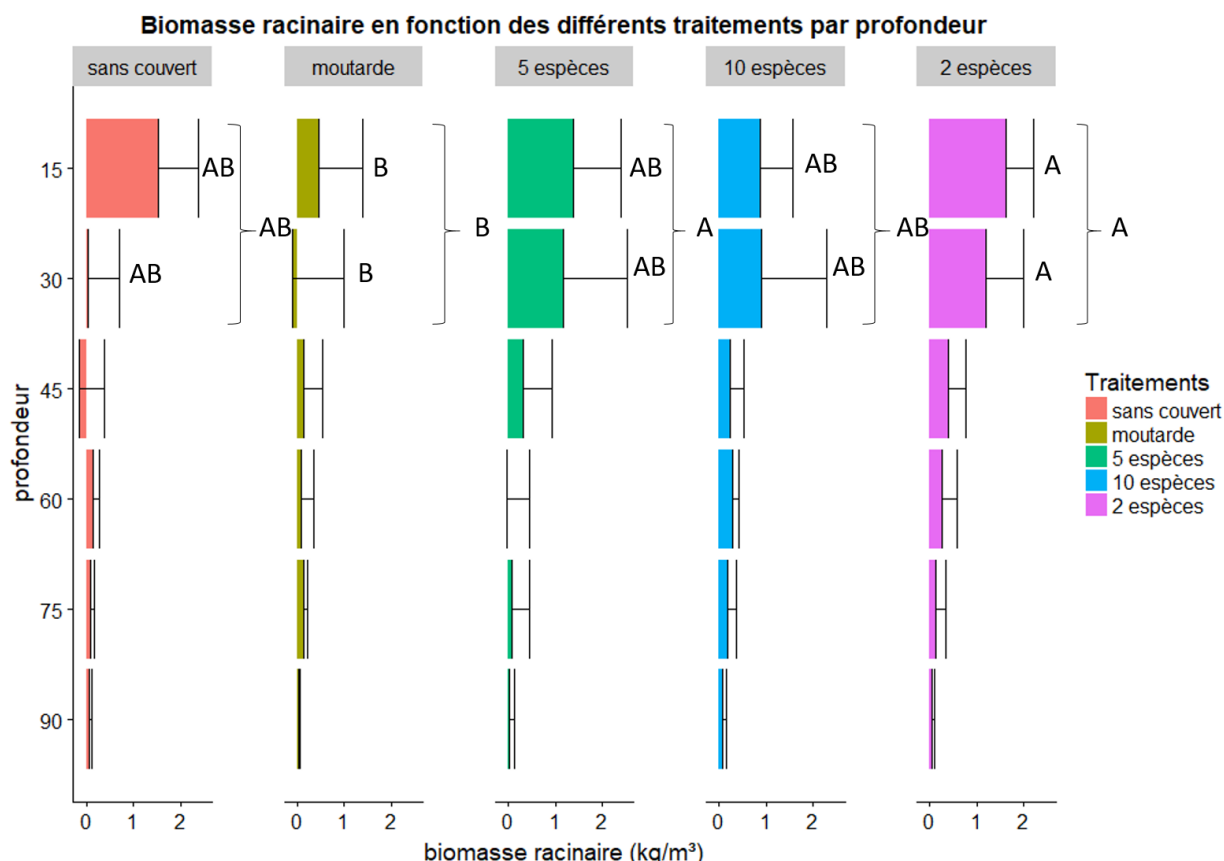


Figure 27 : Moyennes de mesures de biomasse racinaire en fonction des traitements pour les différents horizons. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Les biomasses racinaires des différents horizons ont été additionnées pour observer la masse totale de racines sous 1 m² de sol (Tableau 18). Le traitement de 2 espèces contenant de l'avoine et du trèfle possède une biomasse racinaire significativement supérieure à celle de la moutarde. Il est surprenant que le traitement sans couvert (recouvert des repousses d'escourgeon) possède une biomasse racinaire qui ne soit pas différente des traitements semés.

Tableau 18 : Moyennes et écarts-types des mesures de biomasses racines (g. m⁻²) en fonction du facteur « Traitement » pour la D1, prélèvements racinaires de décembre. Des lettres de groupes identiques signifient que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Traitements	μ (g.m ⁻²)	σ	Groupe
Sans couvert	285,93	+/- 186,80	AB
Moutarde	123,62	+/- 363,61	B
2 espèces	589,02	+/- 290,58	A
5 espèces	492,57	+/- 525,05	AB
10 espèces	423,64	+/- 306,48	AB

4.5. Biomasse totale

En additionnant les moyennes des biomasses aériennes avec celles des biomasses racinaires, nous obtenons le Tableau 19. Pour réaliser cette addition, nous avons pris en compte la teneur en matière sèche moyenne de racines qui est de 0,2 g.g⁻¹ (moyenne sur 17 espèces d'herbacées) (Shipley and Vu 2002).

Tableau 19 : Moyennes des biomasses racinaires=Br (matière fraîche*0.2), des biomasses aériennes=Ba (matière sèche), biomasses totales calculées et rapport Ba/Br.

Traitements	Br sèche (g.m ⁻²)	Ba sèche (g.m ⁻²)	Bt sèche (g.m ⁻²)	Rapport Ba/Br
Sans couvert	57,18	182,94	240,12	3,19
Moutarde	24,72	173,25	197,97	7,00
2 espèces	117,80	376,65	494,45	3,19
5 espèces	98,51	399,47	497,98	4,05
10 espèces	84,73	489,73	574,46	5,20

Nous pouvons donc observer une tendance générale sur les biomasses. Les traitements sans couvert et moutarde possèdent tous les deux des biomasses faibles comparativement aux traitements de 2, 5 et 10 espèces qui possèdent des biomasses élevées. L'augmentation de la biomasse totale en fonction du nombre d'espèces est également observable. Cette augmentation est due à la biomasse aérienne. Contrairement, lorsqu'on observe les trois mélanges de couverts, les biomasses racinaires diminuent en fonction du nombre d'espèces. Cependant, cette diminution se base sur des teneurs en matière sèche des racines identiques pour tous les traitements. Or nous avons observé que les teneurs en matière sèche des parties aériennes étaient différentes en fonction des traitements.

En observant la biomasse fraîche (Tableau 20), la tendance observée avec la biomasse sèche est confirmée. Cependant, le traitement produisant le plus est le mélange de 2 espèces. Les teneurs en matière sèche influencent donc sur le bilan total. Cela se voit également sur les rapports de biomasse aérienne sur la biomasse racinaire qui sont fort différents entre les biomasses sèches et biomasse fraîche.

Tableau 20 : Moyennes des biomasses racinaires=Br (matière fraîche), des biomasses aériennes=Ba (matière fraîche), biomasses totales (Bt) calculées et rapport Ba/Br.

Traitements	Br fraîche (g.m ⁻²)	Ba fraîche (g.m ⁻²)	Bt fraîche (g.m ⁻²)	Rapport Ba/Br
Sans couvert	285,92	1024,38	1310,30	3,58
Moutarde	123,62	710,21	833,83	5,75
2 espèces	589,02	3836,88	4425,90	6,51
5 espèces	492,57	2976,71	3469,30	6,04
10 espèces	423,64	3641,45	4065,09	8,60

4.6. Analyse ADN des racines

4.6.1. Mise au point

Échantillons spécifiques : mise au point de l'échelle de référence

Sur base d'une première extraction et analyse de l'ADN issu des échantillons de plantes cultivées individuellement en pots (Figure 17), nous avons établi une échelle de référence des tailles des fragments amplifiés pour les trois marqueurs moléculaires pour les différentes espèces étudiées (Tableau 21 et Figure 28).

Certaines des espèces génèrent des tailles de fragments amplifiés identiques (Tableau 21). Par exemple, le nyger et le tournesol ont migré de la même manière et présentent donc une taille de fragment similaire pour le marqueur trnL-Intron. Il est possible aussi d'observer que certaines espèces présentent plusieurs signaux d'intensités différentes. Nous considérons seulement les tailles des fragments ayant la plus forte intensité. Le sarrasin est un exemple pour le marqueur trnL-Intron (Figure 28).

Il ressort du Tableau 21 que certaines espèces amplifient des fragments possédant le même nombre de paires de base. Les segments du tournesol et du nyger sont tous les deux constitués de 507 bp pour le marqueur trnL-Intron. Cependant, lorsqu'on considère à la fois le marqueur trnL-Intron et le trnL-trnF, toutes les espèces sont discernables les unes des autres avec comme exception le radis et la moutarde. Faisant partie des brassicacées qui ont des génomes fortement conservés, ces deux espèces possèdent probablement des séquences ADN peu différenciable (Haudry *et al.* 2013). Après avoir constaté que le marqueur trnT-trnL n'amplifie pas de fragment chez toutes les espèces et que les amplifications sont rarement polymorphes, ce marqueur a été abandonné pour la suite de l'analyse.

Tableau 21 : Tailles des fragments d'ADN (paire de bases bp) des différentes espèces en fonction des trois marqueurs moléculaires étudiés. Les couleurs montrent les espèces ayant des tailles de segments similaires pour un des marqueurs. - = absence d'amplification.

	trnT-trnL	trnL-intron	trnL-trnF
Trèfle	678	674	210
Escourgeon	678	636	401
Lin	450	592	406
Phacélie	-	581	426
Sarrasin	1032	572	422
Féverole	678	521	192
Tournesol	-	507	429
Nyger	-	507	502
Luzerne	-	425	221
Avoine	-	406	418
Moutarde	-	387	422
Radis	-	387	422
Vesce	680	345	210

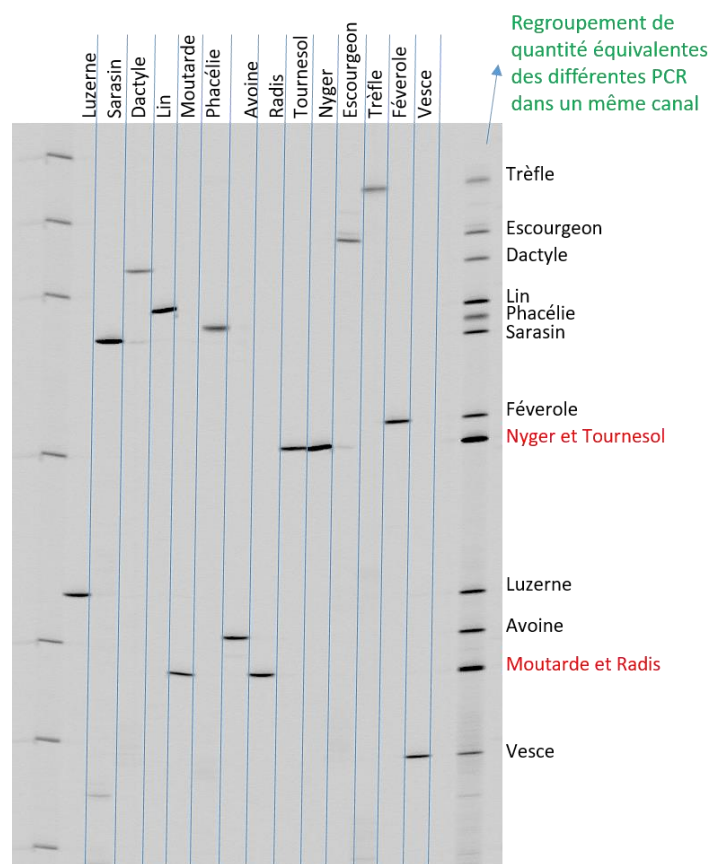


Figure 28 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des espèces pures pour le marqueur moléculaire trnL-Intron. Les espèces en rouge sont celles qui présentent des tailles de fragments identiques pour le marqueur trnL-Intron.

Mélanges artificiels

Nous avons ensuite créé des mélanges artificiels avec de concentration d'ADN identiques pour chaque espèce, au départ des plantes cultivées en pot (Annexe 7.5). Sur cette base nous constatons que :

- 1) Toutes les espèces sont détectables dans les mélanges sauf la vesce qui n'est pas détectée pour le marqueur trnL-Intron et dont la taille de segment est la même que le trèfle pour le marqueur trnL-trnF. Nous détectons la vesce lorsqu'elle était prise individuellement, mais lorsqu'elle est intégrée au mélange de 10 espèces et qu'elle ne représente que 10 % de la quantité totale d'ADN, nous ne la détectons pas. Certaines espèces risquent donc de ne pas d'être détectées en cas de trop faible concentration au sein des mélanges.
- 2) D'un marqueur à l'autre, les signaux des différentes espèces n'ont pas la même intensité. Par exemple, dans le mélange de deux espèces, le trèfle et l'avoine se distinguent de manière égale pour le marqueur trnL-Intron. Par contre, lorsqu'on observe le marqueur trnL-trnF, le trèfle présente un signal beaucoup plus intense que celui de l'avoine dont le signal est plus faible pour l'ensemble des mélanges.

Ce dernier point justifie l'utilisation des deux marqueurs et nous invite à travailler les résultats de manière libérale, c'est-à-dire que nous considérons qu'une espèce est détectée lorsque le signal lui correspondant est présent pour au moins un des deux marqueurs.

4.6.2. Analyse des échantillons prélevés en champ en décembre

Nous avons étudié les espèces pour trois horizons différents des échantillons prélevés en champ : de 0 à 30 cm, de 30 à 60 cm et de 60 à 90 cm. Les espèces présentes sous les 30 cm peuvent être considérées comme celles qui vont au-delà de la semelle de labour. Les résultats sont présentés de la manière suivante : pour chaque traitement, une figure présente la proportion d'échantillons dans lesquels les espèces sont détectées.

Pour les couverts de moutarde, de 5 et 10 espèces, quatre échantillons ont été analysés. Les proportions de présence dans les échantillons sont donc pour chaque espèce de 0, 0,25, 0,5, 0,75 ou 1. Pour le traitement sans couvert, suite à un problème technique, nous n'avons que deux répétitions ; les proportions par espèces sont donc de 0, 0,5 ou 1. Le traitement de référence (2 espèces) donne plus d'informations, car il a été répété 10 fois ; avec des proportions allant de 0 à 1 par pas de 0,1.

Dans la plupart de ces analyses, nous avons pu observer la présence de signaux dont les tailles ne correspondent pas aux espèces semées ni à aucune des espèces préalablement étudiées au laboratoire ; ces signaux ont été encodés comme « autres espèces ». Certains signaux correspondent aux tailles d'amplification attendues pour la luzerne (testée au laboratoire dans le cadre d'un autre travail) ou une autre espèce dont l'ADN serait fortement similaire. En l'absence d'autres informations, et pour fixer les idées, la présence de ces signaux, à la taille attendue pour la luzerne pour les 2 marqueurs, nous a amenés à conclure qu'il s'agit de luzerne. Sa présence pourrait être due à des restes de racines enfuies dans le sol et non décomposées, ou pourrait correspondre à une autre espèce non testée en laboratoire.

L'ensemble des gels électrophorèses sur lesquelles les signaux ont été observés se trouve en Annexe 7.6.

Traitement sans couvert

La Figure 29 présente les espèces détectées dans les racines du traitement sans couvert. Nous pouvons observer une certaine diversité d'espèces sur un sol normalement nu. Nous y retrouvons en premier lieu de l'escourgeon dans les horizons de surface. Sa détection est liée aux repousses de la culture précédente. En plus de celui-ci, nous retrouvons de la luzerne et du trèfle d'Alexandrie qui seraient présents dans les horizons plus profonds tandis que d'autres espèces indéterminées seraient détectées en surface.

Détection par FAFLP des espèces représentées dans les racines prélevées à différentes profondeurs du traitement sans couvert : proportion d'échantillons dans lesquels chaque espèce a été détectée (2 répétitions)

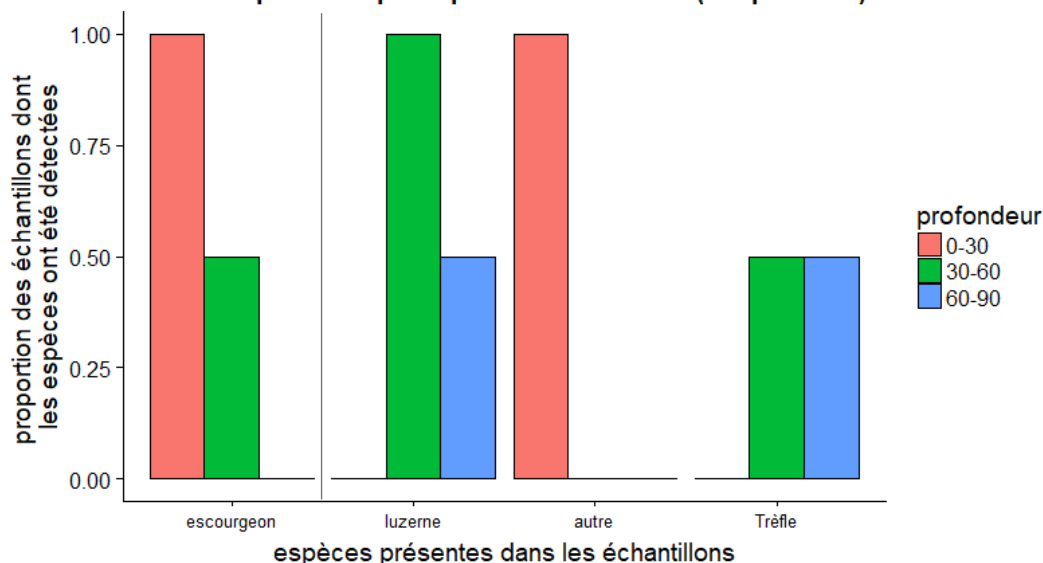


Figure 29 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement sans couvert (2 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.

