HAL
open science

Recherche d'indicateurs de la santé des sols

Céline Janvier

To cite this version:

Céline Janvier. Recherche d'indicateurs de la santé des sols. Sciences of the Universe [physics]. INAPG (AgroParisTech), 2007. English. NNT : 2007AGPT0014 . pastel-00003443

HAL Id: pastel-00003443

https://pastel.hal.science/pastel-00003443

Submitted on 27 Feb 2008

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.

Institut National Agronomique Paris-Grignon

Ecole doctorale ABIES

THESE

pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

Discipline : Microbiologie du sol

présentée et soutenue publiquement par

Céline JANVIER

le 12 Juin 2007

Recherche d'indicateurs de la santé des sols

Document principal

Directeurs de thèse : Claude ALABOUVETTE et Christian STEINBERG

Jury

Corinne LEYVAL	Directeur de Recherche	CNRS Nancy	Rapporteur
Claire NEEMA	Professeur	INA P-G Paris	Examinateur
Patrice CADET	Directeur de Recherche	IRD Montpellier	Rapporteur
Stéphane DRAY	Chargé de Recherche	CNRS Lyon	Examinateur
Christian STEINBERG	Directeur de Recherche	INRA Dijon	Co-directeur de thèse
Frédéric SUFFERT	Ingénieur de Recherche	INRA Grignon	Examinateur
Daniel VESCHAMBRE	Chef de Département	Ctifl Paris	Examinateur

Unité Mixte de Recherche INRA/Université de Bourgogne
Microbiologie du Sol et de l'Environnement
17 rue Sully - BP 86510 - 21065 Dijon cedex

Recherche d'indicateurs de la santé des sols

Résumé

Le sol est une ressource vivante, finie et dynamique. La santé d'un sol résulte d'interactions multiples entre des composantes physico-chimiques et biologiques, notamment les communautés microbiennes, primordiales pour le fonctionnement du sol. Les pratiques culturales ont une influence forte sur la santé des sols, au travers de modifications des caractéristiques physico-chimiques et de leur influence sur les communautés microbiennes des sols. Elles sont donc de plus en plus utilisées en protection des cultures. Afin de mesurer la santé des sols et de proposer des pratiques améliorantes, il est nécessaire de définir des indicateurs de la santé des sols. L'objectif de ce travail est la recherche d'indicateurs de la santé des sols, mis en évidence par l'appréciation de l'impact de deux pratiques culturales (apport de fumier composté et biodésinfection) sur des caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol, en relation avec l'aspect phytosanitaire d'une culture de carotte. Des analyses multivariées, associées à des analyses de co-inertie, ont révélé que certaines variables constituent des indicateurs potentiels de la santé du sol. En particulier, des modifications de ces descripteurs sont associées à la biodésinfection, qui a amélioré la résistance du sol aux maladies dues à *Rhizoctonia solani*. Une population *d'Aspergillus fumigatus*, préférentiellement associée au sol biodésinfecté, a aussi été mise en évidence. Au terme de ce travail, il est possible de proposer des descripteurs qui pourraient faire partie d'un bouquet d'indicateurs de la santé des sols. Cette étude devrait se poursuivre par la confirmation de l'intérêt des descripteurs proposés, la construction des indicateurs, et leur validation.

Mots clés :
amendement organique, analyse de données, biodésinfection, caractéristiques biotiques et abiotiques, co-inertie, communautés microbiennes, nématodes, qualité phytosanitaire

In search of indicators of soil health

Abstract

Soil is a finite and dynamic living resource. Soil health arises from multiple interactions between physicochemical and biological components, including microbial communities, of primary importance for soil functioning. Cultural practices have a strong influence on soil health, through both changes of physicochemical characteristics and influence on soil microbial communities. Cultural practices are thus more and more used for crop protection. In order to measure soil health and to propose cultural practices to improve it, it is necessary to define indicators of soil health. The aim of this study is to propose indicators of soil health, through the evaluation of the impact of two cultural practices (amendment with composted cattle manure amendment and biofumigation) on physicochemical and biological characteristics of the soil, in relation with the phytosanitary quality of a carrot crop. Multivariate analyses, associated with co-inertia analyses, revealed that some descriptors of the soil could be considered as potential indicators of soil health. In particular, these descriptors are associated with biofumigation, which enhance the soil suppressiveness to *Rhizoctonia solani* diseases. A population of *Aspergillus fumigatus* has also been showed to be preferentially associated with biofumigated soils. After this study, it is possible to propose descriptors which could be integrated in a minimum data set of indicators of soil health. This study could be continued by the confirmation of the interest of these descriptors, the construction of an indicator, and its validation.

Keywords:
Organic amendment, data analysis, biofumigation, biotic and abioitic caracteristics, co-inertia analysis, microbial communities, nematode, phytosanitary quality.

"On avance, on avance, on avance…."
Alain Souchon, 1983

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier M. Rinaldi, Directeur du Ctifl, et M. Veschambre, Chef du département légumes et technologies, d'avoir accepté de financer cette thèse, aussi bien les travaux que celle qui les réalisait.
Merci à M. Letard, Chef du centre de Carquefou, pour avoir mis à ma disposition les moyens du centre dans ma dernière phase de rédaction et de préparation de la soutenance orale.
Merci au service CIFRE de l'ANRT d'avoir accepté ce financement.

Je remercie Philippe Lemanceau, Directeur de l'UMR MGS puis MSE, d'avoir accepté de m'y accueillir.

Je tiens à remercier tous les membres du jury. Mme Leyval et M. Cadet m'ont fait l'honneur d'accepter d'être rapporteurs de mon travail. Qu'ils en soient sincèrement remerciés.
Je remercie Frédéric Suffert et Stéphane Dray pour leur participation à mon jury en tant qu'examinateurs.
Guy Raynal, puis Claire Neema, ont été mes relais au sein de l'école doctorale ABIES. Merci pour leur soutien.
Ma thèse m'a permis d'aborder des thématiques variées, je suis heureuse que ce jury en soit le reflet.

Mes plus profonds remerciements vont à Jean Thioulouse et Thierry Mateille. C'est grâce à eux que cette thèse a pris la tournure qu'elle a maintenant. Jusqu'au dernier moment, ils ont lu et relu ce manuscrit et apporté leurs commentaires de spécialistes.
M. Thioulouse, vous avez su me faire découvrir le monde de l'analyse de données. Vous avez accepté mes questions de candide avec patience. Vous m'avez aidé lors de mes démêlés avec ADE4. Qui aurait pu prédire qu'un jour ça me plairait de faire des ACP? Sûrement pas moi! Vous m'avez offert de votre temps. Et vos encouragements. Merci.
M. Mateille, grâce à vous j'ai fait connaissance avec le vaste monde de la nématologie et avec la complexité de l'écologie des communautés. Soyez remercié pour votre implication, dès le départ, et jusqu'au bout du bout, dans ce travail. Mes discussions avec vous m'ont beaucoup apporté. C'est avec grand plaisir que je continuerai à travailler avec vous, même après cette thèse.

Je remercie Jean-Noël Aubertot et Françoise Montfort pour leur participation aux comités de pilotage de cette thèse. Leurs idées, propositions, commentaires…ont permis de faire avancer ce travail.

Claude Alabouvette a été mon "mentor". Au sein du petit monde de la lutte biologique, son nom revenait très souvent. C'est donc à sa porte que j'ai tapé, en 2002, pour mon stage d'ingénieur. Il m'a accueilli, m'a fait découvrir la "phytopathologie tellurique", et tout ce dont sont capables ces chers champignons du sol. Grâce à son soutien indéfectible, j'ai pu poursuivre en thèse(s). Il m'a soutenu quand il a fallu faire des choix. Il m'a confié ce sujet, passionnant, mais tellement "casse-gueule", selon ses propres mots! Je n'oublierai pas nos expressos du midi. Les têtes changent, mais la bonne humeur est toujours là. Je n'oublierai pas non plus nos bières du soir, propices aux discussions les plus variées. C'est bien souvent dans ces discussions que j'ai puisé la force et la confiance, pour poursuivre ce travail, malgré les embûches. Merci aussi pour les déjeuners partagés (merci Jo, vos terrines et vos salades, c'est un must!), les soirées apéro/cerise dans votre jardin, les dîners savoureux de Jo… Merci pour tout!

Christian Steinberg a encadré ce travail. Son intérêt toujours renouvelé, pour tous les sujets, sa manière de s'ouvrir aux autres thématiques… Tout ça a contribué à former cette thèse. C'est ses questions qui m'ont forcée à penser, re penser et encore re penser la façon dont s'est structuré ce travail, puis ce manuscrit. Malgré un emploi du temps plus que chargé, il a toujours eu du temps pour moi. Grâce à lui, j'ai appris à déchiffrer le chinois. Et comme lui, je veux rester un peu utopiste, continuer d'y croire.

Véronique Edel-Hermann m'a guidée dans les arcanes de la biologie moléculaire. Et on peut dire qu'entre la biologie moléculaire et moi, ça n'a pas toujours été l'amour fou! Entre PCR désespérément aux abonnés absents, amorces aux fluorescences plus qu'aléatoires, séquenceur capricieux et logiciel d'analyse boiteux… Il faut dire qu'il fallait avoir les nerfs bien accrochés, et un certain sens de l'humour, aussi, parfois! Merci Véro pour tout ce temps passé à se prendre la tête sur les milles problèmes rencontrés. Merci aussi pour les longues discussions, notamment lors de la rédaction de l'article et de ce manuscrit.

Claude, Christian et Véro. Ils ont, tous les trois, cru à ce travail. Aux résultats qui en sortiraient. Le plus souvent, bien plus que moi. Leur optimisme à tout crin m'a aidé. J'espère moi aussi leur avoir apporté un petit quelque chose.

François Villeneuve était mon chef au Ctifl. C'est lui qui est à l'origine de ce sujet. Merci du cadeau! Je vous remercie d'avoir pris soin de "ma" parcelle à Lanxade. Merci aussi à Géraldine, et aux stagiaires Virginie et Vincent. Les mesures de densité apparente en plein cagnard, ça mérite d'être vécu!
Vous êtes maintenant mon collègue, mais VOUS resterez mon chef! Au plaisir de continuer à travailler avec vous.

Je remercie tout particulièrement Nadine Gautheron. Son aide au labo et aux serres m'a été précieuse. Je garde de ces années de travail avec elle plusieurs leitmotiv dont "faire, défaire et refaire, c'est toujours travailler" et "il n'y a que ceux qui ne font rien qui ne se trompent jamais". Elle m'a aussi appris l'organisation, la planification, la rigueur….En bref, merci de m'avoir tant appris. La T-RFLP se souviendra de nous!

Madame Thérésou zouzou, Sébastien, Chef Bernard… Merci pour tout. Je vous remercie pour votre aide à mon arrivée, jeune stagiaire ignorante des règles de base de la microbiologie. Merci Bernard pour tout ce qu'il a fallu faire sur mes ordis. Ces bêtes là et moi…

Ce travail a aussi été rendu possible par la précieuse aide de Daniel Pouhair et Barbara Burakowski. Daniel, le roi des serres. Merci pour ces centaines de pots remplis de sables, ces milliers de graines déposées avec soin. Vous les avez chouchouté, ces carottes, pour qu'elles soient fin prêtes au jour J. Et vous avez ensuite surveillé avec attention leur déchéance. Je sais que c'est avec un certain plaisir que vous m'annonciez qu'elles commençaient à tomber! Merci à Céline et à Delphine, qui ont brillamment pris la suite.
Barbara, un grand merci pour tout le travail accompli à la laverie. Des litres de milieu, des centaines de bouteilles d'eau, des milliers de tubes, de cônes…. C'est aussi ça, cette thèse. Et c'est grâce à vous.
Daniel, profitez bien de votre retraite. Barbara, patience, ça arrivera vite.

Je remercie Rémi Chaussod et Marie-Christine Breuil pour leur aide lors des mesures de biomasse microbienne, Catherine Hénault et Florent Bizouard pour leur aide avec le chromatographe, Fabrice Martin, Stéphanie Lainé et David Bru pour avoir pris soin du séquenceur. Désolée pour les tuyaux et les aiguilles cassés!

Je n'oublie pas Virginie, qui me surveillait de près, et Séverine, pour sa gestion parfaite des stocks. Merci à Chantal Olivain pour l'ambiance au café, et à Xavier Daire, pour tous ces repas partagés dans la bonne humeur. Merci aussi à ceux qui font tourner le labo et l'UMR : Christine Devroe, les secrétaires Roselyne, Martine, Fabienne et Catherine, Gérard, Fred… Merci à Keith Klein pour sa relecture de mon article, et aussi pour les quelques mois où nous avons partagé le même bureau.

Merci aux secrétaires du DLT, Sandra, Carole et Jessica, pour leur patience avec moi, salariée "isolée" du Ctifl, pas toujours très au fait des bons usages en vigueur.

Mes remerciements vont aussi à mes nouveaux collègues du Ctifl à Carquefou. Un merci tout spécial à Corinne pour son aide précieuse dans le sprint final.

Le labo, c'est aussi tous les stagiaires, thésards, post-doc, CDD…. Autant de rencontres et de bons moments. Merci à Anne-Caroline, Marlène, Aurore, Sébastien et Daniel, avec qui j'ai eu plaisir à travailler. Merci Carmen, Ana, Hanna, Hiroshi, Kouabenan, Deborah, Abdel, Sam, Fabiola, Noémie, Sylvie, Christelle, Jeff, David, Pierre, Sophie, Cécile, Cécile, Sabrina, Adrien, Benoit, Benoit, Yoann, Fanny. Que ceux que j'ai oubliés me pardonnent!

Un grand merci à Ana. J'ai adoré maniper avec toi. J'ai encore plus aimé être amie avec toi. Merci pour ces vacances, à Valence et à Toulouse. Merci pour ton amitié. Un merci spécial à David pour les dépannages en temps réel quand j'étais en panique avec mon ordi, même à l'autre bout de la France.

Jeff, mon très cher "co-bouseux". Merci pour tes sourires lors de mes longs duels avec Bip-Bip. Pour tes conseils lors de la mesure de la densité apparente (et oui, il faut les faire et les peser, re peser et re re peser, les ... sacs, un par un!). Pour nos échanges de biblio. Mais merci aussi pour les soirées kebab, les pintes de Guinness, la plus grande brasserie d'Europe (je t'attends toujours pour la Cigale !)…
Tu m'as énormément apporté. Je sais ce que je te dois. Je ne l'oublierai pas.

J'ai eu le plaisir et la chance d'encadrer Marie pour son stage de fin d'étude. Le dernier chapitre de ce manuscrit lui doit plus que beaucoup. Je t'ai "abandonnée" en cours de route, mais j'espère que la hotline Dijon-Carquefou a été à la hauteur. Mille mercis pour m'avoir supportée, chouchoutée, maternée lors de la dernière phase de rédaction, et jusqu'au bout du bout. Je serais heureuse de te rendre la pareille quand ce sera ton tour. D'ici là, profite de ces années de thèse. Finalement, ce sont de très belles années!

Merci Floriane d'avoir été non seulement une super "collègue" de boulot, mais aussi et surtout une formidable amie. Merci pour tes sourires, ta spontanéité, ta gentillesse. Ca a été un vrai plaisir de partager un bureau (et même un toit!) et ces années de thèse avec toi. Bonne route pour la suite. Si nous ne sommes plus "co-thésardes", nous resterons amies.

A coté de Nadine au labo, il y a aussi Nad. Nad et les apéros, les bonnes bouffes, la musique, les concerts, l'escalade dans les Calanques, les longues discussions pendant les manips, le soutien dans les moments difficiles… Un petit paragraphe ne suffit pas pour exprimer tout ça, alors juste MERCI. Un grand merci aussi à Marc, Léo et Lise, de m'avoir acceptée comme amie, mais parfois aussi comme le 3ème enfant de la famille!

Agnès…. Comment résumer près de 4 ans de vie commune? Nos si longues discussion le soir, à refaire le labo et le monde de la thèse, nos tête à tête du vendredi soir, nos vacances "Gin Tonic" à la mer… Mais aussi les secouages et les remontées de bretelles, quand c'est nécessaire. L'aide réciproque, quand plus rien ne va. Le silence, quand il n'y a plus que ça. Mille mercis. Ces 4 années ne sont que le début de plein d'autres à venir.

Une dédicace spéciale au minus virus. Vert, couleur de l'espoir. Mais jaune, couleur de l'avenir.

A côté du labo, les amis et la famille sont toujours là. Merci à tous. Et tout spécialement à Emily, Aurélie et Sophie pour leur soutien sans faille. Un merci particulier aussi aux deux Pecqueur!

Merci Xavier. D'être là, d'être toi. Tout simplement.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES ____ *8*

INTRODUCTION GENERALE ____ *12*

I / Santé des sols et indicateurs ____ **12**

II / Protection des cultures ____ **14**

III / Modèle expérimental : la carotte ____ **15**

IV / Objectifs ____ **18**

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ____ *21*

I / La santé des sols vue sous l'angle de la résistance aux maladies : quelle stratégie pour passer des descripteurs aux indicateurs? ____ **21**

I.1 / Introduction ____ 21
I. 2 / Concepts ____ 23
I.2.1 / Soil quality and soil health ____ 23
I.2.2 / Soil suppressiveness ____ 23
I.2.3 / Cultural practices used to improve soil health ____ 24
I.2.3.1 / Rotations ____ 24
I.2.3.2 / Tillage ____ 24
I.2.3.3 / Organic amendments ____ 25
I.3 / Soil parameters measured in relation with disease suppression ____ 27
I.3.1 / Abiotic parameters ____ 27
I.3.2 / Quantitative microbial parameters ____ 31
I.3.2.1 / Colony forming units plate counts ____ 31
I.3.2.2 / Microbial biomass ____ 33
I.3.3 / Diversity and structure of microbial communities ____ 34
I.3.4 / Microbial activity ____ 36
I.4 / Strategy for identification of soil health indicators ____ 37
I.4.1 / Data analyses ____ 38
I.4.2 / Strategy for identification of indicators ____ 39
I.4.3 / Sampling strategy ____ 40
I.4.4 / Validation of indicators ____ 42
I.5 / Conclusion ____ 44

II / Deux pratiques culturales utilisées en protection des cultures : amendements organiques et biodésinfection ____ **44**

II.1 / Les amendements organiques ____ 44
II.1.1 / Qu'est-ce qu'un amendement organique? ____ 44
II.1.2 / Amendements organiques et protection des cultures ____ 46
II.1.2.1 / Le pathosystème ____ 46
II.1.2.2 / La composition et le stade d'évolution de l'amendement ____ 47
II.1.2.3 / La quantité d'amendement apportée ____ 47
II.2 / La solarisation ____ 48
II.3 / La biodésinfection ____ 49
II.3.1 / Définitions ____ 49
II.3.2 / L'utilisation des Brassicacées ____ 50
II.3.3 / Autres méthodes de biodésinfection ____ 52
II.4 / Conclusion ____ 53

VARIABILITE SPATIO-TEMPORELLE DES DESCRIPTEURS DU SOL DANS UNE PARCELLE EXPERIMENTALE ET EFFETS D'UN APPORT D'AMENDEMENT ORGANIQUE ET D'UNE BIODESINFECTION
MATERIELS ET METHODES ____ *55*

I / Parcelle expérimentale et prélèvements ____ **55**

I.1 / Localisation ____ 55

I.2 / Traitements et conduite de la parcelle 55
I.3 / Prélèvements 57
I.4 / Suivi de la biodésinfection 57

II / Caractéristiques abiotiques 59
II.1 / Granulométrie et densité apparente 59
II.2 / Analyses physico-chimiques 59

III / Caractéristiques biotiques 59
III.1 / Analyses quantitatives 59
III.1.1 / Biomasse microbienne 60
III.1.2 / Densités de bactéries et champignons 60
III.1.3 / Densités de nématodes 60
III.1.4 / Activité microbienne 61
III.2 / Analyses qualitatives : structure des communautés microbiennes 61
III.2.1 / Extraction de l'ADN du sol 62
III.2.2 / Amplification d'ADNr par PCR 62
III.2.3 / Analyse T-RFLP 63
III.2.4 / Traitement des données de T-RFLP 63

IV / Caractéristiques phytosanitaires 64
IV.1 / Notations de la récolte de carottes dans la parcelle expérimentale 64
IV.2.1 / Mise en place des essais 64
IV.2.2 / Préparation des inoculum et mélanges sol/inoculum 66

V / Analyse des données 66
V.1 / Analyses de variance 66
V.2 / Préparation des tableaux de données 66
V.3 / Analyses en composantes principales 67
V.4 / Représentation spatiale des résultats 67

VARIABILITE SPATIO-TEMPORELLE DES DESCRIPTEURS DU SOL DANS UNE PARCELLE EXPERIMENTALE ET EFFETS D'UN APPORT D'AMENDEMENT ORGANIQUE ET D'UNE BIODESINFECTION
RESULTATS ET DISCUSSIONS 69

I / Caractéristiques abiotiques : résultats et discussion 69
I.1 / Granulométrie et densité apparente 69
I.2 / Caractéristiques chimiques 69
I.3 / Suivi du sol pendant la biodésinfection 71
I.4 / Discussion 72

II / Caractéristiques biotiques 73
II.1 / Analyses quantitatives 73
II.1.1 / Biomasse microbienne 73
II.1.2 / Densités de microorganismes 74
II.1.3 / Densités de nématodes 74
II.1.4 / Activité microbienne 75
II.1.5 / Analyses quantitatives : discussion 75
II.2 / Analyse qualitative : diversité des communautés de nematodes 78
II.2.1 / Résultats 78
II.2.2 / Discussion 79
II.3 / Structure des communautés microbiennes 80
II.3.1 / Extraction d'ADN, PCR et T-RFLP sur communautés totales 80
II.3.2 / Structure des communautés bactériennes : analyse de T-RFLP 16S 80
II.3.3 / Structure des communautés fongiques : analyse de T-RFLP 18S 81
II.3.4 / Structure des communautés microbiennes : discussion 82
II.3.4.1 / Structure des communautés bactériennes 82
II.3.4.2 / Structure des communautés fongiques 83
II.3.4.3 / Structure des communautés bactériennes et fongiques : premier bilan 84
II.3.5 / Structure moléculaire des communautés microbiennes : discussion méthodologique 85

III / Caractéristiques phytosanitaires 87
III.1 / Notations à la récolte 87
III.2 / Essais biologiques de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *Rhizoctonia solani* 88
III.3 / Analyse en composantes principales de l'ensemble des données biologiques 88
III.4 / Discussion 90

IV / Discussion générale 91
IV.1 / Variabilité spatio-temporelle des caractéristiques abiotiques et biotiques 91
IV.2 / Effet des amendements organiques sur les caractéristiques abiotiques et biotiques 93
IV.2.1 / Absence d'effet de l'apport de fumier composté dans notre étude 93
IV.2.2 / Amendements organiques et maladies 94
IV.2.3 / Amendements organiques et caractéristiques microbiologiques 95
IV.3 / Effet de la biodésinfection sur les caractéristiques abiotiques et biotiques 97
IV.3.1 / Modifications quantitatives des caractéristiques biotiques 97
IV.3.2 / Modification des structure de communautés 99
IV.4 / Conclusion 101

RECHERCHE D'INDICATEURS DE LA SANTE DES SOLS *103*

I / Introduction 103

II / Résultats 103
II.1 / Co-inertie caractéristiques chimiques/structure des communautés bactériennes 103
II.2 / Co-inertie caractéristiques chimiques/structure des communautés fongiques 105
II.3 / Co-inertie structure des communautés de nématodes/caractéristiques chimiques 106
II.3.1 / Données de 2004 106
II.3.2 / Données de 2005 107
II.4 / Co-inertie caractéristiques biologiques/caractéristiques chimiques 108
II.4.1 / Données de T1 et T2 en 2004 108
II.4.2 / Données de 2005 109
II.5 / Co-inertie caractéristiques biologique/structure des communautés de nématodes 110

III / Discussion 111

IDENTIFICATION D'UNE POPULATION FONGIQUE PREFERENTIELLEMENT ASSOCIEE AU SOL BIODESINFECTE *116*

I / Introduction 116

II / Matériels et méthodes 116
II.1 / Isolements 116
II.2 / Purification des isolats sous forme de monospores 117
II.3 / Extraction d'ADN d'isolat fongique 117
II.4 / Identification moléculaire des isolats fongiques 117
II.4.1 / PCR ITS1-ITS4 117
II.4.2 / Clonage et séquençage 118

III / Résultats 120
III.1 / Récupération et identification morphologique des isolats fongiques 120
III.2 / Identification moléculaire par clonage-séquençage du fragment de PCR ITS1-ITS4 120
III.3 / PCR 18S et T-RFLP sur ADN d'isolats fongiques 121

IV / Discussion 121
IV.1 / Discussion méthodologique 121
IV.2 / Discussion biologique 123

DISCUSSION GENERALE *126*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES *132*

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE _____ *12*

I / Santé des sols et indicateurs _____ **12**

II / Protection des cultures _____ **14**

III / Modèle expérimental : la carotte _____ **15**

IV / Objectifs _____ **18**

INTRODUCTION GENERALE

I / Santé des sols et indicateurs

Le sol est une ressource fondamentale pour la production agricole. Ce n'est pas seulement un support pour la plante, c'est aussi un réservoir de nutriments et d'éléments essentiels. Cependant, du fait de l'intensification de l'agriculture, le sol est menacé par l'érosion, la pollution et la baisse de fertilité.
Le concept de qualité des sols a émergé au début des années 1990, et la première définition officielle de ce terme a été proposée en 1997 par un comité sur la qualité des sols de la société américaine de science du sol (Karlen *et al.*, 1997). La qualité du sol a été définie comme "la capacité d'un certain type de sol à fonctionner, dans les limites d'un écosystème naturel ou anthropisé, pour favoriser la productivité des plantes et animaux, maintenir ou augmenter la qualité de l'air et de l'eau, et améliorer la santé et l'habitat de l'homme". Pour le comité qui a proposé cette définition, le terme de qualité des sols n'est pas synonyme du terme santé des sols, et ils ne doivent pas être utilisés de façon indifférente. La qualité du sol est liée aux fonctions du sol, alors que le terme santé présente le sol comme une ressource vivante, finie et dynamique (Doran et Zeiss, 2000). La santé des sols est définie comme "la capacité continue d'un sol à fonctionner comme un système vivant, dans les limites de l'écosystème et de l'utilisation du terrain, pour soutenir la productivité biologique, maintenir la qualité de l'air et de l'eau, et promouvoir la santé des plantes, des animaux et des hommes" (Doran *et al.*, 1996). Ces deux définitions peuvent sembler similaires, mais nous préfèrerons parler de santé des sols, car cette définition mentionne la santé des plantes, ce qui n'est pas le cas dans la définition de Karlen *et al.* (1997). D'une façon plus simple, le service de conservation des ressources naturelles de l'USDA (United State Department of Agriculture) propose cette définition "la qualité d'un sol, c'est la capacité d'un sol à faire ce qu'on veut qu'il fasse" (soils.usda.gov/sqi, 2005). On pourrait aussi dire que la qualité d'un sol, c'est son aptitude à réagir comme on le souhaite. Du fait des très nombreux usages possibles du sol, la signification du terme qualité du sol dépend de l'écosystème considéré. Dans les sols agricoles, la productivité et la santé des plantes et des animaux sont d'une importance majeure, alors que ce n'est pas le cas dans un sol urbain. Même dans un écosystème donné, la multifonctionnalité des sols rend difficile la définition d'un sol sain sans avoir au préalable défini l'objectif visé. Un tel objectif peut être la santé des plantes, l'équilibre atmosphérique, la limitation de l'érosion, etc. Dans ce travail, l'objectif est la santé des plantes, et dans ce contexte un sol sain est un sol dans lequel les attaques des agents pathogènes et des ravageurs sont limitées.

