



HAL
open science

Rapport final projet Vivepois

Wassila Riah-Anglet

► **To cite this version:**

| Wassila Riah-Anglet. Rapport final projet Vivepois. Unilasalle Rouen. 2021. hal-04573276

HAL Id: hal-04573276

<https://hal.science/hal-04573276>

Submitted on 13 May 2024

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

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



Rapport final projet Vivepois

Isabelle GATTIN – UniLaSalle;

Novembre 2019



A- Description synthétique du projet, et éléments nouveaux à signaler, le cas échéant :

1. Titre : NOUVELLE CULTURE REGIONALE AU SERVICE DE L'AGRO-ECOLOGIE : LE POIS D'HIVER (VIVEPOIS)
2. Durée : 36 mois

Durée initialement prévue	Durée effective
- 36 mois - date de démarrage : 01/09/2016 - date de fin : 30/8/2019	- 36 mois - date de démarrage : 01/09/2016 - date de fin : 30/8/2019

3. Objet et objectifs :

- **Contexte**

Dans un contexte de transition agroécologique, l'enjeu est de pouvoir maintenir ou augmenter la production tout en limitant l'empreinte environnementale de l'activité agricole (Altieri et al., 2002 ; Thénard et al., 2014). Les externalités positives d'un certain nombre de pratiques agricoles permettent aujourd'hui d'envisager la construction et le développement de systèmes de culture performants d'un point de vue agronomique, écologique et sociétal pour répondre aux exigences réglementaires et aux attentes des consommateurs (Plénet et Simon, 2015). Les différentes démarches nationales mises en œuvre pour stimuler et faciliter la transition des systèmes de production agricole (Ecophyto 1(2009 – 2014), Ecophyto 2 (2015 – 2020), projet agroécologique pour la France (lancé en 2013), plan protéines végétales (2014 – 2020), ambition Bio 2017, ...) s'inscrivent dans cette démarche et offre un contexte favorable au développement des cultures de légumineuses (Duc et al., 2010 ; Schaller, 2012). En effet, grâce à leur capacité à fixer l'azote atmosphérique, en association avec les bactéries rhizobiacées, les légumineuses enrichissent le sol en azote et constituent une alternative intéressante à l'utilisation d'engrais chimique (Fustec et al., 2010 ; Gaba et al., 2014).

Malgré ces avantages agronomiques et environnementaux, les surfaces cultivées en pois protéagineux ne cessent de reculer. La part de terres arables actuellement consacrée à la culture de légumineuses en France atteint les 4.5%, alors que dans des pays comme les USA ou la Chine, ce pourcentage atteint environ 20%. Ce recul des légumineuses en Europe est lié à la fois à des choix politiques et une situation économique ayant donné, ces dernières années, la priorité à l'autosuffisance en céréales et à l'export. Les mesures d'incitation à la diversification des assolements dans la politique agricole commune, version 2015- 2020, donnent un nouvel élan à l'utilisation des légumineuses dans les successions culturales et notamment le pois. Les surfaces cultivées en pois d'hiver sont minoritaires en comparaison avec celles de pois de printemps. Pourtant, le pois d'hiver présente un certain nombre d'avantages, notamment en ce qui concerne le contrôle des adventices, la gestion des stress hydriques, la gestion du risque lié à *Aphanomyces euteiches* ou aux insectes ravageurs, la couverture du sol et la répartition du temps de travail (Unip et Arvalis, 2014).

C'est dans ce cadre politique et agricole qu'est né le projet VIVEPOIS (pour NOUVELLE CULTURE REGIONALE AU SERVICE DE L'AGRO-ECOLOGIE : LE POIS D'HIVER) qui est financé par la région Normandie. Le projet VIVEPOIS a été co-construit avec la chambre d'agriculture de la seine maritime et un groupe d'agriculteurs du pays de Bray (Seine maritime) souhaitant remplacer la culture de colza en tête de rotation par celle de pois d'hiver. Ces agriculteurs, constitués en « GIEE Pois d'hiver en pays de Bray » souhaitaient pouvoir bénéficier d'un suivi scientifique de leur parcelles afin d'évaluer l'impact de leur changement de pratiques à l'aide d'indicateurs d'état biologiques des sols.

Objectifs

Ce projet a pour objectif d'évaluer l'effet de l'introduction d'une culture de légumineuse, le pois d'hiver, sur la performance agronomique, environnementale et économique des successions culturales. Ce questionnement se positionne dans une problématique d'approche systémique de la performance, impliquant une analyse multicritère des systèmes de culture en comparaison avec des systèmes excluant les légumineuses. Il s'agira au travers de la mesure d'indicateurs écologiques (état biologique du sol, potentiel infectieux lié à *Aphanomyces*

euteiches), physicochimiques (fixation symbiotique de l'azote/disponibilité et physique du sol), agronomiques (rendements, niveaux d'intrants N et produits phytosanitaires), économiques (marge brute, débouchés et filières) et sociaux (répartition du temps de travail pour la gestion des cultures) de produire des références permettant d'identifier les atouts et les contraintes liés à l'implantation de cette culture.

B- Réalisation détaillée :

Ce projet s'est inscrit dans une étude globale prévue sur une durée de 3 ans et s'est décliné en 3 volets de recherches imbriqués et complémentaires pour contribuer à améliorer les connaissances sur la culture du pois d'hiver et ses impacts sur la fertilisation (volet 1), la biodiversité du sol (volet 2) et les interactions plante/pathogènes (volet 3) présentés sur la Figure 1. Les deux premiers volets de recherche ont constitué la problématique d'un sujet de thèse (Cyrine Rezgui). Le volet 3 a fait l'objet d'une seconde thèse (Pauline Lusley)

Pour répondre aux différents objectifs de chacun des volets, différentes échelles d'étude spatiotemporelles ont été utilisées. La première échelle correspondait à une étude en conditions multifactorielles en plein champ (*in situ*) et la seconde en serre pour permettre une analyse plus précise du développement des racines et des exsudats racinaires produits pendant la culture du pois d'hiver. Enfin des expérimentations sur la cinétique de la minéralisation des résidus de culture ainsi que les analyses physico-chimiques et biologiques ont été réalisées en conditions contrôlées au laboratoire.

Etudes à différentes échelles spatio-temporelles	Volet 1 : . Pois d'hiver et gestion de l'azote dans le système de culture	Volet 2: Suivi des communautés microbiennes dans les sols et les des fonctions résultantes	Volet 3 : Microorganismes spécifiques et interrelations avec la Plante
Rotation culturale aux champs	Reliquats azotés et caractéristiques physico-chimiques sol et plante	Quantification communautés microbiennes et activités enzymatiques	Détermination de présence de rhizobiacées, <i>Aphanomyces euteiches</i> (A.e) et mycorhizes
Stades phénologiques en serre	Suivi croissance racinaire et composition exsudats	Détermination des activités microbiennes et enzymatiques	Etude de différents gradients de rhizobactéries, de mycorhizes en présence d'A.e
Expérimentations et analyses en laboratoire	Cinétiques de minéralisation des résidus de culture	Analyses laboratoires des paramètres biologiques et physico-chimiques	Analyses laboratoires des oomycètes, mycorhizes et exsudats racinaires

Figure 1 : Les approches déployées dans le cadre du projet Vivepois pour les 3 volets aux différentes échelles spatio-temporelles

Le volet 1 et 2 ont fait l'objet d'un d'une mise en place d'un dispositif expérimental commun au champ

Volet 1. Pois d'hiver et gestion de l'azote dans le système de culture

Ce volet vise à déterminer l'effet de l'introduction du pois d'hiver (remplacement du colza) dans la rotation culturale sur la dynamique de l'azote par rapport à la culture du colza.

Action 1.1 Améliorer la compréhension de la dynamique de l'azote et sa restitution au champ la pour les cultures suivantes.

L'objectif de cette action est d'estimer les quantités d'azote fournies par le pois (comparativement au colza) et mobilisables par les cultures suivantes.

- **Etude au champ (in situ) :**

L'approche au champ repose sur la mise en place d'un dispositif au sein de parcelles d'agriculteurs membres du GIEE sur 3 ans (2016-2019) afin d'observer les effets de la modification de la rotation (pois d'hiver/colza) sur les cultures céréalières suivantes (blé – orge). Le travail d'identification des parcelles a été conduit par la chambre d'agriculture (F. d'Hubert) qui a assuré le lien entre UniLaSalle et les agriculteurs et assisté la plupart des prélèvements.

Un dispositif a été mis en place en 2 temps sur 2 parcelles : en (2016 – 2019, parcelle 1) et en (2017-2020, parcelle 2). Chaque parcelle a été découpée selon le dispositif décrit dans la figure 2. Chacune des rotations (colza-blé-orge OU pois-blé-orge) a été évaluée selon 2 modalités de fertilisation (N et 0N).