Traitement moutarde

Nous pouvons observer dans un premier temps, la présence de moutarde dans plus de la moitié des échantillons à toutes les profondeurs (Figure 30). L'escourgeon également observé sur le terrain est détecté dans les horizons 0-30 et 30-60 cm. D'autres espèces ont également été détectées. Ce que nous pensons être du trèfle d'Alexandrie a été détecté principalement dans les horizons profonds et en plus grande quantité que la luzerne. La présence de signaux

Détection par FAFLP des espèces représentée dans les racines prélevées à différentes profondeurs du traitement moutarde : proportion d'échantillons dans lesquels chaque espèce a été détectée (4 répétitions)

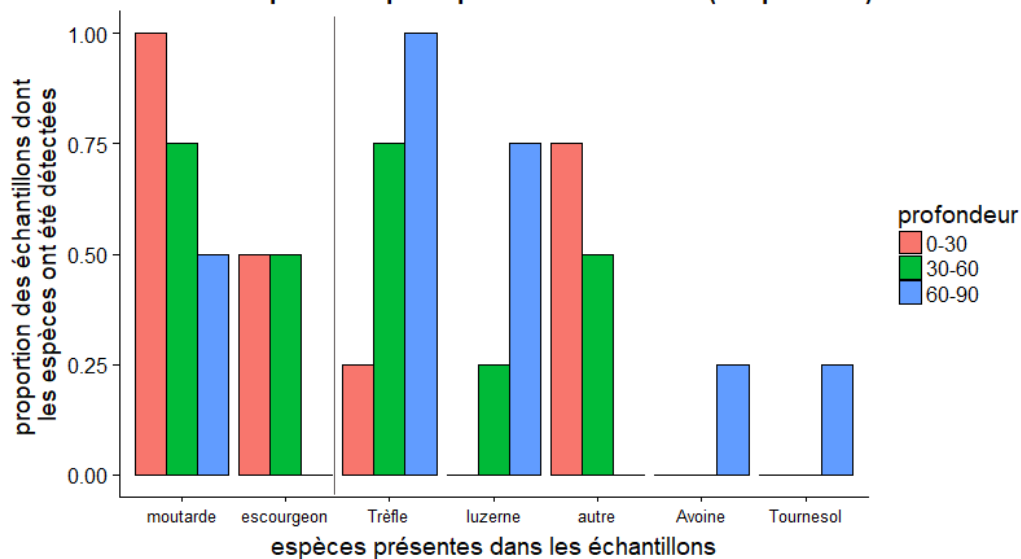


Figure 30 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement moutarde (4 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.

compatibles avec la taille des fragments d'avoine brésilienne et de tournesol entre 60 et 90 cm est toutefois interpellante. Nous pourrions émettre l'hypothèse d'une contamination lors des manipulations, d'autant que la détection ne survient que pour un seul des quatre échantillons analysés.

Traitement de référence (2 espèces) : avoine brésilienne et trèfle d'Alexandrie

L'analyse du traitement de 2 espèces a pu être répétée sur 10 échantillons différents. Nous retrouvons du trèfle d'Alexandrie dans presque tous les échantillons (Figure 31). L'avoine brésilienne se retrouve également 9 fois sur 10 pour les horizons de 0 à 30 cm et de 30 à 60 cm. Elle est cependant moins souvent détectée dans la profondeur de 60 à 90 cm. Dans ce traitement, il est également possible d'observer dans les deux premiers horizons la présence d'escourgeon. Cette espèce a été observée sur le terrain dans le traitement, il est donc plausible de la détecter dans les horizons de surface. Des espèces non attendues ont également été observées dans les horizons de surface.

Détection par FAFLP des espèces représentée dans les racines prélevées à différentes profondeurs du traitement de référence : proportion d'échantillons dans lesquels chaque espèce a été détectée (10 répétitions)

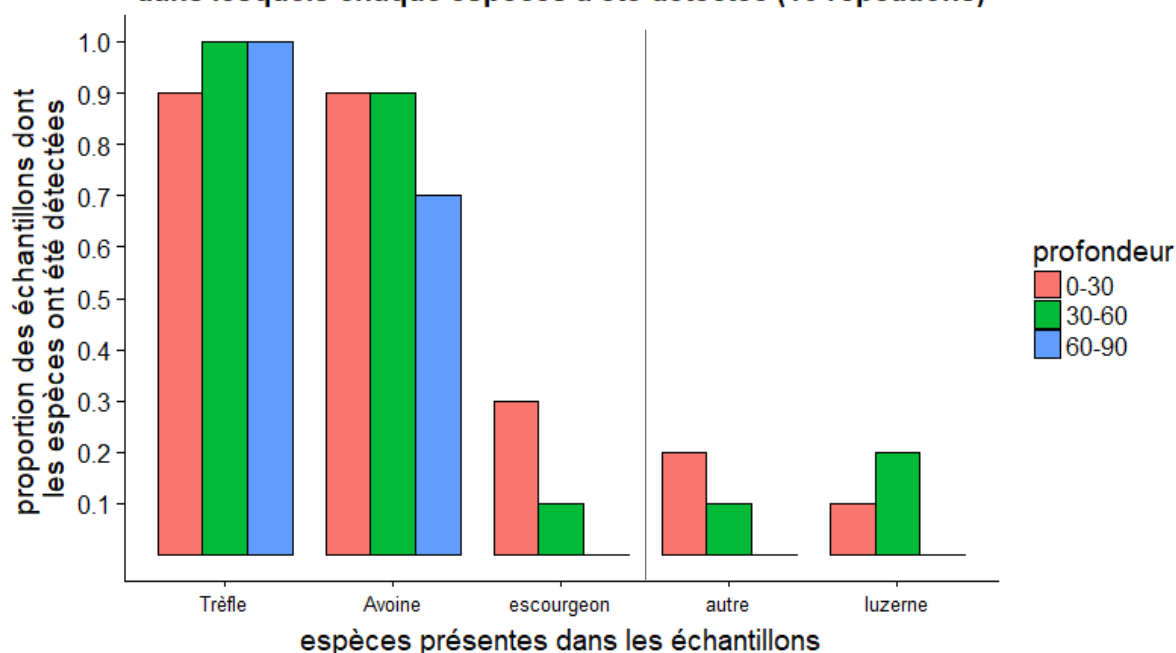


Figure 31 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement de référence composé d'avoine brésilienne et de trèfle d'Alexandrie (10 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.

Traitement de 5 espèces : avoine brésilienne, trèfle d'Alexandrie, lin, phacélie et tournesol

Nous pouvons constater que 4 des 5 espèces attendues ont été détectées dans les échantillons (Figure 32). Toutefois, seul le trèfle d'Alexandrie est détecté dans les 4 répétitions et dans les 3 horizons. L'avoine brésilienne y est présente dans la moitié des répétitions seulement. Un échantillon possède de la phacélie et le tournesol est détecté seulement dans l'horizon superficiel. Le lin n'a pas été observé dans nos échantillons. Nous pouvons également constater que l'escourgeon n'est pas présent dans ce traitement. De plus, les espèces peu détectées dans nos échantillons sont également les espèces dont les parties aériennes ont été moins observées.

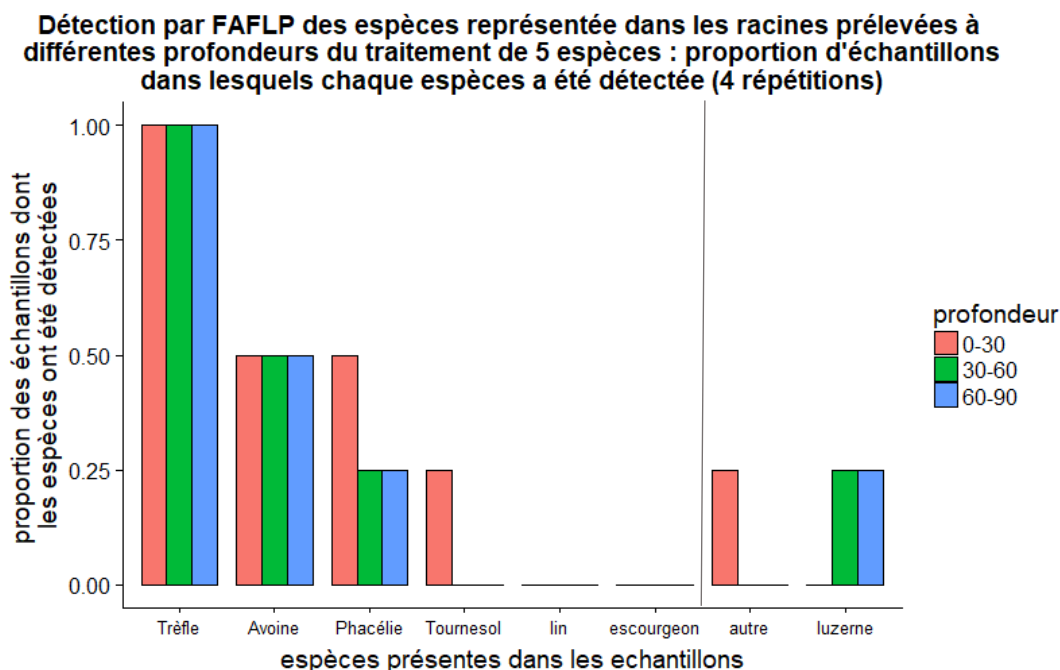


Figure 32 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement de 5 espèces composé d'avoine brésilienne, de trèfle d'Alexandrie, de phacélie, de tournesol et de lin (4 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.

Traitement de 10 espèces

Sur les 10 espèces semées dans le traitement, nous en avons détecté 8 (Figure 33). Les proportions d'observation des espèces ne sont pas très élevées. Cela peut être expliqué par les petites surfaces d'observation qui ne reflètent pas les proportions d'espèces attendues et par la compétition entre les espèces au niveau de la PCR. En effet, la vesce ou d'autres espèces risquent de ne pas s'exprimer en cas de concentration d'ADN trop faible par rapport aux autres espèces présentes dans l'échantillon.

Nous pouvons observer que le trèfle d'Alexandrie est détecté dans plus de 50 % des répétitions au même titre que la phacélie. Le lin est détecté 3 fois sur les 4 dans ce traitement entre 0 et 60 cm. La féverole n'est pas détectée dans les basses profondeurs. Le radis chinois et l'avoine brésilienne sont détectés dans peu de cas, mais sur tout le profil de sol. Les tailles des segments de radis chinois étant similaires à celles des moutardes, nous avons pris en compte cette détection en faisant l'hypothèse que nous étions en présence de radis chinois. Nous pouvons également observer de la vesce et du tournesol, mais le sarrasin et le nyger n'ont pas été détectés. D'autres espèces que celles attendues sont aussi détectées, mais dans une moindre mesure.

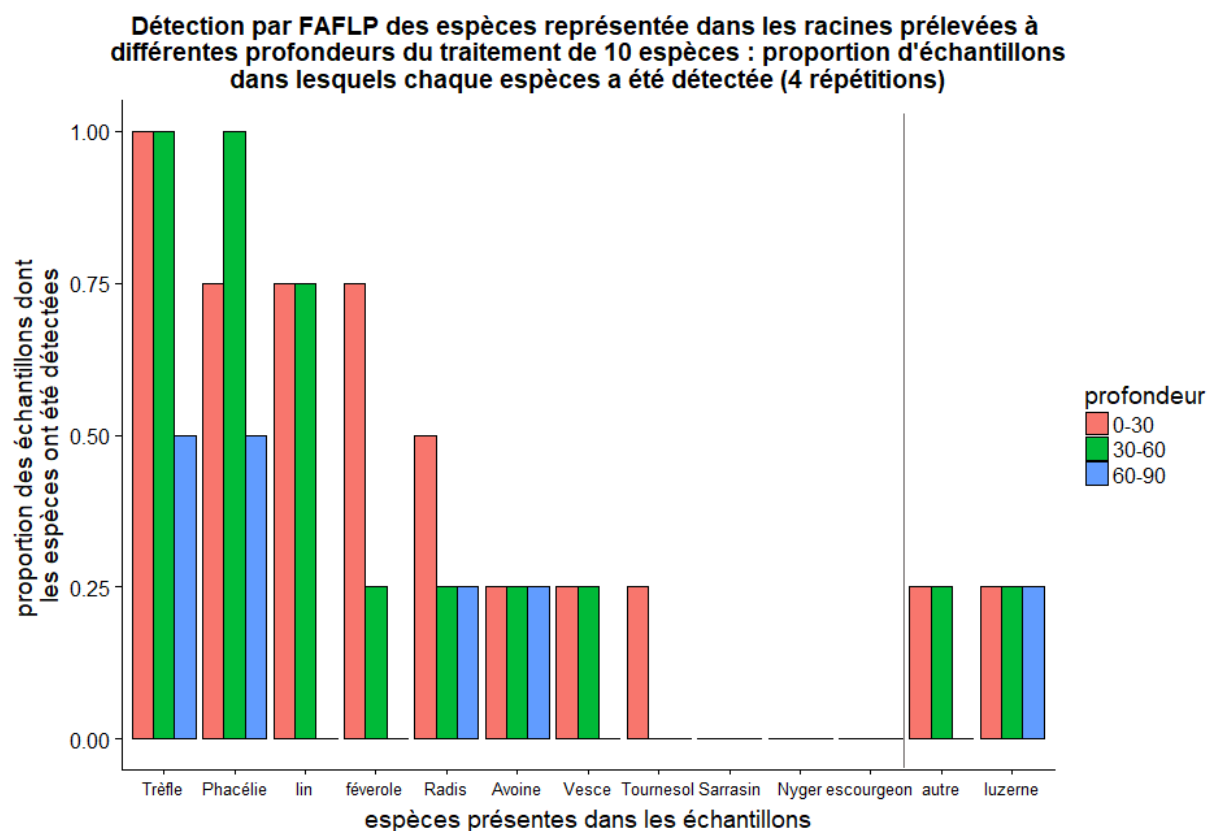


Figure 33 : Proportion des échantillons dont les espèces ont été identifiées par FAFLP dans les racines issues du traitement de 5 espèces composé d'avoine brésilienne, de trèfle d'Alexandrie, de phacélie, de tournesol, de lin, de féverole, de radis chinois, de vesce commune, de sarrasin et de nyger (4 répétitions). 3 horizons ont été étudiés : 0 à 30 cm, 30 à 60 cm et 60 à 90 cm. Une séparation est mise entre les espèces attendues et les autres.

5. Discussion

La discussion de ce mémoire se base sur une analyse des résultats obtenus précédemment et les remet dans un contexte plus global afin d'en donner un sens. Cette analyse met en lien les différentes variables continues mesurées et statistiquement intéressantes dans le cadre de ce mémoire et ne prend pas en compte les résultats des autres étudiants travaillant sur la même parcelle expérimentale.

5.1. Contexte et méthodologie d'étude

L'ensemble des résultats obtenus n'est valable que pour les conditions climatiques qui se sont déroulées durant la période de culture du couvert. De manière générale, le développement des couverts s'est déroulé sous conditions favorables. Pour l'implantation, le mois d'août de l'année 2017 présente des températures et des précipitations conformes aux moyennes observées (IRM 2018).

Ils ne sont également valables que sur le type de sol de la parcelle. Un sol limoneux à drainage naturel favorable est une texture de sol qui est retiendra des quantités d'eaux suffisantes pour ne pas en manquer sans pour autant le saturer. Ce type de sol est donc propice à l'agriculture. Les influences des différents couverts étudiés sur les propriétés du sol seront présentées par Denis Allard.

5.2. Mesures communes

5.2.1. Couverture du sol

Avoir une couverture du sol rapide et complète pour un couvert végétal conduit à certains services tels que la suppression des adventices, ou la conservation des sols et des nutriments par une couverture du sol contre l'érosion et le piégeage des nitrates.

Effet traitement

Les traitements influencent la manière dont les couverts vont s'installer. Sur base des deux paramètres du modèle de l'Équation 4, nous allons pouvoir comparer les différents traitements. Sachant que la majeure partie de l'érosion se passe lorsque le sol est couvert à moins de 30 % (Ramirez-Garcia *et al.* 2015), l'étude du paramètre t_0 qui nous donne le jour après le semis où le sol est couvert à 50 % nous donne une indication des couverts qui couvriront le plus rapidement le sol efficacement.

Le mélange de 5 espèces est le premier couvert à couvrir le sol suivi de la moutarde et du couvert à 10 espèces (Tableau 7). En observant la Figure 20, nous voyons que le traitement de moutarde va couvrir le sol jusqu'au 30 % avant le mélange de 5 espèces. Ramirez-Garcia *et al.* (2015) ont montré que les espèces graminées et la moutarde couvrent plus rapidement le sol que les espèces légumineuses. La moutarde semble suivre la même cinétique que celle proposée

par ces chercheurs, c'est-à-dire une couverture rapide jusqu'à 30 % du sol. Par contre, la couverture est toujours non complète en fin d'observation.