Les sols résistants ont été décrits par Baker et Cook (1974) comme des sols dans lesquels la sévérité ou l'incidence d'une maladie restent limitées, malgré la présence de l'agent pathogène, d'une plante hôte, et de conditions climatiques favorables au développement de la maladie. Cette notion a ensuite été élargie à l'ensemble des bioagresseurs telluriques, agents pathogènes fongiques et bactériens, mais aussi nématodes (Schneider, 1982 ; Cook et Baker, 1983 ; Schippers, 1992; Westphal et Becker, 2001). Différents mécanismes peuvent conduire à la résistance des sols (Baker et Cook, 1974) : (i) l'agent pathogène ne s'établit pas ou ne survit pas, (ii) il s'établit mais cause peu ou pas de dégâts, ou (iii) il s'établit et cause des dégâts pendant une certaine période, mais ensuite la maladie est moins importante, bien que l'agent pathogène puisse persister dans le sol. La résistance aux maladies à conduit au concept de réceptivité des sols aux maladies (Linderman *et al.*, 1983 ; Alabouvette, 1990). La

réceptivité d'un sol est sa capacité à contrôler plus ou moins l'activité des populations microbiennes dans le sol. Dans le cas des agents pathogènes, la réceptivité du sol est sa capacité à limiter l'activité pathogène. Cette activité pathogène dépend de trois facteurs principaux : la densité d'inoculum, la capacité pathogène de l'inoculum (c'est-à-dire son agressivité intrinsèque, d'origine génétique), et des facteurs biotiques et abiotiques liés au sol qui influencent la densité d'inoculum et la capacité pathogène. Cette dernière composante est la réceptivité du sol (Alabouvette *et al.*, 1982).
Deux types de mécanismes, compatibles, ont été proposés pour expliquer la résistance des sols. La résistance générale, liée au concept de biostase, est directement reliée à l'activité microbienne globale à un moment critique pour l'agent pathogène. Elle n'est pas déterminée par l'activité d'un microorganisme ou d'un groupe spécifique de microorganismes (Cook et Baker, 1983). La résistance spécifique s'exprime dans un contexte de résistance générale, elle est qualitative, elle est due aux effets spécifiques d'organismes antagonistes de l'agent pathogène, à certaines périodes de son cycle de développement. Les exemples de résistance spécifique ayant été largement étudiés, les modes d'actions sont mieux connus que ceux de la résistance générale (Fravel, 1988 ; Alabouvette, 1990 ; Weller *et al.*, 2002).
Selon ce concept de réceptivité des sols aux maladies d'origine tellurique, la résistance aux maladies est une caractéristique de chaque sol. Elle varie donc dans un continuum allant d'une sensibilité extrême à une résistance très élevée. Les sols résistants constituent des exemples de sols sains. Dans la mesure où notre objectif est la protection contre les maladies, le maintien voire l'amélioration de la santé des sols requiert le développement d'outils permettant de gérer les facteurs biotiques et abiotiques, afin d'augmenter la résistance des sols aux maladies.

Pour mesurer la qualité de l'eau ou de l'air, il existe des indicateurs définis, des normes, des méthodes de mesures standardisées. Il n'existe rien de tel pour les sols et la proposition et la mesure d'indicateurs de la qualité sont plus problématiques.
Selon Gras *et al.* (1989), "un indicateur est une variable qui donne de l'information sur d'autres variables difficilement accessibles…et qui peut être utilisée comme marqueur pour prendre une décision". Mitchell *et al.* (1995) estiment que "des mesures alternatives…nous permettent de progresser dans la compréhension des systèmes complexes…de telle sorte que des décisions d'intervention efficaces peuvent être prises, pour atteindre les objectifs initiaux". Ainsi, un indicateur a une fonction informative (sur le système) et une fonction d'aide à la décision (pour atteindre les objectifs initiaux). Les indicateurs peuvent provenir de variables mesurées, d'indices calculés, ou être basés sur des systèmes experts (Girardin *et al.*, 1999). Dans le cas de la santé des sols, seuls des jeux de données mesurées ont été utilisés comme indicateurs. Etant donnée la complexité des fonctions du sol, il est improbable, voire même impossible, qu'un seul indicateur puisse refléter la santé d'un sol. Larson et Pierce (1991) ont donc proposé l'idée d'un nombre limité d'indicateurs (ou minimum dataset, MDS), requis pour décrire la qualité d'un sol, et qui pourrait être commun à toutes les mesures de qualité des sols. Selon Doran *et al.* (1996), un indicateur doit :
-prendre en compte les processus de l'écosystème
-intégrer des propriétés physiques, chimiques et biologiques
-être accessible aux utilisateurs et applicable au champ, techniquement et économiquement
-être sensible aux variations de gestion des systèmes et de climat, à une échelle de temps appropriée
-si possible, être déjà disponible dans des bases de données sur le sol

II / Protection des cultures

Les cultures légumières conduites en plein champ sont sensibles aux ravageurs et maladies telluriques. Plusieurs agents pathogènes et ravageurs sont susceptibles d'attaquer une même culture. Nombre de ces légumes sont commercialisés sans transformation préalable, ce qui nécessite, afin de satisfaire la demande du marché, l'absence totale de défauts visuels. Il est donc primordial d'éviter toute infection. Pour cela, les producteurs ont recours à la désinfection des sols avant de mettre en place une culture, le plus souvent à l'aide de fumigants. Il existe en effet très peu de produits phytosanitaires homologués en traitement préventif. Et il est extrêmement difficile de stopper la progression des agents pathogènes ayant pénétré dans la plante. Les produits utilisés pour la désinfection des sols sont des fumigants qui ont la particularité d'avoir un large spectre, tels le bromure de méthyle, le metam sodium, le 1,3 dichloropropène ou la chloropicrine. Un des fumigants les plus utilisés dans le monde jusqu'en 2004 était le bromure de méthyle. Cependant, en raison des dangers que représente ce produit pour l'environnement (atteintes à la couche d'ozone), son utilisation est interdite depuis 2005 dans les pays développés et le sera d'ici 2015 dans les pays en voie de développement (protocole de Montréal, UNEP, 1987). Il existe pour l'instant quelques dérogations, notamment en France pour les usages en pépinières de fraise ou forestières et pour les cultures ornementales, mais les producteurs doivent apprendre à ne plus les utiliser, puisque ces dérogations devraient disparaître en 2008. Les producteurs sont également confrontés à la réduction des autres moyens de protection chimique.

Les produits phytosanitaires utilisés en désinfection des sols doivent atteindre les agents pathogènes dans toutes les niches physiques et biologiques du sol. Ainsi, ces produits entraînent souvent une réduction importante des agents pathogènes, mais aussi de tout le reste de la microflore/microfaune (Ibekwe, 2004). Ces traitements laissent donc un certain vide biologique, susceptible d'être facilement recolonisé, notamment par des agents pathogènes. L'équilibre microbien des sols, qui assure en partie sa stabilité, sa résistance aux stress et sa résilience, est rompu. En conséquence, il devient nécessaire de proposer aux producteurs des méthodes alternatives plus respectueuses de l'environnement, mais néanmoins efficaces, pour protéger les cultures contre les ravageurs et maladies telluriques.

Parmi les méthodes alternatives, on peut d'abord citer les méthodes prophylactiques. L'utilisation de semences et de plants sains est une première façon de protéger la culture contre les maladies. L'adaptation des variétés utilisées, en fonction des tolérances et/ou résistances dans le matériel végétal, des conditions environnementales et des agents pathogènes les plus menaçants fait aussi partie des méthodes prophylactiques à promouvoir.

La gestion des résidus, qui peuvent servir de réservoirs d'inoculum, est un point crucial pour la protection des cultures. Ce point peut être abordé par le choix de la rotation et par les techniques de travail du sol, qui doivent donc être réfléchis ensemble.

La rotation des cultures avec des plantes non hôtes permet de réduire les populations d'agents pathogènes (Kurle *et al.*, 2001). Cette méthode est particulièrement adaptée pour protéger les cultures contre les agents pathogènes biotrophes, qui ont besoin de la présence de leur hôte pour survivre, ou contre ceux qui survivent mal en phase saprophyte (Bailey et Duczek, 1996). Les techniques de travail limité du sol sont de plus en plus employées (Carter, 1994). Les résidus de culture sont alors laissés en surface ou partiellement enfouis. Cette matière organique qui se décompose peut stimuler la croissance et l'activité microbiennes (Pankhurst *et al.*, 2002). Cependant, ces techniques ont fourni des résultats contrastés en matière de protection des cultures (Sturz *et al.*, 1997 ; Bockus et Shroyer, 1998).

Enfin, l'apport de matière organique, sous de multiples formes (composts, lisiers, fumiers, engrais verts, etc.), fait aussi partie de ces anciennes méthodes qui sont désormais étudiées plus précisément sous l'angle de la protection des cultures (de Ceuster et Hoitink, 1999 ;

Hoitink et Boehm, 1999). L'utilisation des amendements organiques en protection des cultures sera développée dans le chapitre 1.
Dans le dispositif expérimental mis en place pour cette étude, deux pratiques culturales, ayant *a priori* un effet bénéfique pour protéger les cultures, ont été évaluées sur une parcelle cultivée en carotte : un apport de fumier composté et une biodésinfection. Ces deux pratiques ont été comparées à une pratique conventionnelle de fertilisation minérale. La biodésinfection, telle que mise en œuvre dans notre étude, est la combinaison d'un apport d'engrais vert et d'un bâchage.

III / Modèle expérimental : la carotte

La carotte cultivée (*Daucus carota* L.) est une plante bisannuelle de la famille des Apiacées. La première année, la plante produit une rosette de feuilles et des réserves carbonées situées dans la racine. C'est cette racine pivotante charnue qui est consommée comme légume. La seconde année, après vernalisation, elle utilise ces réserves pour produire une hampe florale comprenant plusieurs ramifications de différents ordres et des ombelles portant les fleurs puis les graines.
La première année, le cycle végétatif de la carotte peut être divisé en trois époques principales. La période de croissance s'étend du semis jusqu'au développement complet de la racine. La période de repos a lieu durant la saison hivernale. Enfin, la reprise de végétation est marquée par l'apparition printanière des nouvelles feuilles, puis de la hampe florale. Les carottes sont récoltées à la fin de la première période. En France et au Royaume-Uni, les carottes sont en général conservées dans les champs. Trois techniques de protection contre le gel sont utilisées : le paillage, le buttage et le retournement. Dans les autres pays européens, elles sont conservées en chambre froide.
La production mondiale de carottes s'élève à un peu plus de 23 millions de tonnes annuelles (données 2004, FAO). Trois pays, la Chine, les Etats-Unis et la Russie, en produisent plus de la moitié (51%).
Pour ce qui concerne l'Union Européenne à 25, pour la saison 2004-2005, la production des six premiers pays est de 3,94 millions de tonnes. La Pologne est, de loin, le premier producteur européen, suivie par la France, le Royaume-Uni, l'Italie, l'Allemagne et les Pays-Bas. La production française s'élève pour 2004-2005 à 712 000 tonnes, dont 431 600 tonnes pour le marché de frais. La première région productrice est l'Aquitaine (37,1% de la production, principalement pour le marché de frais). Viennent ensuite les régions Champagne-Ardenne (principalement marché de transformation), Picardie et Basse-Normandie (données Agreste, statistique agricole, www.interfel.com/DOC/ECONOMIE/bilan2005/carotte_2005.pdf).
En quantité, la carotte se place au deuxième rang des légumes les plus achetés (13,1% des ventes), derrière la tomate. Cependant, en valeur, elle n'occupe que la 4ème place. La consommation moyenne française est de 8,85 kg/ménage/an (hors autoconsommation et production transformée).
La carotte est consommée fraîche, cuite ou crue. D'autre part, 39% de la production sont destinés à l'industrie pour l'appertisation, la congélation, la déshydratation, la fabrication de jus, et même pour l'alimentation animale.

L'essentiel de la réussite d'une culture de carotte peut se résumer ainsi : un sol meuble, une bonne implantation et une bonne protection contre la mouche et les maladies telluriques.
La carotte préfère les sols bien drainants, profonds et ayant un pH compris entre 6 et 7,5. Il faut donc éviter les sols lourds retenant l'eau (risque de pourriture) et les sols caillouteux

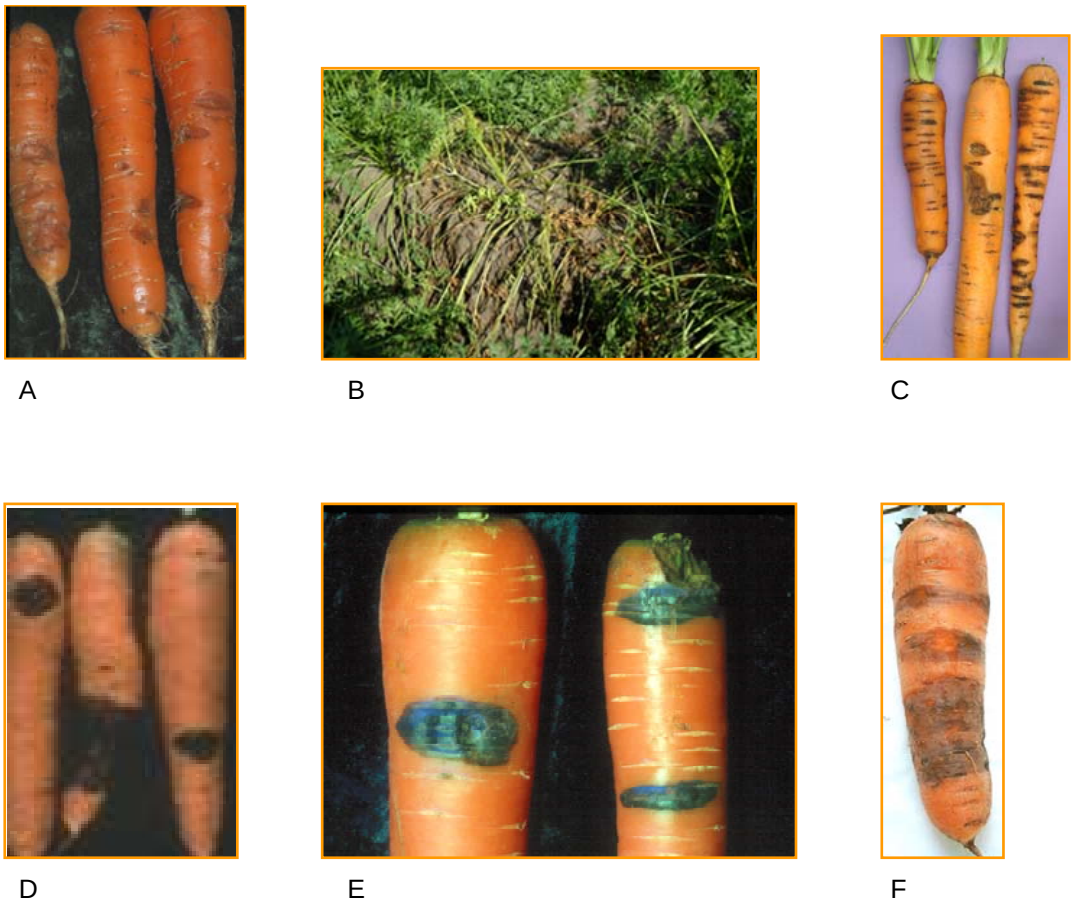


Planche photos 1
Symptômes de maladies d'origine tellurique sur carotte
A-taches de *Pythium* sp., B-symptômes aériens de *Rhizoctonia solani*, C-*Rhizoctonia solani* sur pivot, D-*Alternaria radicina*, E-*Mycocentrospora acerina*, F-*Phytophthora megasperma* var. *megasperma*.
Source F. Villeneuve sauf D, INRA Rennes.

(risque de déformation des racines). Un taux de matière organique trop élevé risque de provoquer un déséquilibre entre feuillage et racine, au détriment de cette dernière, mais aussi un risque accru vis-à-vis des problèmes phytosanitaires. La paille ou un fumier mal décomposé peuvent être à l'origine de carottes fourchues. Il est donc traditionnellement déconseillé d'apporter des amendements organiques juste avant la culture de carotte. La préparation du sol avant le semis est primordiale pour la qualité du peuplement et du produit après récolte. En fonction de la destination (frais ou transformation) et de la période de production, la durée du cycle peut aller de 90 jours à plus de 250 jours. Plusieurs types variétaux sont utilisés. Le type nantais est utilisé pour le marché de frais en Europe, et les types Amsterdam et Flakkee pour la transformation.

Les carottes vendues en frais, sans transformation, se doivent d'être irréprochables sur le plan visuel. C'est pourquoi la protection phytosanitaire contre les ravageurs et agents pathogènes est nécessaire. Les bioagresseurs de la carotte peuvent être classés en trois groupes : ceux qui provoquent des dégâts sur racines, ceux qui attaquent le feuillage, et ceux qui se développent après récolte, pendant la conservation ou au cours de la commercialisation (Villeneuve *et al.*, 2001). Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes principalement intéressés aux problèmes d'origine tellurique.

Différentes espèces de nématodes peuvent attaquer la carotte et provoquer des dégâts importants. Les principales sont *Heterodera carotae* (nématode à kyste), *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* et *M. hapla* (nématodes à galles) et *Pratylenchus crenatus* (nématode à lésions). *H. carotae* provoque des dégâts dans le bassin de production de l'Ouest, alors que dans le Sud-Ouest, ce sont surtout *Meloidogyne* spp. et *Pratylenchus* spp. (Villeneuve *et al.*, 2001)

Concernant les insectes, ce sont les larves qui provoquent les dégâts en creusant des galeries dans les racines. Les principaux ravageurs sont la mouche de la carotte (*Psila rosae*) et les taupins (*Agriotes lineatus*, *A. sordidus,* etc.) (Roberts *et al.*, 1985).

Pour les maladies telluriques, plusieurs espèces de champignons phytopathogènes peuvent provoquer des symptômes sur racines de carotte (Planche photos 1). Les *Pythium* spp. sont les principaux responsables des problèmes telluriques dans le monde. Le "cavity spot", ou maladie de la tache, est principalement dû à deux espèces de *Pythium* : *P. violae* et *P. sulcatum* (Breton et Rouxel, 1994 ; Hiltunen et White, 2002 ; Suffert et Guibert, 2007). Les symptômes sont des taches en dépression qui peuvent être suivies par des éclatements en cas d'attaques précoces. D'autres espèces de *Pythium* peuvent aussi être rencontrées. Elles possèdent des caractéristiques biologiques et épidémiologiques propres, et sont à la base de l'expression de différents types de symptômes aux divers stades de la culture. Ainsi, *P. violae*, *P. sulcatum*, *P. sylvaticum* et *P. irregulare* peuvent provoquer, en plus des taches, des fontes de semis, des racines fourchues ou cordelées et des symptômes de tavelure. *P. ultimum*, *P. intermedium*, *P. coloratum* et *P. mamillatum* provoquent des taches elliptiques et des microfendillements (White, 1986 ; Guerin *et al*., 1994 ; Villeneuve *et al*., 1997 ; Allain-Boule *et al*., 2004). Il existe des différences de sensibilité variétale, mais seule la protection chimique permet pour l'instant de maîtriser la maladie du "cavity spot". Les différentes espèces de *Pythium* ne présentant pas le même degré de sensibilité aux produits phytosanitaires, il est indispensable de pouvoir identifier avec précision les espèces en cause.

La maladie de la bague est due à *Phytophthora megasperma* var. *megasperma* (Waterhouse et Waterson, 1998). Plus récemment, une autre espèce proche, *P. brassicae*, a été mise en évidence. Cette espèce a la particularité d'être peu sensible au méfénoxam, seule substance active autorisée pour le moment. Cette maladie apparaît sous forme d'une tache annulaire d'abord translucide, évoluant en brun-noir, pour gagner finalement l'ensemble de la racine

sous l'action d'une microflore secondaire. Elle se retrouve principalement en Basse-Normandie et en Champagne-Ardennes.
Sclerotinia sclerotiorum peut provoquer d'importants dégâts sur carotte, soit lors d'attaques qui débutent par le feuillage, généralement à l'automne, soit au cours de la conservation au champ (Kora *et al.*, 2005). Ces dernières attaques sont liées à la germination des sclérotes qui se trouvent à proximité immédiate des racines. S'il est relativement aisé d'obtenir une protection chimique efficace pour les attaques foliaires, la protection est nettement plus délicate pour les attaques ayant lieu en cours de conservation. La présence de *S. sclerotiorum* est reportée dans tous les bassins de production français.
De manière plus occasionnelle, ou inféodée à une zone de production donnée, d'autres champignons telluriques peuvent provoquer des dégâts sur les racines de carotte, comme *Mycocentrospora acerina* (Sutton et Gibson, 1998), *Fusarium avenaceum* et *F. solani* (Marziano *et al.*, 1992), *Alternaria radicina* ou *A. carotinoidae* (Farrar *et al.*, 2004).
Cependant, l'agent pathogène tellurique le plus important actuellement en France, dans le bassin de production du Sud-Ouest, est *Rhizoctonia solani* (Villeneuve *et al.*, 2001). Au sein de cette espèce fongique, les groupes d'anastomose AG 2-2 IIIB et AG 4 sont les plus fréquemment responsables de maladies. Comme pour *Pythium*, *R. solani* peut provoquer différents types de symptômes. Les symptômes les plus précoces sont des fontes de semis. Sur racines formées, on observe surtout des collets fuyants, et des nécroses au collet ou sur pivot. Pour le moment, il n'existe pas de moyens de protection chimique autorisé, et comme pour les *Pythium*, il existe des différences de sensibilité variétale.

IV / Objectifs

Le Ctifl, Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, a décidé de financer un programme portant sur deux axes de recherche : (i) l'appréciation et l'amélioration de la santé des sols par la réhabilitation de pratiques culturales respectueuses de l'environnement et (ii) l'établissement de grilles de paramètres biotiques et abiotiques facilitant la prise de décisions quant aux itinéraires techniques à appliquer pour améliorer la santé des sols. Il s'agit d'un programme à long terme car il implique l'obtention de données pluriannuelles afin d'établir cet outil sur l'ensemble de la rotation et non pas sur une seule culture. Le travail de thèse présenté ici constitue une première étape de ce programme.
Deux objectifs principaux structurent ce travail :
- La recherche d'indicateurs de la santé des sols.
- L'appréciation de l'impact de deux pratiques culturales sur les caractéristiques du sol. Des caractéristiques physico-chimiques et biologiques sont prises en compte, ainsi que l'aspect phytosanitaire.

Pour répondre à ces objectifs, deux pratiques culturales, ayant *a priori* un effet bénéfique contre les maladies, ont été évaluées sur une parcelle cultivée en carotte : un apport de fumier composté et une biodésinfection. Ces deux pratiques ont été comparées à une pratique conventionnelle de fertilisation minérale.
Le présent mémoire rend compte de ce travail de thèse.
Un premier chapitre présente une synthèse bibliographique relative à la recherche d'indicateurs de la santé des sols et aux pratiques culturales utilisées en protection des cultures. La première partie de ce chapitre reprend un article de synthèse publié dans Soil Biology and Biochemistry (Janvier *et al.*, 2007). Cette synthèse met en avant les relations entre certaines caractéristiques des sols et la réceptivité de ces sols aux maladies. Les méthodologies à mettre en œuvre pour passer des descripteurs aux indicateurs y sont également présentées. La deuxième partie de ce chapitre présente plus en détail les pratiques

culturales utilisées dans notre étude, leurs modes d'action et leur utilisation en protection des cultures.
Le second chapitre présente les matériels et méthodes mis en œuvre pour le suivi spatio-temporel des caractéristiques de la parcelle expérimentale et l'étude de l'impact des pratiques culturales sur ces caractéristiques. Pour cela, le sol de la parcelle expérimentale est caractérisé au niveau abiotique, biotique (densité activité, structure) et phytosanitaire (résistance aux fontes de semis dues à *R. solani*).
Les résultats de variabilité spatio-temporelle des descripteurs, en lien avec les pratiques culturales, sont présentés et discutés dans le troisième chapitre.
La mise en relation des différents descripteurs par analyses de co-inertie ainsi que la recherche d'indicateurs font l'objet du chapitre suivant. Le dernier chapitre de la partie expérimentale porte sur l'identification d'une population fongique associée à la biodésinfection, et mise en évidence au cours du travail.
Enfin, ce manuscrit se termine par une discussion générale.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ***21***

I / La santé des sols vue sous l'angle de la résistance aux maladies : quelle stratégie pour passer des descripteurs aux indicateurs? 21

I.1 / Introduction 21
I. 2 / Concepts 23
I.2.1 / Soil quality and soil health 23
I.2.2 / Soil suppressiveness 23
I.2.3 / Cultural practices used to improve soil health 24
I.3 / Soil parameters measured in relation with disease suppression 27
I.3.1 / Abiotic parameters 27
I.3.2 / Quantitative microbial parameters 31
I.3.3 / Diversity and structure of microbial communities 34
I.3.4 / Microbial activity 36
I.4 / Strategy for identification of soil health indicators 37
I.4.1 / Data analyses 38
I.4.2 / Strategy for identification of indicators 39
I.4.3 / Sampling strategy 40
I.4.4 / Validation of indicators 42
I.5 / Conclusion 44

II / Deux pratiques culturales utilisées en protection des cultures : amendements organiques et biodésinfection 44

II.1 / Les amendements organiques 44
II.1.1 / Qu'est-ce qu'un amendement organique? 44
II.1.2 / Amendements organiques et protection des cultures 46
II.2 / La solarisation 48
II.3 / La biodésinfection 49
II.3.1 / Définitions 49
II.3.2 / L'utilisation des Brassicacées 50
II.3.3 / Autres méthodes de biodésinfection 52
II.4 / Conclusion 53

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I / La santé des sols vue sous l'angle de la résistance aux maladies : quelle stratégie pour passer des descripteurs aux indicateurs?