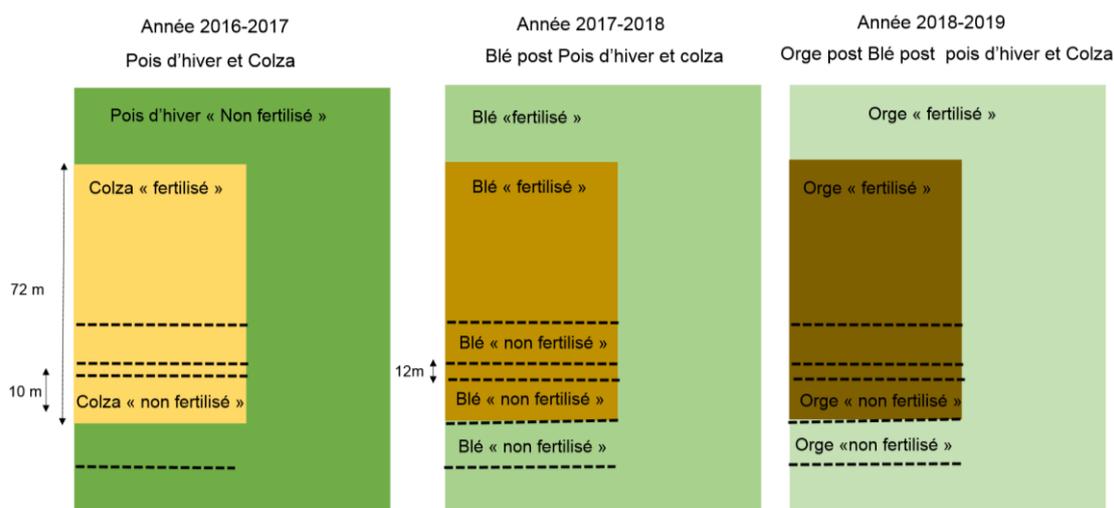


Figure 2 : Dispositif expérimental tel que mis en place chez les agriculteurs du GIEE (M. Trehet et V. Crevcoeur)

Les sols issus des parcelles des deux agriculteurs ont fait l'objet d'un suivi qui s'est focalisé sur l'acquisition de variables descriptives des paramètres physicochimiques des sols tels que texture, pH, teneur C et N total) et d'un suivi régulier des teneurs en azote minéral. Chaque année, deux campagnes d'échantillonnage ont été réalisées à l'entrée (octobre) et à la sortie de l'hiver (février) pour la mesure des reliquats azotés. Les échantillons de sol destinés à l'analyse des reliquats ont été prélevés à deux profondeurs différentes 0-30 cm et 30-60 cm. L'ensemble des prélèvements et analyses a été réalisé par les membres du laboratoire AGHYLE (UniLaSalle) dans le cadre de la thèse de Cyrine Rezgui.

- **Résultats & Discussion**

Les caractéristiques physicochimiques des sols issus des parcelles 1 & 2 sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques physicochimiques des sols étudiés

	Argile (%)	limon (%)	Sable (%)	pH	C total (g.kg ⁻¹ sol sec)	C organique (g.kg ⁻¹ sol sec)	N total (g.kg ⁻¹ sol sec)
Parcelle 1	6,56 ± 0,32	68,10 ± 1,52	25,34 ± 1,81	7,40 ± 0,00	14,03 ± 2,37	13,65 ± 2,22	1,46 ± 0,07
Parcelle 2	32,36 ± 2,16	49,81 ± 1,77	17,24 ± 1,53	7,58 ± 0,07	28,35 ± 2,97	26,89 ± 2,13	1,45 ± 0,36

Le suivi des reliquats azotés entrée et sortie d'hiver a été réalisé chaque année dans chaque parcelle sur 2 horizons 0-30 cm et 30-60 cm.

Le décalage dans le temps des deux dispositifs ne permettent pas la comparaison des reliquats entre les deux parcelles. En effet, les reliquats azotés sont très dépendant des conditions météorologiques de l'année de la mesure (Tableau 2).

Tableau 2 : Suivi des reliquats azotés au cours de la rotation culturale

Culture en place	Année 1				Année 2				Année 3			
	Pois		Colza		Blé de pois		Blé de colza		Orge de blé de pois		Orge de blé de colza	
	REH	RSH	REH	RSH	REH	RSH	REH	RSH	REH	RSH	REH	RSH
Parcelle 1	178,1 ± 5,6	45,1 ± 0,9	217,6 ± 0,4	15,8 ± 1,3	112,1 ± 2,2	57,9 ± 1,4	69,3 ± 0,9	55,9 ± 1,7	92,7 ± 0,2	93,2 ± 1,2	106,2 ± 0,8	41,9 ± 0,3
Parcelle 2	93,0 ± 1,5	154,1 ± 12,7	90,4 ± 2,7	147,7 ± 7,8	112,1 ± 1,8	73,0 ± 3,0	70,6 ± 3,6	45,9 ± 1,7				

Pour la parcelle 1, les températures élevées en fin d'été et automne 2016 ont favorisé la minéralisation des résidus de culture (enfouis après la récolte) ce qui a conduit à une quantité de reliquat entrée d'hiver de 175 (pour le pois) à 200 (pour le colza) kg N minéral/ha. Ce reliquat est très important et ne correspond pas à des données observées habituellement (Justes et al., 2010 ; Schneder et al., 2011 ; Preissel et al., 2015) ; il est à mettre en relation avec les conditions particulières de l'année 2016. En sortie d'hiver les reliquats sont plus faibles pour le colza (10 kg N minéral/ha) que pour le pois (40 kg N minéral/ha) ce qui peut être mis en relation avec une immobilisation de l'azote plus importante après apport de résidus de pois (Mitchell et al., 2001 ; Kumar et Goh, 2002). L'année suivante, après culture de blé, les reliquats d'entrée d'hiver sont plus important pour le précédent pois (110 kg N minéral/ ha pour 70 kg N minéral pour le colza fertilisé) suggérant une remobilisation de l'azote immobilisé dans le sol avec précédent pois. Enfin, en année 3, on constate un reliquat sortie d'hiver plus important pour le précédent pois quelque soit la fertilisation sur les cultures suivantes. L'arrière effet du pois sur la disponibilité de l'azote est donc visible 2 ans après l'introduction du pois dans la rotation. Les reliquats entrée d'hiver semblent pour leur part plus liés à la fertilisation de l'année en cours.

Pour la parcelle 2, située dans un autre contexte pédoclimatique, un effet du pois est également observé sur la disponibilité de l'azote en sortie d'hiver dès l'année 2 de l'expérimentation.

Afin d'estimer les pertes d'azote dans les parcelles étudiées, une modélisation agronomique par le logiciel Stics est en cours. Cette étape de modélisation a nécessité de collecter et de renseigner les données météorologiques, l'historique des itinéraires techniques des parcelles, les paramètres liés aux caractéristiques du sol et aux cultures à l'échelle de la rotation. Le logiciel Stics permettra également d'estimer le rendement, les biomasses aériennes des plantes, (...). La confrontation de ces données avec celles mesurées par la chambre d'agriculture nous permettra de valider la modélisation réalisée. L'aboutissement de ce travail est prévu pour février 2020.

Volet 2. Suivi des communautés microbiennes dans les sols et analyse des fonctions résultantes au cours de la succession culturale

Ce volet vise à déterminer l'effet de l'introduction du pois d'hiver (remplacement du colza) dans la rotation culturale sur la dynamique des communautés microbiennes et des fonctions résultantes.

Action 2.1: Déterminer l'effet de l'introduction du pois d'hiver dans la rotation culturale sur la dynamique des communautés microbiennes et des activités enzymatiques résultantes.

- **Approche in situ :** sur la parcelle 1 mise en place dans le volet 1, un suivi de l'abondance des communautés microbiennes a été réalisé. L'extraction d'ADN du sol et sa quantification a permis une estimation de la biomasse moléculaire totale, les biomasses bactérienne et fongique. En parallèle de la caractérisation des communautés microbiennes, un suivi des activités enzymatiques résultantes a été effectué par le dosage d'activités enzymatiques liées aux cycles du carbone (N-acétylglucosaminidase et β -glucosidase) et de l'azote (arylamidase).