Le traitement de 2 espèces (avoine et trèfle) prend plus de temps à s'installer. Nous avons pu également observer que dans ce mélange, le trèfle d'Alexandrie est en proportion plus élevée que l'avoine brésilienne et qu'il y a également une proportion élevée de repousses d'escourgeon (Tableau 8). Dans les observations de Ramirez-Garcia *et al.* (2015) la légumineuse prise individuellement ne couvre pas totalement le sol en fin d'observation. Or dans nos observations, le mélange d'avoine brésilienne et de trèfle d'Alexandrie couvre totalement le sol au final. L'association des deux espèces est peut-être plus faible au démarrage, mais rattrape les autres mélanges par la suite. Le traitement de 5 espèces en revanche semble avoir trouvé un équilibre entre les différentes familles lui permettant d'arriver à une interception de la lumière maximale plus rapidement que les autres traitements.

Étant donné que les couverts végétaux sont semés durant l'été, il est possible que des périodes de sécheresse se passent lors de la mise en place des couverts, ce qui n'est pas le cas dans nos expérimentations. Une étude sur le plus long terme pour savoir si les mélanges s'installant rapidement le font également en situation de stress hydrique serait intéressante.

Cette couverture rapide du sol peut également être liée avec une compétitivité par rapport aux autres espèces qui pourraient s'installer comme des repousses de la culture précédente ou des adventices (Lemessa and Wakjira 2014). En effet, lorsqu'on observe les trois couverts s'installant le plus rapidement (moutarde, 5 espèces et 10 espèces), nous pouvons observer sur le Tableau 8 que ce sont les couverts qui limitent le plus fortement la quantité d'escourgeon pour la D1. Pour la D2, les mélanges de 5 et 10 espèces sont les plus efficaces. Cette fonction des couverts peut également impliquer une diminution de la quantité d'herbicides qui sera d'autant plus faible que les couverts s'installent rapidement.

Nous pouvons également observer que le modèle logistique proposé (Équation 4) semble moins adapté à certains traitements qu'à d'autres : le traitement sans couvert, moutarde et de 2 espèces ont un R^2 plus faible (Tableau 7). Lorsqu'on observe la Figure 20, le traitement sans couvert semble couvrir plus fortement le sol à la fin de la couverture contrairement à la moutarde. Il est cependant curieux qu'une culture non semée couvre une surface plus grande que la moutarde qui a été semée. Il est vrai que la quantité de repousses d'escourgeon sur la parcelle était particulièrement abondante et peut faire penser à un problème technique lors de la récolte.

Effet densité de semis

Les résultats nous disent qu'il n'y a pas de différence de couverture du sol entre les deux densités de semis. Une question à se poser est de savoir si les densités de semis individuelles pour les différents traitements au sein de la D1 risquent d'influencer la manière dont le traitement couvre le sol (Tableau 3). Après une analyse traitement par traitement pour comparer D1 et D2, nous pouvons dire que les traitements gardent des paramètres semblables pour les 2 densités lorsqu'ils sont pris individuellement (Annexe 7.4).

Par ailleurs, nous n'avons pas tenté de diminuer la densité des mélanges de couverts par rapport à ce qui est préconisé couramment. Cela diminuerait leur coût et serait peut-être plus avantageux pour les agriculteurs qui hésiteraient à semer un mélange de couverts à cause du facteur prix.

5.2.2. Biomasse aérienne

Les couverts ayant une biomasse élevée sont positivement corrélés avec des services écosystémiques tels que la suppression d'adventices et la prévention de la lixiviation des nitrates (Finney *et al.* 2016). Ces chercheurs montrent qu'une augmentation du nombre d'espèces dans un mélange augmente la biomasse produite.

Effet traitement

Nous pouvons observer la tendance d'augmentation de la biomasse en fonction du nombre d'espèces différentes dans notre expérimentation lorsqu'on observe la D1. Dans notre cas, la régression de la biomasse en fonction du nombre d'espèces a un R^2 de 0,6 et il y a une augmentation de 300 kg de MS.ha⁻¹ lorsqu'on ajoute une espèce au mélange (Figure 24). Nous améliorons ainsi l'hypothèse émise par Finney *et al.* (2016) qui observait cette régression, mais avec un R^2 de 0,15. Cette augmentation de biomasse peut être expliquée par le fait que les mélanges possèdent des architectures aériennes différentes et que la diversité spatiale a un effet positif sur la production de biomasse (Barel *et al.* 2017).

Une forte différence d'environ 2 T de MS.ha⁻¹ est observable entre les couverts d'une espèce et de deux espèces (Tableau 11). Cependant, l'espèce présente toute seule (la moutarde) n'est pas présente dans les traitements comportant des mélanges d'espèces. Nous pourrions nous demander comment se comporterait la biomasse d'une légumineuse et d'une céréale prise individuellement par rapport à la biomasse du mélange avoine-trèfle. Cela nous permettrait de nous rendre compte du réel potentiel de production de biomasse du mélange de légumineuses avec des non-légumineuses. Cette production de biomasse a été mesurée par Sainju *et al.* (2005). Le passage d'une culture de seigle ou de vesce seule à une biculture augmente en moyenne la production de biomasse de 39 %. Dans notre cas, nous avons une augmentation entre le traitement moutarde et la biculture d'avoine brésilienne et de trèfle d'Alexandrie de 56 %.

La biomasse aérienne a été mesurée le 18 décembre 2017. À cette période, les couverts commencent à perdre de leur vigueur et le rapport C/N diminue (Wivstad 1999). La faible biomasse mesurée sur le traitement moutarde pourrait être expliquée par le fait qu'elle était fortement lignifiée et avait déjà produit des graines au moment de la mesure.

Effet densité de semis

Nous avons vu que la densité de semis a un effet sur la production de biomasse. Lorsqu'on augmente la densité de semis de 30 %, la production de biomasse passe de 3,24 à 4,15 T de MS.ha⁻¹. Ce qui correspond à une augmentation de 22 % de la production en moyenne pour tous les traitements. Lorsqu'on prend les traitements un à un, nous avons une augmentation de

19 % pour la moutarde, de 26 % pour le mélange de 5 espèces, de 28 % pour le mélange de 2 espèces. Comme observé précédemment le mélange de 10 espèces diminue la quantité de biomasses produite lorsqu'on augmente la densité de semis (-16 %). Pourtant la quantité d'individus observables en D2 est similaire à celle en D1.

Nous pourrions donc nous demander s'il n'existerait pas une densité de semis optimum pour la production de biomasse qui serait également lié au nombre d'espèces présentes dans le couvert végétal. En effet, lorsqu'on met en parallèle la production de biomasse avec le GAI mesuré seulement pour la D1, nous voyons que le traitement de 10 espèces intercepte déjà la lumière au maximum par rapport au traitement de 4 espèces.

En conclusion, les traitements permettant une plus grande production de biomasse sont les mélanges ayant une plus grande diversité d'espèces. En tant que couverts végétaux, cette biomasse est destinée à être incorporée au sol et à augmenter la quantité de matière organique dans le sol (voir point 1.1.3). Cette matière organique stable pourra alors jouer un rôle tant au niveau de la rétention de macronutriments (C et N) que pour développer la biomasse microbienne du sol (McDaniel *et al.* 2014). La biomasse aérienne est également corrélée avec une suppression des adventices, une rétention d'azote et une fixation biologique d'azote (Blesh and Adam 2017).

Perspectives

Une étude différenciant les biomasses des différentes espèces au sein des mélanges ainsi que des mesures pour connaître la quantité de C et de N présents dans la biomasse seraient intéressantes. En effet, une connaissance du rapport C/N aiderait à lier les mélanges de couverts végétaux avec d'autres services tels que la rétention d'N ou l'apport de ces nutriments à la culture suivante.

5.3. Densité de racines dans le sol

Les densités de racines ont été mesurées de deux manières : la densité surfacique donnant le nombre de racines observées sur un m² pour différentes profondeurs et la densité volumique donnant la masse de racines à différents horizons. L'un nous donne un aperçu de comment les racines vont explorer le sol tandis que l'autre nous permet de savoir quelle quantité de matière va être apportée au sol. L'un comme l'autre nous indique les capacités des racines à fournir certains services essentiels des couverts végétaux.

En comparant le Tableau 16 avec la Figure 27, nous pouvons observer que les mesures de densité surfacique de racines conduisent à la même conclusion que les biomasses racinaires lorsqu'on observe les résultats sur les horizons racinaires au-dessus de 30 cm. En effet, les deux mesures montrent une différence significative entre les traitements de référence (2 espèces) et de 5 espèces par rapport au traitement de la moutarde. Le modèle expliquant ces différences étant de qualité plus élevée pour les mesures de densité surfacique de racines ($R^2=0,59$) que pour la biomasse racinaire ($R^2=0,36$), l'analyse des résultats se fera essentiellement sur les mesures de densité d'impacts de racines. Chen and Weil (2010) ont observé que les comptages

de racines sont corrélés positivement avec la biomasse racinaire. Cependant, cette corrélation est plus forte pour les horizons entre 15 et 50 cm que sur les horizons de surface (15 premiers cm).

De plus, dans nos mesures, la biomasse racinaire a été mesurée sur des racines fraîches risquant d'influencer les mesures par des teneurs en eau fortement différentes. La variabilité des mesures de poids fraîches étant beaucoup plus importante que celle sur des poids secs, les mesures de biomasse racinaire ne sont pas réellement exploitables (Bashan and de-Bashan 2005). Nous pouvons toutefois relever que les traitements contenant plus de biodiversité produisent plus de biomasses racinaires au total dans le sol et c'est le reflet d'une production qui se situe principalement dans les horizons au-dessus de la semelle de labour.

5.3.1. Densité surfacique de racines

Afin de mieux comprendre les racines des mélanges de couverts végétaux, nous allons mettre en avant quels traitements structurent mieux le sol, à quelle profondeur et à quel moment. La structuration du sol en surface permet notamment de lutter contre l'érosion à travers une stabilisation de la structure (Zuazo and Pleguezuelo 2008). La structuration du sol en profondeur montre les capacités des traitements à explorer le profil de sol, à créer des chemins préférentiels pour les racines de la culture suivante (Han *et al.* 2015) et à agir comme piège à nitrate (Miyazawa *et al.* 2010). La croissance racinaire est notamment liée à la compaction du sol.

Évolution dans le temps des racines

Nous avons pu voir à travers le Tableau 13 que la densité de racines dans le sol augmente en fonction du temps. Nous avons donc une évolution progressive dans le temps de la densité surfacique racinaire avec au mois de décembre une quantité de racines maximale. Cette évolution est liée à certains des traitements. En effet, les traitements composés de plus d'une espèce ont une augmentation du nombre d'impacts de racines sur la période de mesure alors que le traitement sans couvert et de moutarde ne présentent pas d'augmentation (Annexe 7.3).

La moutarde a commencé à monter en graines aux alentours du mois de novembre. L'allocation de ressources de la plante ne s'est pas focalisée sur la croissance et l'augmentation de ses racines. Contrairement les traitements de 2, 5 et 10 espèces ont continué à développer leurs réseaux racinaires. Une observation de cette allocation se voit dans le rapport Ba/Br de la moutarde qui est le plus élevé de tous les traitements (Tableau 19).

Nous pourrions nous demander si cette évolution est réellement linéaire ou bien si un plateau est atteint lorsque les températures hivernales tuent les couverts végétaux étant donné que nous avons dans nos traitements seulement des espèces sensibles au gel. Une fois que les parties aériennes sont tuées, les racines se dégradent et offrent moins de résistance au niveau de l'érosion des sols (de Baets *et al.* 2011). Ces chercheurs recommandent l'implantation de couverts végétaux tels que l'avoine ou des plantes non gélives comme le seigle ou le raygrass qui permettent un contrôle de l'érosion sur toute la saison hivernale. Étant donné que les trois

traitements possédant des mélanges d'espèces sont composés en partie d'avoine brésilienne, nous pouvons espérer un contrôle de l'érosion sur toute la saison. Les mélanges de 5 et 10 espèces sont également composés d'autres espèces non testées par ces chercheurs qui pourraient également offrir un contrôle sur la stabilité du sol durant l'hiver.

Exploration des racines en surface ou en profondeur

Une densité plus élevée de racinaire proche de la surface du sol va permettre une amélioration de la stabilité des agrégats (Liu *et al.* 2005) et va jouer un rôle contre l'érosion (Zuazo and Pleguezuelo 2008). Les racines des mélanges de 2 et de 5 espèces sont celles qui explorent le mieux les horizons de surface (Tableau 16) avec 15,2. 10³ impacts par m² en moyenne pour le mélange de 5 espèces. Bodner *et al.* (2010) montrent que les racines de légumineuses possèdent de plus grands diamètres racinaires, mais une densité racinaire plus faible comparativement à des espèces de graminées ou d'autres espèces tels que la phacélie. En mélangeant les différentes familles, il n'est donc pas étonnant d'observer une plus grande densité de racines. Cependant, le mélange de 10 espèces ne montre pas une densité racinaire aussi élevée en surface. Ce qui pourrait être expliqué par des espèces ayant un plus grand diamètre de racines. La différence entre le traitement de 10 espèces et les 2 autres traitements en mélanges n'est toutefois pas significative. La compétition plus forte entre les racines des différentes espèces limitant leur développement en surface et les obligeant à explorer les profondeurs pourrait être une hypothèse pour expliquer cette légère différence.

Nous avons également observé que les racines des moutardes présentaient des densités plus faibles. Comme pour les biomasses aériennes, il est difficile de savoir si cette diminution est due à des différences au niveau de la densité de semis ou est liée à sa faible capacité à structurer le sol tel que Thomas *et al.* (2013) le décrivent. Wendling *et al.* (2016) reportent au contraire des densités élevées de racines pour la moutarde qui est même catégorisée comme productrice de biomasse par ces chercheurs. Cependant, ils s'attendent à trouver 300 plantes par m² contre 86 dans notre cas qui est la quantité recommandée (Tableau 3).

L'horizon de surface joue également un rôle majeur par rapport à l'ajout d'humus dans les sols. Il sera alors important d'avoir une plus grande quantité de biomasses provenant de différentes sources (Miyazawa *et al.* 2010).

Les couverts capables de creuser le sol en profondeur sont ceux qui vont faciliter l'accès des racines de la culture suivante sous la semelle de labour et donc l'accès à l'eau et à l'azote. Cela permet également une plus grande séquestration du carbone (Lynch and Wojciechowski 2015). Avoir une plus grande quantité de racines en profondeur permet de diminuer les résidus de nitrate dans les horizons de sol et ainsi d'améliorer la qualité des eaux souterraines (Thorup-Kristensen 2001). Les traitements de 5 et 10 espèces possèdent les deux plus grandes densités d'impacts de racines sous 60 cm (Figure 26 et Tableau 16) même si ces mélanges ne sont pas statistiquement différents des autres couverts mis à part le traitement sans couvert.

Cependant, le captage des nitrates n'est pas le seul avantage des couverts végétaux explorant le sol en profondeur. En effet, ces couverts aident à la décompactions des sols (Chen and Weil

2010). Ces auteurs montrent que les racines des diamètres plus élevés subiront moins la compaction des sols. Cela renforce l'hypothèse posée précédemment que le traitement de 10 espèces possède des racines de diamètre plus élevé qui seront alors capables de descendre plus profondément et d'augmenter la perméabilité du sol.

La diversité des espèces dans un mélange de couverts donnera la capacité au mélange d'avoir une mobilisation des nutriments sur tout le profil de sol avec des stratégies d'acquisitions et de stockages différentes en fonction des espèces (Wendling *et al.* 2016).

5.3.2. Critique de la méthodologie d'étude

Carottage

Dans notre cas, l'échantillonneur utilisé nous permet d'observer les racines jusqu'à un mètre de profondeur. Nous avons obtenu un bon aperçu de la profondeur d'enracinement des couverts, même si dans certains cas, nous ne pouvions pas observer les extrémités racinaires qui continuaient plus profondément.

La surface couverte par l'échantillonneur étant faible, il faut un nombre suffisant de carottes de terre pour qu'elles soient représentatives du traitement observé. En réalisant quatre carottes par zone d'étude, nous avons couvert une surface d'environ 80 cm². Les répartitions des espèces au sein des traitements étant fortement hétérogènes au vu du nombre d'espèces différentes, l'échantillonnage aléatoire au sein de la zone d'étude permet de dire que nous avons un ensemble d'échantillons significatifs. Les racines des certaines espèces telles que le radis chinois étant toutefois fort conséquentes (voir Figure 7), nous avons délibérément évité d'échantillonner au niveau de ces racines. L'utilisation de l'échantillonneur mécanique de 1 m de long a permis une observation en profondeur des racines. Un échantillonneur de 10 cm de diamètre (contre celui de 5 cm utilisé) aurait peut-être amélioré la qualité des mesures.

Comptage des racines par la méthode du core-break : densité surfacique de racines

Le cassage de carottes et le comptage des racines (décrits comme des impacts) présentent une mesure facilement réalisable. En cas de nombres peu élevés de racines, le comptage est très précis (dans les horizons les plus profonds). Lorsque le nombre de racines devient plus élevé que les racines s'entrecroisent ou présentent des ramifications, le comptage du nombre exact de racines sortant de la carotte est plus subjectif. Cependant, les mesures ayant été réalisées par la même personne dans des conditions identiques, l'erreur liée au comptage devrait être de même ordre pour toutes les mesures.