Le sol est une composante de première importance pour la production végétale, même s'il est souvent négligé, ou seulement considéré comme un support physique pour la croissance des plantes. Cependant, les préoccupations sociétales vis-à-vis de la durabilité de l'agriculture conduisent à considérer le sol comme un système vivant, dont la qualité doit être préservée. Celle-ci résulte d'interactions multiples entre des composantes physico-chimiques et biologiques, notamment les communautés microbiennes, primordiales pour le fonctionnement du sol. Les cultures sont menacées par des maladies d'origine tellurique, difficiles à contrôler d fait du statut "caché" des agents pathogènes et de la faible efficacité des traitements classiques. Dans ce contexte, l'intérêt des pratiques culturales faisant appel aux amendements organiques est renouvelé. Ces pratiques influencent la santé des sols qui elle-même conditionne la santé des plantes. En effet, en modifiant les caractéristiques physico-chimiques et l'équilibre des communautés microbiennes, ces techniques interfèrent avec la réceptivité des sols et peuvent donc dans certains cas augmenter la résistance aux maladies. Cependant, la relation entre pratiques culturales et résistance des sols n'est pas toujours évidente. De nombreux descripteurs, biotiques ou abiotiques, ont été utilisés pour décrire la santé des sols et leur résistance aux maladies, mais il y a un manque d'indicateurs identifiés, fiables et reproductibles.
Un objectif de cette synthèse est de montrer que, malgré l'ancienneté du concept de santé des sols et toutes les études déjà menées, il n'y a pas de recommandations pour la mesure de la qualité des sols, sous l'angle de la santé des plantes. Evidemment, l'extrême diversité des situations rend toute généralisation difficile. Cependant, à partir de ce qui a déjà été fait dans d'autres domaines d'étude, une méthodologie pour la recherche d'indicateurs de la santé des sols peut être proposée.
Dans cette revue, publiée dans Soil Biology and Biochemistry (2007, 39 : 1–23) nous présenterons (i) comment un sol sain peut être défini et quels sont les concepts cachés derrière ces mots, (ii) quelles pratiques culturales ont été utilisées pour se protéger contre les maladies d'origine tellurique, et leurs limites, (iii) quels paramètres ont été mesurés dans les études sur la résistance des sols, et quelles relations ont été trouvées entre ces paramètres, et enfin (iv) comment des méthodes analytiques et statistiques appropriées permettent d'identifier des indicateurs de la santé des sols au sein des descripteurs.

I.1 / Introduction

Agriculture is being urged to produce affordable, high quality food to satisfy the demands of an ever increasing population. Society at large also wants this food to be produced safely and without environmental damage. After having been highly productive for half a century, agriculture now has to be sustainable. This means the integration of three goals: environmental health, economic profitability, and social and economic equity (University of California Sustainable Agriculture Research and Education Program, 1997, website www.sarep.ucdavis.edu/concept.htm). The definition proposed by the Food and Agriculture

Organization (FAO, 1989) is "a practice that involves the successful management of resources for agriculture to satisfy human needs, while maintaining or enhancing the quality of the environment and conserving natural resources".

Soil is essential for all but a select few crops. It is not only a support for plant roots, but also a reservoir of essential nutrients necessary for the growth of plants. Due to intensive agriculture, however, soil is threatened by erosion, loss of nutrients, pollution, and so forth. Soil fertility has declined over the last fifty years. Intensive management entailed, in some cases, irreversible damage compromising this non-renewable resource for the future generations. That is why soil is of primary interest when talking about sustainable agriculture.

The concept of soil quality arose in the late 1980s/early 1990s to respond to multiple definitions issuing from the multiple specific concerns of soil science, landscape management, soil mapping, farming, etc. Several factors have been proposed as components of soil quality, and methods are available to measure some of them. Among these numerous factors, it is important to be able to select and validate the most interesting ones as indicators, given the final land use objective. Such an indicator can be defined as "a variable which supplies information on other variables which are difficult to access … and can be used as benchmark to take a decision" (Gras *et al.*, 1989).

Plant health has been neglected in the definition of soil quality. But soil is inhabited by soilborne plant pathogens, potentially very harmful to crops. Thus this lack in the definition of soil quality was addressed by the concept of soil health. Nevertheless, the phytopathological component of soils is still often underestimated, if not taken into account at all, in soil health measurements.

Soilborne diseases are difficult to control, because of the "hidden" status of the causal agents. For a long time, broad spectrum chemicals (e.g. methyl bromide or metam sodium) have been widely used to control soilborne pathogens. These products are not specific, destroying the whole microflora, pathogenic or not. Moreover, methyl bromide, one of the most used fumigants, has proved to be noxious to people and the environment. Hence its utilization has been banned since 2005 (Montreal protocol, 1987). It is therefore necessary to find alternative methods to chemicals to control soilborne diseases. There is a renewed interest for "old methods" such as crop rotation and reduced tillage, especially because they can contribute to reduce disease severity. Consequently, it is of primary importance to define soil health indicators to monitor soil health and to predict and measure the impact of cultural practices on soilborne diseases (van Bruggen and Semenov, 2000). These indicators should be sensitive parameters that are representative of the phytopathological status of soils. These indicators would be very useful, since soil suppressiveness to diseases, which is the main component of soil health, is not easy to measure.

One aim of this review is to show that, despite relative age of the concept of soil health and all the work already done, there are still no guidelines for assessment of soil quality from the plant health point of view. Obviously, the extreme diversity of situations makes any generalization from a given case-study difficult. However, a proposition can be made for a methodology to search indicators of soil health, based on what has already been done on related topics.

In this review we will present (i) how a healthy soil can be defined and what are the concepts hidden behind the term "soil health", (ii) which cultural practices have been used to control soilborne diseases and their limitations, (iii) which soil parameters have been measured when studying soil suppressiveness, and which relationships have been found between these parameters, and finally (iv) how these descriptors could become indicators of soil health, using appropriate analytical and statistical methods.

I. 2 / Concepts

I.2.1 / Soil quality and soil health

The concept of soil quality emerged in the early 1990s, and the first official definition of this term was proposed by the Soil Science Society of America Ad Hoc Committee on Soil Quality (S-581) in 1997 (Karlen *et al.*, 1997). Soil quality was defined as "'the capacity of a specific kind of soil to function, within natural or managed ecosystem boundaries, to sustain plant and animal productivity, maintain or enhance water and air quality, and support human health and habitation". For the committee proposing this definition, the term soil quality is not synonymous with soil health, and they should not be used interchangeably. Soil quality is related to soil functions, whereas soil health presents the soil as a finite and dynamic living resource (Doran and Zeiss, 2000). Soil health is defined as "the continued capacity of soil to function as a vital living system, within ecosystem and land-use boundaries, to sustain biological productivity, maintain the quality of air and water environments, and promote plant, animal, and human health" (Doran *et al.*, 1996). These two definitions may appear similar, but in this review, we will preferably rely on the soil health concept, since it directly mentions plant health, which is not the case in the definition of soil quality of Karlen *et al.* (1997). In a simple manner, the Natural Resources Conservation Service of the United States Department of Agriculture proposes on its website (soils.usda.gov/sqi, 2005) the following definition: "soil quality is how well soil does what we want it to do". Because of the numerous possible uses of soil, the meaning of the term soil quality heavily depends on the ecosystem considered. In agricultural soils, plant and animal productivity and health would be of the greatest importance, whereas it would not be the same in urban soils. Even in a given ecosystem, e.g. cultivated soils, their multifunctionality makes it difficult to define a healthy soil without first defining the targeted goal or aim. Such goals could be plant health, atmospheric balance, avoidance of erosion, etc. We will focus here on plant health as a specific goal. A healthy soil, in this case, is a soil where diseases outbreaks are limited.

I.2.2 / Soil suppressiveness

Suppressive soils have been described by Baker and Cook (1974) as soils in which disease severity or incidence remains low, in spite of the presence of a pathogen, a susceptible host plant, and climatic conditions favourable for disease development. Soils suppressive to diseases caused by the most important soilborne pathogens have been described. They include fungal and bacterial pathogens and also nematodes (Schneider, 1982; Cook and Baker, 1983; Schippers, 1992; Westphal and Becker, 2001). Different mechanisms can lead to soil suppressiveness (Baker and Cook, 1974): (i) the pathogen does not establish or persist, (ii) it establishes but causes little or no damage, or (iii) it establishes and causes disease for a while but thereafter the disease is less important, although the pathogen may persist in the soil. Disease suppression led to the concept of soil receptivity to diseases (Linderman *et al.*, 1983; Alabouvette, 1990). The receptivity of a soil is its capacity to control more or less the activity of the microbial populations present in the soil. In the case of pathogens, soil receptivity is its capacity to control pathogenic activity. This pathogenic activity depends on three main components: inoculum density, pathogenic capacity of the inoculum (i.e. the genetically based intrinsic aggressivity of the inoculum), and soil factors influencing both the inoculum density and pathogenic capacity, this last component corresponding to soil receptivity (Alabouvette *et al.*, 1982).

Two compatible types of mechanisms have been proposed to characterise soil suppressiveness. General suppression is linked with the biostasis concept. It is directly related to the total amount of microbiological activity at a time critical to the pathogen. In a sense, general suppression of a pathogen in soil is the equivalent of a high degree of soil fungistasis.

Not a single microorganism or specific group of microorganisms is responsible by itself for general suppression (Cook and Baker, 1983). Specific suppression operates against a background of general suppression but is more qualitative, owing to more specific effects of individual or selected groups of organisms antagonistic to the pathogen during some stage in its life cycle. As these cases have been extensively studied, their modes of action are better understood.
In this context, soil suppressiveness to diseases is a characteristic of any given soil, ranging along a continuum from highly conducive to suppressive soils. Suppressive soils have thus to be considered as healthy soils. Today, in order to maintain or improve soil health considering crop health as a goal, we have to develop tools enabling one to manage soil biotic and abiotic factors in order to increase soil suppressiveness to diseases.

I.2.3 / Cultural practices used to improve soil health

Cultural practices are known to have a strong influence on soil health and more specifically on soil biological attributes, e.g. microbial communities. In the actual trend to improve soil health and limit the chemical or energetic inputs neccessary, cultural techniques are evaluated, notably for their use as alternative methods to chemical control of soilborne pathogens.
Numerous reports have already been published on the effects of cultural practices on soil quality and disease suppressiveness (Conway, 1996; Abawi and Widmer, 2000; Krupinsky *et al.*, 2002; Bailey and Lazarovits, 2003; Peters *et al.*, 2003). In this review, only representative results will be presented.

I.2.3.1 / Rotations

Crop rotation is a very ancient cultural practice (Howard, 1996). Its benefits include maintenance of soil structure and organic matter, and a reduction in soil erosion that is often associated with continuous row crops. While continuous cropping with the same susceptible host plant will lead to the installation of specific plant pathogenic populations, crop rotation avoids this detrimental effect and is often associated with a reduction in plant diseases caused by soilborne pathogens. Rotating crops with non host or less susceptible plants may cause a decline in the specific pathogenic populations due to their natural mortality and the antagonistic activities of other microorganisms (Kurle *et al.*, 2001). This method is best suited for biotrophic pathogens that require the presence of their host to survive or those pathogens with low saprophytic survival capacity (Bailey and Duczek, 1996). It is less successful against pathogens with a wide range of hosts or with efficient survival forms (e.g. sclerotia of *Rhizoctonia solani* or *Sclerotinia sclerotiorum*) (Umaerus *et al.*, 1989).

I.2.3.2 / Tillage

A recent trend aims to reduce excessive cultivation in favour of limited or more strategic tillage practices. Such practices are grouped under the term conservation tillage, as opposed to conventional tillage (Carter, 1994). Conservation tillage is associated with leaving previous crop residues on the soil surface or partially buried in the soil. This organic matter, with a variable level of decomposition, can enhance the microbial biomass and activity (Pankhurst *et al.*, 2002). Concerning plant disease development, contrasting results have been observed (Sturz *et al.*, 1997; Bockus and Shroyer, 1998). Conservation tillage provides a highly competitive environment with possible competition and/or antagonism between microorganisms resulting in disease suppression (Kurle *et al.*, 2001). It also leads to changes in the soil environment, with higher soil moisture and temperature in the upper layer, which can favour some plant pathogens. In the absence of a host plant, they can survive on plant residues, as saprophytes and/or as long term survival structures (spores, sclerotia ; Rodrigues Almeida *et al.*, 2001). Moreover, the reduced tillage leaves the pathogen in place, whereas

conventional deep tillage can displace it into a deeper, less favourable environment (Ntahimpera *et al*., 1997). The positive or negative effect of limited tillage on plant pathogens greatly depends on specific regional crop-pathogen-environment interactions (Paulitz *et al.*, 2002). Even for the same pathosystem, different effects can be observed. For example, concerning take-all of wheat, Cook and Haglund (1991) found an increase in disease severity with conservation tillage compared with conventional tillage, whereas de Boer *et al.* (1993) reported that the incidence of take-all on plants was up to twice as high in a conventionally cultivated treatment than in a direct drill treatment.
It is clear that rotation and tillage practices must be taken together, since their effects are interdependent.

I.2.3.3 / Organic amendments
Organic amendments cover a wide range of inputs, from animal manure to solid wastes and various composts. Much research has already been done, most often concluding that organic amendments have a beneficial effect. Sound reviews of their effects can be found in de Ceuster and Hoitink (1999) and Hoitink and Boehm (1999). Organic amendments are often used to improve soil quality, notably by contributing to general suppressiveness through enhanced soil microbial biomass and activity. The main advantage of organic amendments is that they are rich in labile carbon fractions which are a source of energy for microorganisms. Also, organic amendments can contain antagonistic microorganisms. However, differing results have been obtained concerning disease suppression (Termorshuizen *et al.*, 2006). Major key-points for efficiency in controlling plant pathogens are:

-the plant pathosystem: Lumsden *et al.* (1983) examined the effect of composted municipal wastes on a wide range of diseases. Incorporation of compost controlled Aphanomyces but not Fusarium root rot of pea and also controlled Rhizoctonia but not Thielaviopsis root rot of bean and cotton. Osunlaja (1990) used five different organic materials to control stalk rot of maize, which is caused by two different fungi. All the amendments significantly reduced Fusarium stalk root disease, but only three of them significantly control Macrophomina phaseolina root disease, which was even increased with poultry manure amendment.

-the rate of application: in a field experiment to assess two composts for suppression of Fusarium patch (*Microdochium nivale*) and Typhula blight (*Typhula ishikariensis*) snow molds of turfgrass, compost application at a rate of 97.6 kg/100 m^2 led to significantly lower disease than a rate reduced by half (Boulter *et al.*, 2002). However, there is not always a positive association between the rate of organic amendment and the degree of disease suppression. Testing the effect of incorporation of onion peelings in soil to reduce the viability of sclerotia of *Sclerotium cepivorum*, Coventry *et al.* (2005) found no significant difference in efficacy between 10% and 50% rates (w/w).

-the nature/type of amendment : comparing eight different amendments incorporated in soil, Pankhurst *et al.* (2005) showed that only two of them (poultry manure and chitin) significantly increased the level of suppression of detrimental soil organisms responsible for sugarcane yield decline (e.g. the root rot fungus *Pachymetra chaunorhiza* and the lesion nematode *Pratylenchus zeae*). However, this beneficial aspect took a long time to appear and was only temporary, being detected 7 months after incorporation, but not later. Bulluck and Ristaino (2002) found that cotton-gin trash reduced southern blight (*Sclerotium rolfsii*) of processing tomatoes significantly better than swine manure or rye-vetch. A compost prepared from waste onion peelings was found to be more effective in reducing viability of sclerotia of *S. cepivorum* than compost prepared from Brassica or carrot wastes (Coventry *et al.*, 2005).

-the degree of maturity of composts/decomposition stage of crop residues: Erhart *et al.* (1999) found a biowaste compost to be suppressive toward *Pythium ultimum* when it was

Table 1
Types of relationships found between abiotic and biotic microbial soil parameters and disease suppression

Measured parameter	Observed "increase of the parameter = less disease"	Statistical relation "increase of the parameter = less disease"	Observed "decrease of the parameter = less disease"	Statistical relation "decrease of the parameter = less disease"	No relation found
Abiotic parameters					
pH		Höper et al. (1995), Ownley et al. (2003)	Rimé et al. (2003)	Duffy et al. (1997), Lacey and Wilson (2001)	Mallett and Maynard (1998), Oyarzun et al. (1998), Peng et al. (1999), Dominguez et al. (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Martinez et al. (2002), Pankhurst et al. (2002), Rasmussen et al. (2002), Manici et al. (2003), Ramette et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Hiddink et al. (2005), Pérez-Piqueres et al. (2006)
N	Pankhurst et al. (2002), Rasmussen et al. (2002), Rimé et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Hiddink et al. (2005)	Rotenberg et al. (2005)	Mazzola and Gu (2002)	Oyarzun et al. (1998), Ownley et al. (2003)	Workneh et al. (1993), Höper et al. (1995), Mallett and Maynard (1998), Oyarzun et al. (1998), Peng et al. (1999), van Bruggen and Semenov (1999), Grünwald et al. (2000b), Dominguez et al. (2001), Lacey and Wilson (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Martinez et al. (2002), Ramette et al. (2003)
NH_4	van Bruggen and Semenov (1999)	Mallett and Maynard (1998), Ownley et al. (2003)		Grünwald et al. (2000b)	Workneh et al. (1993), Duffy et al. (1997), Oyarzun et al. (1998), Dominguez et al. (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Martinez et al. (2002), Pankhurst et al. (2002), Hamel et al. (2005a, b), Hiddink et al. (2005), Rotenberg et al. (2005), Pérez-Piqueres et al. (2006)
NO_3	Hiddink et al. (2005)	Duffy et al. (1997), Martinez et al. (2002)	Workneh et al. (1993)	Workneh et al. (1993), Oyarzun et al. (1998)	Mallett and Maynard (1998), Oyarzun et al. (1998), van Bruggen and Semenov (1999), Grünwald et al. (2000b), Bulluck and Ristaino (2002), Pankhurst et al. (2002), Hamel et al. (2005a, b), Rotenberg et al. (2005), Pérez-Piqueres et al. (2006)
Organic C	Workneh et al. (1993), Pankhurst et al. (2002)			Höper et al. (1995)	Manici et al. (2003), Pérez-Piqueres et al. (2006)
C	van Bruggen and Semenov (1999), Rasmussen et al. (2002)	Oyarzun et al. (1998), Leon et al. (2006)		Oyarzun et al. (1998), Ownley et al. (2003)	Oyarzun et al. (1998), Peng et al. (1999), Grünwald et al. (2000b), Dominguez et al. (2001), Hiddink et al. (2005), Rotenberg et al. (2005)
C/N				Oyarzun et al. (1998)	Höper et al. (1995), Oyarzun et al. (1998), Grünwald et al. (2000b), Rasmussen et al. (2002), Ramette et al. (2003), Rimé et al. (2003), Pérez-Piqueres et al. (2006)
K	Bulluck and Ristaino (2002)	Peng et al. (1999)	Rimé et al. (2003)	Oyarzun et al. (1998)	Duffy et al. (1997), Mallett and Maynard (1998), Oyarzun et al. (1998), Dominguez et al. (2001), Lacey and Wilson (2001), Martinez et al. (2002), Pankhurst et al. (2002), Manici et al. (2003), Ownley et al. (2003), Ramette et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Pérez-Piqueres et al. (2006)

Author's personal copy

aged 4 months or more, but not when it was less than 4 months old. Certain batches of composts that were initially not suppressive to Pythium damping-off of creeping bentgrass became suppressive as they aged (Craft and Nelson, 1996).

Until now, a great deal of work has been done on the effect of cultural practices on disease suppression, and on the effect of these practices on soil physicochemical characteristics and properties of the microbial communities. But the link between these studies is rarely made. How do cultural practices influence the soil environment, which soil parameters are sensitive, and how do they render the soil suppressive? Answering these questions and identifying parameters associated with enhanced suppressiveness could provide useful indicators (Mazzola, 2004). They could be used to monitor the effect of cultural practices, and to assess the health of soils before choosing a crop.

I.3 / Soil parameters measured in relation with disease suppression

Both abiotic and biotic parameters have been investigated together with variations in disease suppression (Table 1). Abiotic factors are mainly characterized by quantitative measurements. Concerning biotic factors, they can be divided into several classes, depending on whether they are related to quantitative, structure and diversity, or activity measurements. The relations between these soil parameters and suppressiveness of the same soil can be assessed either by simple associations of different results using different variables or by more detailed statistical approaches.
Two different kinds of approach have been used to investigate the relations between soil suppressiveness and other soil parameters. The first one consists in comparing several soils with varying levels of receptivity, and assessing which other parameters differ (Table 2, "without a priori survey" and "natural suppressiveness"). The second approach consists in artificially modifying the level of suppressiveness of a soil, and assessing which other parameters are affected (Table 2). In these studies, more or less detailed data analysis, with or without statistical validation, has been used.

I.3.1 / Abiotic parameters

Höper and Alabouvette (1996) made a comprehensive review of the influence of physicochemical properties on the suppressiveness of soils towards diseases. They concluded that the importance of these factors is far from being clear, partly because of the complexity of the interactions between soil properties. The effect of the physicochemical factors in the soil environment needs to be studied more. Indeed, many authors studying soil suppressiveness include physicochemical analyses in their work, and sometimes try to relate these characteristics with disease incidence. However, these analyses are made by taking each parameter independently, while the overall abiotic soil environment should be taken into account.
The parameters most studied are soil pH and N content (Table 1). Studying the effect of clay addition and liming on soil suppressiveness, Höper *et al.* (1995) found a positive correlation between pH and soil suppressiveness, soils with higher pH being more suppressive towards Fusarium wilts. On the contrary, comparing a suppressive and a conducive soil to ectoparasitic nematodes, Rimé *et al.* (2003) found that the most acidic soil was the most suppressive one. Working with 35 soils, Lacey and Wilson (2001) found the same relation between more acidic pH and a lesser incidence of potato scab (*Streptomyces scabies*). Duffy *et al.* (1997) found that the suppression of take-all of wheat with *Trichoderma koningii* was

Table 1 (*continued*)

Measured parameter	Observed "increase of the parameter = less disease"	Statistical relation "increase of the parameter = less disease"	Observed "decrease of the parameter = less disease"	Statistical relation "decrease of the parameter = less disease"	No relation found
Mg	Höper et al. (1995)	Duffy et al. (1997), Oyarzun et al. (1998), Peng et al. (1999)	Rimé et al. (2003)	Oyarzun et al. (1998)	Mallett and Maynard (1998), Oyarzun et al. (1998), Dominguez et al. (2001), Lacey and Wilson (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Martinez et al. (2002), Manici et al. (2003), Ramette et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Pérez-Piqueres et al. (2006)
Na	Höper et al. (1995), Dominguez et al. (2001)	Peng et al. (1999), Ownley et al. (2003)			Duffy et al. (1997), Mallett and Maynard (1998), Oyarzun et al. (1998), Ramette et al. (2003), Rimé et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b)
Mn		Hamel et al. (2005a, b)	Höper et al. (1995), Pankhurst et al. (2002), Rimé et al. (2003)	Ownley et al. (2003)	Duffy et al. (1997), Lacey and Wilson (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Ramette et al. (2003)
Zn	Pankhurst et al. (2002)	Ownley et al. (2003)			Höper et al. (1995), Duffy et al. (1997), Lacey and Wilson (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Ramette et al. (2003), Rimé et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Pérez-Piqueres et al. (2006)
Electrical conductivity	Dominguez et al. (2001)				Workneh et al. (1993), Lacey and Wilson (2001), Pankhurst et al. (2002), Manici et al. (2003)
CEC	Höper et al. (1995)			Ownley et al. (2003)	Duffy et al. (1997), Mallett and Maynard (1998), Dominguez et al. (2001), Pankhurst et al. (2002), Rasmussen et al. (2002), Ramette et al. (2003), Rimé et al. (2003), Pérez-Piqueres et al. (2006)
P			Rimé et al. (2003)	Duffy et al. (1997), Oyarzun et al. (1998), Pankhurst et al. (2002)	Mallett and Maynard (1998), Oyarzun et al. (1998), Lacey and Wilson (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Martinez et al. (2002), Mazzola and Gu (2002), Manici et al. (2003), Ownley et al. (2003), Ramette et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Pérez-Piqueres et al. (2006)
Cu	Pankhurst et al. (2002)	Duffy et al. (1997)	Pankhurst et al. (2002)		Höper et al. (1995), Lacey and Wilson (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Ownley et al. (2003), Ramette et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b)
Fe	Pankhurst et al. (2002), Rimé et al. (2003)	Duffy et al. (1997), Martinez et al. (2002)		Höper et al. (1995), Ownley et al. (2003)	Peng et al. (1999), Dominguez et al. (2001), Ramette et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Pérez-Piqueres et al. (2006)
B		Duffy et al. (1997)			Lacey and Wilson (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Manici et al. (2003), Ramette et al. (2003)
Al	Rimé et al. (2003)				Martinez et al. (2002)
Ca		Höper et al. (1995), Peng et al. (1999)	Rimé et al. (2003)	Lacey and Wilson (2001)	Duffy et al. (1997), Mallett and Maynard (1998), Oyarzun et al. (1998), Dominguez et al. (2001), Bulluck and Ristaino (2002), Martinez et al. (2002), Ramette et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Pérez-Piqueres et al. (2006)

Author's personal copy

enhanced at lower pH. However, many other authors measured the pH of their soils and found no relation with disease incidence (Table1).
Concerning the N content of soil, more associations have been found. A positive association was found between the N content of soil and the suppressiveness towards ectoparasitic nematodes (Rimé *et al.*, 2003), *Pseudomonas syringae* on bean and cucumber (Rotenberg *et al.*, 2005), *Gaeumanomyces graminis* var *tritici* (Ggt) and *R. solani* on wheat (Pankhurst *et al.*, 2002), and *Fusarium* spp. on asparagus (Hamel *et al.*, 2005a). On the contrary, the N content of soil was significantly negatively correlated with increased suppressiveness to *Fusarium solani* f.sp. *pisi* on pea (Oyarzun *et al.*, 1998). The form of N, either NO_3 or NH_4, is also important. Tenuta and Lazarovits (2004) studied the effectiveness of a nitrogenous organic amendment to kill microsclerotia of *Verticillium dahliae* in several soils, and the soil properties associated with this effectiveness. They found that NH_3 is effective in killing *V. dahliae* microsclerotia only in soils where it accumulates above the concentration of 25 mM. Organic C and soil density have been identified by correlation and principal component analyses as potential predictors of the ability of soils to accumulate this NH_3. HNO_2 is also able to kill microsclerotia, but in this case, the soil pH has to be acid.
A higher content of C was associated with less incidence of *Fusarium culmorum* on barley (Rasmussen *et al.*, 2002), Pythium damping-off of tomato (van Bruggen and Semenov, 1999) and *F. solani* f.sp. *pisi* on pea (Oyarzun *et al.*, 1998). Only these latter confirmed this association by a correlation analysis. However, the same authors found that the C content of soil was positively correlated to incidence of *Thielaviopsis basicola*, and was not related to *Aphanomyces euteiche*s on pea.
Concerning only organic C content, it was found to be associated with less incidence of Ggt on wheat (Pankhurst *et al.*, 2002) and less severity of corky root (*Pyrenochaeta lycopersici*) on tomato (Workneh *et al.*, 1993). On the contrary, a significant negative correlation was found between the organic C content of soil and its suppressiveness to Fusarium wilt (Höper *et al.*, 1995).
Other physicochemical characteristics sometimes measured are cations and oligoelements (Table 1). Since all authors did not measure the same set of parameters, it is quite impossible to propose sound conclusions of the possible relations between disease incidence and oligoelements or cations. Mg and K were found associated with disease, higher levels of these elements being associated with lower incidence of fungal disease (Duffy *et al.*, 1997; Peng *et al.*, 1999). On the contrary, a soil suppressive to ectoparasitic nematodes had significantly lower levels of Mg and K than a conducive soil (Rimé *et al.*, 2003). Oyarzun *et al.* (1998) found contrasting results, depending on the pathogen. When associations have been highlighted between disease and Al, Fe, Na or Zn contents, they were always in the sense of less disease with higher contents of these elements.
Concerning the relation between soil texture and suppressiveness, several results have been obtained. Höper *et al.* (1995) and Mallet and Maynard (1998) both found a significant negative correlation between the sand content of a soil and its suppressiveness to Fusarium wilts of flax and Armillaria root disease on lodgepole pine, respectively. No relationship was found between soil texture and suppressiveness towards ectoparasitic nematodes (Rimé, 2003), Fusarium wilt of banana (Dominguez *et al.*, 2001), Fusarium root rot of asparagus (Hamel *et al.*, 2005a) or replant disease of apple tree (Manici *et al.*, 2003). For clay content, Duffy *et al.* (1997) found that higher clay content was associated with less Ggt on wheat after treatment with *T. koningii*, while, on the contrary, Workneh *et al.* (1993) found that there was more clay in soils of conventional farms, in particular those farms with vertisols, these soils promoting greater severity of the disease caused by *P. lycopersici,* than in soils of organic farms.