• Résultats & Discussion

L'ensemble des paramètres biologiques mesurés au cours de l'année 3, sous couvert d'orge, a été intégré dans l'analyse en composante principale (Figure 3). Les résultats montrent que l'introduction du pois d'hiver a significativement modifié les communautés microbiennes en comparaison avec le colza et que cette modification persiste dans le temps. En effet, cet effet significatif a été observé dès la fin de première année c'est à dire sous les couverts de pois et de colza et est restée visible lors de la deuxième année et jusqu'à la fin de la rotation (3 ans). Le pois sélectionne certaines populations microbiennes au-cours de son développement (Sharma et al., 2005 ; Yu et al., 2012). La communauté fongique est souvent dominée par les Ascomycètes et par les espèces *Heliotales*, *Fusarium* et *Sistotrema*. Les mycorhizes représentent 5% de cette communauté et colonisent 10 à 20% des racines du pois. (Yu et al., 2012). La communauté bactérienne est dominée par des *Actinobacteries* et les *Gammaproteobacteries* (Sharma et al., 2005). Par ailleurs, le pois présente une communauté diversifiée de bactéries endophytes fixatrices d'azote ou non, dans ces nodules et ces racines (Tariq et al., 2014). Il serait intéressant dans la présente étude d'approfondir l'analyse de la diversité des communautés bactériennes et fongiques pour estimer l'héritage des modifications des communautés microbiennes suite à l'introduction du pois et /ou colza dans la rotation.

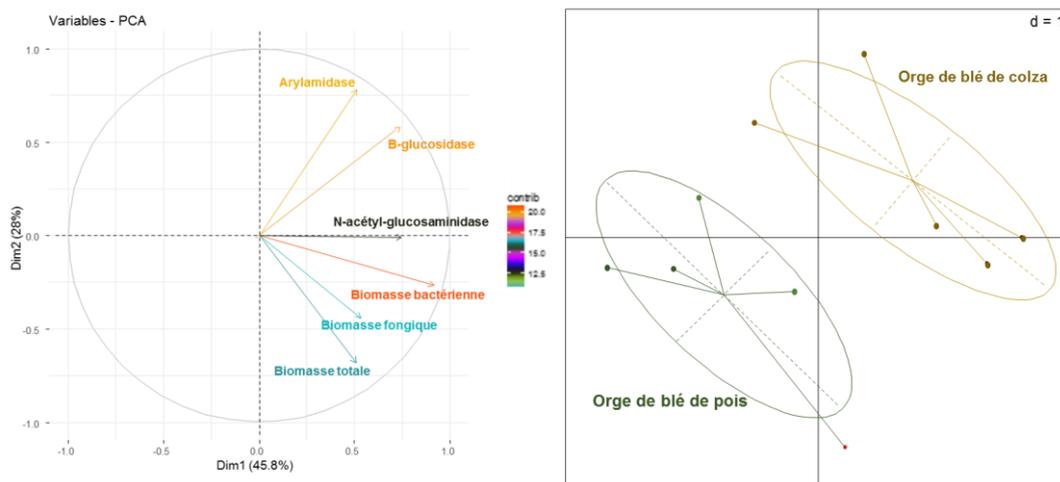


Figure 3 : Analyse en composante principal et cercle de corrélation regroupant les variables descriptives des communautés microbiennes et les activités enzymatiques résultantes après 3 ans de l'introduction du pois et du colza dans la rotation

✚ **Les résultats de cette étude menée au champ par une approche in situ (Volets 1 et 2) est en cours de valorisation sous forme d'article scientifique intitulé : « *Introducing Pisum Sativum L. in crop rotation, which effect on soil chemical and biological characteristics?* ». Il sera soumis fin janvier 2020 dans le journal *Soil and Tillage Research*. Cet article va constituer la 1^{ère} partie du chapitre des résultats du manuscrit de thèse de C. Rezgui.**

Action 2.2: Etude de la rhizodéposition C et N et caractérisation des exsudats racinaires du pois d'hiver, blé et colza

- **Approche serre :** l'objectif de cette approche est de caractériser les exsudats racinaires de trois espèces végétales (pois, blé et colza) et d'étudier l'impact de ces exsudats racinaires sur les communautés microbiennes du sol.

L'ensemble des expérimentations a été réalisé en conditions contrôlées dans la plateforme Normand Serre.

- Etude des exsudats racinaires : pour la caractérisation des exsudats racinaires du pois, du blé et du colza, une analyse de la littérature a permis de sélectionner un panel de dispositifs expérimentaux permettant la collecte simultanée des exsudats racinaires et d'analyser leurs effets sur les communautés microbiennes du sol. Parmi ces dispositifs, il existe le cotton wick, le split root (Mahieu et al., 2007) et le dispositif en Rhizom (Figure 5). Les deux derniers dispositifs ont fait l'objet de différentes mises aux points développés dans le cadre de deux stages de master 2 (C. Amy et R. Didier). Finalement les résultats préliminaires ont permis de cibler le dispositif Rhizom. Le principe de cette technique consiste à prélever à l'aide de micro-suceur, la solution du sol contenant les exsudats racinaires. Deux prélèvements ont eu lieu à la phase végétative et à la maturation. L'analyse quantitative et qualitative des exsudats contenus dans les solutions du sol a été réalisée dans le cadre d'un partenariat scientifique avec l'Université de Tours. En parallèle, les sols rhizosphériques ont fait l'objet de deux prélèvements aux mêmes dates pour l'analyse des biomasses totale, bactérienne et fongique et les activités enzymatiques (N-acetylglucosaminidase, β -glucosidase et arylamidase).

- Etude de la rhizodéposition ¹⁵N : L'estimation de la rhizodéposition N a été réalisée par une approche de marquage isotopique (Yasmine et al., 2006; Stevenel et al., 2019). Les plantes ont été enrichies en ¹⁵N par immersion de tissus aériens (pétiole/feuille) dans une solution d'urée concentré à 0,5% et enrichie ¹⁵N (98% d'excès isotopique). Afin de déterminer la répartition du ¹⁵N dans les tissus aériens, les racines et le sol, une analyse par spectrométrie de masse isotopique (IRMS) a été réalisée après 14 jours du début du marquage.



Figure 5 : Les différents dispositifs testés pour l'étude de la rhizodéposition N et les exsudats racinaires du pois, du blé et du colza

- **Résultats & Discussion**

- Etude des exsudats racinaires : L'analyse par LC-MS des solutions de sol contenant les exsudats racinaires ne révèle aucune différence entre Les profils chromatographiques des échantillons de pois, de blé ou de colza. Ces résultats montrent une forte interférence de la matière organique du sol dans l'analyse des exsudats racinaires. Afin de faciliter la collecte et la caractérisation des exsudats racinaires, le choix de développer une approche en hydroponie a été privilégié et une expérimentation est actuellement en cours. Par ailleurs, l'ensemble des paramètres biologiques étudiés n'ont pas permis de différencier les sols rhizosphériques des trois plantes. Ces résultats montrent la limite des approches globales dans l'étude des communautés microbiennes des sols et incitent à utiliser des approches plus fines et notamment le DNA SIP qui pourrait aider à mieux discriminer ces communautés microbiennes et identifier des fonctions spécifiques par la quantification des gènes fonctionnels en lien par exemple avec le cycle de l'azote.

- Etude de la rhizodéposition ^{15}N : La mesure de la rhizodéposition N exprimée en quantité de ^{15}N montre après 7 jours de marquage que le colza présentait la plus forte quantité de ^{15}N dans la partie aérienne suivi de pois tandis que le blé avait la plus faible quantité. Au niveau du compartiment souterrain la plus forte quantité de ^{15}N a été observée chez le pois. Après 14 jours de marquage, des quantités de ^{15}N étaient supérieures dans les parties aériennes et souterraines du pois comparativement au blé et au colza (Figure 4). Cette différence de rhizodéposition s'explique par la capacité du pois en tant que légumineuse à fixer l'azote atmosphérique et par un faible besoin du pois d'utiliser l'azote du sol (Khan et al., 2002 ; Mahieu et al., 2009).

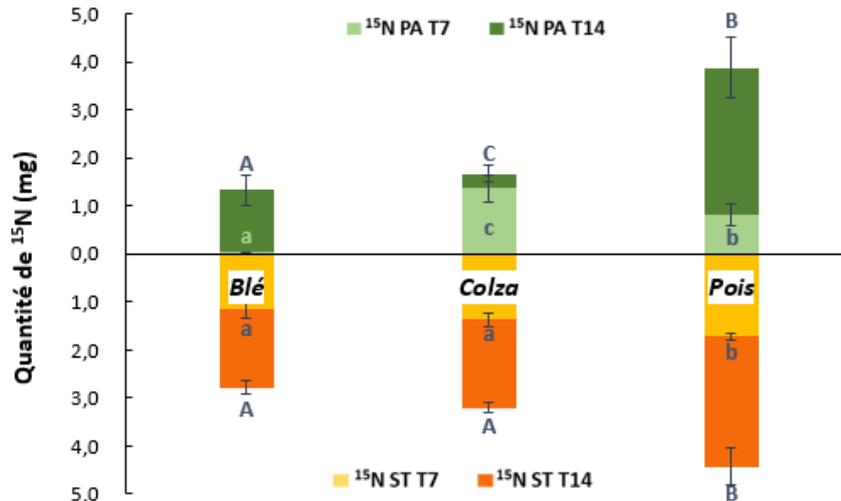


Figure 4 : Quantités de ¹⁵N dans les différents compartiments (aérien et souterrain) chez le pois, le blé et le colza (n = 5).