Les densités racinaires mesurées à partir de la méthode de *core-break* ont également été mesurées par Chen and Weil (2010). Ces scientifiques utilisent cette méthode pour observer la capacité de couverts végétaux à développer un réseau racinaire dans des sols compactés. Ils montrent que les racines se développent plus au-dessus de la zone de compaction (plus grand nombre de comptages). Les gammes de valeurs du nombre de racines comptées par m² sont similaires aux nôtres démontrant que cette méthode pourrait être utilisée dans d'autres contextes.

Lavage des racines

Le lavage des racines présente quelques désavantages. Le lavage à la main avec un tuyau d'arrosage sur un tamis est une technique efficace pour obtenir des échantillons propres facilement utilisables par la suite.

Des techniques tels que celles développées à Gembloux (Vancutsem *et al.* 2012) ou d'autres techniques basées sur des pompes hydrauliques (Wendling *et al.* 2016) qui permettent un nettoyage plus automatisé, mais demandent tout de même une séparation manuelle des racines avec les autres débris organiques.

Autres mesures possibles

Dans la littérature, deux grands types de mesures sont réalisés sur les racines de couverts végétaux : la biomasse de matière sèche mesurée à partir des masses des racines prélevées dans les parcelles expérimentales et des mesures de paramètres liés aux racines telles que leur longueur, leur surface ou leurs diamètres. Ces paramètres sont déterminés à partir d'images des racines au moyen d'un logiciel (WinRHIZO 4.1 [Regent Instruments, Québec] ou Mapinfo). Ces paramètres permettent l'étude des racines selon la variable RLD ou « Root length Density » qui est la longueur totale de racines observées dans un certain volume de sol (Bodner *et al.* 2010 ; Yu *et al.* 2016 ; Wendling *et al.* 2016). Cette mesure permettrait de savoir lequel des mélanges influence l'acquisition des nutriments en augmentant sa surface de racines.

Nous avons mesuré la biomasse de matière fraîche plutôt que la biomasse de matière sèche, car l'ADN des racines a été utilisé par la suite pour étudier les différentes espèces au sein des mélanges. Une étude de la quantité de matière sèche provenant des racines donnerait des valeurs moins variables et plus analysables que la matière fraîche.

Des mesures sur les quantités d'azote et de carbone présents dans les mélanges de racines en fonction des profondeurs auraient permis une étude plus approfondie des capacités des mélanges à capter les nitrates et sur les quantités possibles disponibles pour la minéralisation par les microorganismes de la rhizosphère (Frasier *et al.* 2016).

5.4. Racines des espèces au sein des mélanges

5.4.1. Analyse des résultats issus de l'analyse ADN des racines

Les échantillons sont réalisés sur des surfaces de sol très petites (19,6 x 2 cm²) et sur peu de répétitions. Ils ne représentent donc pas les proportions d'espèces attendues ou observées précédemment. Un échantillon, étant donné les regroupements réalisés, correspond à un volume de sol de 1,2 dm³.

La proportion des espèces qui ont été détectées ne correspond pas à une proportion de l'espèce observable au niveau des racines. Cependant, au plus l'espèce sera en proportion élevée dans le sol au plus elle aura de chance d'avoir été prélevée lors de l'échantillonnage et donc d'être détectée par les marqueurs.

Ainsi, lorsqu'on prend le résultat des détections dans le traitement de 5 espèces, nous pouvons observer que le trèfle d'Alexandrie et la phacélie ont été détectés sur tous les horizons étudiés (Figure 33). En comparant ce résultat avec les comptages d'individus réalisés début septembre, le trèfle d'Alexandrie et la phacélie sont les deux espèces les plus représentées proportionnellement avec respectivement 34 % et 30 % (Tableau 8). L'avoine brésilienne est également détectée sur tous les horizons malgré une proportion faible dans les comptages. Cela pourrait être lié à un développement plus tardif de cette espèce au sein du mélange. Le lin et le tournesol étant peu représentés dans le mélange, leur détection dans les racines dépendra du lieu de prélèvement des carottes de sol. Sachant que ces espèces possèdent des racines pivotantes ayant peu de ramifications, on peut s'attendre à ne pas en détecter si le prélèvement n'est pas proche ou au niveau d'une de ces espèces.

Il en est de même pour le traitement de 10 espèces. Au-dessus du sol, les espèces les plus représentées sont la phacélie et le trèfle d'Alexandrie avec respectivement 24,5 et 22 %. Ces mêmes espèces sont celles qui ont été détectées le plus grand nombre de fois par la méthode FAFLP d'analyse génétique des racines. Le lin représenté en surface à 13,3 % se retrouve aussi dans les racines détectées dans 3 échantillons sur 4 dans les horizons les moins profonds. La détection des espèces moins représentées dans les parties aériennes pourrait dépendre de plusieurs paramètres : des zones de prélèvements, de la manière dont les espèces ont un réseau racinaire étendu au sein du mélange ou de la compétition des espèces lors des PCR. Ainsi, la vesce commune, ayant un système racinaire pivotant en surface, dont on a compté environ cinq individus par m² et n'étant pas détectée lorsque sa quantité d'ADN au sein du mélange est trop faible, a pourtant été détectée une fois sur les quatre échantillons étudiés sur les horizons de 0 à 30 et de 30 à 60 cm. Il est donc fort probable que le prélèvement pour cet échantillon ait été réalisé fort proche d'une racine de vesce afin d'atteindre une concentration suffisante dans l'échantillon pour être détectée lors de l'analyse.

Traiter un plus grand nombre d'échantillons pour des mélanges contenant plus d'espèces différentes permettrait d'obtenir des résultats plus précis. Cela nous aurait permis d'obtenir avec plus de certitude les espèces au sein des mélanges qui sont capables de structurer le sol en profondeur. Ces répétitions de prélèvement et d'analyses ADN n'ont pas pu être réalisées par manque de temps. Toutefois, elles ont été réalisées pour le traitement de référence (2 espèces) étant présent entre chacun des couverts. Pour ce traitement, les espèces attendues en surface se retrouvent au niveau des racines. Il semblerait que l'avoine brésilienne serait moins présente dans les horizons plus profonds.

En observant l'ensemble des traitements, l'escourgeon a été détecté dans 3 des 5 traitements étudiés et n'a jamais été détecté dans l'horizon de 60 à 90 cm. Ce résultat est cohérent avec les autres mesures réalisées. En effet, l'escourgeon a été observé en plus grande proportion pour trois traitements lors des comptages d'individus (sans couvert, moutarde et 2 espèces) et cela correspond au traitement ayant des détections d'escourgeon (Tableau 8). De plus, nous avons observé que la biomasse racinaire de l'escourgeon se situe dans les horizons de surface (Figure 27). Les analyses ayant été réalisées sur les prélèvements de décembre, les mélanges

auront plus de temps pour prendre le dessus par rapport aux repousses de l'escourgeon par rapport aux proportions des espèces qui ont été comptées début septembre.

Les autres espèces détectées dans le traitement sans couvert (Figure 29) sont probablement des chénopodiacées. Étant donné l'utilisation de la méthode libérale, la quantité d'espèces non connues qui ont été détectées est probablement trop élevée. En effet, selon cette méthode, une espèce est considérée comme détectée lorsqu'un signal lui correspondant a été observé dans au moins un des deux marqueurs. Dans le cas des espèces non connues, ne connaissant pas les tailles des fragments, une même espèce est comptée deux fois si un fragment a été amplifié avec chacun des deux marqueurs. Il en est de même pour les autres traitements.

5.4.2. Analyse de la méthode

Grâce à la méthode de FAFLP, nous avons réussi à visualiser la plupart des espèces présentes dans nos mélanges. L'utilisation des marqueurs universels pour PCR qui avait déjà été utilisée pour distinguer des espèces de prairie et de forêt a pu être testée sur en condition réelle sur des sols agricoles pour observer la présence des racines des espèces semées (Taggart *et al.* 2010 ; Randall *et al.* 2014).

Nous avons réussi dans un premier temps à établir une « échelle de référence » contenant les espèces qu'on savait présentes dans nos mélanges à travers une étude des espèces prises de manière isolée. Deux des trois marqueurs testés ont amplifié l'ensemble des espèces étudiées. Sur les espèces ayant des tailles de fragments identiques pour un des marqueurs, seuls le radis chinois et la moutarde ne peuvent être distingués en comparant les tailles pour les 2 marqueurs. Cependant, ces deux espèces ne sont pas présentes au sein d'un même traitement et ont donc été considérées comme détectées en fonction de l'espèce attendue. La connaissance des espèces supposées présentes dans le mélange aide à leur détermination.

Les mélanges artificiels réalisés lors de la mise au point nous ont permis de savoir que les ADN des mélanges attendus sont détectés pour les différentes espèces (Annexe 7.5). Pour les traitements contenant 1, 2 et 5 espèces, nous avons réussi à détecter et distinguer toutes les espèces. Pour le traitement de 10 espèces, seules 9 espèces ont pu être détectées (la vesce commune n'était pas détectable pour le marqueur trnL-Intron et de mêmes tailles que le trèfle pour le marqueur trnL-trnF).

Cette méthode d'analyse de l'ADN des racines appliquée pour la première fois à des mélanges d'espèces annuelles issues d'un champ expérimental semble prometteuse. En effet, nous avons pu distinguer les 2 espèces parmi les 2 espèces attendues pour le traitement de référence. Pour le traitement de 5 espèces, nous avons réussi à détecter 3 espèces et pour le traitement de 10 espèces, nous en avons détecté 8. Cependant, la détection de ces espèces n'est probablement pas liée à la méthode d'observation, mais plutôt à l'absence de ces espèces au sein des échantillons étudiés.

Il serait utile d'ajouter dans l'échelle de référence les adventices retrouvées fréquemment en champs pour diminuer la quantité d'échantillons donc les fragments correspondent à des

espèces non identifiées. En plus de cela, une augmentation du nombre de répétitions avec une attention encore plus accrue sur tout le processus de prélèvement et de nettoyage des racines permettrait deux améliorations. Une première serait de limiter le nombre d'espèces détectées inattendues dans les échantillons. La deuxième serait une augmentation de la précision et de la qualité des résultats obtenus.

En conclusion, la méthode FAFLP ouvre de nouvelles portes pour l'analyse d'échantillons contenant des mélanges d'espèces végétales. Cette première étude en champ sur un faible nombre d'échantillons montre que la connaissance des espèces présentes est un atout pour déterminer les espèces en mélange. L'utilisation de ces marqueurs universels a permis une étude sur nos plantes, mais suggère une possible utilisation pour d'autres types de plantes à travers le monde.

5.5. Bilan des différentes variables étudiées

Les variables étudiées dans ce mémoire sont à la fois des mesures des parties aériennes et des racines des couverts. Une complémentarité entre ces deux aspects est visible pour les différents traitements. Cependant, la biomasse totale produite par les différents traitements est difficilement utilisable comme variable au vu des différences entre la matière sèche et la matière fraîche. Nous pouvons toutefois en relever que les mélanges de couverts produisent plus de biomasses que les traitements sans couvert et moutarde.

Le traitement de la moutarde couvre rapidement le sol et arrive à maturité assez rapidement. Ses racines s'installent lors de la croissance des plantes et restent constantes une fois la couverture terminée. Les moutardes ont commencé à fleurir début octobre, au moment du premier prélèvement de racines. Cette espèce est ensuite montée en graine et était fortement lignifiée lors de la récolte de biomasse aérienne. De plus, les analyses ADN nous montrent qu'une grande quantité d'espèces non identifiées ont été détectées au sein des racines du traitement moutarde, relevant une inefficacité contre les adventices. De plus, cette espèce n'apporte pas énormément en terme matière organique au sol au vu de sa faible production de biomasse. La mettre en mélange avec d'autres espèces pourrait être un avantage en termes de couverture rapide du sol pour limiter l'érosion.

La complémentarité des espèces au sein du traitement de 2 espèces a été positive. Malgré une couverture du sol plus tardive, l'avoine brésilienne et le trèfle d'Alexandrie forment une biomasse aérienne finale équivalente aux autres mélanges. Ce mélange-ci offre en revanche une production de biomasse légèrement plus élevée que les autres mélanges. Cette production de biomasse en surface va de pair avec une densité d'impact racinaire en surface également. La complémentarité entre la légumineuse et la céréale devrait fournir une minéralisation progressive l'azote et du carbone pour la culture suivante (Finney *et al.* 2016).

Le mélange de 5 espèces possède une diversité de familles végétales. D'après l'ensemble des résultats obtenus, ce mélange est favorable pour l'ensemble des variables étudiées. Sa couverture du sol est rapide et complète et sa production de biomasse aérienne est élevée. Ses

racines structurent le sol en surface et en profondeur. Il semblerait que ce mélange diminue les adventices. La complémentarité des espèces suggère une porosité et un apport en matière organique propice à une infiltration de l'eau et à un apport en nutriment utilisable pour la culture suivante.

Le mélange de 10 espèces pousse au maximum la diversité et la complémentarité entre les différentes espèces. Malgré un début de croissance légèrement plus tardif, ce mélange possède une production de biomasse aérienne fortement élevée pour la D1. Augmenter la densité de semis de ce mélange ne devrait pas augmenter sa biomasse. Au niveau racinaire, ce mélange semble avoir un réseau racinaire plus dense en profondeur ce qui lui permettrait un captage de nitrate et une structuration durant tout l'hiver.

Observations non mesurées ou non analysées

Au-delà des mesures réalisées dans le cadre de ce mémoire, d'autres services fournis par les couverts sont possibles. En effet, chaque espèce prise individuellement va offrir des avantages. Ainsi, les brassicacées et les fabacées produisent des exsudats racinaires favorables à la mobilisation du phosphate. Chaque espèce produit ses propres exsudats et influencera les microorganismes de sols. Des mesures sur la rhizodéposition des racines au sein des différents mélanges permettraient de mieux comprendre les influences des racines sur les propriétés du sol. D'autres mesures sur l'influence des couverts étudiés sur les mycorhizes et sur leur capacité à favoriser l'introduction d'auxiliaires de culture ont été mises en place, mais n'ont pas encore été analysées.

Conclusion et perspectives

Les pratiques agricoles sont à un tournant dans de nombreuses parties du globe. De plus en plus d'agriculteurs désirent produire tout en respectant l'environnement. D'autres restent encore sur des pratiques plus conventionnelles de l'agriculture. De plus, des législations se mettent en place pour favoriser la transition vers un système de production durable. Dans tous les cas, la mise en place d'outils favorables et utiles à cette évolution est nécessaire.

Nous avons donc étudié un de ces outils, les couverts végétaux. Ce mémoire avait pour but dans un premier temps d'observer l'intérêt d'implanter des couverts végétaux dans lesquelles une diversité d'espèces annuelles est présente : le mélange de référence contient deux espèces : avoine brésilienne et trèfle d'Alexandrie. Les traitements à 5 et 10 espèces sont obtenus par ajout successif d'espèces aux deux précédentes. Un couvert monospécifique de moutarde et un traitement non ensemencé – colonisé par des repousses d'orge de type escourgeon – sont également étudiés. Des études sur les racines de ces mélanges de couverts végétaux ont ensuite été réalisées. De nombreux challenges sur la manière d'étudier des racines d'espèces différentes au sein du sol existent encore actuellement. Nous avons donc mis au point plusieurs méthodologies pour les étudier.

Les couverts couvrant le sol rapidement permettent un contrôle de l'érosion en diminuant la durée de sol nu. Ils permettent également de capter les nitrates sur une plus longue période et de limiter le développement d'adventices. Nous avons donc observé que le couvert de moutarde ainsi que le couvert de 5 et 10 espèces couvraient le sol à 50 % après respectivement 27, 24 et 28 jours après le semis. Le traitement à 2 espèces couvre moins rapidement le sol. D'autre part, une augmentation de la densité de semis ne présente pas d'intérêt pour la mise en place de la couverture foliaire du couvert. La biomasse aérienne produite varie quant à elle en fonction de cette densité. En observant la densité recommandée, nous pouvons en conclure qu'une augmentation du nombre d'espèces dans un mélange favorise la production de biomasse du couvert ($R^2 = 0,6$), ceci bien sûr dans la gamme du nombre d'espèces étudiées.

Des mesures sur les capacités des parties aériennes à stocker certains nutriments tels que le carbone ou l'azote nous permettraient de mieux anticiper la dégradation des couverts dans le sol et les apports lors de la minéralisation pour la culture suivante. Finney *et al.* (2016) ont toutefois montré qu'une augmentation de la biomasse aérienne permet meilleure une rétention de l'azote, une suppression des adventices ainsi qu'un stockage de l'azote dans les parties aériennes.

L'étude des racines des couverts végétaux nous a permis de voir que les densités d'impacts de racines augmentaient dans le temps pour les mélanges de 5 et 10 espèces. En décembre, les densités d'impacts les plus élevées dans les horizons de surface sont celles des traitements à 2 et 5 espèces. Ce dernier traitement ainsi que celui à 10 espèces présenteront les densités de racines les plus élevées dans l'horizon de 75 à 90 cm. Le traitement à 2 espèces favorisera d'autre part une bonne structuration du sol en surface. Le traitement de 10 espèces agira en

profondeur tandis que celui de 5 espèces présente une quantité de racines sur tout le profil de sol. Ce traitement permettra un recyclage des nutriments, une infiltration de l'eau ainsi qu'un captage des nitrates. La méthodologie utilisée pour étudier les densités racinaires est efficace en raison de son carottage en profondeur et des comptages donnant un bon aperçu des quantités de racines présentes dans les différents traitements. Cependant, des études sur d'autres paramètres de racines tels que la « *root length density* » RLD ou le diamètre des racines permettraient des comparaisons plus poussées avec d'autres études (Wendling *et al.* 2016).