H_2O	Höper et al. (1995)	Rasmussen et al. (2002)		Oyarzun et al. (1998)	Duffy et al. (1997), Oyarzun et al. (1998), Rotenberg et al. (2005)
MO	Rimé et al. (2003)			Oyarzun et al. (1998), Ownley et al. (2003)	Duffy et al. (1997), Oyarzun et al. (1998), Lacey and Wilson (2001), Martinez et al. (2002), Ramette et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Hiddink et al. (2005), Pérez-Piqueres et al. (2006)
Texture	Höper et al. (1995) (clay)	Duffy et al. (1997) (clay), Ownley et al. (2003) (sand)	Workneh et al. (1993) (clay)	Workneh et al. (1993) (clay), Höper et al. (1995) (sand), Mallett and Maynard (1998) (sand), Ownley et al. (2003) (clay, silt)	Dominguez et al. (2001), Rasmussen et al. (2002), Manici et al. (2003), Ramette et al. (2003), Rimé et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b), Pérez-Piqueres et al. (2006)
Quantitative microbial parameters					
Bacterial CFU	Bulluck and Ristaino (2002), Cohen et al. (2005), Wiggins and Kinkel (2005), Larkin and Honeycutt (2006), Pérez-Piqueres et al. (2006)	Höper et al. (1995), Peng et al. (1999), Garbeva et al. (2006)	Benizri et al. (2005)		Oyarzun et al. (1998), Martinez et al. (2002), Mazzola and Gu (2002), Pankhurst et al. (2002), Manici et al. (2003), Rimé et al. (2003)
Fungal CFU	Cohen et al. (2005), Pankhurst et al. (2002), Pérez-Piqueres et al. (2006)	Garbeva et al. (2006), Manici et al. (2003)	Larkin and Honeycutt (2006)	Peng et al. (1999)	Bulluck and Ristaino (2002), Martinez et al. (2002), Mazzola and Gu (2002), Rasmussen et al. (2002), Hamel et al. (2005a, b), Pankhurst et al. (2005)
Pseudomonas spp. CFU	Oyarzun et al. (1998), Larkin and Honeycutt (2006)	Garbeva et al. (2006)		Pankhurst et al. (2002)	Oyarzun et al. (1998)
Fluorescent pseudomonads CFU	Mazzola and Gu (2000)		Höper et al. (1995), Mazzola (1999), Rimé et al. (2003), Cohen et al. (2005)		Oyarzun et al. (1998), Martinez et al. (2002), Mazzola and Gu (2002), Manici et al. (2003), Ramette et al. (2003), Larkin and Honeycutt (2006)
Actinomycetes or Styreptomycetes CFU	Pankhurst et al. (2002)	Peng et al. (1999), Wiggins and Kinkel (2005)			Oyarzun et al. (1998), Martinez et al. (2002), Pankhurst et al. (2002), Garbeva et al. (2006), Larkin and Honeycutt (2006)
Microbial biomass	van Os and van Ginkel (2001), Pankhurst et al. (2002), Kowalchuk et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b)	Leon et al. (2006)	Höper et al. (1995)		Pankhurst et al. (2005)
Diversity and structure of microbial communities					
	Changes in the profiles				
PLFA profile	Cai et al. (2003), Hamel et al. (2005a, b)				
Biolog	Larkin and Honeycutt (2006)				

Author's personal copy

Some authors used multivariate analyses, taking into account the whole set of physicochemical parameters together. Studying the effect of compost amendment on soil suppressiveness to *R. solani*, Pérez-Piqueres *et al.* (2006) found that the most suppressive soil compost mix was clearly separated from the non-amended control after principal component analysis (PCA) of 14 soil parameters. The suppressive mix contained higher rates of CaO, MgO, K_2O and N-NH_4 and a higher CEC than the control soil. Ownley *et al.* (2003) analysed 28 physical and chemical properties of 10 soils. These soils were assessed for take-all disease suppression with seeds treated with phenazine-producing *Pseudomonas fluorescens*. The authors found that 16 soil properties were correlated with disease suppression. Regression analysis enabled them to propose a model including 6 key soil properties (N-NO_3, CEC, Fe, %silt, soil pH and zinc) to explain the variance in take-all disease rating of wheat treated with phenazine-producing *P. fluorescens*.

I.3.2 / Quantitative microbial parameters

I.3.2.1 / Colony forming units plate counts

The most ancient method to study the soil microbial communities is the isolation and counting of the colony forming units (CFU), and the identification of the species present in a soil sample. Despite well-known bias, such as the overwhelming number of non-cultivable microorganisms which are not considered by such techniques (Torsvik *et al.*, 1990a and 1990b), CFU counts on more or less specific solid media are still used and informative (Balestra and Misaghi, 1997; Martinez *et al.*, 2002; Cohen *et al.*, 2005). In studies dealing with soil suppressiveness, along with total bacterial and fungal counts, populations which are known or supposed to have antagonistic properties are often surveyed too.

Concerning total bacterial densities, no relation was found with disease incidence of ectoparasitic nematodes (Rimé *et al*, 2003), *Helminthosporium solani* on potato (Martinez *et al.*, 2002), Ggt and *R. solani* on wheat (Pankhurst *et al.*, 2002), *F. solani* f.sp. *pisi* and *A. euteiches* on pea (Oyarzun *et al.*, 1998) and *R. solani* and replant disease of apple tree (Mazzola, 1999; Manici *et al.*, 2003). Increased bacterial densities were associated with increased suppressiveness of amended soils towards southern blight (*S. rolfsii*) of processing tomatoes (Bulluck and Ristaino, 2002), Phytophthora root rot of alfalfa and potato scab (Wiggins and Kinkel, 2005). In the same way, larger bacterial densities were associated with increased suppressiveness of soils to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Peng *et al.*, 1999), *R. solani* on apple trees in soils amended with rapeseed meal (Cohen *et al.*, 2005), *R. solani* on pine in a compost-amended soil (Pérez-Piqueres *et al.*, 2006). On the contrary, higher bacterial densities were positively correlated with high receptivity of soils to *T. basicola* on pea (Oyarzun *et al.*, 1998), and sick soils in the replant disease of peach (Benizri *et al.*, 2005).

Fungal population densities were not related to incidence or severity of southern blight of tomatoes (Bulluck and Ristaino, 2002), *H. solani* on potato (Martinez *et al.*, 2002), *Fusarium* spp. on asparagus (Hamel *et al.*, 2005b) and *R. solani* on apple tree (Mazzola, 1999). But higher fungal densities were associated with enhanced suppressiveness to Ggt and *R. solani* on wheat in fields amended with stubble (Pankhurst *et al.*, 2002), *R. solani* on apple tree in fields with rapeseed meal amendment (Cohen *et al.*, 2005), apple tree replant disease in organic soils (Manici *et al.*, 2003) and *R. solani* damping-off of pine in a compost-amended soil (Pérez-Piqueres, 2006). On the contrary, increased suppressiveness was associated with lower fungal densities in soils suppressive to Fusarium wilt of banana (Peng *et al.*, 1999).

Besides total aerobic bacterial and fungal counts, specific populations can also be monitored by dilution plating on selective media. Pseudomonads and fluorescent pseudomonads are among the most studied populations, in soil and in the rhizosphere (Weller *et al.*, 2002). The density of pseudomonads had no influence on the incidence of *F. solani* f.sp. *pisi* and

Table 1 (*continued*)

Measured parameter	Observed "increase of the parameter = less disease"	Statistical relation "increase of the parameter = less disease"	Observed "decrease of the parameter = less disease"	Statistical relation "decrease of the parameter = less disease"	No relation found
Bacterial PCR DGGE	Yang et al. (2001), Schönfeld et al. (2003), Gorissen et al. (2004), Hiddink et al. (2005), Garbeva et al. (2006)				Kowalchuk et al. (2003)
Fungal PCR DGGE	Garbeva et al. (2006)				Kowalchuk et al. (2003)
Bacterial RISA	Rimé et al. (2003), Benizri et al. (2005)				Yin et al. (2004)
Bacterial T-RFLP	Pérez-Piqueres et al. (2006)				
Fungal T-RFLP	Pérez-Piqueres et al. (2006)				
Microbial activity					
FDA hydrolysis	Workneh et al. (1993), Peng et al. (1999)				Workneh et al. (1993), Grünwald et al. (2000b), Pankhurst et al. (2002), Leon et al. (2006)
Respiration	van Os and van Ginkel (2001), Pankhurst et al. (2002), Kotsou et al. (2004), Pérez-Piqueres et al. (2006)	Höper et al. (1995), Leon et al. (2006)			
Enzymatic activities	van Os and van Ginkel (2001) (dehydrogenase), Hamel et al. (2005a, b) (β-glucosidase, dehydrogenase, phosphatase), Ros et al. (2005) (β-glucosidase)	Rasmussen et al. (2002) (β-glucosidase, cellobiohydrolase), Leon et al. (2006) (arylsulfatase, β-glucosidase)			
Copiotrophic/ oligotrophic ratio	Kotsou et al. (2004)				Garbeva et al. (2006)
N mineralisation, nitrification	Cohen et al. (2005)	Workneh et al. (1993)			Workneh et al. (1993)
2,4 DAPG or HCN-producing *Pseudomonas* spp. CFU					Ramette et al. (2003)

Author's personal copy

A. euteiches on pea (Oyarzun *et al*., 1998). A greater density of pseudomonads was associated with soil conduciveness to ectoparasitic nematodes (Rimé *et al.*, 2003) and a greater disease incidence of Ggt and *R. solani* on wheat (Pankhurst *et al.*, 2002). On the contrary, the density of pseudomonads was correlated with decreased incidence of *T. basicola* on pea (Oyarzun *et al*., 1998) and *R. solani* on potato (Garbeva *et al.*, 2006; Larkin and Honeycutt, 2006).
Concerning fluorescent pseudomonads, their density was not related to soil suppressiveness or conduciveness to *H. solani* on potato (Martinez *et al.*, 2002), *F. solani* f.sp. *pisi* or *A. euteiche*s on pea (Oyarzun *et al.*, 1998), *R. solani* or replant disease on apple tree (Mazzola, 1999; Manici *et al.*, 2003). Other studies found that more fluorescent pseudomonads were associated with a lesser disease incidence of *S. rolfsii* on tomato (Bulluck and Ristaino, 2002), *T. basicola* on pea (Oyarzun *et al.*, 1998) and replant disease on apple tree (Mazzola, 1999). There were fewer fluorescent pseudomonads in soils amended with rapeseed meal, which were more suppressive to *R. solani* on apple tree (Cohen *et al.*, 2005). A study has also been conducted on the relation between the fluorescent pseudomonads community composition and the apple replant disease in different orchard soils, and how this composition is influenced by the genotype of wheat previously cropped on these soils (Mazzola and Gu, 2000 and 2002; Gu and Mazzola, 2003).
Actinomycetes, and among them many *Streptomyces* spp., are known for their antagonistic properties (Jones and Samac, 1996; Samac and Kinkel, 2001), i.e. by producing antifungal compounds (Chamberlain and Crawford, 1999). Actinomycete densities were not consistently associated with disease incidence of *H. solani, R. solani* or other soilborne diseases on potato (Martinez *et al.*, 2002; Garbeva *et al.*, 2006; Larkin and Honeycutt, 2006) or *F. solan*i f.sp. *pisi*, *T. basicola* and *A. euteiches* on pea (Oyarzun *et al.*, 1998). However, there were greater densities of actinomycetes in soils resistant to Fusarium wilt of banana (Peng *et al.*, 1999) and soils under conservation tillage showing higher suppressiveness to Ggt and *R. solani* on wheat (Pankhurst *et al.*, 2002). Concerning more particularly *Streptomyces* spp., Wiggins and Kinkel (2005) found a significant negative correlation between *Streptomyces* spp. densities and the disease incidence of alfalfa root rot and potato scab after green manure amendment. The density of antagonistic *Streptomyces* spp. was also significantly negatively correlated to alfalfa root rot.
In conclusion, the variations in microbial densities may depend on the pathosystem and the soil in which the disease occurs. Generally there is a positive association between microbial densities and soil suppressiveness. However, in experiments conducted for several years, different results may appear (Garbeva *et al.*, 2006).

I.3.2.2 / Microbial biomass

Soil microbial biomass can be assessed by several methods, among which are the chloroform fumigation-extraction method (Vance *et al.*, 1987) and the substrate-induced respiration method (Anderson and Domsch, 1978). It is generally admitted that disease suppressiveness is related to a global increase in soil microbial biomass. A large biomass would create a competitive environment deleterious for the pathogens. Enhancement of the microbial biomass is also one of the aims of some cultural practices, mainly organic amendments. Increased microbial biomass was associated with decreased disease incidence of Pythium root-rot on iris (van Os and van Ginkel, 2001), Ggt and *R. solani* on wheat (Pankhurst *et al.*, 2002) and *F. oxysporum* on asparagus (Hamel *et al.*, 2005b), but no statistical correlations were made. Leon *et al.* (2006) found a significant negative correlation between microbial biomass and disease severity of *A. euteiches* on snap bean. Concerning the yield decline of sugarcane, the results were not so clear (Pankhurst *et al.*, 2005). Seven months after incorporation of different organic amendments in soil, microbial biomass was not significantly different between most amended soils and the non-amended control. However,

all of the amended soils showed an increased suppressiveness towards yield decline. In the only two cases where microbial biomass was significantly increased, disease suppression was not. This example shows that the relationship between microbial biomass and disease incidence is not consistent. Studying the effect of cover-crop incorporation in both organic and conventional farming system on soil suppressiveness to *Pythium aphanidermatum*, Grünwald *et al.* (2000a and 2000b) found no relation between the soil microbial biomass and disease incidence.

I.3.3 / Diversity and structure of microbial communities

A greater biodiversity (number of species present in the ecosystem) has long been synonymous with better soil quality, diversity being considered as a key component of soil stability and function (Agenda 21, United Nations Conference on Environment and Development, Rio de Janeiro, 1992: "The current decline in biodiversity is largely the result of human activity and represents a serious threat to human development"; Naeem *et al.*, 1994). However, functional redundancy has been shown, and it is now admitted that the functional characteristics of individual species are at least as important as the total diversity (Andrén and Balandreau, 1999; Griffiths *et al.*, 2000 and 2001). Indeed, the diversity and the structure of soil microbial communities are of primary interest when studying soil suppressiveness.

Isolation of microorganisms from soil has long been the only method to assess the diversity and structure of microbial populations. However, this method only allows access to cultivable microorganisms, which represent a very little proportion of the whole microbial community of soil (Torsvik *et al.*, 1990a and 1990b). Nowadays, direct extraction methods are available, without prior cultivation of the microorganisms. These methods allow the study of a much greater part of the soil microflora.

Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis is one solution to overcome the problem of finding unculturable microorganisms when assessing soil microbial diversity. Many fatty acids have been isolated from, and are representative of, specific microbial groups, making PLFA analysis a useful tool to describe microbial diversity and structure (Bossio *et al.*, 1998; Ibekwe and Kennedy, 1998; Zelles, 1999). Discriminant analysis conducted on the whole microbial PLFA profiles revealed the existence of significantly distinct microbial community structures in soils depending on the classes of Fusarium crown and root rot of asparagus in fields (Hamel *et al.*, 2005b). However, this distinction was cultivar specific, highlighted only when comparing fields with the same cultivar. Studying the effect of biological organic fertilizers, Cai *et al.* (2003) found that fatty acid methyl ester (FAME) microbial markers would be a useful indicator of soil health and that the soil odd-number fatty acid proportion changed due to organic amendment, which also reduced the incidence of bacterial wilt of tomato (*Ralstonia solanacearum*).

The community level physiological patterns established using the Biolog systems are used to detect differences in the ability of microbial communities to degrade different carbon substrates (Garland and Mills, 1991). These methods are biased. Biolog substrates favour bacteria, and so the microbial community studied is in fact part of the bacterial community. And among the bacteria, the faster growing ones are overrepresented (Hill *et al.*, 2000).

Pérez-Piqueres *et al.* (2006) compared the Biolog profiles of different soil and compost mixes. Analysis of the metabolic diversity by PCA clearly separated the mixes most suppressive to *R. solani* from the non-amended highly conducive control soil. Similarly, Benizri *et al.* (2005) compared the Biolog profiles of the bacteria inhabiting two healthy and one sick soil, mimicking peach tree replant disease. The second principal component of the PCA analysis separated the soil bacteria isolated from healthy soils from those isolated from sick soils. However, this separation was not statistically significant.

The development of DNA-based methods provided new insights into the composition and structure of microbial communities. It enabled the access to a greater part of the soil microflora without the bias of cultivation (Tiedje *et al.*, 1999; Ranjard *et al.*, 2000b). Methods such as ribosomal intergenic spacer analysis (RISA, Borneman and Triplett, 1997; Ranjard *et al.*, 2000a), (terminal)-restriction fragment length polymorphism ((T)-RFLP, Liu *et al.*, 1997; Marsh, 1999) or denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE, Muyzer *et al.*, 1993) give complex molecular fingerprints of the microbial communities after direct extraction of the soil DNA and polymerase chain reaction (PCR) amplification of DNA markers of the community of interest, mainly ribosomal DNA (rDNA). These techniques allow the analysis of both culturable and non-culturable microorganisms and provide a rapid method for observing changes in community structure in response to different environmental factors. Besides total bacterial and fungal communities, the structure of specific subgroups can also be assessed (Garbeva *et al.*, 2006).

In a soil having received pig slurry or compost and showing an increased suppressiveness to *R. solanacearum* biovar 2 on potato, PCR-DGGE revealed differences in the bacterial community structure (Schönfeld *et al.*, 2003; Gorissen *et al.*, 2004). These amendments resulted in the appearance of several novel bands and different relative intensities of bands common to the treated and non-treated soils. In the case of compost amendment, several discriminant DGGE bands and PCR products were cloned and/or sequenced in order to identify the corresponding microorganisms; but their involvement in disease suppressiveness remains to be tested. Nevertheless, even if the micro-organisms are not directly responsible, these DNA markers might serve as indicators of these treatments and thus as indicator of the *R. solanacearum*-suppressive status of soil. Comparing bacterial DGGE patterns of soils receiving different treatments, Kowalchuk *et al.* (2003) found that, except for a sterilized and then amended soil, all DGGE patterns from the treated and control soils were highly similar. The same samples were also examined by fungal PCR-DGGE. The profiles obtained were much simpler than those obtained for bacteria. Once again the sterilized and amended soil was very different from the others. Yang *et al.* (2001) compared DGGE fingerprinting of rhizospheric bacterial communities associated with healthy or *Phytophthora cinnamomi* infected avocado roots. A PCA clearly revealed that bacterial communities from healthy roots, both of control trees or trees treated with biocontrol bacteria, were highly similar, but different from the communities on infected roots. A Monte-Carlo permutation test showed that root infection had a statistically significant effect on bacterial community structure. However, with the same pathosystem in a field with different levels of *P. cinnamomi* infestation, Yin *et al.* (2004) found no significant differences in the RISA profiles of soil bacterial communities.

The bacterial community structure in rhizospheric soil of peach grown in healthy or replant disease sick soils (Benizri *et al.*, 2005), or sugarcane from suppressive or conducive soil to ectoparasitic nematodes (Rimé *et al.*, 2003), were compared by RISA analysis. In the case of peach rhizosphere communities, PCA on the profile data clearly separated the three samples from healthy soils from the ones from sick soils. This separation was statistically significant. In the second study, the separation between nematodes conducive and suppressive soil samples was less clear, because of the variability between plots, given the highest number of samples (6 plots and 2 replications in each of the two fields). However, PCA partially distinguished the plots from the suppressive field from those from the conducive.

Pérez-Piqueres *et al.* (2006) used the T-RFLP method to characterise microbial communities. Correspondence analyses clearly separated both fungal and bacterial community structures of the most suppressive amended soil from the other treatments.

All these results demonstrate that the microbial communities' structure and diversity are often sensitive to the phytopathological status of soils, but until now, no microbial component was

identified as potential indicator of disease suppression from such studies. Indeed, after the whole community fingerprinting, it is necessary to select the discriminating markers and to identify the microorganisms "hidden" behind. Such a study has already been conducted to identify microorganisms associated with *Heterodera schachtii* cysts present in suppressive soils (Yin *et al.*, 2003a and 2003b).

I.3.4 / Microbial activity

A soil of good quality should be suitable for all the processes which are presumed to occur in it: geochemical cycles, plant growth, buffering for pollutants, etc. Microorganisms are the major actors for the completion of these functions, and several microbial functions can be assessed when trying to characterize soil properties.

By measuring global or specific microbial biomass/densities, one also has an indication of a potential activity. However, it is the real, expressed, activity which is important to measure.

Soil microbial activity is the quantified reflection of the soil functioning. Soil functions include C and N geochemical cycles, organic matter degradation, etc. Activities resulting from the whole microbial community can be measured globally through different methods. Fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis (Schnürer and Rosswall, 1982; Adam and Duncan, 2001) is a good estimate of total microbial activity because multiple enzymes present in both bacteria and fungi are responsible for this hydrolysis. Soil respiration can also be used as a method to assess the microbial activity (Hersman and Temple, 1979). Enzymes are an integral part of nutrient cycling in the soil and are usually associated with viable proliferating cells, so specific enzyme activities, such as dehydrogenase, phosphatase, β-glucosidase and many others can also be measured as an estimate of soil microbial activity (Trasar-Cepada *et al.*, 1998; Bandick and Dick, 1999). These global activities might be related with the general suppressiveness potential of soils, as an active microbial community is thought to be more efficient to control soil pathogens.

Increased FDA hydrolysis was associated with lower disease incidence of *F. oxysporum* f.sp. *cubense* on banana in suppressive soils (Peng *et al.*, 1999) and of *P. lycopersici* on tomato in organic farms (Workneh *et al.*, 1993). However, Workneh *et al.* (1993) found no relation between FDA hydrolysis and the presence of *Phytophthora parasitica* in soil of tomato farms neither did Grünwald *et al.* (2000a and 2000b) with *P. aphanidermatum* damping-off of tomato. Pankhurst *et al.* (2005), as for microbial biomass, found no consistent association between FDA hydrolysis in amended soils and their suppressiveness towards sugarcane yield decline.

In all the studies where soil respiration was assessed, higher respiration rates were associated with lower disease incidence or severity (van Os and van Ginkel, 2001; Pankhurst *et al.*, 2002; Kotsou *et al.*, 2004; Leon *et al.*, 2006; Pérez-Piqueres *et al.*, 2006).