Des lettres identiques signifie qu'il n'y a pas de différence significative entre les compartiments, les lettres majuscules indiquent un effet de la durée du marquage (T7 ; T14). T7 : 7 jours de marquage ; T14 : 14 jours de marquage ; ¹⁵N PA : ¹⁵N de la partie aérienne ; ¹⁵N ST : ¹⁵N de la partie souterraine (sol + racine)

Action 2.3 : déterminer l'effet de l'introduction du pois d'hiver dans la rotation culturale sur les fonctions de minéralisation C et N

▪ **Approche en microcosme**

L'objectif visait à évaluer, par une approche d'incubation, la contribution de la dégradation des trois résidus de culture de la rotation (pois d'hiver, colza et blé) dans les flux de C et N d'une part et dans le déterminisme des communautés microbiennes d'autre part.

Cette expérimentation a été menée en conditions contrôlées au laboratoire suivant la norme (XP U44-163 (AFNOR, 2009b), les résidus de culture du pois, du blé et du colza ainsi que le sol utilisés étaient issus des parcelles suivies en plein champs. Un suivi de la minéralisation C et N a été réalisé sur un période de 90 jours. Le suivi de la structure des communautés microbiennes à travers l'analyse de l'abondance (ADN total, ADN bactérien et ADN fongique) et de la diversité (par méta génomique) a été réalisé Parallèlement au suivi de l'évolution des communautés microbiennes, une analyse des conséquences fonctionnelles a été effectuée par les dosages d'activités enzymatiques (N-acetylglucosaminidase et β-glucosidase et arylamidase).

• **Résultats & Discussion**

L'apport de résidus de culture a induit une diminution des activités enzymatiques (β-glucosidase et arylamidase) impliquées dans les cycles C et N, bien qu'une augmentation significative a été observée pour la minéralisation du C, en particulier dans les sols avec apport de résidus de blé (2 400 mg de C-CO₂.kg⁻¹ sol sec) (Figure 5). Concernant la dynamique de l'azote, une immobilisation nette a été observée dans les sols avec apport de résidus et en particulier dans les sols avec apport de résidus de blé (Figure 5).

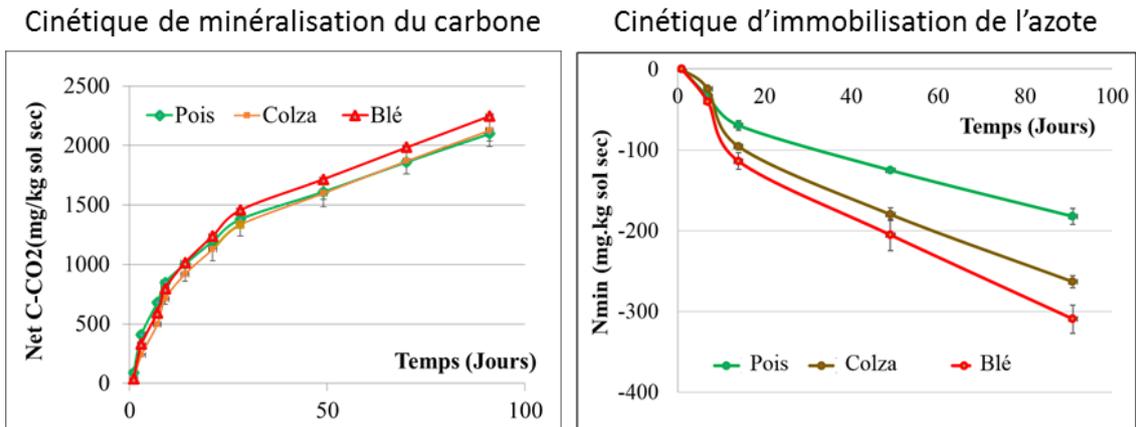
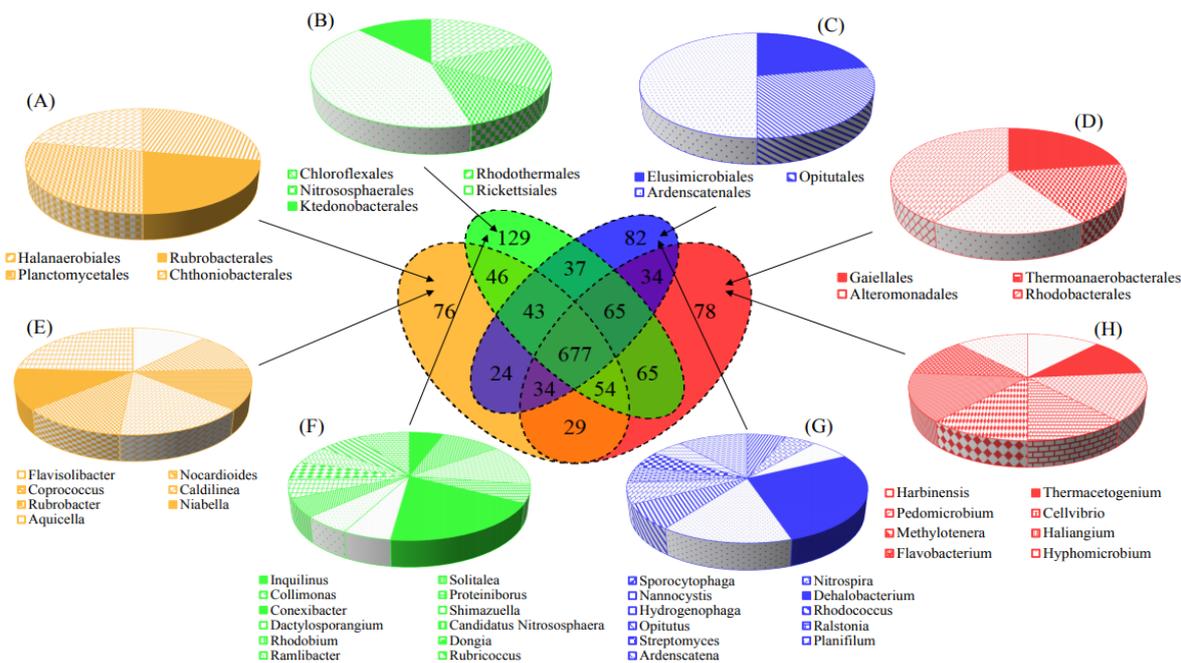


Figure 5 : Dynamique de minéralisation C et immobilisation N dans les sols avec apport de résidus de culture du pois, du blé et du colza

L'apport de résidus de culture a induit une diminution de l'abondance des communautés bactériennes et fongiques après 90 jours d'incubation. L'analyse des communautés bactériennes par séquençage métagénomique a mis en évidence un changement dans la diversité bactérienne en lien avec la qualité biochimique des résidus de culture (Figure 6). Ces changements de diversité ont été observés aux différents niveaux taxonomiques : phyla, ordres et genres. Certains ordres et genres spécifiques étaient liés aux types de résidus de culture, tels que les *Chloroflexales*, les *Inquilinus* et les *Rubricoccus*... qui n'ont été identifiés uniquement dans les sols amendés avec les résidus de pois. Les *Thermoanaerobacterales* et *Thermacetogenum*... ainsi que les *Halanaerobiales* et les *Rubrobacter* semblent représenter une signature des résidus de colza et de blé respectivement. Cette étude a montré les relations entre l'évolution des communautés microbiennes, les propriétés chimiques de C et N et les qualités biochimiques des résidus de culture au cours du processus de décomposition.



the Greengenes Classifier tool. (A), Unique order sequences of samples with added wheat residues; (B), Unique order sequences of samples with added pea residues; (C), Unique order sequences of samples without residues; (D), Unique order sequences of samples with added rapeseed residues; (E), Unique genera sequences of samples with added wheat residues; (F), Unique genera sequences of samples with added pea residues; (G), Unique genera sequences of samples without residues; (H), Unique genera sequences of samples with added rapeseed residues.

Figure 6 : Effet de l'apport de résidus de culture du pois, du blé et du colza sur la diversité bactérienne du sol. Au centre de la figure, le diagramme de Venn illustre les OTUs uniques et communes (97%). Les Diagramme en radar désignent les ordres et les genres des séquences associées aux OTUs uniques.