Les analyses ADN réalisées selon la méthode FAFLP ont donné des résultats prometteurs. Nous avons réussi à établir une échelle de référence pour les tailles des différentes espèces pour deux des marqueurs étudiés (trnL-Intron et trnL-trnF). L'analyse des détections suivant la méthode libérale nous a donné des proportions du nombre d'échantillons contenant les espèces au sein des différents mélanges. Dans celui de 5 espèces, nous avons détecté 4 des espèces attendues et aucune racine d'escourgeon. Nous en avons détecté 8 sur les 10 espèces attendues pour le traitement à forte diversité. Les espèces détectées correspondent aux espèces observées en proportion élevées lors des comptages des parties aériennes des individus. En augmentant le nombre d'échantillons par traitement nous aurions pu avoir une idée des espèces explorant préférentiellement le sol en profondeur par rapport à celles qui se développent plutôt en surface. Ainsi, les détections dans le traitement à 2 espèces nous suggèrent une plus forte présence du trèfle d'Alexandrie sur tout le profil du sol tandis que l'avoine brésilienne se situerait légèrement plus en surface. Ce type d'analyse utilisant des marqueurs moléculaires universels ouvre des portes sur l'étude de systèmes contenant des mélanges de racines telles que des champs, prairies ou forêts.

De nombreuses autres mesures ont été réalisées sur la parcelle expérimentale par d'autres étudiants, mais n'ont pas encore été analysées. Faire ressortir les interactions et les liens entre les différentes mesures améliorerait la compréhension des impacts de la diversité au sein de mélange de couverts végétaux sur le système sol-plante. Cela permettrait de mettre en avant les atouts de la mise en place de tels couverts dont l'implantation n'est pas encore courante.

Pour conclure, le traitement ayant des caractéristiques étudiées les plus avantageuses en termes d'apport au sol est le mélange à 5 espèces. Sa couverture du sol rapide, sa production de biomasse élevée et son effet potentiel sur la structuration du sol sur l'ensemble du profil de sol font de lui un couvert propice au maintien des microorganismes du sol et à l'apport de nutriments pour la culture suivante tout en évitant le développement d'adventices.

6. Bibliographie

- Aravena J., Berli M., Ghezzehei T., and Tyler S. (2011). Effects of Root-Induced Compaction on Rhizosphere Hydraulic Properties - X-ray Microtomography Imaging and Numerical Simulations. *Environmental Science & Technology* 45, 425–431. doi:10.1021/es102566j
- Archambeaud M. (2012). « Couverts végétaux, d'une contrainte technique à des outils agronomiques performants. » <https://viedusol.wordpress.com/documents/couverts-vegetaux/ouverts-vegetaux-dune-contrainte-technique-a-des-outils-agronomiques-performants/>
- Archambeaud M. (2015). Agroscope de changins : travail du sol, fertilisation et couverts végétaux. *TCS* n° 82, 26–30.
- Archambeaud M. (2016). Couverts végétaux et maladies (1). *A2C le site de l'agriculture de conservation*. http://agriculture-de-conservation.com/spip.php?page=detail&id_article=1810&id_mot=12&id_rubrique=14
- Arvalis (2012). Les avoines, des caractéristiques différentes selon les espèces. https://www.arvalis-infos.fr/view-10397-arvarticle.html#ancree_3
- de Baets S., Poesen J., Knapen A., and Galindo P. (2007). Impact of root architecture on the erosion-reducing potential of roots during concentrated flow. *Earth Surface Processes and Landforms* 32, 1323–1345. doi:10.1002/esp.1470
- de Baets S., Poesen J., Meersmans J., and Serlet L. (2011). Cover crops and their erosion-reducing effects during concentrated flow erosion. *CATENA* 85, 237–244. doi:10.1016/j.catena.2011.01.009
- Baggs E., Watson C., and Rees R. (2000). The fate of nitrogen from incorporated cover crop and green manure residues. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 56, 153–163. doi:10.1023/A:1009825606341
- Bais H., Weir T., Perry L., Gilroy S., and Vivanco J. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57, 233–266. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159
- Barel J. M., Kuyper T. W., Boer W. de, Douma J. C., and Deyn G. B. D. (2017). Legacy effects of diversity in space and time driven by winter cover crop biomass and nitrogen concentration. *Journal of Applied Ecology* 55, 299–310. doi:10.1111/1365-2664.12929
- Bashan Y., and de-Bashan L. (2005). Fresh-weight measurements of roots provide inaccurate estimates of the effects of plant growth-promoting bacteria on root growth: A critical examination. *Soil Biology & Biochemistry* 37. doi:10.1016/j.soilbio.2005.02.013
- Bertin C., Yang X., and Weston L. (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil* 256, 67–83. doi:10.1023/A:1026290508166
- Bielders C. (2018). LBRES2105 : Soil erosion and conservation. <https://moodleucl.uclouvain.be/course/view.php?id=7053>

- Blesh J., and Adam M. (2017). Functional traits in cover crop mixtures: Biological nitrogen fixation and multifunctionality. *Journal of Applied Ecology* 55, 38–48. doi:10.1111/1365-2664.13011
- Boardman J., Poesen J., and Evans R. (2003). Socio-economic factors in soil erosion and conservation. *Environmental Science & Policy* 6, 1–6. doi:10.1016/S1462-9011(02)00120-X
- Bodner G., Himmelbauer, M., Loiskandl, W., and Kaul, H.-P. (2010). Improved evaluation of cover crop species by growth and root factors. *Agronomy for Sustainable Development*. 30, 455–464. doi:10.1051/agro/2009029
- Bodner G., Scholl P., Loiskandl W., and Kaul H.-P. (2013). Environmental and management influences on temporal variability of near saturated soil hydraulic properties. *Geoderma* 204-205, 120–129. doi:10.1016/j.geoderma.2013.04.015
- Bonkowski M. (2004). Protozoa and Plant Growth: The Microbial Loop in Soil Revisited. *The New Phytologist* 162, 617–631.
- Bourgeois M., Coquillart E., Cournarie M., and Fassino C. (2018). Les plantes de couverture - Tournesol. http://www.supagro.fr/ress-pepites/PlantesdeCouverture/co/3_2_1_2_tournesol.html
- Brooker W., Bennett, A., Cong W., Daniell T., George T., Hallett Paul D., Hawes Cathy, Iannetta Pietro P. M., Jones Hamlyn G., Karley Alison J., Li Long, McKenzie Blair M., Pakeman Robin J., Paterson Eric, Schöb Christian, Shen Jianbo, Squire Geoff, Watson Christine A., Zhang Chaochun, Zhang Fusuo, Zhang Junling, and White Philip J. (2015). Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. *New Phytologist* 206, 107–117. doi : 10.1111/nph.13132
- Burr-Hersey J. E., Mooney S. J., Bengough A. G., Mairhofer S., and Ritz K. (2017). Developmental morphology of cover crop species exhibit contrasting behaviour to changes in soil bulk density, revealed by X-ray computed tomography. *PLOS ONE* 12, e0181872. doi:10.1371/journal.pone.0181872
- Callot G., Chamayou H., Maertens C., and Salsac L. (1982). « Les interactions sol-racines, incidence sur la nutrition minérale. » (INRA)
- Cerdan O., Le Bissonnais Y., Couturier A., Bourennane H., and Souchère V. (2002). Rill erosion on cultivated hillslopes during two extreme rainfall events in Normandy, France. *Soil and Tillage Research* 67, 99–108. doi : 10.1016/S0167-1987(02)00045-4
- Chambre d'agriculture Isère (2016). Guide des couverts végétaux en interculture. *Chambres d'Agriculture de Rhône-Alpes*. [http://rhone-alpes.synagri.com/synagri/pj.nsf/TECHPJPARCLEF/16682/\\$File/guide_couvert_vegetaux_bdef.pdf?OpenElement](http://rhone-alpes.synagri.com/synagri/pj.nsf/TECHPJPARCLEF/16682/$File/guide_couvert_vegetaux_bdef.pdf?OpenElement)
- Chen G., and Weil R. R. (2010). Penetration of cover crop roots through compacted soils. *Plant and Soil* 331, 31–43. doi:10.1007/s11104-009-0223-7
- Clark M., and Tilman D. (2017). Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. *Environ. Res. Lett.* 12, 064016. doi:10.1088/1748-9326/aa6cd5

- Cloet S., Falys H., and Merchier M. (2016). Impacts et gestions de différentes intercultures courtes entre une culture de pois de conserverie et une culture de froment. Travail de fin d'étude (3^{ème} bachelier en Technique et Gestion Agricole). Greenotec, <http://www.greenotec.be/medias/files/travail-de-fin-d-etude-.pdf>
- Conklin A. E., Erich M. S., Liebman M., Lambert D., Gallandt E. R., and Halteman W. A. (2002). Effects of red clover (*Trifolium pratense*) green manure and compost soil amendments on wild mustard (*Brassica Kaber*) growth and incidence of disease. *Plant and Soil* 238, 245–256. doi : 10.1023/A : 1014448612066
- Coppens F., Garnier P., Findeling A., Merckx R., and Recous S. (2007). Decomposition of mulched versus incorporated crop residues: Modelling with PASTIS clarifies interactions between residue quality and location. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2339–2350. doi:10.1016/j.soilbio.2007.04.005
- Czarnes S., Hallett P. D., Bengough A. G., and Young I. M. (2000). Root- and microbial-derived mucilages affect soil structure and water transport. *European Journal of Soil Science* 51, 435–443. doi:10.1046/j.1365-2389.2000.00327.x
- Dabney S. M., Delgado J. A., and Reeves D. W. (2001). Using Winter Cover Crops to Improve Soil and Water Quality. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 32, 1221–1250. doi:10.1081/CSS-100104110
- Demotes-Mainard S., Bertheloot J., Boumaza R., Huché-Thélier L., Guéritaine G., Guérin V., and Andrieu B. (2013). Rose bush leaf and internode expansion dynamics: analysis and development of a model capturing interplant variability. *Frontiers in Plant Science* 4,. doi : 10.3389/fpls.2013.00418
- Dennis P. G., Miller Anthony J., and Hirsch Penny R. (2010). Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS Microbiology Ecology* 72, 313–327. doi:10.1111/j.1574-6941.2010.00860.x
- Destain J.-P., Reuter V., and Goffart J.-P. (2009). Les cultures intermédiaires pièges à nitrate (CIPAN) et engrais verts : protection de l'environnement et intérêt agronomique. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. <http://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=4902>
- De Toffoli M., Bontemps P.-Y., and Lambert R. (2010). Summary of catch crops experiments conducted at UCL. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 14, 79.
- Ding G., Liu X., Herbert S., Novak J., Amarasiriwardena D., and Xing B. (2006). Effect of cover crop management on soil organic matter. *Geoderma* 130, 229–239. doi:10.1016/j.geoderma.2005.01.019
- Duchaufour P. (2018). HUMUS - Universalis.edu. <http://www.universalis-edu.com/encyclopedie/humus/>
- Duval J. (1992). La phacélie. <http://eap.mcgill.ca/agrobio/ab350-03.htm>
- El-Shatnawi M. K. J., and Makhadmeh I. M. (2001). Ecophysiology of the Plant–Rhizosphere System. *Journal of Agronomy and Crop Science* 187, 1–9. doi:10.1046/j.1439-037X.2001.00498.x

- Feeney D. S., Crawford J. W., Daniell T., Hallett P. D., Nunan N., Ritz K., Rivers M., and Young I. M. (2006). Three-dimensional Microorganization of the Soil–Root–Microbe System. *Microbial Ecology* 52, 151–158. doi:10.1007/s00248-006-9062-8
- Finney D. M., White C. M., and Kaye J. P. (2016). Biomass Production and Carbon/Nitrogen Ratio Influence Ecosystem Services from Cover Crop Mixtures. *Agronomy Journal* 108, 39–52. doi : 10.2134/agronj15.0182
- Frasier I., Quiroga A., and Noellemeyer E. (2016). Effect of different cover crops on C and N cycling in sorghum NT systems. *Science of The Total Environment* 562, 628–639. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.04.058
- Friedrich T. (2005). Does no-till farming require more herbicides? Agricultural and Food Engineering Technologies Services, FAO, (Rome) <http://www.fao.org/ag/ca/CA-Publications/Pesticide%20Outlook%202005.pdf>
- Gerzabek M. H., Haberhauer G., and Kirchmann H. (2001). Soil Organic Matter Pools and Carbon-13 Natural Abundances in Particle-Size Fractions of a Long-Term Agricultural Field Experiment Receiving Organic Amendments. *Soil Science Society of America Journal* 65, 352–358. doi:10.2136/sssaj2001.652352x
- Govaerts B., and Draye X. (2016). LBIRA2101 Biométrie. <https://moodleucl.uclouvain.be/course/view.php?id=7524>
- Gregorich E. G., Drury C. F., and Baldock J. A. (2001). Changes in soil carbon under long-term maize in monoculture and legume-based rotation. *Canadian Journal of Soil Science* 81, 21–31. doi:10.4141/S00-041
- Gregory P. J. (2006). Roots, rhizosphere and soil: the route to a better understanding of soil science? *European Journal of Soil Science* 57, 2–12. doi:10.1111/j.1365-2389.2005.00778.x
- Grünwald N. J., Hu S., and Bruggen A. H. C. van (2000). Short-term Cover Crop Decomposition in Organic and Conventional Soils: Characterization of Soil C, N, Microbial and Plant Pathogen Dynamics. *European Journal of Plant Pathology* 106, 37–50. doi:10.1023/A:1008720731062
- Han E., Kautz T., Perkons U., Uteau D., Peth S., Huang N., Horn R., and Köpke U. (2015). Root growth dynamics inside and outside of soil biopores as affected by crop sequence determined with the profile wall method. *Biology and Fertility of Soils* 51, 847–856. doi:10.1007/s00374-015-1032-1
- Hartwig N. L., and Ammon H. U. (2002). Cover Crops and Living Mulches. *Weed Science* 50, 688–699.
- Haudry A., Platts A. E., Vello E., Hoen D. R., Leclercq M., Williamson R. J., Forczek E., Joly-Lopez Z., Steffen J. G., Hazzouri K. M., Dewar K., Stinchcombe J. R., Schoen D. J., Wang X., Schmutz J., Town C. D., Edger P. P., Pires J. C., Schumaker K. S., Jarvis D. E., Mandáková T., Lysak M. A., Bergh E. van den, Schranz M. E., Harrison P. M., Moses A. M., Bureau T. E., Wright S. I., and Blanchette M. (2013). An atlas of over 90,000 conserved noncoding sequences provides insight into crucifer regulatory regions. *Nature Genetics* 45, 891–898. doi:10.1038/ng.2684

- Hayes A. (2005). Cultures couvre-sol : Le sarassin. http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/cover_crops01/buckwheat.htm
- Hunter P. J., Teakle G., and Bending G. D. (2014). Root traits and microbial community interactions in relation to phosphorus availability and acquisition, with particular reference to Brassica. *Front. Plant Sci.* 5, doi:10.3389/fpls.2014.00027
- INRA (2012). Réduire les fuites de nitrate au moyen de cultures intermédiaires, Conséquences sur les bilans d'eau et d'azote, autres services écosystémiques. <http://inra.dam.front.pad.brainsonic.com/ressources/afile/225010-bee54-resource-cultures-intermediaires-synthese.html>
- IRM (2018). Graphiques annuels - IRM. *Meteo IRM*. <https://www.meteo.be/meteo/view/fr/1088480-Graphiques+annuels.html>
- Jackson R. B., Canadell J., Ehleringer J. R., Mooney H. A., Sala O. E., and Schulze E. D. (1996). A Global Analysis of Root Distributions for Terrestrial Biomes. *Oecologia* 108, 389–411.
- Jamar D. (2016). Les couverts végétaux semés en relais dans une céréale au printemps. [http://www.cra.wallonie.be/img/page/Beverley/4nov%20couverts%20v%C3%A9g%C3%A9t%20aux%20DJ/16%2011%2004%20DJ%20Couverts%20en%20relais%20\(version%20imprimable\).pdf](http://www.cra.wallonie.be/img/page/Beverley/4nov%20couverts%20v%C3%A9g%C3%A9t%20aux%20DJ/16%2011%2004%20DJ%20Couverts%20en%20relais%20(version%20imprimable).pdf)
- Jones D. L., Nguyen C., and Finlay R. D. (2009). Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil–root interface. *Plant and Soil* 321, 5–33. doi:10.1007/s11104-009-9925-0
- Justes E. (2017). Erratum to : Cover Crops for Sustainable Farming. « Cover Crops for Sustainable Farming ». pp. E1–E1. (Springer, Dordrecht) https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-024-0986-4_5
- Kamh M., Horst W. J., Amer F., Mostafa H., and Maier P. (1999). Mobilization of soil and fertilizer phosphate by cover crops. *Plant and Soil* 211, 19. doi:10.1023/A:1004543716488
- Kesanakurti P. R., Fazekas A. J., Burgess K. S., Percy D. M., Newmaster S. G., Graham S. W., Barrett S. C. H., Hajibabaei M., and Husband B. C. (2011). Spatial patterns of plant diversity below-ground as revealed by DNA barcoding. *Molecular Ecology* 20, 1289–1302. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04989.x
- Kruidhof H. M., Bastiaans L., and Kropff M. J. (2009). Cover crop residue management for optimizing weed control. *Plant Soil* 318, 169–184. doi:10.1007/s11104-008-9827-6
- Lamandé M., Hallaire V., Curmi P., Pérès G., and Cluzeau D. (2003). Changes of pore morphology, infiltration and earthworm community in a loamy soil under different agricultural managements. *CATENA* 54, 637–649. doi:10.1016/S0341-8162(03)00114-0
- Lefebvre N., and Weymans S. (2008). On a testé avec vous... l'avoine brésilienne ! *ASBL Greenotec*. <http://www.greenotec.be/pages/recherche/cultures-intermediaires-essais-et-suivis/avoine-rude/on-a-teste-avec-vous-l-avoine-bresilienne.html>