Concerning specific enzyme activities, Rasmussen *et al.* (2002) found significant positive correlations between soil suppressiveness to seedling blight of barley (*F. culmorum*) and the activities of β-glucosidase and cellobiohydrolase, two cellulolytic enzymes. Higher phosphatase and β-glucosidase activities were also associated with soil-compost mixes more suppressive than control soil to *F. oxysporum* on melon plants (Ros *et al.*, 2005) and with soils suppressive to Fusarium crown and root rot of asparagus (Hamel *et al.*, 2005 b). Leon *et al.* (2006) found that arylsulfatase activity, a possible biomarker for fungal biomass, was well correlated with suppression of common root rot of snap bean.

Metabolic profiles obtained with a Biolog system give a qualitative picture of microbial community, but can also provide a quantitative measurement of its activity. In this way, Pérez-Piqueres *et al.* (2006) compared the Biolog profiles of different soil and compost mixes. The analysis of the quantitative data (average well color development) showed no differences between the suppressive and conducive mixes.

The ratio of oligotrophs to copiotrophs, or r to K-strategists, has also been proposed as an interesting indicator of potential disease suppression (van Bruggen and Semenov, 1999, Kotsou *et al.*, 2004). Borrero *et al.* (2004) used these ratios to predict the suppressiveness of plant growth media towards Fusarium wilt of tomato.

Soil microbial activities might also be more specific, with only a part of the microbial community able to perform specific functions. For example, concerning the N cycle, nitrification and denitrification (potential) activities might be measured (Kandeler *et al.*, 1999, Staley *et al.*, 1990). Another specific activity is the production of antibiotics or other toxic compounds. In this case, this specific activity might be related to the phenomenon of specific disease suppressiveness, due to antagonistic microorganisms (Fravel, 1988). These specific activities can be quantified by classical methods, but as more and more "responsible" genes are being identified and sequenced, they can also now be detected by molecular DNA-based methods. In this last case, we think it is better to talk about function than activity, because only a potential ability is measured, not a real activity. An example of this type of measurement is the detection by PCR of the 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) and phenazine-1-carboxilic acid (PCA) biosynthesis genes (phlD and phz) in pseudomonads in soils (Raaijmakers *et al.*, 1997.
Nitrogen mineralization or nitrification, assessed by different methods is associated with a reduction in disease severity of *R. solani* on apple trees in soils amended with rapeseed meal (Cohen *et al.*, 2005). Workneh *et al.* (1993) also found that the N mineralization potential of soil was positively correlated with disease suppressiveness to *P. lycopersici* in organic farms, but it had no association with the recovery of *P. parasitica* in soil.
Production of hydrogen cyanide could be an interesting parameter to measure for predicting the status of soils concerning the replant problem of peaches, since it is thought to be, at least partially, responsible for this problem. In the sick soils, 61.1% of the rhizospheric bacteria isolated produced cyanide, whereas this proportion was only of 16.4% in the healthy soil (Benizri *et al.*, 2005). However, in the rhizosphere and roots of tobacco growing in soils naturally suppressive or conducive to tobacco black root rot (*T. basicola*), no relationship was found between the number of HCN or 2,4-DAPG-producing fluorescent pseudomonads and the disease-suppressive status of the soil (Ramette *et al.*, 2003). Nevertheless, expressed as a percentage of the total fluorescent pseudomonads population, the proportion of 2,4 DAPG producing pseudomonads was higher in the rhizosphere and roots of tobacco grown in the suppressive soil. A deeper study, looking at the phlD gene polymorphism, also found no clear relationship between phlD alleles and disease suppressiveness. From the fluorescent pseudomonads isolated from non-cultivated (suppressive to *R. solani*) and third-year (conducive) orchard soils, 35% and 6.7%, respectively, possessed the Phl biosynthetic loci (Mazzola, 1999). The role of 2,4-DAPG produced by pseudomonads in take-all decline was also demonstrated several times (Weller *et al.*, 2002), but it is not the only mechanism, as demonstrated in organic soils by Hiddink *et al.* (2005).

Authors studying soil disease suppressiveness have also assessed other soil characteristics. However, emerging from all these studies is that no consistent and validated association between disease suppression and one or several soil parameters have been evidenced.

I.4 / Strategy for identification of soil health indicators

Healthy soils are suppressive soils, thus disease suppressiveness can be considered as an indicator of soil health. However suppressiveness is a complex process, depending on several

factors. And its measure, through pathogen-specific bioassays, if possible, is time and labour intensive. That is why it would be very interesting, and useful, to find other soil characteristics highly related to soil suppressiveness, but easier to measure.
This need for indicators of soil health is an actual concern, from the field scale to the global level. Therefore, it is necessary to define an accurate strategy, from sampling to validation, which would permit to propose indicators.

I.4.1 / Data analyses

Only a few authors have studied the relationships between disease incidence or soil suppressiveness and others soil parameters. Even though, it is commonly accepted that all the soil characteristics interact. More precisely, the biological components and functions of soils depend on, and emerge from, the physicochemical component (Girvan *et al.*, 2003). Among the articles reviewed here, several have analyzed and discussed the results obtained for each variable separately. Generally, several treatments were compared, and the results were analyzed with analysis of variance (ANOVA). Conclusions have been presented on the eventual relationship between disease incidence and the other measured variables, but merely through comparisons with existing literature and without any statistical confirmation. This is in part due to the fact that the authors are often interested in finding a mechanistic explanation of the relation between these parameters and soil suppressiveness. However, that is not of primary importance when searching for indicators. Oyarzun *et al.* (1998) used single correlations, which enable them to attribute a statistical significance to the relation found between disease severity and each soil parameter. That is interesting, but given that interactions between biological, physical and chemical characteristics are of primary importance, it has to be considered as insufficient.
Multiple regression and discriminant analyses have been used to establish relationships between disease and the other variables. Multiple regression analysis was applied when disease incidence or severity was considered as a variable which value would be a combination of the values of other variables (Oyarzun *et al.*, 1998; Lacey and Wilson, 2001; Rotenberg *et al.*, 2005). Discriminant analysis was used to determine which variables discriminated best between two or more naturally occurring groups, e.g. classes of disease severity or incidence (Workneh *et al.*, 1993; Grünwald *et al.*, 2000a and 2000b). This approach enables one to choose which variables, among all the variables measured, are the best predictors of disease incidence. This statistical approach, taking into account all the parameters, is appropriate for the search of indicators.
Community structure analyses, and for example molecular DNA fingerprints, generate large datasets. These data need multivariate analysis methods to be fully exploited. PCA and correspondence analysis are among the techniques used. They enable the reduction of the number of explanatory variables, and the detection of an eventual structure among the samples, given the variables measured, or a structure in the relationships between variables. Using these methods, rhizosphere bacterial communities from healthy/sick or conducive/suppressive soils were separated (Yang *et al.*, 2001; Rimé *et al.*, 2003; Benizri *et al.*, 2005; Pérez-Piqueres *et al.*, 2006). However multivariate analysis alone does not give a statistical measure of the differences between samples. Monte-Carlo permutation tests or analysis of variance (or other statistical analysis) with the factor loadings of samples (values of the projection of the sample on the principal components) can give a statistical meaning to the findings. Multivariate analysis is interesting in that it also provides the ordination of the variables. In this way, correlation between variables and the importance of each individual variable in the discrimination between samples were highlighted (van Os and van Ginkel, 2001; Rimé *et al.*, 2003; Hamel *et al.*, 2005a and 2005b; Rotenberg *et al.*, 2005). This is an important feature, when trying to identify potential indicators or markers. On the contrary,

when data are simply analysed by tree and cluster analysis, it is much more difficult to attribute the differences between samples to identifiable variables.
The analytical tool to be used in an experiment should be defined before the experiment is conducted. Otherwise, the results will probably be spurious and/or misleading.

I.4.2 / Strategy for identification of indicators

According to Gras *et al.* (1989), "an indicator is a variable which supplies information on other variables which are difficult to access … and can be used as benchmark to take a decision". Mitchell *et al.* (1995) stated that "alternative measures … enable us to gain an understanding of a complex system … so that effective management decisions can be taken that lead towards initial objectives".
Thus, an indicator has both an informative function (about the system) and a decision making function (to achieve the initial objectives). Indicators may results from a set of measurements, from calculated indices, or they may be based on expert systems (Girardin *et al.*, 1999). In our case, for soil health indicators from the plant disease point of view, authors have only worked with sets of measurements.
Given the complexity of soil function, it is improbable, and even impossible, that one unique indicator can assess for soil health. Larson and Pierce (1991) proposed the idea of a minimum data set (MDS), that is a limited number of indicators, required to describe the soil quality, and which could be common to all soil quality assessments. Doran *et al.* (1996) proposed such a MDS. According to the same authors, indicators should:
-encompass ecosystem processes and relate to process-oriented modelling
-integrate soil physical, chemical, and biological properties and processes
-be accessible to many users and applicable to field conditions
-be sensitive to variations in management and climate at an appropriate time-scale
-when possible, be components of existing soil databases.
Andrews and Carroll (2001) present in their paper the "guideline" they used to obtain such a MDS. First of all, one has to decide which goals are of primary interest in the studied ecosystem. It could be, for example, to maximize the crop yield and to minimize pest problems. End-point measures representative of these goals are identified (e.g. crop yield in t/ha, disease incidence of a fungal pathogen, number of insect pests, etc) and serve as dependent variables to validate the MDS. The study should be conducted in different sites, to compare the results and assess if generalization is possible. The contrasting situations (e.g. different amendments, different cultural practices) which are to be evaluated by the quality indicators have to be tested on the same site. The analysis should be done for each site separately. In order to select the most pertinent variables, as many variables as possible are measured at first. These numerous data are then reduced to a MDS through a series of uni- and multivariate analyses.
A possible procedure is as follows. Univariate statistics allow the determination of parameters with significant treatment differences. These parameters are chosen for the next step. A PCA is performed on the significant variables. The parameters retained at this step are the ones which are highly weighted on the principal components chosen (e.g. only the ones explaining at least 5% of the variation in the data). The set of variables is indeed reduced. Then, multivariate correlation coefficients should be calculated to determine the strength of the relationships among variables. Well-correlated variables are considered redundant, and should be eliminated. Only one variable is kept from groups of highly correlated variables. The final step, to check whether it is still possible to further reduce the number of variables in the MDS, is to perform a forward stepwise regression of the chosen variables against the goal variable. If any of these variables remained non-selective after stepwise regression, it is eliminated

from the MDS. The obtained MDS is validated by running multiple regressions using the MDS components as the independent variables and each goal attribute as a dependant variable. The MDS indicators could then be combined in a soil quality index, to be used by practitioners.

This strategy, more or less finalized, has been successfully used by several authors working on soil quality and even farm sustainability (Bockstaller *et al.*, 1997; Hussain *et al.*, 1999; Rigby *et al.*, 2001; Andrews *et al.*, 2002; Suzuki *et al.*, 2005; Yemefack *et al.*, 2006). However, the goals were yield, water or nutrient availability, erosion resistance, but not plant health. To our knowledge, such a comprehensive proposition of testing and validating a minimum data set, and even more a soil health index, directed towards the crop health end-point has never been achieved.

Kang *et al.* (2005) used 18 parameters, mostly from the MDS proposed by Larson and Pierce (1991). These 18 parameters were allocated between three indexes representing the nutrient status, the microbial activity and the productivity of soil. A sustainability index was measured from these three values, through a "geometrical" approach. The calculation of the value of this index in different treatments allows a comparison between them. This approach is interesting, but the choice of the variables was not statistically based, and the diseases were not taken into account, unless indirectly through the crop yield measurement.

Apart from the measurement of a set of indicators compiled in an integrative index, another possible approach is the use of models. Epidemiological models of several diseases have been proposed, using the disease progress curves as the response variable (Gilligan, 1990; Jeger, 2004). The effect of many parameters has been studied: source and density of inoculum, climatic factors, crop characteristics, eventual chemical control, etc. Examples of models are available, but they are restricted to foliar diseases and they only take into account as predictive variables weather- or plant-related variables (Madden *et al.*, 2000; Schoeny *et al.*, 2001). When soilborne diseases are concerned, soil parameters are not taken into account (Bailey and Gilligan, 1999).

Artificial neural networks are another tool to develop models (Paul and Munkvold, 2005). Their advantage is that even if the system being modelled is poorly understood, they are capable of extracting subtle patterns and depicting complex relationships among variables, due to a "learning" process. In plant pathology, artificial neural networks have been shown to perform at least as well as the traditional approaches at classifying incidence and detecting infection periods of tan spot on wheat (de Wolf and Francl, 1997 and 2000).

The development of an epidemiological model for soilborne diseases requires taking into account a large range of variables. The dispersion and extension of the disease is often reduced to the field scale. Besides environmental and plant parameters, soil characteristics must be considered, which represent a great amount of potential explanatory factors. This work has been done (Otten *et al.*, 2001), but rarely with the aim of studying the impact of soil management on soil quality (Otten *et al.*, 2004; Stacey *et al.*, 2004). Indeed, little work has been done concerning the incorporation of soil parameters in a predictive model for soilborne diseases.

I.4.3 / Sampling strategy

Of major importance in proposing soil health indicators is the validation of the relevance of the chosen descriptors in several agronomic situations. Given the complexity of the interactions between environmental, abiotic and biotic factors, it is not evident that one set of parameters used in a given situation would still be explicative in another context. For one to be allowed to generalise the use of certain descriptors, it is of primary importance to take into account different environmental contexts. However, even at the field scale, caution must be applied to the sampling strategy; because, first of all, of spatial variability. It is well known

Table 2
Diversity of agronomic situations and pathosystems used to investigate relationships between soil parameters and disease suppression

Source of disease variability	Pathosystem	Number of samples	Experimental situation	References
Without a priori survey				
	Streptomyces spp./potato	35	Commercial field soils and microcosm	Lacey and Wilson (2001)
	Armillaria root disease/lodgepole pine	36	Stand	Mallett and Maynard (1998)
	Helminthosporium solani/potato	45	Commercial field	Martinez et al. (2002)
	Aphanomyces euteiches/pea	27	Commercial field	Oyarzun et al. (1998)
	Fusarium solani/pea	31	Commercial field	Oyarzun et al. (1998)
	Thielaviopsis basicola/pea	33	Commercial field	Oyarzun et al. (1998)
Natural suppressiveness				
Suppressive/conducive zone in each field	*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*/banana	7+7	Field	Dominguez et al. (2001)
Suppressive/conducive zone in each field	*Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi*/asparagus	50+50	Commercial field	Hamel et al. (2005a, b)
Suppressive/conducive soil	Ectoparasitic nematodes/sugarcane	2 (× 6 soil samples)	Field	Rimé et al. (2003)
Suppressive/conducive soil	*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*/banana	2	Field soils and microcosm	Peng et al. (1999)
± suppressive soils	*Thielaviopsis basicola*/tobacco	4	Field soils and microcosm	Ramette et al. (2003)
3 zones in a epidemic area	*Phytophthora cinnamomi*/avocado tree	41	Field	Yin et al. (2004)
Biocontrol/healthy/diseased trees	*Phytophthora cinnamomi*/avocado tree	12 trees × 3 root samples	Field	Yang et al. (2001)
Healthy/sick soils	Replant disease/peach tree	3	Microcosm	Benizri et al. (2005)
Type of farm management				
Organic/conventional	Replant disease/apple tree	6	Field soils and microcosm	Manici et al. (2003)
Organic/conventional	*Fusarium culmorum*/barley	10	Field	Rasmussen et al. (2002)
Organic/transitional/conventional	*Phytophthora parasitica* (and density)/tomato	27	Commercial field	Workneh et al. (1993)
Organic/transitional/conventional	*Pyrenochaeta lycopersici*/tomato	27	Commercial field	Workneh et al. (1993)
Organic/transitional/conventional and biocontrol agent	*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*/barley, triticale, wheat	4+3+4	Experimental field soils and microcosm	Hiddink et al. (2005)
Organic/conventional and incorporated cover crops	*Pythium aphanidermatum*/tomato	2+2×3	Experimental field and microcosm	Grünwald et al. (2000a, b)
Organic amendment				
Soil and organic amendment	*Rhizoctonia solani*/pine	8	Microcosm	Pérez-Piqueres et al. (2006)
Organic amendment	*Ralstonia solanacearum*/tomato	3	Microcosm	Cai et al. (2003)
Compost amendment	*Fusarium oxysporum*/melon	5	Microcosm	Ros et al. (2005)

Author's personal copy

that microbial parameters can vary at a very fine scale (Nunan *et al.*, 2002). That is why it might be important to pool different samples from the same treatment to minimize this heterogeneity, even in mesocosmes. Another approach is to keep each sample separate, and to integrate the spatial variability in the data analysis. Besides spatial variability, microbial characteristics are also very sensitive to climatic conditions, and exhibit temporal/seasonal variability (Schutter *et al.*, 2001), that may be several-fold higher than spatial variability (Parkin, 1993). This temporal variability can confound comparisons among treatments, thus it is interesting, if possible, to sample soils at several dates and assess the consistency of the descriptors chosen.

As already mentioned, the studies on soil suppressiveness and its relation with other soil characteristics can be conducted with two distinct approaches. One can work with artificially created contrasting situations, most often in experimental microplots or in micro/mesocosmes (Table 2). In this first case, it is difficult to form conclusions of a general nature. Another approach is to assess the relationships between disease suppressiveness and soil characteristics in natural situations. The soils of these fields have different levels of disease receptivity, either because of intrinsic disease suppression, or because of cultural practices in place (Table 2). This second approach seems more appropriate to the search of reliable indicators, as long as a sufficient number of situations are taken into account.

Concerning surveys in natural soils, (i) Dominguez *et al.* (2001) compared conducive and suppressive areas in 7 banana plots in two islands from the Canary Islands, (ii) Martinez *et al.* (2002) sampled 45 soils throughout the entire province of Quebec, (iii) Lacey and Wilson (2001) analysed 35 potato fields across the Tasmanian potato cropping region, (iv) Oyarzun *et al.* (1998) surveyed a total of 51 soils from commercial fields and 6 experimental plots, (v) Hamel *et al.* (2005a and 2005b) sampled 50 commercial asparagus fields in four regions of southern Quebec and (vi) Mallett and Maynard (1998) measured the incidence of Armillaria root disease in 36 stands of young lodgepole pine. The most extensive survey has been done with 1462 fields assessed for the relations between soybean diseases, soil texture and tillage (Workneh *et al.*, 1999). In all these cases, the soils were not placed under specific cultural practices. It is noteworthy that, except for Martinez *et al.* (2002), who evaluated microbial populations by plate counts, these large studies only characterized the pedological and physicochemical statuses of soils. This is certainly insufficient of the search of integrative indicators. The other field surveys often dealt with comparison of organic and conventional farming systems or comparison of different amendments and tillage practices (Table 2).

I.4.4 / Validation of indicators

These searches of MDS indicators would normally result in the proposal of soil health indexes, generally valid for one disease or one type of disease/crop association. However, what is theoretically sought-after is a global index, valid for as many situations as possible. The risk, if one absolutely wants to generalize, is to come back to "ancient" notions that are that a soil is healthy when microbial community is diverse and active. In our opinion, soil health, contrary to more "neutral" notions such as soil physical quality, should be studied at the regional level, in close association with local agricultural extension personnel. Indeed, the validation of the proposed indicators and indexes is a key-point of major importance, which should not be omitted. The "output validation" (Bockstaller and Girardin, 2003) focuses on the informative function of indicators: does this indicator give reliable, realistic information?

Concerning indicators as decision making tools for soil management, Bockstaller and Girardin (2003) recommend an "end-use" validation. This has been done by Andrews *et al.* (2003), who constructed soil quality indices and examined farmers' reactions to, and uses of, these indices. They also compared on-farm indices outcomes with the farmers own perceptions. In our opinion, this might be the only way to propose sound indicators, useful for

Organic amendment, rate and repetition	*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*/cucumber	14	Experimental field	Rotenberg et al. (2005)
Organic amendment and rate	*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*/snap bean	14	Experimental field	Rotenberg et al. (2005)
organic amendment and rate	*Aphanomyces euteiches*/snap bean	5	Experimental field and microcosm	Leon et al. (2006)
Organic amendment ± N	Yield decline/sugarcane	13	Experimental field soils and microcosm	Pankhurst et al. (2005)
Compost amendment and solarization	*Ralstonia solanacearum* biovar 2/potato	4	Field microplots and microcosm	Schönfeld et al. (2003)
Cover crop incorporation	Pythium damping-off/tomato	3	experimental field and microcosm	van Bruggen and Semenov (1999)
Pig slurry amendment and solarization	*Ralstonia solanacearum* biovar 2/potato	4	Field microplots and microcosm	Gorissen et al. 2004
Soil and meat and bone meal amendment	*Verticillium dahliae* (microsclerotia)	12 × 2	Field soils and microcosm	Tenuta and Lazarovits, 2004
Green manure and rotation	*Streptomyces scabies*/potato	4 × 3	Microcosm	Wiggins and Kinkel (2005)
Liquid organic amendment	*R. solani*/lettuce	3	Microcosm	Kotsou et al. 2004
organic amendment and growth media	*Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici*/tomato	6	Microcosm	Borrero et al. 2004
Sterilization ± amendement, fumigation, flooding	Pythium root rot/iris	5	Microcosm	Kowalchuk et al. (2003), van Os and van Ginkel (2001)
Tillage and rotation				
Soil and wheat cultivars cultivation	Replant disease/apple tree	52	Field soils and microcosm	Mazzola and Gu, 2000, Gu and Mazzola (2003)
Soil and wheat cultivars cultivation	*R.solani*/apple tree	21	Field soils and microcosm	Mazzola and Gu (2002)
Cropping duration	*R.solani*/apple tree	6	Field	Mazzola (1999)
Grassland/arable land and rotation	*R.solani*/potato	6	Experimental field soils and microcosm	Garbeva et al. (2006)
Tillage	*Heterodera glycines* (density)/soybean	1462	Field	Workneh et al. (1999)
Tillage	*Phytophtora sojae* (density)/soybean	1462	Field	Workneh et al. (1999)
Tillage	*Phialophora gregata*/soybean	1462	Field	Workneh et al. (1999)
Tillage and stubble management	*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Rhizoctonia solani*/wheat	5	Experimental field soils and microcosm	Pankhurst et al. (2002)
Others				
Clay amendments and liming	*Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*/flax	9	Microcosm	Höper et al. (1995)
Soil and biocontrol agent	*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*/wheat	16	Field soils and microcosm	Duffy et al. (1997)
Soil and biocontrol agent	*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*/wheat	10	Field soils and microcosm	Ownley et al. (2003)

Author's personal copy

both risk prediction and technical advice. First, these indicators would be measured before any planting of crops. Then, according to the results, one would decide which kind of crop could be grown. The understanding of the mechanisms behind cultural practices, and their relation with the indicators, would allow the proposal of practices useful to maintain the soil health.

I.5 / Conclusion

Plant diseases caused by soilborne pathogens result from multiple and complex interactions they have with plants and both biotic and abiotic soil compartments. The determining functions leading to disease are not yet fully understood, neither are all the mechanisms involved in soil suppressiveness. In the actual concern for sustainable environmental protection, the possibility of controlling soilborne diseases by adapting agricultural practices is assessed. Such practices are likely to modify a wide range of soil characteristics. In fact, researchers are more interested in investigating the effect of such practices on microbial communities, or in assessing their potential to control soilborne pathogens than in finding soil health indicators. However, a combined approached is needed. Many results have been published, but integrated analysis and modelling are lacking. Nevertheless, soil health indicators would be very useful for risk prevision and technical advice. Given the number of biotic and abiotic parameters potentially related to soil suppressiveness, and thus potential indicators, it seems obvious that a holistic approach, involving several areas of soil science (physics, chemistry, microbiology, pathology, parasitology, etc) has to be followed. This approach should first be limited to the local scale. This work needs a rigorous experimental approach supported by numerous field trials and taking into account many different soil types and crop systems. The analysis of such a huge mass of data should not be neglected to lead to indicator proposal. A key-point is also the perception and the use of such indicators by growers. General guidelines for obtaining indicators and for their use to monitor the improvement of soil health should arise from the application of this approach in many places. This ambitious task is not unrealistic if we consider indicators and decision making tools that have already been developed in related fields such as assessment of farm sustainability or soil conservation.

II / Deux pratiques culturales utilisées en protection des cultures : amendements organiques et biodésinfection

Dans cette étude, deux pratiques culturales, ayant *a priori* un effet bénéfique pour protéger les cultures contre les maladies, ont été mises en place sur une parcelle cultivée en carotte : un apport de fumier composté et une biodésinfection. La biodésinfection, telle que mise en œuvre dans notre étude, étant la combinaison d'un apport d'engrais vert et d'un bâchage, elle sera présentée dans cette partie après les amendements organiques et la solarisation.

II.1 / Les amendements organiques

II.1.1 / Qu'est-ce qu'un amendement organique?