✚ **Les résultats de cette ont été valorisés sous la forme d'un article scientifique intitulé : «Composition and functional shift in microbial communities due to different crop residues qualities ». Il a été soumis le 20 septembre 2019 dans la revue European Journal of Soil Biology. Cet article va constituer la 3^{ème} partie du chapitre de résultats du manuscrit de thèse de C. Rezgui.**

Volet 3. Communautés microbiennes spécifiques et interrelations avec la Plante

Action 3.1 : Dynamique d'évolution des communautés microbiennes bénéfiques ou pathogènes dans des rotations incluant du pois d'hiver

Au regard des services écosystémiques rendus par le pois d'hiver en lien avec la fertilité des sols et du cycle de l'azote, il convient aussi de s'assurer de l'impact de cette fabacée sur les équilibre entre les populations microbiennes bénéfiques et les densités pathogènes. En effet, le maintien d'un équilibre microbien favorable dans les sols représente un outil important pour la gestion des phytopathologies. Pour cela une approche holistique par séquençage haut débit (métabarcoding ciblant la communauté bactérienne et fongique) a été choisie. Cette

approche a été déployé au sein des parcelles étudiées dans le cadre du projet dans le but de suivre des populations reconnues comme présentant des effets bénéfiques de type PGPR ou biocontrôle. L'objectif est de suivre la proportion relation de chacune des populations d'intérêt (tels que les genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Trichoderma*, etc.). Une attention particulière est portée sur les mycorhizes, à même d'induire une protection contre certains microorganismes telluriques comme *Aphanomyces euteiches* (Thygesen *et al.*, 2004). Les résultats sont en cours d'analyse.

En parallèle, les densités du pathogène *A. euteiches* ont été mesurées dans les mêmes parcelles d'étude. Il s'agit ici de déterminer l'effet de l'introduction d'une culture de Pois d'hiver sur le potentiel infectieux des sols vis-à-vis de cette maladie. Il est admis généralement que le décalage du cycle de culture par rapport au pois de printemps, très sensible à *A. euteiches*, permet au pois d'hiver d'échapper partiellement à la maladie. Cependant son rôle dans le maintien et le développement des densités d'inoculum pathogène reste à élucider. Le dispositif expérimental mis en place sur les parcelles avec une culture juxtaposée de pois d'hiver et de colza représentait une opportunité pour suivre l'évolution des quantités d'unités pathogènes dans les sols agricoles selon une approche de PCR en temps réel (Gangneux *et al.*, 2014). Malheureusement, les premiers résultats obtenus ont révélés l'absence du pathogène, ou du moins peut-être une trop faible quantité pour une détection effective. Au regard de ces résultats, il a été décidé de réévaluer la pertinence de ces analyses afin de ré-exploiter les forces vives aux autres actions plus prometteuses du projet.

Action 3.2 : Compréhension et évaluation du poids des facteurs génétiques et biotiques sur le développement de la maladie chez le pois protéagineux

- Influence du facteur variété :

Pour cela, une analyse comparée de la sévérité de la maladie, des modifications architecturales et biochimiques induites chez 3 variétés de pois d'hiver (Dexter, Indiana, Myster) et 3 variétés de pois de printemps (Aurelia, Avenger, Lgauris) a été réalisé par culture sur milieu inerte (vermiculite) en conditions printanières (optimales pour le développement du pathogène), avec une inoculation artificielle comprenant 3 doses (0, 15 et 30 oospores/ g de vermiculite sèche).

Dans les conditions de culture testées, les variétés de pois d'hiver apparaissent globalement comme significativement plus sensibles que les variétés de pois de printemps pour la dose 15, et tout aussi sensible pour la dose 30 (mesure du Disease Index DI, Wicker *et al.*, 2003 et détermination de la fréquence de maladie DF ; Figure 1).

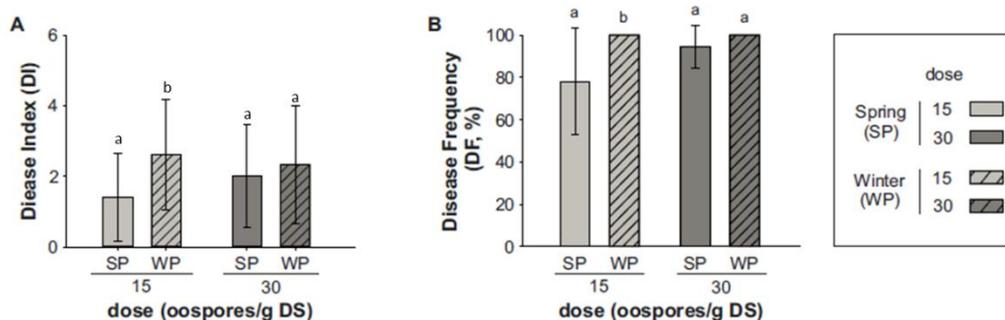


Figure 1 : Comparaison des Disease Index et de Fréquence de maladie entre les pois d'hiver (WP) et pois de printemps (SP), pour les doses 15 et 30 oospores/ g de vermiculite sèche

Une variété de pois d'hiver (Indiana) apparaît comme la plus sensible au pathogène tandis qu'une variété de pois de printemps (Aurélia) semble moins sensible en comparaison.

Les modifications architecturales induites tendent à différer entre variétés. Une réduction du système aérien est observée chez les variétés de printemps quel que soit les conditions d'inoculation. Pour les variétés de pois d'hiver, une réduction du système aérien n'est observée que dans la condition d'inoculation à dose forte. Ce résultat conforte l'observation rapportée par les conseillers agricoles et les agriculteurs au champ. Le pois d'hiver est moins impacté au niveau aérien (partie visible au champ) mais n'échappe pas à la maladie puisque la quantité de symptômes sur les racines ne diffère pas. Lorsque l'on considère chaque variété indépendamment, 2 patterns intéressant semblant se dessiner avec la réduction globale systématique des variables mesurées (racinaires et aériennes) pour la plupart des variétés quelle que soit la dose pathogène ; à l'exception des variétés Aurelia et Dexter pour lesquelles une augmentation de la longueur du système racinaire entre la dose 15 et la dose 30 est observée (Figure 2), couplée à un index de maladie plus faible.

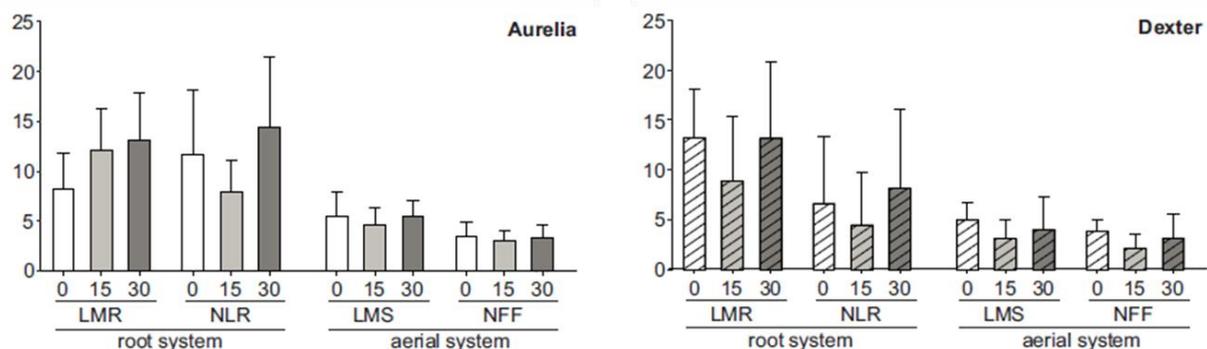


Figure 2 : Modifications de l'architecture induite par l'infection par *A. euteiches* ; LMR = Longueur Moyenne de la Racine, NLR = Nombre de Racines Latérales, LMS = Longueur de la partie aérienne, NFF = Nombre d'étage foliaire.

Ceci pourrait être le signe d'une réaction de défense particulière, tel qu'un évitement du pathogène par échappement local. L'ensemble des résultats obtenus feront l'objet d'une article scientifique (Lusley *et al.*, en préparation).

En parallèle, l'existence de modifications biochimiques induites au niveau des parties aériennes suite à l'infection ont été mesurées par mesure spectroscopique en moyen infrarouge (sur feuilles). L'infection par *A. euteiches* entraînent effectivement des modifications biochimiques spécifiques au niveau de molécules amides, de lipides et de sucres simples. Les spectres infrarouges ainsi recueillis ont aussi permis la création d'un modèle pour la détection précoce de la pourriture racinaire du pois par analyse des feuilles, grâce à la mise en œuvre d'un réseau neuronal artificiel, avec un taux d'erreur de 14%. Il s'agit maintenant de conforter ce modèle prédictif, représentant une opportunité pour développer un outil de diagnostic précoce. Enfin il conviendrait d'analyser plus précisément le type de modifications induites d'un point de vue cellulaire chez le pois.