- Lei P., and Bauhus J. (2010). Use of near-infrared reflectance spectroscopy to predict species composition in tree fine-root mixtures. *Plant and Soil* 333, 93–103. doi:10.1007/s11104-010-0325-2
- Lemessa F., and Wakjira M. (2014). Mechanisms of Ecological Weed Management by Cover Cropping: A Review. *Journal of Biological Sciences* 14, 452–459. doi:10.3923/jbs.2014.452.459
- Liu A., Ma B. L., and Bomke A. A. (2005). Effects of cover crops on soil aggregates ability, total organic carbon, and polysaccharides. *Soil Science Society of America journal*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301041425>
- Lynch J. P., and Wojciechowski T. (2015). Opportunities and challenges in the subsoil: pathways to deeper rooted crops. *Journal of Experimental Botany* 66, 2199–2210. doi:10.1093/jxb/eru508
- Magdoff F. (Ed) (2004). ‘Soil organic matter in sustainable agriculture.’ (CRC: Boca Raton (Fla.))
- Maltais-Landry G. (2015). Legumes have a greater effect on rhizosphere properties (pH, organic acids and enzyme activity) but a smaller impact on soil P compared to other cover crops. *Plant and Soil* 394, 139–154. doi:10.1007/s11104-015-2518-1
- Manici L. M., Caputo F., Nicoletti F., Leteo F., and Campanelli G. (2018). The impact of legume and cereal cover crops on rhizosphere microbial communities of subsequent vegetable crops for contrasting crop decline. *Biological Control* 120, 17–25. doi:10.1016/j.biocontrol.2016.11.003
- McDaniel M. D., Tiemann L. K., and Grandy A. S. (2014). Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological Applications* 24, 560–570.
- Ministère de l’agriculture et de l’alimentation (2014). Qu’est ce qu’une culture intermédiaire à vocation énergétique? | Alim’agri. <http://agriculture.gouv.fr/quest-ce-quune-culture-intermediaire-vocation-energetique>
- Miyazawa K., Murakami T., Takeda M., and Murayama T. (2010). Intercropping green manure crops—effects on rooting patterns. *Plant Soil* 331, 231–239. doi:10.1007/s11104-009-0248-y
- Morand N., Chabalière C., Tendille R., and Mounier P. (2013). Guide cultures dérobées fourragères. Autonomie fourragère, http://www.afpf-asso.fr/files/Dossiers_thematiques/Fiche_synth_derobees_-_Auvergne_A3.pdf
- Nguyen C. (2003). Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. *Agronomie* 23, 375–396. doi : 10.1051/agro : 2003011
- Nitrawal, and Agr’eau (2015). CIPAN : contexte réglementaire. <http://www.agreau.be/uploads/documents/57//fichecipan2015page.pdf>
- de Parseval H., Barot S., Gignoux J., Lata J.-C., and Raynaud X. (2017). Modelling facilitation or competition within a root system: importance of the overlap of root depletion and accumulation zones. *Plant and Soil*. doi:10.1007/s11104-017-3321-y

Poeplau C., and Don A. (2015). Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover crops – A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 200, 33–41. doi:10.1016/j.agee.2014.10.024

Pohlmeier A., Oros-Peusquens A., Javaux M., Menzel M. I., Vanderborght J., Kaffanke J., Romanzetti S., Lindenmair J., Vereecken H., and Shah N. J. (2008). Changes in soil water content resulting from Ricinus root uptake monitored by magnetic resonance Imaging. *Vadose Zone Journal* 7, 1010.

Pousset J. (2002). « Engrais verts et fertilité des sols. » (France Agricole Editions)

Pullaro T. C., Marino P. C., Jackson D. M., Harrison H. F., and Keinath A. P. (2006). Effects of killed cover crop mulch on weeds, weed seeds, and herbivores. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 115, 97–104. doi:10.1016/j.agee.2005.12.021

Ramirez-Garcia J., Gabriel J. L., Alonso-Ayuso M., and Quemada M. (2015). Quantitative characterization of five cover crop species. *The Journal of Agricultural Science* 153, 1174–1185. doi:10.1017/S0021859614000811

Randall M. J., Karst J., Pec G. J., Davis C. S., Hall J. C., and Cahill J. F. (2014). A Molecular Identification Protocol for Roots of Boreal Forest Tree Species. *Applications in Plant Sciences* 2,. doi : 10.3732/apps.1400069

Raynaud X., Jaillard B., Leadley P. W., Associate Editor: Claire de Mazancourt, and Editor : Donald L. DeAngelis (2008). Plants May Alter Competition by Modifying Nutrient Bioavailability in Rhizosphere: A Modeling Approach. *The American Naturalist* 171, 44–58. doi:10.1086/523951

Sainju U. M., Whitehead W. F., and Singh B. P. (2005). Biculture Legume–Cereal Cover Crops for Enhanced Biomass Yield and Carbon and Nitrogen. *Agronomy Journal* 97, 1403–1412. doi:10.2134/agronj2004.0274

Shaxson T. F. (2009). Re-Thinking the Conservation of Carbon, Water and Soil: A Different Perspective. « Sustainable Agriculture ». pp. 61–74. (Springer, Dordrecht) https://link-springer-com.proxy.bib.ucl.ac.be:2443/chapter/10.1007/978-90-481-2666-8_6

Shipley B., and Vu T.-T. (2002). Dry matter content as a measure of dry matter concentration in plants and their parts. *New Phytologist* 153, 359–364. doi:10.1046/j.0028-646X.2001.00320.x

Snapp S. S., Swinton S. M., Labarta R., Mutch D., Black J. R., Leep R., Nyiraneza J., and O’Neil K. (2005). Evaluating Cover Crops for Benefits, Costs and Performance within Cropping System Niches. *Agronomy Journal* 97, 322–332. doi:10.2134/agronj2005.0322

SPW (2016a). Carte des Sols de Wallonie. <http://geoapps.wallonie.be/CigaleInter/#CTX=CNSW#BBOX=168158.3808829802,169494.5293886105,151989.39873686642,152695.83764974424>

SPW (2016b). CIPAN : quelles obligations respecter ? <https://protecteau.be/resources/shared/publications/articles/160805-CIPAN-SIE-module.pdf>

Taberlet P., Gielly L., Pautou G., and Bouvet J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol Biol* 17, 1105–1109. doi : 10.1007/BF00037152

Taggart, Cahill Jr James F., McNICKLE GORDON G., and Hall Jocelyn C. (2010). Molecular identification of roots from a grassland community using size differences in fluorescently labelled PCR amplicons of three cpDNA regions. *Molecular Ecology Resources* 11, 185–195. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02893.x

Techozyme (2016). Quantification et analyse d'acides nucléiques par spectrophotométrie. <https://www.ozyme.fr/ressources/cyberlettres/techozyme/techozyme31-quantification-acides-nucleiques.asp>

Teng Y., Luo Y.-M., Gao J., and Li Z.-G. (2008). Combined remediation effects of arbuscular mycorrhizal fungi-legumes-rhizobium symbiosis on PCBs contaminated soils. *Huanjing Kexue/Environmental Science* 29, 2925–2930.

Thomas F., and Archambeaud M. (2015). Couverts végétaux d'interculture. TCS, http://agriculture-de-conservation.com/sites/agriculture-de-conservation.com/IMG/pdf/couverts_vegetaux_2018.pdf

Thomas F., Archambeaud M., and Soltner D. (2013). « Les couverts végétaux : gestion pratique de l'interculture. » (France agricole : Paris)

Thorup-Kristensen K. (2001). Are differences in root growth of nitrogen catch crops important for their ability to reduce soil nitrate-N content, and how can this be measured? *Plant and Soil* 230, 185–195. doi:10.1023/A:1010306425468

Tisdall J. M., and Oades J. M. (1982). Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science* 33, 141–163. doi:10.1111/j.1365-2389.1982.tb01755.x

Tobiašová E., Barančíková G., Gömöryová E., Dębska B., and Banach-szott M. (2017). Humus Substances and Soil Aggregates in the Soils with Different Texture. *Research gate*. https://www.researchgate.net/profile/Gabriela_Barancikova/publication/320067171_Humus_substances_and_soil_aggregates_in_the_soils_with_different_texture/links/59e9e0b6458515c3638a0198/Humus-substances-and-soil-aggregates-in-the-soils-with-different-texture.pdf

Vancutsem F., Pierreux J., and Bodson B. (2012). Dynamique de dégradation des résidus de culture dans le sol en fonction de la profondeur d'enfouissement et de la quantité enfouie. Impacts sur le développement des cultures en place. <https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/116845/1/2012%20Poster%20afes.pdf>

Vandenberghe, Lambert, and Marcoen (2010). Evaluation de l'efficacité des cultures intermédiaires piège à nitrate (CIPAN) en novembre. <https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/32739/1/cipvan.pdf>

Verhallen A. (2001). Cultures couvre-sol : Autres légumineuses. http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/cover_crops01/other_legumes.htm

Verhallen A. (2005). Le sol vivant : mieux comprendre son rôle pour optimiser vos pratiques agricoles Partie 1 - Introduction. *Country guide*. <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/livingsoil1.htm>

- Waligora C. (2010). Racines et sol : un monde de communications et d'équilibres - *A2C le site de l'agriculture de conservation*. <http://agriculture-de-conservation.com/Racines-et-sol-un-monde-de.html>
- Waligora C. (2014). Exsudats racinaires, l'essence même des sols - *A2C le site de l'agriculture de conservation*. <http://agriculture-de-conservation.com/Exsudats-racinaires-l-essence-meme.html>
- Wauters E., Biielders C., Poesen J., Govers G., and Mathijs E. (2010). Adoption of soil conservation practices in Belgium: An examination of the theory of planned behaviour in the agri-environmental domain. *Land Use Policy* 27, 86–94. doi:10.1016/j.landusepol.2009.02.009
- Wendling M., Büchi L., Amossé C., Sinaj S., Walter A., and Charles R. (2016). Influence of root and leaf traits on the uptake of nutrients in cover crops. *Plant and Soil* 409, 419–434. doi:10.1007/s11104-016-2974-2
- Williams S. M., and Weil R. R. (2004). Crop Cover Root Channels May Alleviate Soil Compaction Effects on Soybean Crop. *Soil Science Society of America Journal* 68, 1403–1409. doi:10.2136/sssaj2004.1403
- Wivstad M. (1999). Nitrogen mineralization and crop uptake of N from decomposing ¹⁵N labelled red clover and yellow sweetclover plant fractions of different age. *Plant and Soil* 208, 21–31. doi:10.1023/A:1004407119638
- Woodward J. E., Brennen T. B., Kemeraite, Jr. R. C., Culbreath A. K., and Clark J. R. (2006). Sclerotinia Blight in Georgia and Evidence for Resistance to Sclerotinia sclerotiorum in Runner Peanuts. *Plant Health Progress*. doi:10.1094/PHP-2006-0531-01-RS
- Yanai R., Fisk M., Fahey T., Cleavitt N., and Park B. (2008). Identifying roots of northern hardwood species: patterns with diameter and depth. *Canadian Journal of Forest Research* 38, 2862–2869. doi:10.1139/X08-125
- York L. M., Carminati A., Mooney S. J., Ritz K., and Bennett M. J. (2016). The holistic rhizosphere: integrating zones, processes, and semantics in the soil influenced by roots. *Journal of Experimental Botany* 67, 3629–3643. doi:10.1093/jxb/erw108
- Yu Y., Loiskandl W., Kaul H.-P., Himmelbauer M., Wei W., Chen L., and Bodner G. (2016). Estimation of runoff mitigation by morphologically different cover crop root systems. *Journal of Hydrology* 538, 667 – 676. doi:https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2016.04.060
- Zeng W., Xiang W., Zhou B., Lei P., and Zeng Y. (2017). Measurement of belowground diversity of fine roots in subtropical forests based on a quantitative real-time PCR (qPCR) method. *Plant Soil* 420, 539–552. doi:10.1007/s11104-017-3402-y
- Zuazo V. H. D., and Pleguezuelo C. R. R. (2008). Soil-erosion and runoff prevention by plant covers. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 28, 65–86. doi:10.1051/agro:2007062

7. Annexes

7.1. Vue aérienne de la parcelle



Figure 34 : Vue aérienne de la parcelle expérimentale où les blocs de répétitions sont représentés en rouge. Image satellite réalisée le 24/09/2017 (Google Earth).

7.2. Protocoles pour l'analyse ADN des racines

7.2.1. Extraction de l'ADN des échantillons

Miniprep ADN génomique F

Adapté de Doyle et Doyle, Focus 12 n°1 13-15 (1998)

Solutions :

- Tampon d'extraction	
conserver à 4°C	conc finale
10ml Tris HCl 1M pH 8.0	100mM
10ml EDTA 200mM pH 8.5	20mM
28ml NaCl 5M	1.4M
200µl de β-mercaptoéthanol	0.2% (v/v) (avant l'extraction)
2g de CTAB	2% (m/v)
1g de PVP 360 (40)	1% (m/v)
5ml de Na ₂ S ₂ O ₅ 10mM	0.5mM (antioxydant)
<u>H₂O stérile</u>	
100ml	

Dissoudre à 60°C (jusqu'à ce que ce soit limpide)

- Chloroforme / Alcool Isoamylique (24:1)
96ml Chloroforme
4ml alcool isoamylique

- Isopropanol (conserver à 4°C)
- Ammonium d'acétate 10M
- Ethanol absolu
- NaCl 5M
- Ethanol 70%
- TE 1*
- Rnase 10mg/ml

TE 1X

Tris 1M pH 8.0 100ml
EDTA 0.2M pH 8.0 5ml
1000ml

Protocole:

1. préchauffer le tampon d'extraction à 60°C. (25ml pour 36 échantillons + 50µl β-mercaptoéthanol)
2. récolter 50-100mg de feuilles (dans la glace). On peut les stocker à -70°C.
3. ajouter 600µl de tampon d'extraction préchauffé à 60°C.
4. écraser les tissus avec un bâtonnet stérile.
5. incubé à 60°C pendant 30 minutes en agitant de temps en temps.
6. ajouter 600µl de Chloroforme/Alcool Isoamylique (24:1).
7. Mélanger doucement en inversant plusieurs fois la cupule.
8. centrifuger 15 minutes à 10000rpm à température ambiante.
9. transférer la phase aqueuse (supérieure) dans un nouvel eppendorf de 2ml (540µl) → si possible.
10. précipiter avec 216µl NaCl (2M final). Mélanger (NA 2.5M)
11. Reprécipiter avec 2 volumes d'éthanol (1512µl), mélanger doucement par inversion.
12. Centrifuger 10 minutes à 10000rpm à 4°C. si trop sel 100µl TE + 200µl Alcool absolu → si trop sel 100µl TE + 200µl Alcool absolu → si trop sel 100µl TE + 200µl Alcool absolu
13. laver le culot à l'éthanol 70% (100µl) (laisser sécher le temps de l'Alcool)
14. resuspendre dans 50µl de TE 1*. Laisser dissoudre.
15. +2µL de Rnase (solution 10mg/ml). Stocker à -20°C.

↓
No. 1/2 h à 37°C — Gel Agarose : 2.4g / 200ml → TBE
Petit gel 4.8g / 150ml. S1 ADN + 15µl H₂O + 10µl
Double Fractions (Gel) = 100µl

UTILISATION DU LICOR

Préparation des solutions :

Bind silane : 50 µl de bind silane dans 10 ml d'éthanol 100%. Protéger de la lumière.

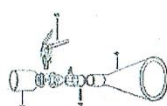
Acide acétique 10% : 10 ml dans 100 ml final d'H₂O distillée.

TBE 10X : soit : *Dissoudre un sachet de TBE Wetburg dans 1 L final d'H₂O distillée.

*Préparation 'Maison' :

tris base	107.8g
Acide borique	55.8g
EDTA	7.4g
H ₂ O	porter à 1000 ml

Filter avec un appareillage sous vide sur filtre 0.45µm HV raccorder à la distribution d'eau ou au 'SpeedVac'.



Conserver à 4°C.