Le terme amendement organique recouvre une très large gamme d'intrants, ayant des propriétés très variables. Les amendements organiques sont, le plus souvent, des produits principalement composés de résidus de végétaux, fermentés ou fermentescibles. Mais il existe

aussi des amendements organiques avec une moindre proportion de végétaux, notamment ceux à base de déjections animales.
Un premier type d'amendement est composé de déchets organiques. Les fumiers, compostés ou non, les lisiers ou les composts de déchets ménagers appartiennent à cette catégorie. Ils sont utilisés depuis très longtemps en agriculture, surtout pour l'entretien du pool de matière organique dans le sol, mais possèdent aussi un effet bénéfique sur la stabilité structurale du sol. A noter que l'amendement organique se distingue de l'engrais organique, qui contient plus d'éléments fertilisants. En Europe de l'Ouest, environ 25% des 200 millions de tonnes d'ordures ménagères générées chaque année sont d'origine organique, et peuvent donc être compostées (European Compost Network, 2006). Actuellement, 35% de ces déchets organiques (17 millions de tonnes) sont compostés. Les 9 millions de tonnes de composts ainsi produits sont utilisés principalement en agriculture, en horticulture et dans les jardins amateurs (European Compost Network, 2006).
Le compostage est une opération qui consiste à faire fermenter, dans des conditions contrôlées, des déchets organiques en présence de l'oxygène de l'air. Il existe différentes techniques de compostage, dans des andains régulièrement retournés, dans des andains statiques aérés ou dans des containers (Raviv, 2005). Le processus de compostage se déroule habituellement en trois phases. Dans la première phase, les sucres et les autres substances facilement dégradables sont utilisés. La température dans l'andain de compost s'élève à 40-60°C. Durant la seconde phase, les composés plus difficilement dégradables, comme les composés cellulosiques, sont dégradés, et des températures de l'ordre de 60-75°C peuvent être atteintes. Au cours de cette phase, les substances humiques s'accumulent et l'éventuelle éradication des agents pathogènes a lieu. De nombreux auteurs (Bollen et Volker, 1996 ; Ryckeboer, 2002 ; Noble et Roberts, 2004) se sont intéressés à l'effet du compostage sur la survie des agents pathogènes. Selon l'agent pathogène considéré, le pic de température à atteindre ainsi que la durée d'exposition permettant l'éradication sont variables. Cependant, même des champignons thermotolérants tels que *Plasmodiophora brassicae*, *F. oxysporum* et *Macrophomina phaseolina* (Noble et Roberts, 2004) peuvent être éliminés au cours du compostage (Fayolle *et al.*, 2006). La troisième phase, ou phase de maturation, commence quand les teneurs en matériaux facilement dégradables deviennent limitantes pour la microflore. L'activité microbienne et la température diminuent. Quand la température repasse sous le seuil de 40°C, les organismes mésophiles, notamment les champignons, recolonisent le compost. C'est durant cette phase que le compost peut s'enrichir en microorganismes potentiellement antagonistes (Hoitink *et al.*, 1999 ; Carisse *et al.*, 2003). La colonisation du compost par des agents de lutte biologique dépend en partie de la durée de la phase de maturation (Kuter *et al.*, 1983). Si le processus de compostage est effectué de façon appropriée, le compost est en général exempt d'agents pathogènes pour les plantes ou les humains, et de graines d'adventices (Ryckeboer *et al.*, 2001 et 2002).
Les fumiers et lisiers sont en général riches en azote. Lors du stockage ou quand les microorganismes dégradent ces amendements, des composés allélochimiques, de l'ammoniaque (NH_3) ou de l'acide nitreux (HNO_2), potentiellement toxiques, peuvent être produits (Bailey et Lazarovits, 2003).
Un autre type d'amendement organique est l'utilisation des résidus de cultures. Ces résidus, incorporés dans le sol, forment un engrais vert, riche en matière organique fraîche, non préalablement décomposée ou fermentée. Cette matière organique peut être beaucoup plus labile et facilement dégradable que celle des produits compostés, selon la teneur en cellulose et en lignine du matériel de départ. De nombreux composés actifs peuvent être produits lors de la dégradation biologique des ces résidus de culture.

II.1.2 / Amendements organiques et protection des cultures

De nombreuses études ont été menées, concluant le plus souvent à l'effet bénéfique des amendements organiques sur la santé des plantes. Plusieurs mécanismes expliquent ces effets bénéfiques (de Clercq *et al.*, 2004). Tout d'abord, la matière organique apportée sert de base trophique à la communauté microbienne déjà installée dans le sol. Ceci entraîne le plus souvent une augmentation des densités et de l'activité microbiennes. Ainsi, l'environnement sol devient un milieu dans lequel la compétition entre microorganismes est forte (Paulitz, 1989), concourant au phénomène de résistance générale des sols (Aryantha *et al.*, 2000 ; Scheuerell *et al.*, 2005 ; Termorshuizen *et al.*, 2006). En plus de cet effet de l'amendement par activation de la résistance générale, des mécanismes de résistance spécifique peuvent aussi se mettre en place suite à un apport de matière organique. L'amendement, notamment lorsqu'il s'agit d'un compost, peut contenir des microorganismes antagonistes. Ceux-ci peuvent agir par antibiose (Fravel, 1988) ou parasitisme (Hoitink et Boehm, 1999). Les composts peuvent aussi permettre l'activation des mécanismes de défense de la plante (Vallad *et al.*, 2003). La production de composés toxiques dans le sol peut aussi être à l'origine de la réduction des populations d'agents pathogènes (Coventry *et al.*, 2006). Lors de la dégradation des amendements riches en azote, en fonction des caractéristiques physico-chimiques du sol, il y a production d'ammoniaque, toxique pour de nombreux organismes et pour certaines formes de conservation des agents pathogènes (Bailey et Lazarovits, 2003). Ainsi, Tenuta et Lazarovits (2004) ont montré que les microsclérotes de *V. dahliae* peuvent être détruits par l'ammoniaque et l'acide nitreux. Cependant, cette activité est très fortement dépendante du pH du sol. Comme pour la résistance naturelle des sols, l'effet suppressif des composts peut bien sûr provenir d'une combinaison de modes d'action (Pitt *et al.*, 1998).

L'étude de la bibliographie sur les relations entre amendements organiques et maladies montre que les points-clés sont : le pathosystème considéré, la composition de l'amendement, son degré de maturité/décomposition et la quantité utilisée.

II.1.2.1 / Le pathosystème

Les pourritures de racines ou les fontes de semis dues aux genres *Pythium* et *Phytophthora* sont en général bien maîtrisées par les apports de certains composts (Millner *et al.*, 2004 ; Scheuerell *et al.*, 2005). Dans ce cas, il s'agit essentiellement d'un mécanisme de résistance générale, car ces agents pathogènes sont sensibles à la compétition. Cependant, l'effet des composts peut aussi être absent (Aryantha *et al.*, 2000) ou négatif sur ce type d'agent pathogène (Conklin *et al.*, 2002 ; Maloney *et al.*, 2005). Erhart *et al.* (1999) ont testé 18 composts contre *P. ultimum* : 9 étaient plus ou moins suppressifs, les autres induisaient une plus grande sensibilité au pathogène.

Dans les cas où c'est le mycoparasitisme, un mécanisme de résistance spécifique, qui permet de contrôler les agents pathogènes, il peut être intéressant de "fortifier" les composts avec des agents antagonistes (Postma *et al.*, 2003 ; Scheuerell *et al.*, 2005), en particulier *Trichoderma* sp., qui a la particularité d'être thermophile.

La production de composés toxiques est souvent impliquée dans le contrôle des espèces de *Sclerotium* (Coventry *et al.*, 2006). Dans le cas de *F. oxysporum*, une étude portant sur quatre formes spéciales a mis en évidence différents modes d'action impliqués dans la suppression des différentes formes spéciales (Yogev *et al.*, 2006).

Lumsden *et al.* (1983) ont examiné l'effet de déchets municipaux compostés sur une large gamme de maladies. L'incorporation de compost a permis de contrôler *Aphanomyces* sp. mais pas *Fusarium* sp., en ce qui concerne la pourriture des racines de pois, et *Rhizoctonia* sp. mais pas *Thielaviopsis* sp. pour la pourriture des racines de haricot et coton. Récemment, un projet européen a permis de tester 18 composts sur 7 pathosystèmes (Termorshuizen *et al.*, 2006). Sur les 120 essais biologiques réalisés, une réduction significative de la maladie a été mise en

évidence dans 54% des cas. Au contraire, dans seulement 3% des cas l'apport de compost a aggravé la maladie.

II.1.2.2 / La composition et le stade d'évolution de l'amendement

Les capacités suppressives des amendements sont largement déterminées par leur composition et, dans le cas d'amendements compostés, par leur stade d'évolution. Tous les composés qui forment la matière organique ne sont pas utilisables par tous les microorganismes de la même façon. Cela a donc un impact sur le degré d'activation de la microflore du sol.

Concernant l'effet de la composition de l'amendement, des auteurs ont comparé différents amendements sur un même pathosystème (Scheuerell *et al.*, 2005 ; Yogev *et al.*, 2006). Ainsi, Bulluck et Ristaino (2002) ont montré que l'amendement avec des déchets de coton permet de réduire la pourriture du collet due à *S. rolfsii* sur tomate de conserve de façon significativement supérieure au lisier de porcherie ou aux pailles de seigle. Un compost préparé avec des déchets d'oignon s'est montré plus efficace qu'un compost préparé avec des déchets de *Brassica*, de carotte ou de substrat de culture de champignons de couche pour réduire l'incidence de la pourriture blanche sur oignon et/ou la viabilité des sclérotes de *S. cepivorum* (Coventry *et al.,* 2005 et 2006). Utilisés frais ou composté, le fumier de volaille réduit la survie de *P. cinnamomi* et le développement des symptômes, alors qu'il n'y a pas d'effet des fumiers de vache, mouton ou cheval (Aryantha *et al.*, 2000).

De même, pour ce qui concerne le compostage ou le degré d'évolution de l'amendement, de nombreux travaux ont été menés. Aryantha *et al.* (2000) ont montré que l'amendement avec du fumier de volaille est intéressant pour lutter contre *P. cinnamomi* sans qu'il y ait un réel effet du compostage. L'accroissement d'activité biologique est plus fort avec un amendement frais que composté. Pour lutter contre les nématodes, l'apport de fumier brut est plus efficace que l'apport de ce même fumier composté, car pendant la décomposition du fumier, dans le sol, il y a production de composés azotés nématicides (Nahar *et al*., 2006). Dans une autre étude, certains lots de composts qui étaient initialement sensibles à la fonte de semis due à *Pythium* sp. sur *Agrostis palustris* (graminée utilisée pour les golfs) sont devenus résistants en vieillissant (Craft et Nelson, 1996). Pour un même compost, l'efficacité peut aussi varier en fonction du lot utilisé (Aidahmani *et al.*, 2005).

L'amendement organique, s'il représente une source trophique pour la microflore bénéfique, peut aussi entretenir le développement des agents pathogènes dotés de bonnes aptitudes à la compétition saprophyte. Ceci peut se manifester quand l'amendement est réalisé avec des composts immatures ou mal stabilisés. Au contraire, quand l'amendement est complètement colonisé par des microorganismes classiquement saprophytes dans le sol et que l'agent pathogène n'est plus un compétiteur efficace, il peut y avoir un effet contre les maladies. Enfin, si la matière organique est trop humifiée, elle est difficilement utilisable par les microorganismes, et peut donc être inefficace pour lutter contre les agents pathogènes, dans la mesure où c'est le mécanisme de résistance générale qui est recherché.

II.1.2.3 / La quantité d'amendement apportée

L'effet de la quantité d'amendement apportée a été mis en évidence par plusieurs auteurs. Ainsi, Noble et Coventry (2005) rapportent que l'effet suppressif du compost augmente généralement avec la quantité appliquée. La dose de 20% (v/v) est normalement requise pour obtenir un effet suppressif de façon répétée, particulièrement dans les substrats à base de tourbe pour des cultures sous serre. Cependant, des résultats significatifs ont aussi été mis en évidence à des doses plus faibles. La relation entre quantité et réduction de la maladie n'est pas forcément "positive". L'amendement avec 5% (v/v) de compost de fumier de volaille/bœuf permet un meilleur contrôle des maladies des racines de fraises que les doses 10

et 20%. Il est important de noter que les doses agronomiques se situent autour de 5% (v/v), sur une base de 40 tonnes par hectare, enfouis sur 15 cm.

On le voit, l'efficacité d'une application de matière organique pour se protéger contre une maladie dépend non seulement du pathosystème, mais aussi des caractéristiques intrinsèques de l'amendement, et du type de support ou de sol dans lequel l'amendement est incorporé (Abbasi *et al.*, 2002 ; Coventry *et al.*, 2005). Il y a certainement eu de nombreux échecs lors de l'utilisation d'amendement pour lutter contre les maladies telluriques, même si ces résultats sont beaucoup moins publiés.
Le matériel de départ, la maturité du compost et le procédé de compostage utilisé sont des éléments qui doivent être connus avant utilisation d'un compost. La température et le niveau d'oxygène sont utiles pour suivre la progression du compostage et mesurer la maturité et la stabilité du compost. Des propriétés physico-chimiques et le suivi des communautés microbiennes doivent aussi être prises en compte (Raviv, 2005 ; Borrero *et al.*, 2006 ; Boulter-Bitzer *et al.*, 2006 ; Perez-Piqueres *et al.*, 2006).
C'est pourquoi il est important de rappeler que des résultats obtenus avec un amendement, dans un environnement donné, ne sont pas forcément transposables à d'autres conditions de culture. Ainsi, une caractérisation *a priori*, avant utilisation, des amendements semble nécessaire pour limiter les échecs. Un autre point important, avec l'augmentation de l'utilisation des composts, notamment à base de fumiers d'animaux, est de vérifier leur innocuité et l'absence d'agents pathogènes, non seulement pour les plantes, mais aussi pour les humains (Termorshuizen *et al.*, 2005).

II.2 / La solarisation

La solarisation est une méthode physique de "désinfection" des sols qui utilise le chauffage passif, grâce à l'énergie solaire, du sol humide protégé par un film plastique (Katan, 1981 et 1996 ; Katan et De Vay, 1991). Bien que la mise en place d'une solarisation soit simple, le mode d'action de cette technique peut être complexe, combinant des effets physiques, chimiques et biologique (Stapleton et De Vay, 1995 ; Stapleton, 1997 et 2000). L'inactivation directe des agents pathogènes, par élévation de la température, semble être le principal mode d'action. Pour cela, le sol doit atteindre des températures létales, sur une profondeur suffisante. En général, l'efficacité est meilleure en surface, là où les températures atteintes sont les plus élevées (Tiwari *et al.*, 1997; Pinkerton *et al.*, 2000 ; Sharma et Sharma, 2005). Pour la majorité des organismes, les dommages commencent à partir de 40°C, mais les organismes thermophiles et thermotolérants peuvent survivre aux températures supérieures à 60°C, voire plus, atteintes pendant la solarisation (Stapleton et De Vay, 1995). L'efficacité d'éradication n'est pas déterminée essentiellement par les températures atteintes, mais aussi par la durée d'exposition des agents pathogènes à ces températures élevées. Des résultats positifs ont été obtenus sur *Rosellinia necatrix*, *S. rolfsii* et *Phytophthora cactorum* dans une pépinière de pommier (Sharma et Sharma, 2005), sur *Fusarium* spp., *S. sclerotiorum*, *Phoma* spp. et *Sclerotium* sp. dans des cultures légumières (Raj et Bhardwaj, 2000), pour réduire la sévérité du flétrissement dû à *V. dahliae* sur aubergine (Tamietti et Valentino, 2001) ou pour réduire la pourriture du collet de tomates due à *S. rolfsii* (Tiwari *et al.*, 1997). Tamietti et Valentino (2006) ont montré que la réduction de l'incidence de la fusariose du melon est proportionnelle à la durée pendant laquelle la température du sol à 25 cm de profondeur reste supérieure ou égale à 40°C.
Le type de film utilisé a aussi un effet sur l'efficacité de la solarisation. En général, ce sont des films transparents qui sont utilisés (Raj et Bhardwaj, 2000 ; Sharma et Sharma, 2005). Ce type

de film permet le passage des radiations solaires dans le sol, où elles sont converties en énergie infrarouge à plus grande longueur d'ondes. Cette énergie est prisonnière sous le film, créant un effet de serre. Au contraire, un film noir opaque ne permet pas le passage de la majorité des radiations solaires, et agit comme un "corps noir" absorbant l'énergie (Lefevre et Souza, 1993). Tiwari *et al.* (1997) ont comparé des films de différentes couleurs. Les températures les plus élevées ont été atteintes sous les films rouges et transparents, et seuls ces deux films permettent d'avoir des températures supérieures à 50°C à 10 cm de profondeur. Des films biodégradables sont également à l'étude.
D'autres facteurs importants pour l'efficacité de la solarisation sont l'humidité du sol à l'interface sol/film plastique, les caractéristiques du sol, son aération ou encore la qualité du contact film/sol (Sahu et Narain, 1995 ; Tiwari *et al.*, 1997). Dans certains cas, la solarisation peut conduire à des conditions d'anaérobiose, au moins partielle, défavorables à certains agents pathogènes.
La solarisation agit aussi par des mécanismes chimiques. On observe en général une augmentation des concentrations en nutriments minéraux solubles dans les sols solarisés (Ghini *et al.*, 2003 ; Patricio *et al.*, 2006). Ceci entraîne une amélioration de la santé et de la croissance des plantes.
Enfin, la solarisation entraîne des changements importants dans les communautés microbiennes dans le sol (Stevens *et al.*, 2003). La destruction d'une partie des microorganismes crée un vide biologique partiel. La plupart des agents pathogènes ne sont pas d'aussi bons compétiteurs, capables d'utiliser les ressources du sol, que d'autres microorganismes, plus adaptés. Parmi ces microorganismes adaptés, on peut citer les bactéries des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* et les champignons du genre *Trichoderma*, dont certains ont des propriétés antagonistes connues. L'accroissement de leur densité peut provoquer une modification de l'équilibre microbien des sols solarisés, et empêcher la recolonisation par les agents pathogènes.
De plus, il est possible de combiner la solarisation avec d'autres méthodes, comme l'utilisation de fumigants à faibles doses, de produits phytosanitaires (Pinkerton *et al.*, 2002) ou d'agents de lutte biologique, ces derniers colonisant le vide biologique.
D'un point de vue pratique, la solarisation est pour l'instant utilisée sur de petites surfaces dans le monde, principalement sous climat méditerranéen ou désertique. Les serres, les lits de semences et les containers de supports de cultures semblent être bien adaptés à l'utilisation de la solarisation. Cependant, des études ont également été conduites dans des systèmes de production très divers, tels que vergers, pépinières, cultures de plein champ ou sous abri (Salerno *et al.*, 2000 ; Lopez-Escudero et Blanco-Lopez, 2001).

II.3 / La biodésinfection

II.3.1 / Définitions

Avant toute analyse de la bibliographie, il est important de faire un point sur les termes utilisés et leur définition. Le terme biofumigation (en anglais et en français) se réfère à l'origine à l'utilisation des Brassicacées. Les plantes sont cultivées, ou non, dans la parcelle d'intérêt, puis broyées et enfouies. Le terme biofumigation a été choisi car les molécules actives produites durant cette pratique sont semblables aux molécules actives des fumigants chimiques. Cependant, dans la pratique, d'autres familles de plantes peuvent être utilisées, notamment des Alliacées (Auger et Thibout, 2005) et certaines Poacées. De plus, le terme biofumigation est aussi parfois utilisé pour décrire l'utilisation d'apport d'amendement organique suivi d'un bâchage, s'apparentant à une solarisation. Dans ce cas, l'amendement organique n'est pas forcément un résidu de culture. Pour décrire cette pratique, Blok *et al.*

(2000) utilisent le terme "biological disinfestation" que l'on pourrait traduire par "désinfestation biologique".
Dans cette synthèse, c'est le terme biodésinfection qui sera utilisé, qu'il y ait ou non bâchage, et quelle que soit la famille botanique des plantes utilisées. On s'approche ainsi de la définition de Villeneuve (1999) : il s'agit d'apporter une quantité déterminée de matière organique (ou de cultiver au préalable une plante reconnue pour ses qualités et de préférence à fort développement), de la broyer, de l'incorporer superficiellement, puis de "refermer" le sol, soit par bâchage, soit par roulage.

II.3.2 / L'utilisation des Brassicacées

Parmi les plantes pouvant être utilisées en biodésinfection, les Brassicacées ont été abondamment étudiées, et depuis de nombreuses années. Les Brassicacées, et principalement les espèces de *Brassica,* contiennent naturellement dans leurs tissus des quantités importantes de glucosinolates (GSL), dérivés d'acides aminés (van Etten et Tookey, 1979). Ces composés ne sont pas intrinsèquement biocides. Cependant, lorsqu'ils sont hydrolysés par la myrosinase (thioglucoside glucohydrolase, EC 3.2.3.1), une enzyme présente de façon endogène dans les tissus de *Brassica* spp., les GSL libèrent une gamme de produits, dont des thiocyanates et différentes formes d'isothiocyanates volatiles (ITC) (Bones et Rossiter, 1996). Ces produits d'hydrolyse, et en particulier les ITC, sont connus pour leurs propriétés biocides et/ou biostatiques. Les GSL et la myrosinase sont situés dans des compartiments différents de la cellule : la vacuole pour les GSL, liée à la paroi cellulaire pour la myrosinase. Quand les tissus sont broyés, ou lors de stress, les GSL et la myrosinase peuvent entrer en contact, et l'hydrolyse a lieu. C'est ce qui se passe lors de l'incorporation de résidus broyés dans le sol (Brown *et al.*, 1991). Selon le GSL précurseur et les conditions d'hydrolyse, les produits formés sont différents.
La nature, la localisation et les concentrations des GSL dans les tissus de différentes espèces de *Brassica* ont été abondamment étudiées (Kirkegaard et Sarwar, 1998). Les GSL dominants, leur abondance relative et les produits de leur hydrolyse sont assez stables et prévisibles pour une espèce de *Brassica*, voire une variété donnée. Selon le GSL précurseur, les ITC produits sont différents. Ainsi, la moutarde brune (*Brassica juncea*) contient principalement de la sinigrine ; la moutarde blanche (*Sinapis alba*), de la glucotrophaeline et de la sinalgine. Cette diversité des plantes utilisables permet une adaptation aux conditions particulières de chaque production (climat, période de l'année, type de sol, etc.). Les cultures utilisées comme engrais vert doivent pousser de façon vigoureuse sur une période de temps courte, produire une grande biomasse végétative et être rapidement incorporées et décomposées, en présence d'eau en quantité suffisante, avant la mise en place de la culture suivante. Il existe actuellement des variétés de Brassicacées sélectionnées spécialement pour leur production de biomasse et leurs propriétés de biodésinfection.
L'efficacité des espèces de *Brassica* en biodésinfection dépend de nombreux facteurs, en plus du potentiel purement "chimique" des composés produits. La période d'incorporation ou d'exsudation des tissus contenant les GSL doit coïncider avec un stade sensible de l'organisme ciblé et l'effet suppressif doit persister pour protéger la plante pendant un laps de temps suffisant pour permettre une production de qualité. De plus, l'efficacité de la biodésinfection est influencée par l'efficacité de l'incorporation, l'activité de la myrosinase et les pertes dues à la volatilisation, à la sorption sur les argiles et la matière organique, au lessivage et à la dégradation microbienne (Brown et Morra, 1997).
Les propriétés biocides des produits d'hydrolyse ont été démontrées sur des insectes, des nématodes, des champignons et des bactéries (Brown et Morra, 1997). Les études sont en général menées d'abord *in vitro*. Dans des essais avec des ITC purs issus de synthèse chimique, utilisés sous forme volatile ou dilués dans un milieu gélosé, *G. graminis* var. *tritici*

et *R. solani* se sont révélés les plus sensibles, alors que *Pythium irregulare* et *Bipolaris sorokiniana* étaient les moins sensibles, *Fusarium graminearum* ayant une sensibilité intermédiaire (Sarwar *et al.*, 1998). Des résultats similaires ont été obtenus avec des tissus congelés puis broyés de *B. napus* et *B. juncea* (Kirkegaard *et al.*, 1996). L'efficacité de farine de graines de *B. napus* a aussi été vérifiée sur *A. euteiches* f. sp. *pisi* (Smolinska *et al.*, 1997). Concernant les nématodes, la toxicité plus ou moins forte de sept ITC a été montrée sur *Tylenchus semipenetrans* et *Meloidogyne javanica* (Zasada et Ferris, 2003). Ce résultat a été confirmé avec l'utilisation de tissus de *B. hirta* frais, efficaces sur ces mêmes nématodes (Zasada et Ferris, 2004).

Ces bons résultats *in vitro* ont permis d'envisager des applications en conditions réelles, principalement avec des espèces de *Brassica*.

Des résidus de racines de *B. napus* et *B. juncea* ont permis de réduire l'incidence du piétin-verse sur blé, la réduction étant proportionnelle au niveau de GSL dans les racines (Kirkegaard *et al*., 1996). Cependant, dans une autre étude portant sur le même pathosystème, la comparaison entre une monoculture de blé et des rotations blé-culture de coupure n'a pas confirmé ces résultats. L'effet bénéfique sur la culture de blé vient essentiellement de l'effet plante de coupure, Brassicacée ou non. Le canola (= colza sélectionné au Canada) ou la moutarde n'apportent pas d'effet significatif de biodésinfection supplémentaire, même avec des plantes à fortes teneurs en glucosinolates (Smith *et al.*, 2004).

La biodésinfection n'est pas uniquement utilisée en grandes cultures ou cultures annuelles, mais également sur cultures pérennes. Dans une étude en conditions contrôlées, l'amendement de sol de verger avec de la farine de graines de colza a permis d'améliorer la croissance de plants de pommier et de diminuer significativement l'infection des racines par *R. solani* et *Pratylenchus penetrans* (Mazzola *et al.*, 2001). Cependant, il semble que le contrôle de *R. solani* ne soit pas uniquement dû à l'action biocide directe des produits d'hydrolyse des GSL, mais aussi à d'autres facteurs, tels que des modifications de la structure des communautés microbiennes du sol. Ces modifications peuvent cependant être une conséquence de cette action biocide sur d'autres microorganismes. Ces amendements n'ont par contre pas permis de limiter les populations de *Pythium* spp. dans le sol, ni l'infection des plants par cet agent pathogène (Mazzola *et al.*, 2001).

Des résultats prometteurs ont aussi été obtenus sur fraisier. L'utilisation d'engrais verts sélectionnés (*B. juncea* et *Eruca sativa* = roquette) a permis d'augmenter le rendement en fruits, par rapport à un engrais vert habituel (avoine) ou un sol sans traitement. Par contre, les résultats restent supérieurs avec une fumigation au bromure de méthyle (Lazzeri *et al.*, 2003).

L'amendement du sol avec des résidus de brocoli permet de diminuer la population de microsclérotes de *V. dahliae* dans le sol, d'améliorer la croissance des choux-fleurs en culture suivante, et de diminuer les symptômes de décoloration vasculaire, dans les sols fortement infestés (Subbarao *et al.*, 1999 ; Shetty *et al.*, 2000). Ce même type de résidus donne de bons résultats pour réduire les dégâts dus à *S. sclerotiorum* et *S. minor* sur culture de laitue.