- Influence du microbiome endophyte associé (bactéries nodulantes fixatrices d'azote et endophytes libres): étude de la diversité de bactéries contenues dans les nodules des variétés de pois d'hiver et de printemps et influence potentielle sur le développement de la maladie.

Pour cela, les six variétés étudiées ont été cultivées en serre pendant un mois sur un sol exporté d'une parcelle normande, jusqu'à l'obtention de nodules. Les racines de toutes les plantes de chaque variété ont été récoltées puis stockées. L'isolement des bactéries issues des nodules de trois plantes par variété (trois répliques) a été effectué par isolement sur milieu de culture spécifique YMA (Rangin et al., 2008 ; Perrineau et al., 2011). Par ailleurs, une approche plus globale par extraction directe de l'ADN total des nodules a été effectuée pour réaliser une analyse métabarcoding par séquençage haut débit. L'objectif ici est de décrire et comparer la diversité totale et la structure des populations bactériennes endophytes présente dans les nodules pour les différentes variétés, en lien avec leur niveau de tolérance à la maladie (évalué précédemment, cf ci-dessus). Des études réalisées sur la luzerne ont en effet permis de montrer que l'absence de nodules induit une plus grande sensibilité à différents bioagresseurs parmi lesquels *A. euteiches* (Nars et al. 2013) tandis que la surexpression de la protéine NFP (Nod factor perception), impliquée dans le processus symbiotique, augmente la résistance de la plante vis-à-vis d'*A. euteiches* (Rey et al. 2013).

Les isollements réalisés (49 souches au total : 16 pour Aurélia, 19 pour Avenger, 18 pour Lgauris, 15 pour Indiana, 11 pour Dexter et 14 pour Myster) montrent une diversité phénotypique (par observation sur boîte de pétri) plus importante dans le cas des variétés de pois de printemps. Mais cette première observation reste à confirmer par l'identification moléculaire des souches bactériennes isolées, ainsi que par les analyses métabarcoding (en cours).

En parallèle, la potentialité antagoniste envers *A. euteiches* des souches bactériennes isolées des nodules a été vérifiée par des tests de confrontation in vitro avec le pathogène. Parmi les 49 souches isolées, 17 présentent une activité antagoniste intéressante envers le pathogène. De plus, la proportion de souches antagonistes apparait comme variable selon la variété bien que sans lien avec l'appartenance au groupe Pois d'hiver ou Pois de Printemps (Figure 3).

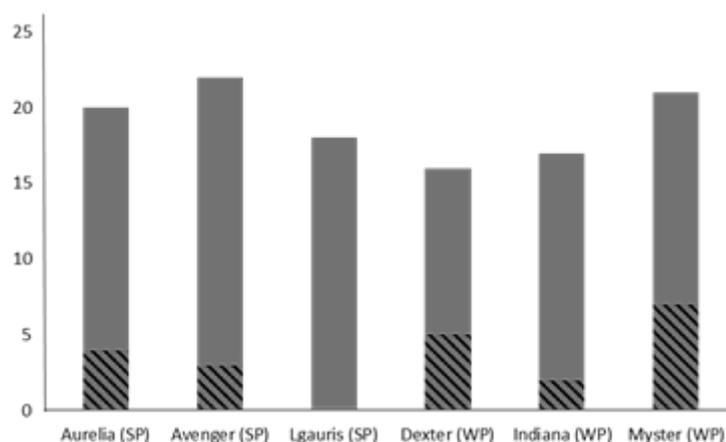


Figure 3 : Nombre de souches isolées total et à effet antagoniste envers *A. euteiches* (gris hachuré) pour chaque variété.

Il apparait ainsi que le microbiome associé aux nodules, particularité essentielle non négligeable des légumineuses, joue probablement un rôle dans la résistance à la maladie et la sévérité de développement des symptômes.

Phases	Actions menées	Personnes impliquées	Partenariats
Volet 1 : Pois d'hiver et gestion de l'azote dans le système de culture	Action 1.1: Améliorer la compréhension de la dynamique de l'azote et sa restitution au champ la pour les cultures suivantes.	Isabelle Gattin (EC-HDR) Marie Benoit (EC) Pierre-Yves Bernard (EC) Wassila Riah-Anglet (CR) Cyrine Rezgui (doctorante) Lisa Castel (IE) Anne Cauchois (TR) Charlotte Amy (stagiaire) Hélène Abraham (TR)	GIEE pois d'hiver Chambre d'agriculture (Francois d'Hubert)
Volet 2 : Suivi des communautés microbiennes dans les sols et analyse des fonctions résultantes au cours de la succession culturale	Action 2.1: déterminer l'effet de l'introduction du pois d'hiver dans la rotation culturale sur la dynamique des communautés microbiennes et des activités enzymatiques résultantes. Action 2.2: Etude de la rhizodéposition C et N et caractérisation des exsudats racinaires du pois d'hiver, blé et colza Action 2.3 : déterminer l'effet de l'introduction du pois d'hiver dans la rotation culturale sur les fonctions de minéralisation C et N	Isabelle Gattin (EC-HDR) Wassila Riah-Anglet (CR) Cyrine Rezgui (doctorante) Lisa Castel (IE) Anne Cauchois (TR) Maëva Leplay (TR) Isabelle Gattin (EC-HDR) Wassila Riah-Anglet (CR) Cyrine Rezgui (doctorante) Lisa Castel (IE) Anne Cauchois (TR) Romain Didier (Stagiaire) Mohamed Kanté (doctorant) Isabelle Gattin (EC) Marie Benoit (EC) Wassila Riah-Anglet (CR) Cyrine Rezgui (doctorante) Lisa Castel (IE)	GIEE pois d'hiver Chambre d'agriculture (Francois d'Hubert) Arnaud Lanouemaitre de conférences – Université de Tours Jean-Bernard Cliquet UMR EVA – Université de Caen
Volet 3 : Communautés microbiennes spécifiques et interrelations avec la Plante	Action 3.1 : Dynamique d'évolution des communautés microbiennes bénéfiques ou pathogènes dans des rotations incluant du pois d'hiver Action 3.2 : Compréhension et	Isabelle Gattin (EC-HDR) Mélanie Bressan (CR) Adrien Gauthier (EC) Wassila Riah-Anglet (CR) Lisa Castel (IE) Anne Cauchois (TR) Pauline Lusley (doctorant) Isabelle Gattin (EC-HDR)	

	évaluation du poids des facteurs génétiques et biotiques sur le développement de la maladie chez le pois protéagineux	Mélanie Bressan (CR) Adrien Gauthier (EC) Wassila Riah-Anglet (CR) Lisa Castel (IE) Anne Cauchois (TR) Pauline Lusley (doctorante)	GIEE pois d'hiver Chambre d'agriculture (Francois d'Hubert)
--	---	---	--

a) Perspectives

Les résultats du projet Vivepois seront complétés par des travaux en cours, réalisés dans le cadre du projet Rhizocomm (2017-2021, Thèse M. Kanté). Cette thèse vise à approfondir la compréhension des interactions plantes microorganismes qui découlent de la rhizodéposition, des légumineuses, qui entraînent des bénéfices réciproques aux protagonistes (plantes et microorganismes). Il s'agit de caractériser la rhizodépositions C et N et les exsudats racinaires des légumineuses à graines et fourragères et d'analyser leurs impacts sur les communautés microbiennes des sols en lien avec la dynamique C et N. n plus

Les travaux envisagés dans le cadre du projet Rhizocomm trouveront une application dans l'accompagnement à la construction de systèmes de culture performants notamment du point de vue du renouvellement de la matière organique et de la disponibilité en azote pour les cultures.

Le projet ProVeg (2020-2022) qui débutera en janvier 2020 s'intéresse à la recherche d'itinéraires techniques adaptés à la culture de cinq légumineuses à graines (pois, féverole, lupin, lentille et le quinoa) à fort potentiel protéique dans le contexte pédoclimatique normand et va permettre de positionner leur production en Normandie. Cette démarche s'inscrit dans la volonté de contribuer au développement des cultures protéiques pour amplifier leur production mais répond également à un enjeu de diversification et d'allongement des rotations. Ce projet bénéficiera sans aucun doute des acquis du projet Vivepois.

b) Indicateurs d'activité

▪ **Les stages**

1. Charlotte Amy (M2) - 6mois. 2017. Effet d'une légumineuse (pois d'hiver) dans les successions culturales par suivi des communautés microbiennes dans les sols et des fonctions résultantes
2. Romain Didier (M2) - 6 mois. 2018. Extraction et quantification des exsudats racinaires de trois espèces végétales et étude de leur impact sur les communautés microbiennes et les activités enzymatiques dans la rhizosphère.