Persulfate d'ammonium 10% (APS): 2 g dans 20 ml final d'H₂O stérile. Aliquoter par 200 µl dans des cupules stériles de 1,5 ml. Conserver à -20°C. *Sigma*

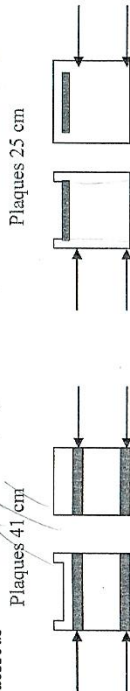
Acrylamide : 5.5% KB^{plus} } Conserver à 4°C
6.5% KB^{plus}

Temed : se trouve à 4°C. N,N,N',N'-Tetrahydroxy-2,2,2-triméthyl-1,3-bis(4-aminophényl)éthane

→ Acrylamide 5.5% et 6.5% KB^{plus} et Temed

Montage des plaques : ⚠ UTILISER DES GANTS NON POUDRES ⚠

- Prendre une plaque à oreilles et une pleine ; les déposer sur des supports face coins érodés vers soi et en bas. Les nettoyer avec de l'H₂O distillée et ensuite à l'éthanol absolu.
- Préparer, dans une cupule Eppendorf de 1ml, 150 µl (100µl) de bind silane + 150 µl (100µl) d'acide acétique 10%. Etaler 150 µl (100µl) de cette solution comme sur les dessins ci-dessous



Placer les spacers (0.2mm ou 0.25mm) de chaque côté de la plaque pleine et poser délicatement la plaque à oreilles par-dessus afin que les coins érodés soient face à face. Placer les rails d'assemblage à gauche et à droite du montage. Serrer sans trop forcer les vis du milieu et ensuite celles du haut et du bas.

Mettre l'ensemble sur le portoir en plexiglas ; revisser légèrement si nécessaire. Replacer le montage sur les supports, oreilles vers soi. Glisser des papiers absorbants de part et d'autres.

Gel 6% : 5.5% KB^{plus} 150 µl APS 150 µl TBE 10X 200 µl Temed 20 µl

Préparation et coulage du gel :

Longueur gel	Pourcentage gel	Epaisseur Spacers	Volume KB ^{plus} gel	10% APS (µl)	Temed (µl)	Concentration TBE
25 cm	6.5	5.5	20 ml	150	15	1X
41 cm	5.5	0.2 mm	30 ml	200	20	0.8X

Mettre dans un bécher la quantité de KB^{plus} nécessaire + l'APS + le temed. Prélever cette préparation à l'aide d'une seringue de 20 ml munie d'un mini filtre stérile 0.2µm. Couler en effectuant un mouvement de va et vient le long de la plaque. Incliner légèrement le montage ou tapoter pour faire descendre le liquide jusqu'au bout des plaques. Si formation de bulles, les éliminer à l'aide du grand chasse bulles.

Insérer le peigne (de préférence, utiliser un peigne dont les dents de requin sont usagées) côté plein entre les 2 plaques. Glisser le petit étai (casing plate) en plexiglas et serrer sans forcer. Laisser polymériser pendant +/- 1h30. 30'

Nettoyage du gel :

Préparer 1l de TBE. Enlever l'étai.

A l'aide d'une seringue de 20 ml munie d'une aiguille 25G 5/8, insuffler un peu de TBE sur et sous le peigne. Oter le peigne avec délicatesse, et bien rincer l'empreinte faite par le peigne avec le TBE. Gratter l'excédent d'acrylamide avec la lame ad hoc.

Redresser le gel sur le support en plexiglas et le placer devant une feuille de papier noire afin de mieux visualiser l'empreinte.

Éliminer toutes traces d'acrylamide à l'aide d'un chasse bulles, de la lame de rasoir et du TBE 1X. Il ne peut subsister AUCUNE trace d'acrylamide, un chargement correct en dépend. Enlever également l'excès d'acrylamide au bas du gel. Nettoyer l'endroit et l'envers des plaques à l'H₂O distillée, veiller à ce que l'endroits oil passe le laser soit très propre.

Après lavage à l'eau puis à l'éthanol

7.2.2. Utilisation de l'appareil LI-COR (Westburg) DNA 4300

Chargement des échantillons :

Lorsque le pré run est terminé, ouvrir le capot du séquenceur, enlever le câble d'alimentation et l'électrode supérieure.

Rincer délicatement et correctement les puits à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille 25G 5/8 et remplie de tampon TBE 0.8X.

Charger 0.7 μ l de chaque échantillon (pipette multicanaux).

Replacer l'électrode et le câble d'alimentation, fermer le capot.

Lancer le run → Start Run

Désassemblage et lavage :

Enlever le tampon du dessus à l'aide du tuyau en caoutchouc fourni et l'insérer dans la tubulure blanche située en dessous de la cuve. Le tuyau doit plonger dans un récipient de récupération.

Retirer le gel sandwich du séquenceur. Le poser sur les supports sur la table et retirer les rails d'assemblage, les passer à l'eau et les laisser sécher, ensuite les ranger.

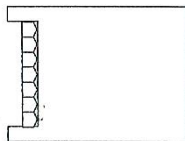
Insérer le levier noir entre les 2 coins érodés et soulever les plaques pour les séparer.

Retirer les spacers et le peigne, les nettoyer à l'eau courante, ensuite à l'eau distillée ; les essuyer avec un papier absorbant, les ranger.

Gratter l'acrylamide des plaques à l'aide d'une lame, le jeter dans un seau approprié.

Poser les plaques (l'une après l'autre) dans le fond de l'évier, sur le tapis ; frotter l'acrylamide restant avec la brosse appropriée. Rincer à l'eau chaude, puis à l'eau distillée. Poser sur le range plaques et rincer à l'éthanol absolu.

Glisser le peigne (0,2 mm ou 0,25 mm), côté dents de requin dans l'empreinte, en veillant à positionner les dents juste à ras du gel.



Préparation de l'électrophorèse:

A la place du casting plate (petit étai), mettre la cuve prévue pour le tampon électrophorèse en humectant légèrement le joint blanc : serrer les vis à force.

Placer le bac inférieur pour le tampon d'électrophorèse dans le séquenceur et le gel sandwich dans les encoches adéquates.

Verser le TBE dans la partie supérieure jusqu'au trait (+/- 500 ml) et le reste dans le bac inférieur

Mettre les électrodes, ainsi que le câble d'alimentation. Fermer le capot.

Lancer le pré-run : *ordinateur « Saga » → ouvrir session utilisateur

→ ouvrir Saga generation2

→ ouvrir Saga Generation2

Application Server : abaisser la fenêtre

→ ouvrir e-Seq V2.0

→ **File** → **New Run** : remplir et corriger les cases nécessaires. Cliquer sur **Begin Pre-run**. → Après initialisation Ouvverture automatique de 2 fenêtres : **Sequencing Wizard** → modifier Comb si nécessaire.

Sequencing Wizard > Mover Como si necessita: Scanner Console Mypoint -> Pre-Run in progress

A la fin du pré-run, Waiting to Load Samples

Conditions de pré run et run : séquençage
 1500V 40 mA 1500V 40 mA
 30W 30W 40W 40W
 45°C 45°C 50°C 50°C
 1h25 3h 1h25 3h
 3 scan speed 3 scan speed

préparation des échantillons : (à préparer pendant le pré-run)

A l'aide de la pipette multicanaux, mettre, dans chaque cupule, le tampon de charge (2-
 reproduction des commentaires: (à préparer, pendant 10 pré run)
 l de IR² loading buffer/4 µl PCR on 0.5 µl Blue Stop/1 µl PCR⁺ marqueurs)

Dénaturer les échantillons à 95°C pendant 2 minutes dans un des appareils PCR.

Garder sur glace jusqu'au chargement

Flanqueras 12l

7.3. Graphes des densités d'impacts de racines en fonction des dates de prélèvement

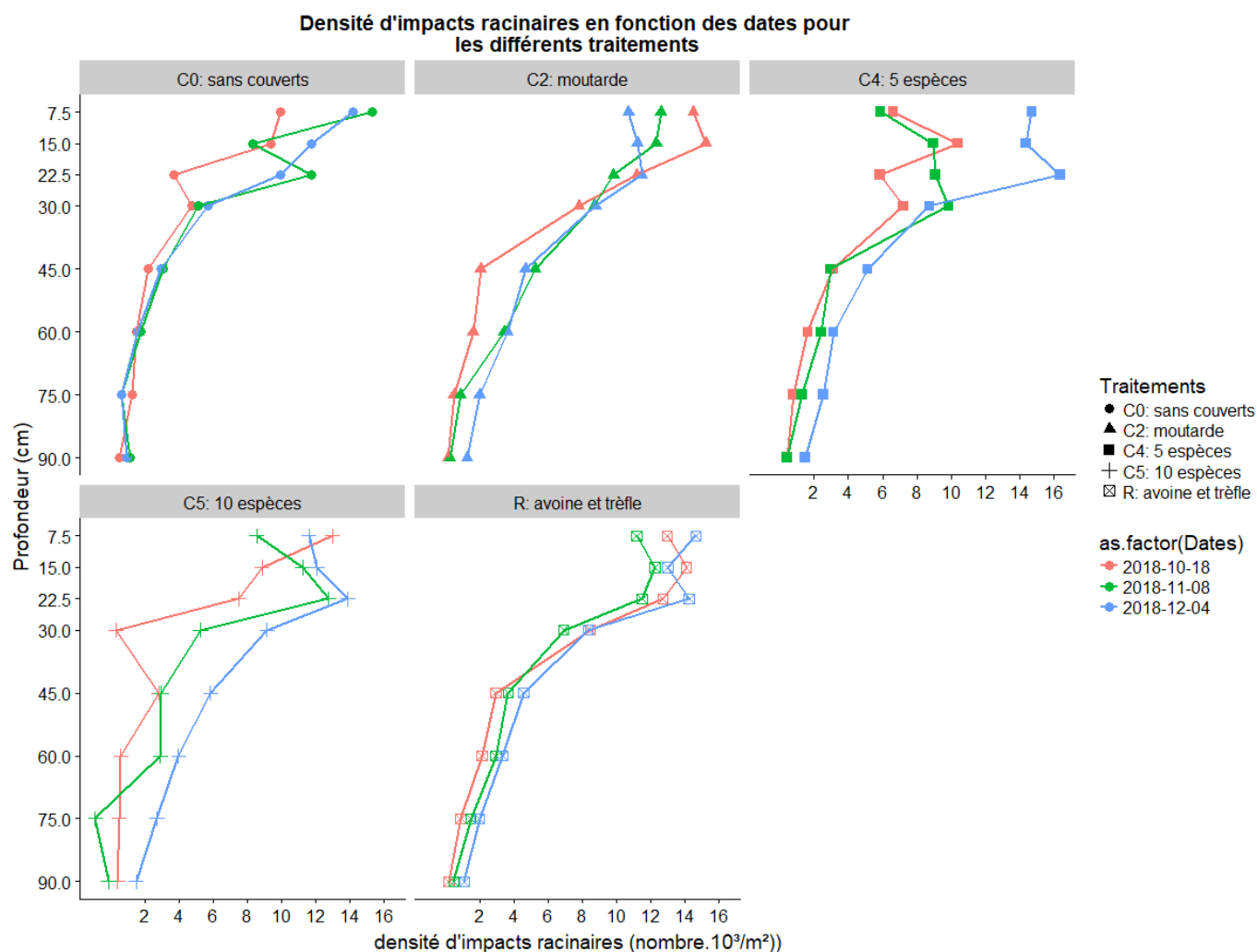


Figure 35 : Densité d'impacts racinaires moyens (nombre d'impacts.10³.m⁻²) en fonction de la profondeur pour les différents traitements. Observation des trois dates des prélèvements

Tableau 22 : Moyennes et écarts-types de densités d'impacts de racines pour les différents couverts en fonction des trois dates de prélèvements. Les lettres de groupes identiques ne sont pas significativement différentes.

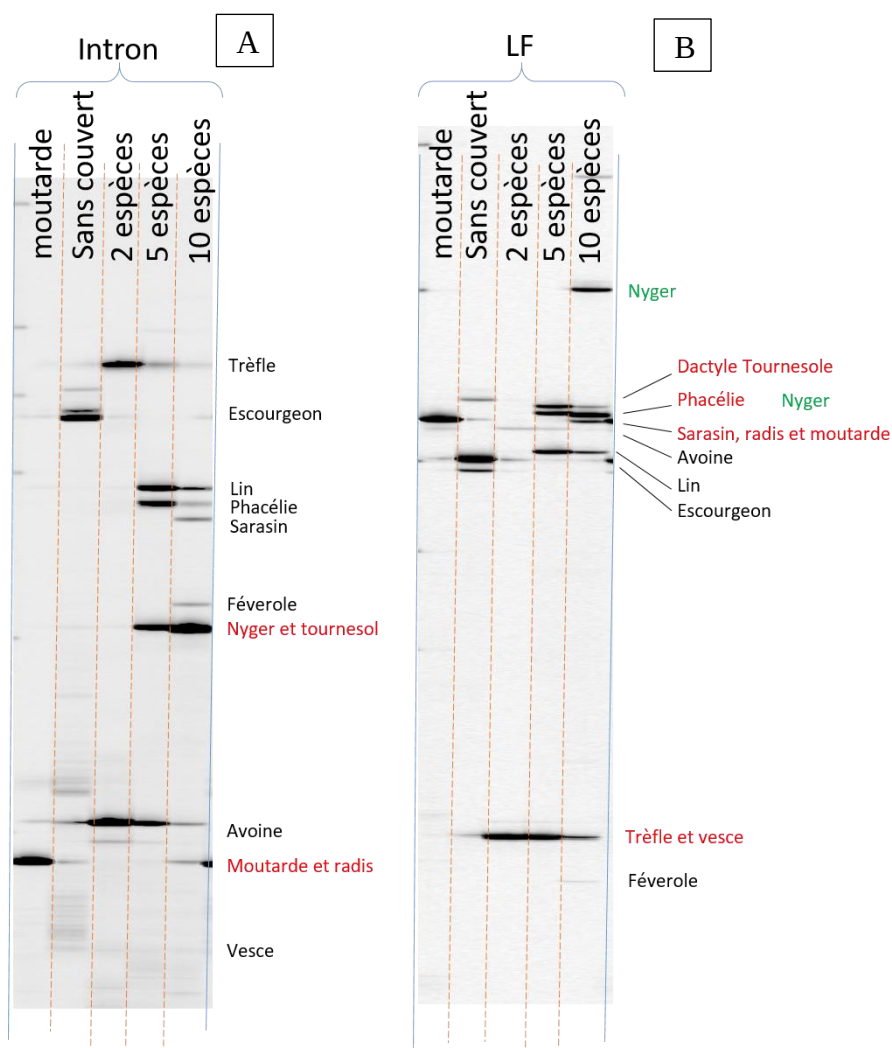
	Dates	μ [nombre.10 ³ .m ⁻²]	σ	Groupes
Sans couvert	18-10-2017	4,16	4,23	A
	08-11-2017	5,90	5,63	A
	04-12-2017	5,97	6,24	A
Moutarde	18-10-2017	6,64	6,68	A
	08-11-2017	6,49	5,47	A
	04-12-2017	6,74	6,11	A
Référence : 2 espèces	18-10-2017	6,82	6,29	A
	08-11-2017	6,32	6,34	A
	04-12-2017	7,66	6,08	B
5 espèces	18-10-2017	4,49	4,19	A
	08-11-2017	5,10	4,56	A
	04-12-2017	8,31	7,19	B
10 espèces	18-10-2017	4,26	6,62	A
	08-11-2017	5,34	6,48	AB
	04-12-2017	7,60	6,10	B

7.4. Tableaux des estimations des paramètres du modèle de couverture du sol pour les D1 et D2

Tableau 23 : Estimation des paramètres $V(i)$ et $t0(i)$ pour les différents traitements et pour les 2 densités.