Les amendements en Brassicacées peuvent se faire par incorporation des résidus de culture, mais pas uniquement. Les glucosinolates et la myrosinase sont présents dans les semences de ces plantes. Celles-ci peuvent donc aussi être utilisées comme amendements, une fois réduites en farine (Mazzola *et al.*, 2001). Lazzeri *et al.* (2004) ont montré que dans certaines conditions de séchage, les tissus de Brassicacées gardent une teneur résiduelle en GSL et une activité myrosinase suffisantes pour produire, après addition d'eau, les produits d'hydrolyse biocides. Cette efficacité a été vérifiée *in vitro* sur *P. irregulare* et *R. solani*. Il serait ainsi envisageable de produire des "granulés de biodésinfection", pour utiliser le potentiel des Brassicacées sans avoir à cultiver les plantes in situ.

De façon similaire, il a été démontré que certaines plantes de la famille des Alliacées génèrent des composés soufrés pouvant avoir des effets biocides. Comme pour les Brassicacées, les produits actifs découlent du catabolisme de précurseurs végétaux par des enzymes, activées lors de la décomposition des tissus (Auger et Thibout, 2005). Les thiosulfinates sont dégradés en disulfides et trisulfides, qui sont des composés aussi toxiques que le bromure de méthyle (Arnault *et al.*, 2004). Ces molécules ont des propriétés bactéricides (Yu, 1999), fongicides (Martin, 2003 ; Kim *et al.*, 2006) et insecticides (Auger *et al.*, 2002).
Ainsi, *in vitro*, des extraits de *Tulbaghia violacea,* de la famille des Alliacées, ont une activité antifongique contre *Botrytis cinerea*, *P. ultimum* et *R. solani* (Lindsey et van Staden, 2004). En conditions semi-contrôlées, le poireau (*Allium porum*) s'est montré globalement moins efficace que la moutarde brune ou le radis fourrager, en particulier sur *R. solani* (Villeneuve *et al.*, non publié).

II.3.3 / Autres méthodes de biodésinfection

L'utilisation des propriétés toxiques des glucosinolates des Brassicacées n'est pas la seule voie étudiée. La désinfection biologique des sols, telle que définie par Blok *et al.* (2000), consiste à induire des conditions anaérobies dans le sol en augmentant la respiration microbienne grâce à l'incorporation d'amendements organiques frais tout en réduisant le réapport d'oxygène par une couverture du sol avec du film plastique imperméable à l'air. Dans ces conditions, la survie de plusieurs agents pathogènes telluriques, que ce soient des champignons, des bactéries ou des nématodes, a été fortement réduite ou ils ont été complètement éradiqués. Cela concerne par exemple *F. oxysporum*, *Meloidogyne* sp., *R. solani*, *R. tuliparum*, *S. sclerotiorum*, *V. dahliae* et *R. solanacearum* (Blok *et al.*, 2000 et non publié ; Goud *et al.*, 2004 ; Messiha *et al.*, 2007).
Il ressort de l'étude de Blok *et al.* (2000) que le bâchage après incorporation de matière organique est nécessaire pour obtenir un effet significatif sur la viabilité des propagules d'agents pathogènes. Les amendements ou le bâchage seuls ne donnent pas de résultats significatifs. Par contre, il n'y a pas d'effet significatif du type d'amendement, brocoli ou Poacées. Cela suggère que ce sont plus sûrement des produits de décomposition non-spécifiques qui sont impliqués, plutôt que des ITC. Mais le bâchage permet d'obtenir des concentrations plus importantes de ces produits, en limitant la perte des composés volatiles. Il indique également qu'il faut une accumulation minimale de températures élevées.
De la même façon, Messiha *et al.* (2007) ont montré que la désinfection biologique des sols, par incorporation de Poacées puis bâchage, permet de réduire les populations de *R. solanacearum* et de réduire la survie de l'agent pathogène sur les tubercules de pomme de terre. La production de composés toxiques pendant la fermentation anaérobie est une hypothèse pour expliquer ce phénomène. La production d'une vaste gamme de composés potentiellement toxiques, notamment des alcools, des aldéhydes et des acides organiques, lors de la décomposition en conditions anaérobies de matière organique, a déjà été démontrée (Ponnamperuma, 1972 ; Strandberg, 1987).
Dans une étude menée sur le centre Ctifl de Lanxade (Dordogne), l'incorporation de matière organique a été testée en utilisant différentes espèces végétales, et en couvrant ou non le sol avec différents types de film plastique. Les résultats montrent que l'efficacité contre *R. solani* dépend de l'espèce utilisée et du type de film plastique. Le radis fourrager (*Raphanus sativus*), l'herbe du Soudan (*Sorghum sudanense*) et la moutarde brune (*B. juncea*) sont efficaces, contrairement au poireau. La couverture du sol est efficace, surtout avec un film VIF (virtually impermeable film).

Plusieurs études ont utilisé des combinaisons des méthodes citées précédemment. La combinaison du traitement "thermique" par des températures de 45 à 55°C, par longue

exposition aux radiations solaires, avec un amendement de Brassicacées et une irrigation pendant l'été a permis de réduire significativement la population des sclérotes de *M. phaseolina* (Lodha *et al.*, 2003). Un amendement organique suivi d'une solarisation a permis de réduire les niveaux d'inoculum de *P. aphanidermatum* dans les sols, et de réduire l'incidence des fontes de semis en conditions contrôlées (Deadman *et al.*, 2006). Des résultats positifs ont aussi été obtenus sur *S. rolfsii* (Flores-Moctezuma *et al.*, 2006), *F. oxysporum* f. sp. *cumini* (Israel *et al.*, 2005), *P. cinnamomi* et *V. dahliae* (Pinkerton *et al.*, 2000).

II.4 / Conclusion

Pour protéger les cultures contre les maladies, une large gamme de méthodes alternatives est déjà disponible. Certaines de ces méthodes sont déjà utilisées, plus ou moins empiriquement, par les producteurs. C'est le cas par exemple des amendements organiques, sans que la protection des cultures soit forcément l'objectif principal. Traditionnellement, l'apport d'amendement organique est déconseillé en culture de carotte. Mais il s'agit surtout d'une recommandation vis-à-vis des risques de défauts de formes, si cet amendement est réalisé trop près du semis de carotte. Les effets en termes de protection contre les maladies ont peu été étudiés pour cette culture. Cependant, des résultats positifs ont déjà été obtenus sur des agents pathogènes susceptibles d'attaquer la carotte, notamment *Pythium* spp. et *R. solani*. En outre, l'utilisation par le monde agricole des déchets organiques est amenée à se développer. D'une part, cela contribue au recyclage des déchets et diminue les quantités incinérée. En outre, les amendements organiques pourraient se substituer aux intrants chimiques traditionnels (engrais minéraux, produits phytosanitaires). La diminution de ces intrants non renouvelables est une volonté politique affichée dans de nombreux pays, notamment en France (Plan interministériel de réduction des risques liés aux pesticides, www.ecologie.gouv.fr /IMG/pdf/Plan_interministeriel_pesticides.pdf).
La biodésinfection, telle que mise en œuvre dans cette étude, est pour l'instant beaucoup moins répandue que les apports d'amendements organiques. Cependant, elle est déjà testée dans des parcelles en production, et son efficacité a déjà été démontrée. Ainsi le Ctifl travaille sur cette thématique depuis plusieurs années. Un intérêt de cette méthode est qu'elle implique en général la culture de la plante sur la parcelle. Il est donc possible de combiner plusieurs propriétés intéressantes, selon la plante cultivée, pendant une même période entre les cultures d'intérêt. Par exemple, il serait envisageable de cumuler un effet "biodésinfection" avec un effet "culture intermédiaire piège à nitrates" ou "engrais vert", ou encore un effet de couverture du sol, intéressant pour limiter l'érosion.
Enfin, il est nécessaire, avant de promouvoir l'utilisation de telles pratiques auprès des producteurs, de valider non seulement leur efficacité biologique, mais aussi leur faisabilité technique et économique. C'est pourquoi le Ctifl a choisi de s'investir dans ce programme portant sur (i) l'appréciation et l'amélioration de la santé des sols par la réhabilitation de pratiques culturales respectueuses de l'environnement et (ii) l'établissement de grilles de paramètres biotiques et abiotiques facilitant la prise de décisions quant aux itinéraires techniques à appliquer pour améliorer la santé des sols.

Chapitre 2 : Variabilité spatio-temporelle des descripteurs du sol dans une parcelle expérimentale et effets d'un apport d'amendement organique et d'une biodésinfection : matériels et méthodes

VARIABILITE SPATIO-TEMPORELLE DES DESCRIPTEURS DU SOL DANS UNE PARCELLE EXPERIMENTALE ET EFFETS D'UN APPORT D'AMENDEMENT ORGANIQUE ET D'UNE BIODESINFECTION
MATERIELS ET METHODES ***55***

I / Parcelle expérimentale et prélèvements **55**
I.1 / Localisation 55
I.2 / Traitements et conduite de la parcelle 55
I.3 / Prélèvements 57
I.4 / Suivi de la biodésinfection 57

II / Caractéristiques abiotiques **59**
II.1 / Granulométrie et densité apparente 59
II.2 / Analyses physico-chimiques 59

III / Caractéristiques biotiques **59**
III.1 / Analyses quantitatives 59
III.1.1 / Biomasse microbienne 60
III.1.2 / Densités de bactéries et champignons 60
III.1.3 / Densités de nématodes 60
III.1.4 / Activité microbienne 61
III.2 / Analyses qualitatives : structure des communautés microbiennes 61
III.2.1 / Extraction de l'ADN du sol 62
III.2.2 / Amplification d'ADNr par PCR 62
III.2.3 / Analyse T-RFLP 63
III.2.4 / Traitement des données de T-RFLP 63

IV / Caractéristiques phytosanitaires **64**
IV.1 / Notations de la récolte de carottes dans la parcelle expérimentale 64
IV.2.1 / Mise en place des essais 64
IV.2.2 / Préparation des inoculum et mélanges sol/inoculum 66

V / Analyse des données **66**
V.1 / Analyses de variance 66
V.2 / Préparation des tableaux de données 66
V.3 / Analyses en composantes principales 67
V.4 / Représentation spatiale des résultats 67

VARIABILITE SPATIO-TEMPORELLE DES DESCRIPTEURS DU SOL DANS UNE PARCELLE EXPERIMENTALE ET EFFETS D'UN APPORT D'AMENDEMENT ORGANIQUE ET D'UNE BIODESINFECTION MATERIELS ET METHODES

Cinq parties composent ce chapitre. Le dispositif expérimental est présenté, puis les méthodes de mesure des caractéristiques abiotiques. Les analyses biologiques sont ensuite présentées, qu'elles soient quantitatives ou qualitatives. La mesure de la qualité phytosanitaire est présentée, puis les méthodes d'analyse des données utilisées dans cette étude.

I / Parcelle expérimentale et prélèvements

I.1 / Localisation

La parcelle expérimentale est située sur le centre Ctifl de Lanxade (Dordogne, 24). Sa dimension totale est de 100 m par 70 m. La parcelle est orientée Nord-Sud. Pour la culture de carotte, elle est divisée en 37 planches, longues de 63 m et larges de 1,5 m, avec 0,40 m entre deux planches. Trois doubles rangs distants de 0,35 m sont semés sur chaque planche (Planche photo 2).
Pour la mise en place des traitements, la parcelle est divisée dans le sens Est-Ouest en trois sous-parcelles de 11 planches chacune, avec une planche entre les sous-parcelles et en bordures (Figure 1).

I.2 / Traitements et conduite de la parcelle

Un tiers de la parcelle est soumis à une biodésinfection. Cette sous-parcelle sera identifiée sous l'acronyme Bd dans la suite du manuscrit. Les différentes étapes de la biodésinfection sont illustrées dans la planche photos 2. Du radis fourrager (*Raphanus raphanistrum* subsp. *sativus* L.), variété Commodore (Alpha semences®), est semé mi-avril à une densité de 20 kg de graines/ha. Au moment de la montée à fleurs, fin juin, les plantes sont broyées sur la parcelle. Un apport complémentaire de radis broyé (cultivé sur une autre parcelle) est effectué, de manière à apporter une quantité totale de matière fraîche de 30 t/ha. Un disquage permet d'enfouir le radis fourrager broyé, sur une profondeur de 8 à 12 cm. La sous-parcelle est ensuite roulée, puis bâchée avec un film plastique transparent multicouche, type Virtual Impermeable Film, de 37 µm d'épaisseur (Bromostop NFT54-195®). Après 4 semaines, la bâche est retirée de la sous-parcelle.
Un tiers de la parcelle reçoit un apport de matière organique sous forme de fumier composté. Cette sous-parcelle sera identifiée sous l'acronyme MO dans la suite du manuscrit. Le compost, à base de fumier de bovin, est un produit commercial (Génética®, composition en Table 3). Environ 33 t/ha de produit frais sont épandus, mi-avril.
Le 3ème tiers de la parcelle sera identifié sous l'acronyme Té. Il ne reçoit pas d'amendement organique mais uniquement la fertilisation minérale classique (N-P-K à 33,5, 72 et 120 U/ha), qui est aussi appliquée sur les autres sous-parcelles.

Planche photos 2
Itinéraire technique dans la sous-parcelle biodésinfectée :
A-Radis Fourrager, B-Radis fourrager en fleur, C-Broyage du radis sur la parcelle, D-Récolte à l'ensileuse du radis fourrager sur une autre parcelle, E-Epandage du radis broyé, F-Enfouissement du radis broyé, G-Roulage du sol, H-Sous-parcelle bâchée, I-Débâchage, J-Semis de carottes, K-Culture de carotte en place et L-Récolte des carottes.
Source F.Villeneuve

En dehors des traitements spécifiques des sous-parcelles MO et Bd, la parcelle est conduite selon l'itinéraire technique présenté dans l'annexe 3. Pour éviter le développement des adventices, les sous-parcelles Té et MO sont régulièrement disquées pendant la période de biodésinfection. Les carottes, variété en Puma (Syngenta Seeds) en 2004 et Nanco (Vilmorin) en 2005, sont semées fin juillet et récoltées entre fin octobre et mi-novembre.

I.3 / Prélèvements

Durant toute la durée de l'étude, six prélèvements ont eu lieu, trois en 2004 et trois en 2005 (Figure 2). Les prélèvements sont réalisés aux mêmes périodes pour les deux années. Le prélèvement T0 est réalisé en avril, quelques jours avant l'épandage du compost et le semis de radis. En 2004, il correspond à un point "zéro". En 2005, il permet de suivre les modifications pouvant intervenir durant l'hiver, au cours duquel toute la parcelle est nue. Le prélèvement T1 est réalisé en juillet, le jour même du débâchage de la sous-parcelle biodésinfectée. Le prélèvement T2 a lieu en fin de culture, avant la récolte.
La zone d'échantillonnage de chaque sous-parcelle est limitée aux 7 planches les plus internes. Vingt et un points de prélèvements sont répartis dans chaque sous-parcelle (Figure 1). Ces points sont clairement repérés, et échantillonnés séparément à chaque date de prélèvement. Les prélèvements sont réalisés avec un transplantoir à bulbe, sur une profondeur maximale de 20-30 cm. A chaque date d'échantillonnage, entre 1 et 2 kg de sol sont prélevés en chaque point. Pour le prélèvement avant récolte, autant que faire ce peut, les prélèvements sont faits sur les buttes, mais entre les carottes.
Les échantillons de sol sont conservés dans des sacs fermés pour le transport. Avant le tamisage à 6 mm, ils peuvent, si nécessaire, être étalés à l'air libre pour sécher. Après tamisage à 6 mm, les prélèvements de sol sont conservés à 4°C. Une partie est ensuite tamisée à 2 mm et répartie en plusieurs aliquotes pour les différentes analyses. Pour les analyses biologiques (densités, biomasse et activité microbienne), les sols sont conservés à 4°C. Pour les analyses physico-chimiques, ils sont mis à sécher, au minimum 24 h à 105°C. Pour les analyses moléculaires, ils sont conservés en cryotubes de 2 ml à -80°C (7 tubes par prélèvement).
Les analyses portent soit sur tous les échantillons (3 x 21 = 63 échantillons par date de prélèvement), soit uniquement sur les échantillons "impairs" (3 x 11 = 33 échantillons par date de prélèvement).

I.4 / Suivi de la biodésinfection

Pendant que la sous-parcelle biodésinfectée est bâchée, plusieurs caractéristiques du sol et de son atmosphère sont mesurées. La composition en dioxygène et dioxyde de carbone de l'atmosphère du sol est mesurée par un analyseur de gaz portatif (TS12-E/TS12-P, Absorger, précision 0,3%). Dix sondes sont réparties sur l'ensemble de la sous-parcelle, à une profondeur de 10 cm. La jonction entre la bâche et la sonde est refermée à l'aide de silicone afin d'éviter les échanges gazeux avec l'extérieur (Planche photos 3). Une sonde témoin est disposée dans le sol nu, à 10 cm de profondeur. Les mesures sont réalisées tous les jours.
La température du sol sous la bâche est mesurée grâce à un enregistreur Hobo (précision 0,7°C, au dessus de 20°C). Les sondes sont disposées à 10 cm sous la bâche. Deux sondes témoins sont disposées à l'extérieur et à 10 cm de profondeur dans un sol non bâché. La fréquence des mesures est de 30 min.

A

B

C

D

E

Planche photos 3
Suivi de la composition de l'atmosphère du sol dans la sous- parcelle biodésinfectée :
A-Sonde, B-Analyseur de gaz
Mesure de la densité apparente
C-Mise en place des cylindres, D-Récupération des cylindres, E-Arasage du sol
Source F.Villeneuve

La teneur en azote nitrique (NO_3) et ammoniacal (NH_4) du sol est suivie dans toute la parcelle, avec une mesure par semaine pendant la période de bâchage, puis une mesure dans la semaine qui suit le débâchage. Deux échantillons composites sont réalisés pour chaque sous-parcelle (un pour la moitié Nord de la parcelle, un pour la moitié Sud). Les prélèvements sont faits sur l'horizon d'implantation racinaire, soit jusqu'à 20 cm de profondeur. Les échantillons de sols sont conservés dans une glacière et emmenés au laboratoire (Laboratoire de Conseils et d'Analyses, Bordeaux) pour analyse le jour même.

II / Caractéristiques abiotiques

II.1 / Granulométrie et densité apparente

La granulométrie est mesurée sur les 63 échantillons, uniquement pour le prélèvement T0 de 2005. L'analyse est réalisée par le laboratoire d'analyse des sols de l'INRA d'Arras (Table 4).
Des prélèvements spécifiques sont réalisés pour mesurer la densité apparente du sol. La technique utilisée est celle des cylindres de volume connu (Tessier et Steppuhn, 1990; Planche photos 3). Trois prélèvements sont réalisés à chaque point, sur les 15-20 premiers cm. Les sols frais sont pesés dès que possible. Les sols sont ensuite pesés après séchage à 105°C pendant 3 jours au moins.
Plusieurs informations peuvent être obtenues à partir de ces mesures :
- la densité apparente = masse solide / volume total
- l'humidité pondérale = masse d'eau / masse solide

Ces mesures ont été réalisées en 2005, sur 21 points par sous-parcelle aux temps T0 et T1, et 11 points par sous-parcelle au temps T2.

II.2 / Analyses physico-chimiques

Pour les analyses physico-chimiques, réalisées sur tous les prélèvements, les sols tamisés à 2 mm sont séchés à 105°C pendant 24 h au moins. Ils sont ensuite analysés par le laboratoire d'analyse des sols de l'INRA d'Arras, selon les normes présentées dans la table 4.

III / Caractéristiques biotiques

III.1 / Analyses quantitatives

La microflore et la microfaune des sols sont quantifiées en utilisant deux approches : d'une part une mesure globale de la biomasse, et d'autre part le dénombrement des bactéries, champignons et nématodes. L'activité microbienne est appréhendée par la mesure de la respiration basale des sols.

III.1.1 / Biomasse microbienne

La mesure de biomasse microbienne est réalisée selon la méthode de fumigation-extraction décrite par Jenkinson et Powlson (1976a, b et c) et revue par Anderson et Domsch (1978). L'équivalent de 20 g de sol sec est mis en suspension sous agitation (40 min, 180 rpm) dans 100 ml d'une solution de K_2SO_4 à 0,05N, afin d'extraire le carbone organique soluble. Après centrifugation (6000 g, 5 min), les surnageants sont récupérés et conservés à 4°C avant d'être analysés, le jour même. Les échantillons sont décarbonatés à l'acide orthophosphorique et par oxygénation. Le carbone organique est dosé par oxydation au peroxodisulfate de potassium sous catalyse UV (Dorhman DC 80). La mesure est réalisée sur les échantillons non traités et sur les mêmes échantillons fumigés par des vapeurs de chloroforme pendant 16 h dans une enceinte à vide. La différence de carbone organique soluble entre les échantillons fumigés et témoins équivaut à la quantité de carbone extractible d'origine microbienne/microfaune. Cette quantité est directement proportionnelle à la biomasse microbienne/microfaune, ou matière organique vivante (MOV), en tenant compte du fait que seulement 38% du carbone microbien est extractible (dans un sol limono-sableux ou limono-argileux de pH>6, Wu *et al*., 1990).
En 2004, une seule répétition de chacun des 63 échantillons de la parcelle a été analysée. En 2005, les mesures ont été répétées trois fois sur 33 échantillons.

III.1.2 / Densités de bactéries et champignons

Les densités de bactéries et champignons cultivables sont évaluées par la méthode de suspension-dilution. Des dilutions sériées au 1/10ème sont réalisées à partie d'une suspension mère de 5 g de sol équivalent sec dans 45 ml d'eau stérile. Pour les bactéries, des aliquotes de 100 µl des dilutions appropriées, 10^{-3}, 10^{-4} et 10^{-5}, sont étalées à l'aide de billes sur milieu LPGA$^{1/2}$ (Levure Peptone Glucose Agar, Annexe 2). Pour les champignons, des aliquotes de 1 ml des dilutions 10^{-2}, 10^{-3} et 10^{-4} sont inclus dans du milieu Malt gélosé (Annexe 2) complémenté (acide citrique 250 mg/L, streptomycine sulphate 100 mg/L, chlortetracycline hydrochloride 50 mg/L). Pour chaque niveau de dilution, trois boites sont préparées pour les bactéries et cinq pour les champignons. Les boîtes de Petri sont incubées à 25°C et les colonies dénombrées après 3 et 5 jours.
Pour chacun des 33 échantillons, trois répétitions indépendantes sont réalisées. Les densités de microorganismes exprimées en CFU (colony forming unit) par g de sol sec sont transformées en log(x+1) avant analyse.

III.1.3 / Densités de nématodes

Les nématodes sont extraits par élutriation du sol à partir d'échantillons de 250 ml de sol frais (Seinhorst, 1962). Cette technique comprend quatre étapes principales. L'échantillon est d'abord préparé par homogénéisation manuelle du sol dans de l'eau et élimination des débris grossiers, racines et graviers. L'extraction est basée sur le principe de la sédimentation des particules de sol dans une colonne soumise à un courant d'eau ascendant. Les nématodes sont récupérés dans la fraction la plus légère dans la colonne d'eau. Le tamisage permet la concentration du produit d'élutriation. Enfin, la purification consiste à séparer les nématodes mobiles des impuretés immobiles par passage actif des nématodes à travers un filtre de papier cellulosique.
L'échantillon de sol est tamisé à 1 mm et préparé dans 2 litres d'eau. Après 30 min d'élutriation, tamisage sur 4 tamis superposés de maille 50 µm et purification de la suspension sur papier cellulosique, les nématodes sont recueillis dans des tubes de comptage.
Après décantation et ajustement des volumes d'eau, une aliquote de 5 ml est prélevé et versé dans une cellule de comptage quadrillée (Merny et Luc, 1969). La cellule est déposée sous un stéréomicroscope à lumière transmise pour observation, identification et dénombrement des

nématodes. L'identification morphologique des genres est réalisée à l'aide de la clé illustrée de Mai et Lyon (1975). Cette clé est basée principalement sur les caractéristiques des femelles adultes, sauf dans le cas des espèces sédentaires des genres *Meloidogyne*, *Heterodera* et *Globodera*, présentes uniquement sous forme de juvéniles dans le sol. L'identification des espèces est réalisée à l'aide de clés spécifiques.
Les effectifs de nématodes sont ensuite rapportés à un nombre d'individus pas dm^3 de sol. Une analyse est réalisée pour chacun des 63 échantillons de la parcelle. Avant analyse, les densités de nématodes sont transformées en log(x+1).

III.1.4 / Activité microbienne

L'activité microbienne est mesurée par la méthode de respiration basale, selon une technique adaptée de Carpenter-Boggs *et al.* (2000). Cinquante grammes de sol frais sont placés dans des fioles à Plasma. Les fioles sont ensuite fermées hermétiquement, et mises en incubation à 20°C à l'obscurité. Juste après la fermeture puis après 3 et 8 h, pour les échantillons de 2004, ou 3, 5 et 8 h pour ceux de 2005, des prélèvements de l'atmosphère de la fiole sont réalisés dans des tubes sous vide à prélèvement sanguin (Venoject). Le CO_2 est ensuite dosé par chromatographie en phase gazeuse (Portable Micro Gas Chromatograph P200, MTI Analytical Instruments). La quantité de CO_2 dégagé est calculée grâce à une courbe de calibration préparée avec des quantités connues de CO_2. Les résultats sont exprimés en µl de CO_2/g sol sec/h. Pour chacun des 33 échantillons, trois répétitions indépendantes sont réalisées.