▪ **Les thèses**

1. Cyrine Rezgui. (2016-2020). Effet de l'introduction du pois d'hiver dans la rotation sur la dynamique de l'azote et les communautés microbiennes. Direction: Isabelle Gattin et co-encadrement: Wassila Riah-Anglet. Soutenance de thèse en juin 2020.
2. Pauline Lusley. (2016-2020). Caractérisation et compréhension des mécanismes direct et indirect a la résistance a la pourriture racinaire du pois causée par *A. euteiches*.

Direction : Karine Laval et et co-encadrement: Mélanie Bresson et Adrien Gauthier.
Soutenance de thèse en juin 2020

Les publications

Article soumis

Titre: Composition and functional shift in microbial communities due to different crop 7 residues qualities

Auteurs: Cyrine Rezgui, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, Marie Benoit, Karine Laval, Wassila Riah-Anglet, soumis a European journal of soil biology

Article en préparation

Titre: « Introducing *Pisum Sativum L.* in crop rotation, which effect on soil chemical and biological characteristics? ».

Auteurs: Cyrine Rezgui, Wassila Riah-Anglet, Marie Benoit, Pierre-Yves Bernard, Karine Laval, en préparation, il sera soumis fin janvier 2020 dans le journal Soil and Tillage

Titre compared analysis of architectural symptoms and disease severity caused by *A. euteiches* between winter and sprin peas

Auteurs: Pauline Lusley, Mélanie Bressan, Karine Laval, Adrien Gauthier en préparation, il sera soumis fin décembre 2020 dans le journal plant disease

Titre: Endophytic bacteria in nodules of *pisum sativum* depend on pea varieties and can influence *in vitro* mycelium growth of *A. euteiches*

Auteurs: Pauline Lusley, Adrien Gauthier, Karine Laval, Mélanie Bressan en préparation

Journée technique

1. **Cyrine Rezgui et Pauline Lusley:** Participation à une journée technique organisée par la chambre d'agriculture et les membres du GIEE au Pays de Bray le 30 novembre 2016

Formation

- Formation d'initiation à l'utilisation du logiciel STICS - Avignon du 27 au 29 Mars 2018.

Communications orales

1. **Cyrine Rezgui**, Wassila Riah-Anglet, Marie Benoit, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, 2018. Effet de la dégradation de trois résidus de culture sur la minéralisation du carbone et de l'azote et sur les communautés microbiennes du sol. **La Journée d'étude des Sols, Rouen, 9- 11 Juillet 2018.**
2. **Cyrine Rezgui**, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, Marie Benoit, Karine Laval, Wassila Riah-Anglet, 2019. Composition and functional shifts in microbial communities due to different crop residues qualities. **La journée scientifique de la fédération de recherche NORVEGE, Rouen, 28- 29 Mai 2019.**
3. **Pauline Lusley**, Mélanie Bressan, Karine Laval, Adrien Gauthier ; Phenotypic and FTIR spectral comparison of six pea varieties infected by *Aphanomyces euteiches*, 3^{ème} Journée Scientifique de la SFR Norvège, 28-29 Mai 2019.

Communications par affiche

1. **Cyrine Rezgui**, Marie Benoit, Wassila Riah-Anglet, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, 2017. Etude de l'effet de l'exsudation racinaire sur les communautés microbiennes du sol, cas

du pois d'hiver, du colza et du blé. **Journée RMT Fertilisation & Environnement, Paris, 10- 11 Mai 2017.**

2. **Cyrine Rezgui**, Marie Benoit, Wassila Riah-Anglet, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, 2017. Etude de l'effet de l'exsudation racinaire sur les communautés microbiennes du sol, cas du pois d'hiver, du colza et du blé. **Journée scientifique de la fédération de recherche NORVEGE, Rouen, 11 Juillet 2017.**
3. **Cyrine Rezgui**, Wassila Riah-Anglet, Marie Benoit, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, 2018. Effect of three kinds of crop residues on carbon and nitrogen mineralization kinetics and soil microbial communities. **Journée de l'école doctorale JED, Rouen, 22- 23 Mars 2018.**
4. **Cyrine Rezgui**, Wassila Riah-Anglet, Marie Benoit, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, 2018. Effect of degradation of crop residues on soil carbon and nitrogen mineralization. **La journée scientifique de la fédération de recherche NORVEGE, Deauville, 17- 18 Mai 2018.**
5. **Cyrine Rezgui**, Wassila Riah-Anglet, Marie Benoit, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, 2018. Effet de l'introduction d'une légumineuse « pois d'hiver » sur la dynamique de l'azote, les communautés microbiennes et les activités enzymatiques du sol. **Journée d'étude des Sols, Rouen, 9- 11 Juillet 2018.**
6. **Cyrine Rezgui**, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, Marie Benoit, Wassila Riah-Anglet, 2019. The effect of Pea introduction in crop rotation on nitrogen dynamics, microbial communities and enzyme activities. **La journée scientifique de la fédération de recherche NORVEGE, Rouen, 28- 29 Mai 2019.**
7. **Cyrine Rezgui**, Isabelle Trinsoutrot-Gattin, Marie Benoit, Karine Laval, Wassila Riah-Anglet, 2019. Composition and functional shifts in microbial communities due to different crop residues qualities. **Wageningen Soil Conference, 27- 30 Août 2019.**

8. Partenariats

- ↪ UMR EVA INRA/UCN Ecophysiologie végétale, Agronomie & Nutrition NCS, Equipe de recherche : Ecologie des prairies -14032, Caen
- ↪ Chambre d'Agriculture de Seine Maritime - CS 76237 Bois-Guillaume cedex
- ↪ Laboratoire de biologie cellulaire et biochimie végétale EA 2106 - Biomolécules et Biotechnologies Végétales (BBV)- 37200, Tours
- ↪ **Comité de pilotage thèse Cyrine** : Un comité de pilotage pour le lancement de la thèse a été organisé le 26 janvier 2017. Une présentation du projet du GRR ainsi que des objectifs de thèse a été réalisée. Ce comité avait un but consultatif et a permis de valider les questions scientifiques posées, ainsi que les démarches expérimentales à mettre en place dans le cadre de la thèse.

Le jury était composé de :

- ✓ Jean-Bernard Cliquet (Enseignant-chercheur HDR, Université de Caen)
- ✓ Nathalie CASSAGNE (Enseignant-chercheur, ESA Angers)
- ✓ Anne-Sophie VOISIN (Chargé de recherche, INRA Dijon)
- ✓ Marie-Pierre BRUYANT (Enseignant-chercheur, Unilasalle)
- ✓ Karine Laval (Directrice de la recherche, Unilasalle)
- ✓ Isabelle Trinsoutrot-Gattin (Enseignant-chercheur HDR et directrice de thèse, Unilasalle)
- ✓ Marie Benoit (Enseignant-chercheur)
- ✓ Wassila Anglet-Riah (Chargé de recherche et co-encadrante Unilasalle)

C- Conclusions et commentaires libres :

Les résultats issus de ce projet alimentent directement les enseignements dispensés notamment aux élèves ingénieur de UniLaSalle dans le cadre de modules dédiés à la formation par la recherche : module du parcours production au semestres 7 et 8 : Ingénierie agroécologique, Agro-écologie des territoires, Bioindicateurs d'état des sols.

Références Bibliographiques

Altieri M., 2002: "Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments". *Agric. Ecosyst. Environ.* 93, 1-24

Duc, G., Blancard, S., Hénault, C., Lecomte, C., Petit, M. S., Bernicot, M. Vivier, C. 2010. Potentiels et leviers pour développer la production et l'utilisation des protéagineux dans le cadre d'une agriculture durable en Bourgogne. *Innovations Agronomiques*, 11, 157–171.

Fustec J, Lesuffleur F, Mahieu S, Cliquet J-B. 2010. Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30: 57–66.

Gaba, S., Bretagnolle, F., Rigaud, T., & Philippot, L. 2014. Managing biotic interactions for ecological intensification of agroecosystems. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2.

Gangneux C., Cannesan, M.C., Bressan, M., Castel, L., Moussart, A., Vicro-Gibouin, M., Driouich, A., Trinsoutrot-Gattin, I., Karine Laval *Phytopathology*. 2014. A Sensitive Assay for Rapid Detection and Quantification of *Aphanomyces euteiches* in Soil *Oct*;104(10):1138-47

Justes E., Nolot J-M., Raffaillac D., Hauggaard-Nielsen H. and Jensen ES., 2010. Designing and evaluating prototypes of arable cropping systems with legumes aimed at improving N use efficiency in low input farming. In *Proceedings of AGRO2010, Congre (ESA), 29 August-3 September 2010, Montpellier, France*

Khan DF, Peoples MB, Chalk PM, Herridge DF. Quantifying below-ground nitrogen of legumes. 2. A comparison of ¹⁵N and non-isotopic methods: 13.