		Estimation V	σ	Estimation t0	σ
Sans couvert	D1	6,02	1,11	33,74	0,77
moutarde	D1	2,44	0,47	26,59	1,79
	D2	2,75	0,52	26,75	1,66
2 espèces	D1	5,72	1,01	32,51	0,73
	D2	5,75	1,02	31,32	0,72
5 espèces	D1	6,43	1,01	24,4	0,77
	D2	4,25	0,63	30,15	0,89
10 espèces	D1	4,29	0,71	28,07	1,00
	D2	4,20	0,69	27,78	1,01

7.5. Gel de mise au point : mélanges artificiels



7.6. Gels provenant des échantillons de décembre

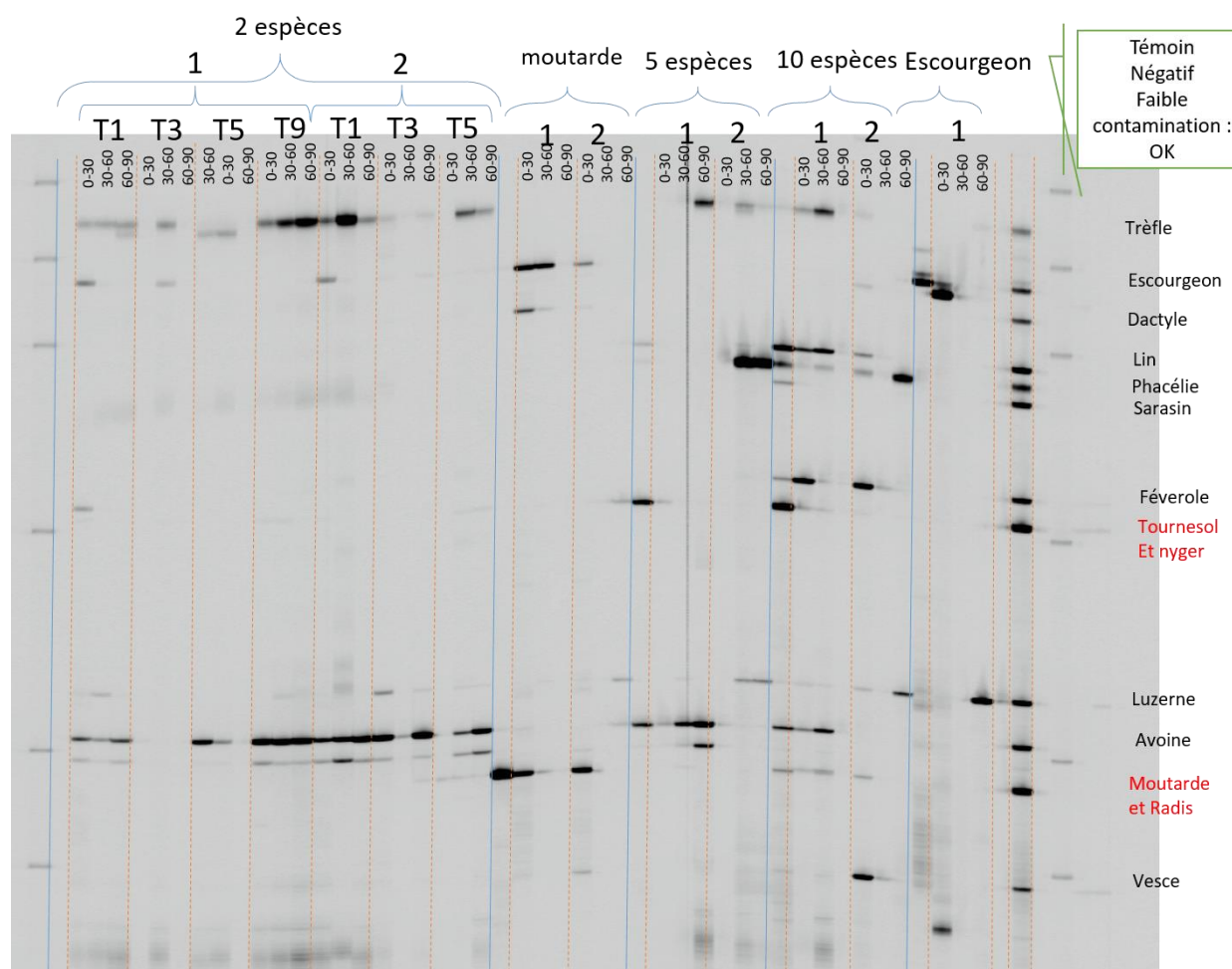


Figure 37 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). Première série d'échantillons sur le marqueur trnL-intron. Les 1 et 2 représentent les blocs de répétitions.

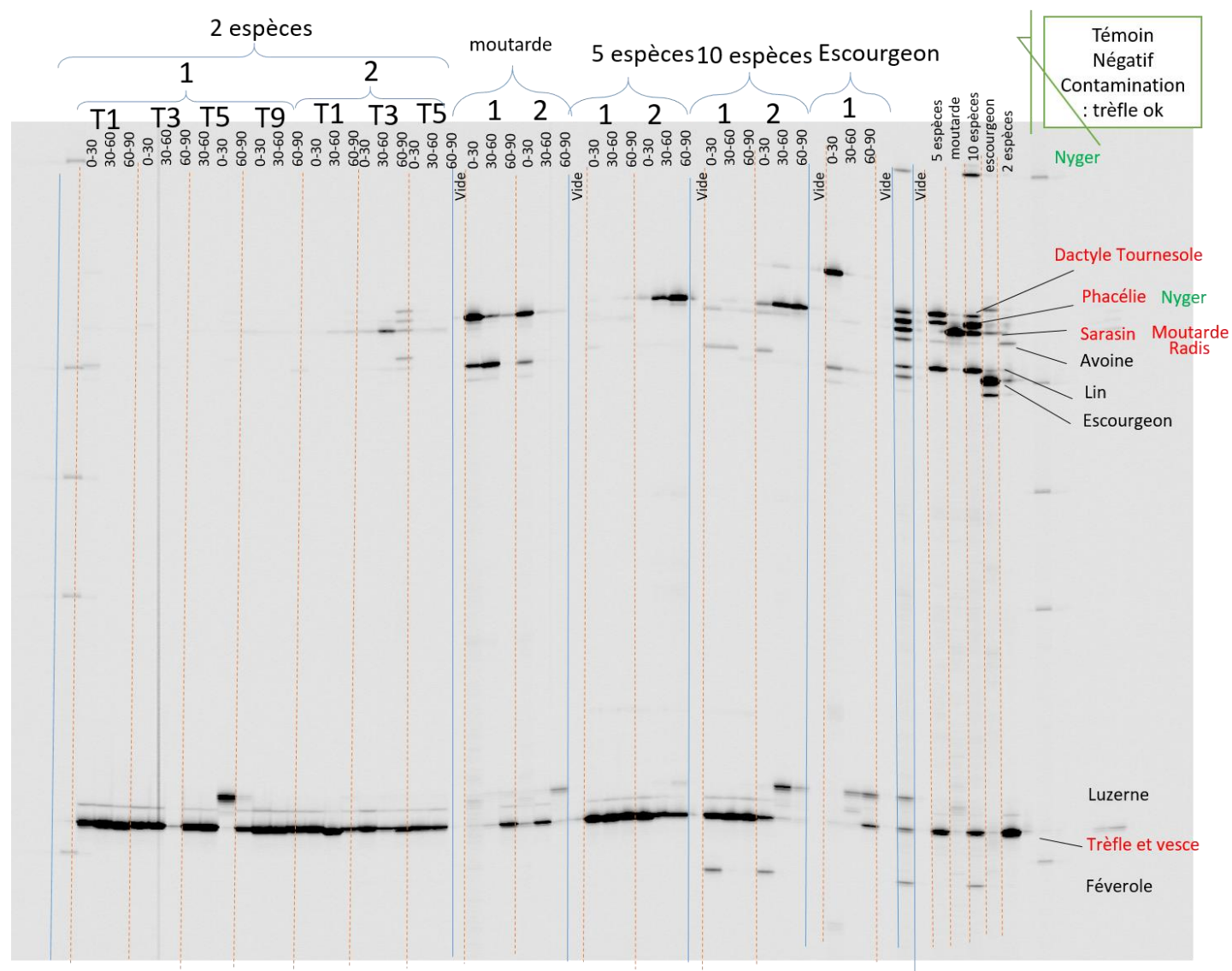


Figure 38 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). Première série d'échantillons sur le marquer trnL-trnF.

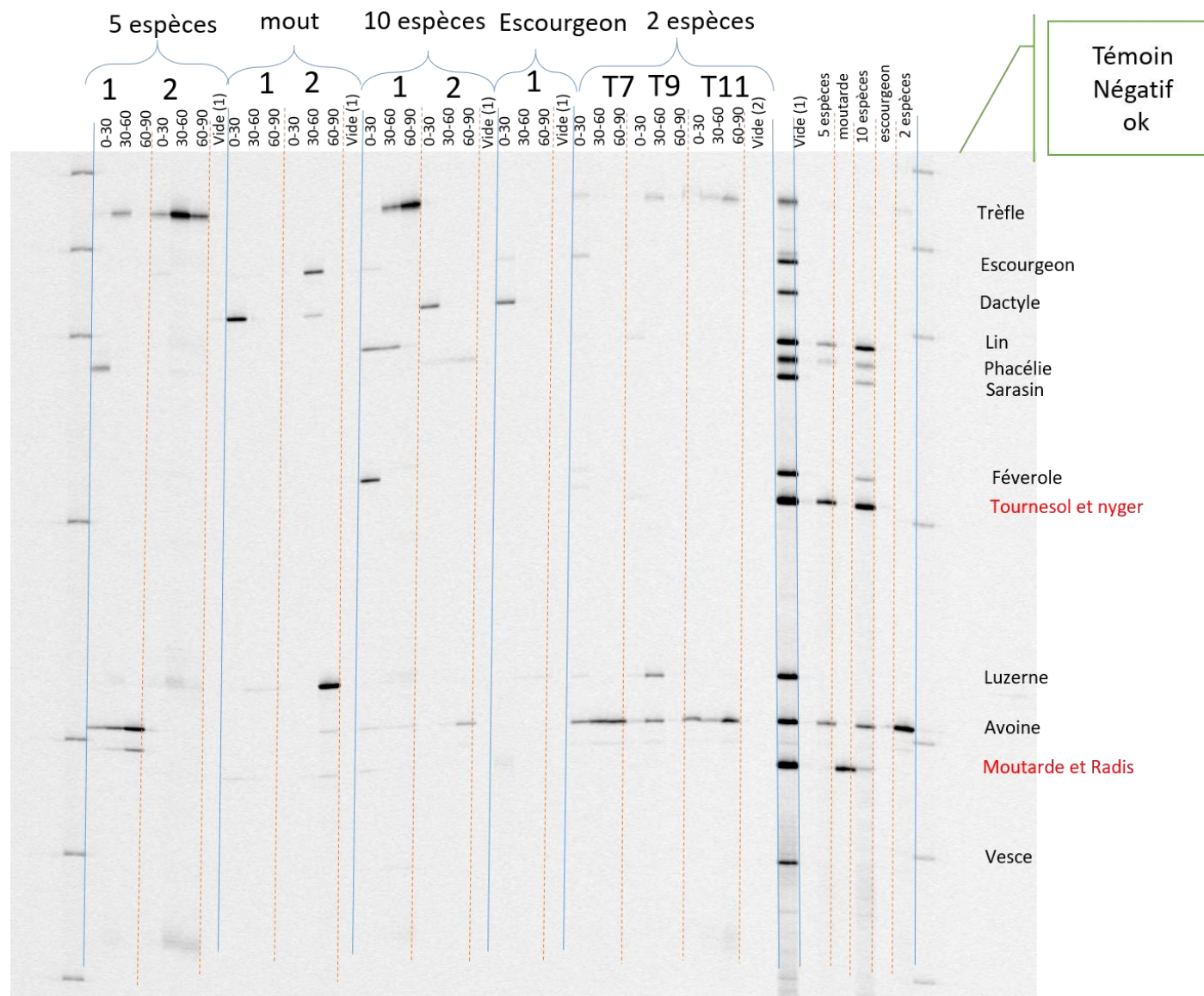


Figure 39 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). Deuxième série d'échantillons sur le marquer trnL-intron.

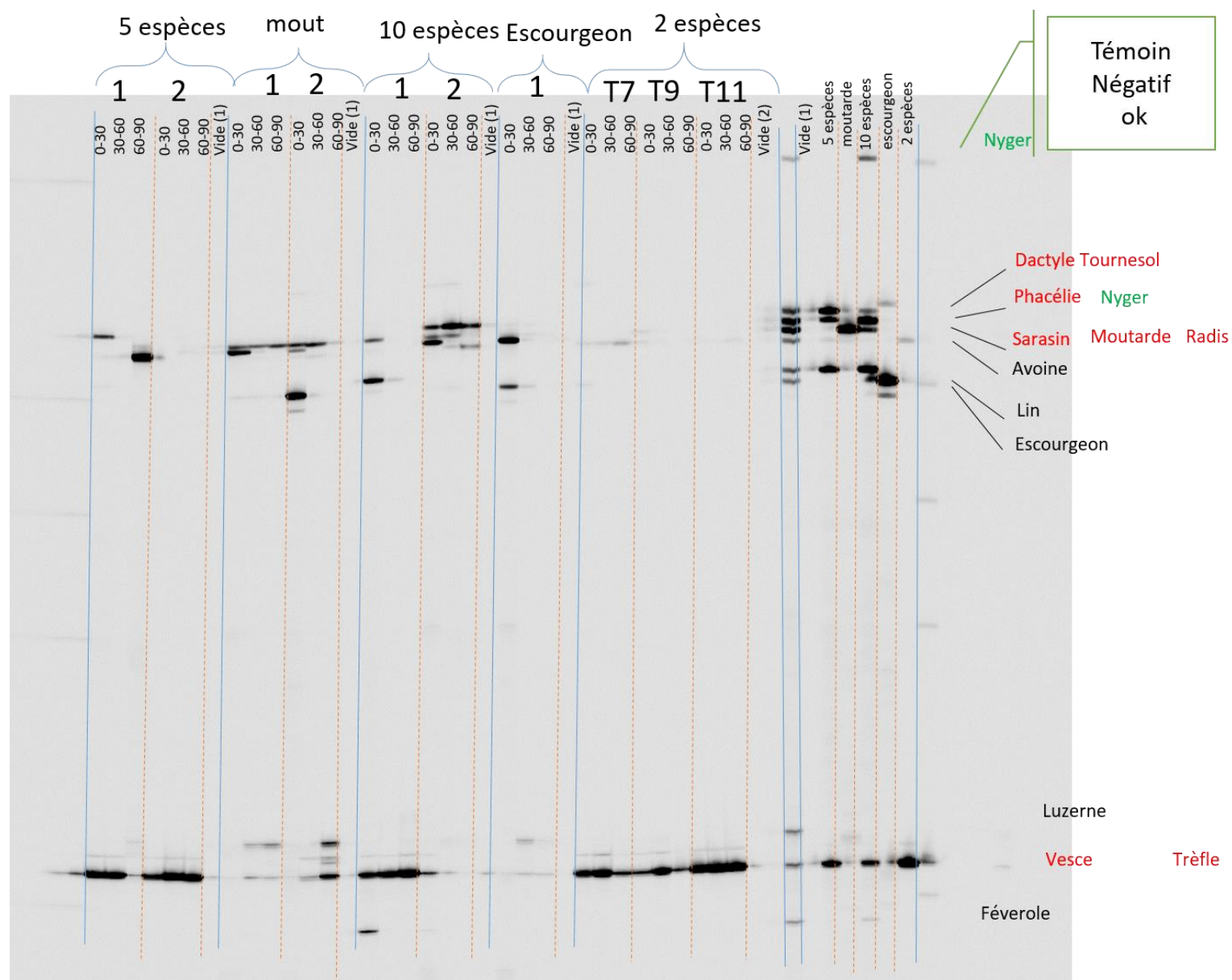


Figure 40 : Gel d'électrophorèse des résultats d'amplification PCR par la méthode FAFLP des fragments d'ADN issus des tests de mélanges artificiels. Études des cinq traitements : sans couvert/escourgeon, moutarde, référence (2 espèces : avoine et trèfle), 5 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin et tournesol) et 10 espèces (avoine, trèfle, phacélie, lin, tournesol, sarrasin, radis, vesce, féverole et nyger). Deuxième série d'échantillons sur le marqueur trnL-trnF.

Influence de la composition spécifique de couverts végétaux sur les paramètres physiques, chimiques et biologiques du système sol-plante : Étude des racines

Présenté par Diane Heymans

Résumé Les couverts végétaux sont des cultures plantées durant la période d'interculture et non récoltées afin de fournir différents services écosystémiques au système sol-plante. La législation impose leur implantation dans de nombreux de cas. Dans le contexte d'une agriculture en transition vers une plus grande durabilité, une connaissance approfondie des mélanges de couverts végétaux, qui fournissent un plus grand nombre de services écosystémiques, permet de guider les agriculteurs à faire leur choix parmi les différents couverts implantables.

L'objectif général de ce mémoire est d'observer différents types de couverts végétaux et d'étudier les influences qu'ils auront sur des services écosystémiques. La mise en place d'une parcelle expérimentale contenant cinq traitements mono- et multi-espèces semées en deux densités nous a permis de faire des mesures sur la couverture du sol, sur le nombre d'individus de chaque espèce dans les différents traitements, sur le GAI et sur la biomasse aérienne. Les traitements étudiés sont un couvert de moutarde, des mélanges de 2, 5 et 10 espèces et un traitement sans couvert. L'objectif spécifique a été la mise en place de méthodes d'observation des racines au sein de mélanges pour différentes profondeurs de sol. L'utilisation de la méthode du *core-break* nous donne une mesure de densité surfacique de racines. Une mesure de biomasse racinaire a également eu lieu. Ensuite, nous avons utilisé la méthode du « *Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphisms* » (FAFLP) pour détecter les espèces au sein des mélanges de racines et ce pour différentes profondeurs.

Les résultats obtenus nous relèvent trois couverts couvrant rapidement le sol : les couverts de 5 et 10 espèces ainsi que la moutarde. La biomasse aérienne augmente en fonction du nombre d'espèces dans le mélange. L'étude des racines dévoile une augmentation dans le temps de la densité racinaire des couverts de 5 et 10 espèces. Dans les horizons au-dessus de la semelle de labour (30 cm), les mélanges de 2 et 5 espèces présentent des densités de racines et une biomasse plus élevée tandis que les traitements à 5 et 10 espèces explorent le sol plus en profondeur.

Les analyses FAFLP ont en premier lieu permis la mise en place d'une échelle de référence pour trois marqueurs moléculaires universels, le trnT-trnL, trnL-intron et le trnL-trnF. Les deux derniers ont été utilisés pour les analyses d'échantillons en champ. Les résultats obtenus semblent cohérents, mais ne sont pas généralisables étant donné le faible nombre de répétitions.

En conclusion, le couvert pour lequel les mesures réalisées sont les plus avantageuses est celui de 5 espèces. Il couvrira le sol rapidement tout en produisant une biomasse aérienne et en structurant le sol en surface et en profondeur.