Kumar, K., Goh, K.M., 2002. Management practices of antecedent leguminous and non-leguminous crop residues in relation to winter wheat yields, nitrogen uptake, soil nitrogen mineralization and simple nitrogen balance. *European Journal of Agronomy* 16, 295–308.

Mahieu S, Fustec J, Jensen ES, Crozat Y. 2009. Does labelling frequency affect N rhizodeposition assessment using the cotton-wick method? *Soil Biology and Biochemistry* 41: 2236–2243.

Mitchell, R., Webb, J., Harrison, R., 2001. Crop residues can affect N leaching over at least two winters. *European Journal of Agronomy* 15, 17–29.

Nars, A., Lafitte, C., Chabaud, M., Drouillard, S., Mélida, H., Danoun, S., Le Costaouëc, T., Rey, T., Benedetti, J., Bulone, V., Barker, D.G., Bono, J.J., Dumas, B., Jacquet, C., Heux, L., Fliegmann, J., Bottin, A. 2013. *Aphanomyces euteiches* cell wall fractions containing novel glucan-chitosaccharides induce defense genes and nuclear calcium oscillations in the plant host *Medicago truncatula*. *PLoS One*.23; 8(9):e75039.

Perrineau, M.M., Le Roux, C., de Faria, S.M., de Carvalho Balieiro, F., Galiana, A., Prin, Y., Béna G. 2011. Genetic diversity of symbiotic *Bradyrhizobium elkanii* populations recovered from inoculated and non-inoculated *Acacia mangium* field trials in Brazil *Systematic and Applied Microbiology* 34 (2011) 376–384

Plénet D., Simon S. 2015. Une démarche de conception et d'évaluation de systèmes de culture pour des vergers plus durables. *Sciences Eaux & Territoires*. 16, 58 - 63.

Preissel S., Reckling M., Schläfke N., Zander P., 2015. Magnitude and farm-economic value of grain legume pre-crop benefits in Europe: A review. *Field Crops Research* 175, 64–79

- Rangin, C., Brunel, B., Cleyet-Marel J.C, Perrineau, M.M., Béna, G. 2008. Effects of *Medicago truncatula* genetic diversity, rhizobial competition, and strain effectiveness on the diversity of a natural sinorhizobium species community. *Appl Environ Microbiol.*74(18):5653-61.
- Schneider, A., Flénet, F., Dumans, P., Bonnin, E., Chezelles, E.D., Jeuffroy, M.-H., Hayer, F., Nemecek, T., Carrouée, B., 2010. Diversifier les rotations céréalières notamment avec du pois et du colza – Données récentes d'expérimentations et d'études. OCL 17, 301–311.
- Sharma, S., Aneja, M.K., Mayer, J., Munch, J.C., Schloter, M., 2005. Characterization of bacterial community structure in rhizosphere soil of grain legumes. *Microbial Ecology* 49, 407–415.
- Stevenel P, Frossard E, Abiven S, Rao IM, Tamburini F, Oberson A. 2019. Using a Tri-Isotope (¹³C, ¹⁵N, ³³P) Labelling Method to Quantify Rhizodeposition. In: Reinhardt D, Sharma AK, eds. *Methods in Rhizosphere Biology Research*. Singapore: Springer Singapore, 169–195.
- Tariq, M., Hameed, S., Yasmeen, T., Zahid, M., Zafar, M., 2014. Molecular characterization and identification of plant growth promoting endophytic bacteria isolated from the root nodules of pea (*Pisum sativum* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 30, 719–25
- Thénard V, Jost J, Choisis JP and Magne MA 2014. Applying agroecological principles to redesign and to assess dairy sheep farming systems. *Options Méditerranéennes Série A*, 109, 785-789.
- Thygesen K, Larsen J and Bødker L. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi reduce development of pea root-rot caused by *Aphanomyces euteiches* using oospores as pathogen inoculum. *European Journal of Plant Pathology* 110: 411-419.
- Unip, Arvalis. 2014. Pois protéagineux de printemps et d'hiver, guide de culture 2014 – 2015
- Wicker, A. Moussart, M. Duparque, F. Rouxel 2003. Further contributions to the development of a differential set of pea cultivars (*Pisum sativum*) to investigate the virulence of isolates of *Aphanomyces euteiches* *Eur. J. Plant Pathol.*, 109- pp. 47-60
- Yasmin K, Cadisch G, Baggs EM. 2006. Comparing ¹⁵N-labelling techniques for enriching above- and below-ground components of the plant-soil system. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 397–400.
- Yu, L., Nicolaisen, M., Larsen, J., Ravnskov, S., 2012. Succession of root-associated fungi in *Pisum sativum* during a plant growth cycle as examined by 454 pyrosequencing. *Plant and Soil* 358, 225–233.

Résumé du projet :

La diversification des agrosystèmes par l'augmentation de nombres d'espèces cultivées et l'utilisation d'une part croissante de légumineuses dans la rotation font l'objet d'un intérêt certain. Pourtant, si l'introduction des légumineuses dans les rotations remporte un succès croissant, la compréhension de l'impact de cette pratique sur la biodiversité du sol doit être approfondie. Les avantages de ces cultures et notamment la culture du pois d'hiver, ont suscité l'intérêt d'un groupe d'agriculteurs en Normandie (GIEE). Ces derniers souhaitent utiliser la culture de pois d'hiver en alternative à la culture de colza en tête de rotation. L'enjeu de ce GIEE est de démontrer la pertinence de l'introduction de cette culture pour des exploitations du Pays de Bray, contexte pédoclimatique dans lequel aucune référence n'a encore été publiée. Ce questionnement, a impliqué une analyse multicritère des systèmes de culture au travers de la mesure d'indicateurs écologiques (état biologique du sol, potentiel infectieux lié à *Aphanomyces euteiches*) et physicochimiques (fixation symbiotique de l'azote/disponibilité et physique du sol), Afin de produire des références permettant d'identifier les atouts et les contraintes liés à l'implantation de cette culture. Ce projet s'est décliné en 3 axes de recherches imbriquées et complémentaires qui ont contribué à améliorer les connaissances sur la culture du pois d'hiver et ses impacts sur la fertilisation (volet 1), la biodiversité du sol (volet 2) et les interactions plante/pathogènes (volet 3).

Les résultats de ce projet montrent un effet positif de l'introduction du pois d'hiver dans la rotation sur la dynamique de l'azote. L'arrière effet du pois sur la disponibilité de l'azote a été visible en année 3 c'est-à-dire 2 ans après l'introduction du pois dans la rotation. De plus, le pois a significativement modifié les communautés microbiennes et les activités résultantes en comparaison avec le colza et cette modification a persisté dans le temps. En effet, cet effet significatif a été observé dès la fin de première année c'est à dire sous les couverts de pois et de colza et est restée visible lors de la deuxième année et jusqu'à la fin de la rotation (3 ans). L'étude d'infection de 6 variétés de pois par *A.euteiches*, montre que les variétés de pois d'hiver sont significativement plus sensibles que les variétés de pois de printemps. Aussi des modifications architecturales induites après infection ont été observées et différent entre les variétés. Ceci pourrait être le signe d'une réaction de défense particulière, tel qu'un évitement du pathogène par échappement local. En parallèle, des modifications architecturales, des modifications biochimiques au niveau des parties aériennes ont été mis en évidence, par mesure spectroscopique en moyen infrarouge (sur feuilles), chez les pois infectés. La banque de spectres obtenue a permis la création d'un modèle permettant la détection précoce de la pourriture racinaire du pois par analyse des feuilles. Par ailleurs, des travaux complémentaires, ont permis de décrire la diversité et la structure des populations bactériennes endophytes présente dans les nodules des différentes variétés de pois étudiés, en lien avec leur niveau de tolérance à la maladie. Les résultats semblent montrer une diversité phénotypique plus importante des bactéries dans le cas des variétés de pois de printemps. En parallèle, la potentialité antagoniste envers *A. euteiches* des souches bactériennes isolées des nodules a été vérifiée par des tests de confrontation *in vitro* avec le pathogène, et il apparait que le microbiome associé aux nodules, joue un rôle dans la résistance à la maladie et la sévérité de développement des symptômes.

Mots clefs du projet : pois d'hiver, dynamique C et N, santé des plantes, interactions plante/microorganismes, rhizodépôts, pourriture racinaire du pois, *A.euteiches*, communautés endophytes, nodules, disease index