III.2 / Analyses qualitatives : structure des communautés microbiennes

Les caractéristiques microbiennes du sol représentent une clé pour la compréhension des impacts de facteurs environnementaux et anthropiques. La diversité microbienne des sols peut représenter la capacité d'un sol à résister aux perturbations et a été proposée comme un indicateur de la qualité des sols (OCDE). Ainsi, les analyses de la diversité et de la structure des communautés microbiennes apparaissent essentielles pour le suivi de la qualité des sols. Différentes méthodes générant des empreintes moléculaires ou "fingerprint" ont été développées pour analyser la structure des communautés microbiennes, directement à partir de l'ADN extrait du sol (Tiedje *et al.*, 1999 ; Ranjard *et al.*, 2000). De plus, des méthodes basées sur le clonage et le séquençage de banques de clones permettent également d'appréhender la diversité microbienne. Etant donné le nombre d'échantillons traités dans cette étude, seule l'approche d'empreinte moléculaire était envisageable.
Cette approche est basée sur l'amplification sélective par PCR (polymerase chain reaction) d'un marqueur de la communauté d'intérêt, appartenant généralement à l'unité d'ADN ribosomique (ADNr). Elle cible le plus souvent les gènes codant les ARNr 16S pour les procaryotes et 18S pour les eucaryotes, ou les régions intergéniques IGS (intergenic spacer) pour les procaryotes et ITS (internal transcribed spacer) pour les eucaryotes (Figure 3). Différentes méthodes ont été développées pour révéler les variations de séquence ou de taille des fragments amplifiés : la TGGE/DGGE (temperature/denaturing gradient gel electrophoresis, Muyzer *et al.*, 1993), la SSCP (single-strand conformational polymorphism, Lee *et al.*, 1996), l'(A)RISA ((automated) ribosomal intergenic spacer analysis, Borneman et Triplett, 1997 ; Fischer et Triplett, 1999 ; Ranjard *et al.*, 2000 et 2001) ou la T-RFLP (terminal-restriction fragment length polymorphism, Liu *et al.*, 1997).
La T-RFLP sur séquenceur à capillaire, avec la sortie de profils informatisés, permet de traiter simultanément de nombreux échantillons (96 échantillons par analyse avec l'équipement

disponible au laboratoire). En outre, l'utilisation d'un standard interne dans chaque échantillon permet la comparaison d'échantillons issus de migrations différentes.
Cette méthode a donc été choisie pour suivre les évolutions des structures de communautés fongiques et bactériennes dans notre dispositif expérimental. Après extraction directe de l'ADN du sol, des marqueurs des communautés bactériennes et fongiques (ADNr 16S et 18S, respectivement) sont amplifiés par PCR. A partir des fragments d'ADN amplifiés, l'analyse T-RFLP consiste en une digestion enzymatique, puis une séparation électrophorétique des fragments de restriction. Une des amorces utilisées pour la PCR étant marquée par un fluorochrome, le système de détection automatique des fragments après migration ne tient compte que des fragments de restriction terminaux (Figure 4).

III.2.1 / Extraction de l'ADN du sol

L'ADN total du sol est extrait selon une méthode adaptée de Martin-Laurent *et al*. (2001), modifiée par Edel-Hermann *et al*. (2004). L'ADN est extrait à partir d'un gramme de sol.
Brièvement, 1 g de sol est déposé dans une cupule contenant 2 g de billes de verre de diamètre 106 µm (Glass beads acid washed, Sigma) et 8 billes de verre de diamètre 2 mm. Quatre ml de tampon de lyse (TrisHCl 50 mM pH8, EDTA 20 mM pH8, NaCl 100 mM, SDS (sodium dodécyl sulfate) 1% dans de l'eau ultrapure (Eppendorf, Hambourg, Allemagne)) sont ajoutés dans chaque cupule. La lyse physique est réalisée par agitation à 1600 rpm pendant 30 s (Bead Beater Mikro-dismenbrator S., B. Braun). La lyse chimique par le SDS est activée par une incubation de 20 min dans un bain-marie à 70°C avec agitation régulière. Après centrifugation (10 min, 8000 g, 4°C), l'extraction se poursuit sur 2 ml de surnageant. Les impuretés sont précipitées par l'ajout d'1/10ème de volume d'acétate de potassium 5M et centrifugation (10 min, 14000 g, 4°C). L'ADN est précipité à froid par un volume d'isopropanol à -20°C. Le culot obtenu après incubation de 15 min au minimum à -20°C et centrifugation (20 min, 15000 g, 4°C) est récupéré. Il est lavé par 300 µl d'éthanol 70° (-20°C) et centrifugation (5 min, 15000 g, 4°C), séché, puis resuspendu dans 100 µl d'eau ultrapure (Eppendorf).
L'ADN est purifié par deux passages sur colonne de PVPP (Polyvinylpolypyrrolidone) et centrifugation (2 min, 1000 g, 10°C), puis par une purification avec le kit Geneclean (Q-BIOgene, Illkirch, France), selon les indications du fournisseur. Deux élutions finales de 30 µl sont réalisées.
La concentration en ADN des échantillons est évaluée par quantification sur gel d'agarose (0,8%, migration 100V, 40 min) et comparaison avec une gamme d'ADN de thymus de veau (Bio-Rad, Marne la Coquette, France) de concentrations connues. Les gels colorés au bromure d'éthidium sont analysés grâce au logiciel Bio-1D++ (Vilber Lourmat, Marne la Vallée, France). Ce logiciel calcule l'intensité de chaque bande. La concentration des ADN extraits de sol est calculée en utilisant une courbe étalon ng d'ADN de thymus de veau (10 à 100 ng) versus intensité.
Les ADN sont conservés à -20°C.

III.2.2 / Amplification d'ADNr par PCR

A partir des ADN extraits de sol, l'ADNr 16S des communautés bactériennes est amplifié par PCR avec l'amorce 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) (Edwards *et al*., 1989) marquée à l'extrémité 5' par le fluorochrome D3 (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) et l'amorce 1392R (ACGGGCGGTGTGTACA) (Braker *et al*., 2001). Les PCR sont réalisées dans 25 µl final (tampon 1X, dNTP 200 µM, 1392R 0,2 µM, 27FD3 0,2 µM, *Taq* Polymerase (Q-BIOgene) 2U, ADN 20 ng). Les amplifications sont réalisées dans un thermocycleur Mastercycler (Eppendorf), dans les conditions suivantes : dénaturation initiale 3 min 94°C, 30

cycles de dénaturation 1 min 94°C-hybridation 1 min 57°C-élongation 1 min 72°C, élongation finale 10 min 72°C.
L'ADNr 18S des communautés fongiques est amplifié par PCR avec l'amorce ssu-0817F (TTAGCATGGAATAATRRAATAGGA) marquée à l'extrémité 5' par le fluorochrome D3 (Beckman Coulter) et l'amorce ssu-1536R (ATTGCAATGCYCTATCCCCA) (Borneman et Hartin, 2000). Les PCR sont réalisées dans 25 µl final (tampon 1X, dNTP 200 µM, 1536R 0,25 µM, 817FD3 0,25 µM, *Taq* Polymerase (Q-BIOgene) 2U, ADN 20 ng). Les amplifications sont réalisées dans un thermocycleur Mastercycler (Eppendorf), dans les conditions suivantes : dénaturation initiale 3 min 94°C, 35 cycles de dénaturation 1 min 94°C-hybridation 1 min 56°C-élongation 1 min 72°C, élongation finale 10 min 72°C.
Après vérification par électrophorèse sur gel d'agarose, les produits de PCR sont purifiés avec le kit MinElute (Qiagen, Courtabœuf, France), selon les recommandations du fournisseur. Les produits de PCR purifiés sont quantifiés par comparaison avec une gamme de quantités connues du marqueur de poids moléculaire Smart Ladder (Eurogentec, Seraing, Belgique). Les concentrations en ADN des produits de PCR purifiés sont calculées comme précédemment pour les ADN extraits de sols.

III.2.3 / Analyse T-RFLP

Les analyses par T-RFLP des communautés bactériennes et fongiques suivent le même protocole, hormis pour l'enzyme de restriction utilisée. Cent vingt ng de produits de PCR purifiés sont digérés par 12 U d'enzyme de restriction dans un volume final de 100 µl pendant 3 h à 37°C. Pour les analyses de T-RFLP 16S, l'enzyme utilisée est *Hae*III (GG'CC, Q-BIOgene). Pour les analyses de T-RFLP 18S, il s'agit de *Msp*I (C'CGG, Q-BIOgene). Les produits de digestion sont précipités avec 2 µl de glycogène à 2,5 mg/ml (Q-BIOgene), 10 µl d'acétate de sodium 3 M (pH 5,2) et 250 µl d'éthanol 96° (-20°C). Après centrifugation (15 min, 15000 g, 4°C), les culots sont rincés deux fois avec 200 µl d'éthanol 70° (-20°C) et une nouvelle centrifugation (5 min, 15000 g, 4°C), et séchés. Les culots sont resuspendus dans 60 µl de SLS (Sample Loading Solution, Beckman Coulter) et 30 µl de mix contenant 1,2 µl de standard de taille (Size-Standard-600, Beckman Coulter) dans du SLS. Pour chaque échantillon, ces 90 µl sont répartis dans 3 puits d'analyse, et recouverts d'huile minerale (mineral oil, Beckman Coulter). La séparation électrophorétique des fragments est réalisée dans un séquenceur automatique à capillaire CEQ 2000XL (Beckman Coulter). La méthode utilisée fait appel à une dénaturation de 2 min à 90°C, une injection à 2000V pendant 30 s et une séparation à 4800V pendant 70 min. Après l'électrophorèse, la taille des fragments de restriction terminaux (TRF) et l'intensité des pics correspondants sont calculées automatiquement par comparaison avec le standard de taille, grâce au logiciel CEQ 8000 genetic analysis system version 9.0 (Beckman Coulter). Pour être pris en compte, les pics doivent avoir une pente à leur base supérieure ou égale à 5%, ainsi qu'une hauteur supérieure ou égale à 2% de celle du deuxième plus haut pic. La taille des fragments est calculée avec la méthode de régression Local Southern.

III.2.4 / Traitement des données de T-RFLP

Seuls les fragments entre 60 et 640 pb, correspondant à la gamme de taille du standard, sont pris en compte. Un programme a été écrit sous R (http://cran.univ-lyon1.fr/; Pecqueur, non publié) pour traiter les données. L'intensité correspondant à chaque pic est divisée par la fluorescence totale du profil. La fluorescence totale de chaque profil pouvant varier de façon importante entre les profils, pour des raisons techniques et non biologiques, cette étape est nécessaire afin de pouvoir comparer les profils sans ce biais. Les fragments sont ensuite répartis en classes de taille, avec un pas de 1,25 pb à partir du plus grand fragment. Ceci

permet d'avoir des variables communes à tous les profils, afin de pouvoir les comparer. Une partie de ce programme est adaptée du programme LisAFLP (Mougel *et al.*, 2002).
Pour chaque échantillon, trois séparations électrophorétiques sont réalisées, donnant lieu à trois profils, en général très semblables. Cependant, des dysfonctionnements ayant été mis en évidence dans le logiciel d'analyse (absence d'annotation de fragments présents, bruit de fond non biologique), il a été décidé de "moyenner" les trois profils en un seul, selon la règle suivante : ne sont conservés que les fragments présents dans au moins 2 des 3 profils. Pour ces fragments conservés, la valeur d'intensité relative affectée est la moyenne des 2 ou 3 valeurs de chaque profil. Si un fragment n'est présent que dans un seul profil, il n'est pas pris en compte.
Au final, les données de T-RFLP sont arrangées dans une matrice d'intensités relatives contenant en lignes les échantillons et en colonnes les classes de taille des fragments.

IV / Caractéristiques phytosanitaires

IV.1 / Notations de la récolte de carottes dans la parcelle expérimentale

Quelques jours avant la récolte de la parcelle, la qualité des carottes est évaluée. Les carottes sont prélevées sur 2 mètres linéaires de part et d'autre des 11 points de prélèvement impairs de chaque sous-parcelle. Les carottes sont comptées et pesées. Concernant la qualité commerciale, les carottes éclatées, courtes ou en bouchons et fourchues sont dénombrées. Concernant la qualité phytosanitaire, les carottes porteuses de taches de *Pythium* spp. et de *R. solani* sont comptées et l'intensité d'attaque est notée selon une échelle de 0 à 5 (classe 0 = carotte saine, classe 5 = plus de 50% de surface attaquée). Ces données permettent de calculer un indice pathologique (= $\sum$ (nombre de carottes classe i x indice classe i) / nombre de carottes total). Enfin, les carottes présentant des traces d'attaque de taupin ou de mouche de la carotte sont notées.

IV.2 / Essais biologiques de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *Rhizoctonia solani*

Afin d'appréhender la santé du sol dans la parcelle expérimentale, vis-à-vis de *R. solani*, des essais de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à cet agent pathogène ont été mis en place en conditions semi-contrôlées (Planche photos 4).

IV.2.1 / Mise en place des essais

Dans des pots contenant 500g de sable (sable extra siliceux de Biot), 22 graines de carotte variété Yukon (Syngenta Seeds) sont semées. Les graines sont ensuite recouvertes d'une couche d'argile calcinée (ChemSorb®). Les semis sont placés dans une chambre climatisée avec une photopériode de 8h nuit/16h jour et un régime de température de 18°C nuit/20°C jour. Un arrosage quotidien est réalisé avec de l'eau de ville.
Douze jours après le semis, les carottes au stade cotylédons déployés sont inoculées par apport au collet des plantules de 60 ml du mélange sol/inoculum à tester, préparé tel que décrit ci-dessous. Ceci correspond à une épaisseur de sol de 1 cm au collet des plantules. Le régime de température est alors augmenté à 20°C nuit/25°C jour. Des notations sont réalisées régulièrement à partir du troisième jour après le semis, et pendant une dizaine de jours. Les plantules vivantes et mortes sont dénombrées et les plantules mortes sont enlevées.

A

B

C

Planche photos 4
Essai biologique de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *Rhizoctonia solani*
A-Vue d'ensemble de la chambre climatisée, B-Détail sur les pots après inoculation,
C-Plantules mortes.
Source C. Janvier

IV.2.2 / Préparation des inoculum et mélanges sol/inoculum

Pour préparer l'inoculum, la souche de *R. solani* utilisée est la souche Rh30, isolée à l'INRA de Rennes à partir de symptômes sur carotte. Elle appartient au groupe d'anastomose AG 2-2 et provoque des fontes de semis sur plantules et des nécroses sur racines.

L'inoculum utilisé pour les essais biologiques est préparé dans du sable désinfecté par autoclavage (3 fois 1 h à 110°C, à 24 h d'intervalle) additionné d'extrait de malt stérilisé (pour 500 g de sable, 15 g d'extrait de malt et 65 ml d'eau). Des explants de culture de *R. solani* sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar, minimum 10 jours de culture) sont utilisés pour inoculer le support sable/malt. Après 4 semaines d'incubation à 25°C, avec agitation régulière, les inoculums ainsi préparés peuvent être utilisés. Un nouvel inoculum est réalisé pour chaque essai.

Deux doses d'inoculum sont testées dans l'essai de réceptivité : 1/30 et 1/300 (volume d'inoculum sable/volume final apporté au collet). L'inoculum sable est mélangé au sol à tester par agitation 5 min dans un mélangeur tridimensionnel (Turbula T10B, WAB, Basel, Switzerland). La dose 1/300 est réalisée par dilution au 1/10ème du mélange 1/30, et agitation. Chaque mélange a un volume final de 60 ml et permet d'inoculer un pot de plantules. Pour chacun des 33 échantillons, 3 répétitions indépendantes de chaque dose sont réalisées. Un pot est également inoculé avec chacun des échantillons de sol, sans addition d'inoculum. Des témoins sont réalisés avec du sol désinfecté.

V / Analyse des données

V.1 / Analyses de variance

Pour certaines variables, des analyses de variance (ANOVA) sont réalisées en prenant la sous-parcelle d'origine et/ou la date de prélèvement comme variables qualitatives indépendantes. Dans ce cas, chaque échantillon est considéré comme une répétition au sein de chaque sous-parcelle. Si un effet statistique du traitement est mis en évidence ($p<0.05$), des analyses *a posteriori* (Student-Newman et Keuls) permettent d'identifier les différences significatives. Ces analyses sont réalisées avec le logiciel XLStat Pro (version 7.5, AddinSoft®).

V.2 / Préparation des tableaux de données

Les données mesurées sont réparties en différents tableaux de données. Un premier tableau rassemble les données physico-chimiques. Un second tableau est constitué avec les données biologiques, à savoir les densités de bactéries et champignons cultivables, la mesure de biomasse microbienne et les mesures de respiration. Les résultats des essais biologiques sont aussi être intégrés dans ce tableau. Les données de dénombrement des nématodes phytoparasites sont analysées séparément. Enfin, les données de T-RFLP sont traitées séparément, en deux jeux de données, pour les communautés bactériennes et fongiques. Les données peuvent être rassemblées par date de prélèvement, par année, ou sur l'ensemble des deux années de suivi.

V.3 / Analyses en composantes principales

Les données sont analysées par analyse en composantes principales (ACP) avec le logiciel ADE4 (Thioulouse *et al*., 1997). Cette méthode d'analyse assure la transformation linéaire d'un jeu initial de variables en un jeu bien plus restreint de variables indépendantes/non corrélées, appelées composantes principales. La plus grande partie de la variabilité des données de départ est conservée sur les premières composantes principales. Cette caractéristique assure que les sorties graphiques, ou plans factoriels, représentent le mieux les données initiales. L'ACP permet aussi de représenter les variables dans le plan factoriel ou sur un cercle de corrélation, afin de voir quelles variables contribuent le plus à la discrimination entre les points, et quelles variables sont corrélées entre elles.
Selon le type de données, les ACP sont réalisées sur des matrices de corrélation ou de covariance. L'ACP sur matrice de covariance est utilisée pour les tables dans lesquelles toutes les données sont exprimées dans une même unité. Dans notre cas, il s'agit des tableaux de données de T-RFLP, puisque les valeurs prises par les variables sont exprimées en pourcentages, et des tableaux de données de dénombrements spécifiques de nématodes, qui sont transformées par log (x+1). Pour les données physico-chimiques et les autres données biologiques intégrées dans un même tableau, l'ACP se fait sur matrice de corrélation.

La signification des structures mises en évidence par l'ACP est testée par des tests de Monte Carlo. Ce test consiste en des permutations aléatoires (1000) au sein des données : les valeurs des variables pour un échantillon sont affectées à un autre échantillon. Pour chaque observation, la statistique de test est calculée, et on en obtient une distribution. La valeur de la statistique de test est aussi calculée pour le jeu de données réel. Si cette valeur se place dans la distribution, il n'y a pas de raison que la structure ne soit pas due au hasard. Si au contraire elle est extrême par rapport à la distribution, alors cette structure n'est pas due au hasard.
Lorsque les tests de Monte-Carlo mettent en évidence une structure significative, des ACP inter-classes peuvent être réalisées (Dolédec et Chessel, 1987; Dolédec et Chessel, 1989; Culhane, 2002). Dans ce type d'analyse, les échantillons sont répartis en classes (par exemple, les différentes sous-parcelles à plusieurs dates). L'ACP est réalisée non pas en prenant en compte tous les échantillons, mais "l'échantillon moyen" de chaque classe. Sur le plan factoriel, ce sont ces points moyens qui sont projetés. Les échantillons sont projetés *a posteriori*.

V.4 / Représentation spatiale des résultats

Le logiciel ADE4 permet une spatialisation des résultats, grâce à un module de cartographie dans lequel le plan de la parcelle et la position de chaque point de prélèvement peuvent être intégrés.
Pour décrire les résultats, la même représentation graphique a été utilisée pour les coordonnées factorielles provenant des ACP et les valeurs réelles prises par les différentes variables. Cependant, à cause des différences d'unité entre les variables, les valeurs réelles ont été normées, c'est à dire centrées (soustraction de la moyenne) puis réduites (division par l'écart type). Pour chaque variable ou coordonnée factorielle prise individuellement, la valeur prise en chaque point est projetée sur ce plan de la parcelle. Les carrés représentent les valeurs négatives et les ronds, les valeurs positives. La taille du symbole est proportionnelle à la distance à la moyenne. Un exemple d'une telle représentation est présenté en figure 5.
Cette étape de représentation graphique permet de mettre en évidence l'hétérogénéité des valeurs prises par les variables sur la parcelle, au cours de la saison culturale, et l'éventuel effet des traitements.

Chapitre 3 : Variabilité spatio-temporelle des descripteurs du sol dans une parcelle expérimentale et effets d'un apport d'amendement organique et d'une biodésinfection : résultats et discussions

VARIABILITE SPATIO-TEMPORELLE DES DESCRIPTEURS DU SOL DANS UNE PARCELLE EXPERIMENTALE ET EFFETS D'UN APPORT D'AMENDEMENT ORGANIQUE ET D'UNE BIODESINFECTION RESULTATS ET DISCUSSIONS ***69***

I / Caractéristiques abiotiques : résultats et discussion **69**
I.1 / Granulométrie et densité apparente 69
I.2 / Caractéristiques chimiques 69
I.3 / Suivi du sol pendant la biodésinfection 71
I.4 / Discussion 72

II / Caractéristiques biotiques **73**
II.1 / Analyses quantitatives 73
II.1.1 / Biomasse microbienne 73
II.1.2 / Densités de microorganismes 74
II.1.3 / Densités de nématodes 74
II.1.4 / Activité microbienne 75
II.1.5 / Analyses quantitatives : discussion 75
II.2 / Analyse qualitative : diversité des communautés de nematodes 78
II.2.1 / Résultats 78
II.2.2 / Discussion 79
II.3 / Structure des communautés microbiennes 80
II.3.1 / Extraction d'ADN, PCR et T-RFLP sur communautés totales 80
II.3.2 / Structure des communautés bactériennes : analyse de T-RFLP 16S 80
II.3.3 / Structure des communautés fongiques : analyse de T-RFLP 18S 81
II.3.4 / Structure des communautés microbiennes : discussion 82
II.3.5 / Structure moléculaire des communautés microbiennes : discussion méthodologique 85

III / Caractéristiques phytosanitaires **87**
III.1 / Notations à la récolte 87
III.2 / Essais biologiques de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *Rhizoctonia solani* 88
III.3 / Analyse en composantes principales de l'ensemble des données biologiques 88
III.4 / Discussion 90

IV / Discussion générale **91**
IV.1 / Variabilité spatio-temporelle des caractéristiques abiotiques et biotiques 91
IV.2 / Effet des amendements organiques sur les caractéristiques abiotiques et biotiques 93
IV.2.1 / Absence d'effet de l'apport de fumier composté dans notre étude 93
IV.2.2 / Amendements organiques et maladies 94
IV.2.3 / Amendements organiques et caractéristiques microbiologiques 95
IV.3 / Effet de la biodésinfection sur les caractéristiques abiotiques et biotiques 97
IV.3.1 / Modifications quantitatives des caractéristiques biotiques 97
IV.3.2 / Modification des structure de communautés 99
IV.4 / Conclusion 101

VARIABILITE SPATIO-TEMPORELLE DES DESCRIPTEURS DU SOL DANS UNE PARCELLE EXPERIMENTALE ET EFFETS D'UN APPORT D'AMENDEMENT ORGANIQUE ET D'UNE BIODESINFECTION RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans ce chapitre, les résultats sont suivis d'une discussion pour chaque type de données. Une discussion générale est ensuite proposée.

I / Caractéristiques abiotiques : résultats et discussion

I.1 / Granulométrie et densité apparente

Les 63 échantillons de sols analysés ont une teneur en argiles comprise entre 10,4 et 19,9%, en limons comprise entre 18 et 30,7% et en sables comprise entre 51,1 et 70,9% (cf. annexe 3). Hormis 4 échantillons classés en texture limoneuse, toute la parcelle est limono-sableuse (d'après le triangle des textures du Soil Survey Manual, 1951 dans Soltner, 1982).
L'hétérogénéité Nord-Sud est remarquable pour tous ces facteurs texturaux, excepté pour les limons grossiers. Le Nord de la parcelle est caractérisé par des textures fines et le Sud par des textures grossières (Figure 6). La zone Nord-Est se différencie par des teneurs plus élevées en limons fins et en argiles et des teneurs moins élevées en sables grossiers, par rapport au reste de la parcelle.
La gamme de variation de la densité apparente est similaire à chaque date de prélèvement. La densité apparente du sol est comprise entre 1,43 et 1,78, avec une valeur moyenne de 1,56. La densité apparente est hétérogène dans la parcelle, mais sans gradient spatial particulier (Figure 7). Cependant, au temps T2, la densité apparente est plus forte dans la sous-parcelle Té. L'humidité pondérale a une distribution spatiale proche de celle de la granulométrie (Figure 7). Le coin Nord-Est se différencie clairement du reste de la parcelle, avec une humidité pondérale des échantillons plus importante.

I.2 / Caractéristiques chimiques

Les résultats des analyses chimiques réalisées au laboratoire d'analyse des sols d'Arras sont présentés en annexe 3.
Les mesures réalisées au temps T0 en 2004 et la représentation spatiale des valeurs centrées réduites prises par chaque variable sur le plan de la parcelle permettent de caractériser l'état initial de la parcelle (Figure 8). Il ressort de ces représentations que la parcelle n'est pas homogène pour un certain nombre de variables. Cependant, il ne s'agit pas de variations ponctuelles, aléatoires. Il apparaît clairement des gradients dans cette parcelle. Ainsi, la teneur en N total, la CEC et les teneurs en ions Ca^{2+}, Mg^{2+} et Na^{+} sont plus élevées dans la zone Nord-Est (moitié supérieure des futures sous-parcelles MO et Bd). La teneur en Cu est plus élevée au Sud qu'au Nord de la parcelle, et plus faible à l'Ouest et à l'Est qu'au centre. Le gradient Nord-Sud est surtout marqué dans la (future) sous-parcelle Té. La teneur en Fe est plus forte à l'Ouest qu'à l'Est de la parcelle. La distribution spatiale des variables chimiques

est similaire en 2004 et en 2005, mais la variabilité spatiale s'estompe (données non représentées).
Les données de granulométrie étant disponibles uniquement pour les échantillons prélevés au temps T0 de 2005, une ACP a été réalisée avec l'ensemble des données physico-chimiques pour les échantillons prélevés à cette date (figure non présentée). Cette ACP indique que les deux premiers facteurs de l'analyse représentent 55,47% de la variance des données. Les valeurs factorielles des échantillons de la zone Nord-Est sont situées dans les fortes valeurs positives de F1. L'analyse du cercle de corrélation indique que les variables teneur en argile et en limons fins, CEC et teneurs en Ca^{2+} et Mg^{2+} sont significativement corrélées à F1 (valeurs positives). Les teneurs en C org et N tot sont aussi associées aux valeurs positives de F1. Les teneurs en Fe, Cu et Zn sont associées aux valeurs négatives de F2.

L'ACP inter-classes réalisée sur les données relatives aux échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles Té, MO et Bd à T0, T1 et T2 en 2004 indique que les deux premiers facteurs (F1 et F2) de l'analyse représentent 82,71% de la variance des données (Figure 9). A T0, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles Té, MO et Bd sont proches des valeurs nulles de F1. Celles de Té sont situées dans les valeurs positives de F2, alors que celles de MO et Bd sont proches des valeurs nulles de F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons dans chacune des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs positives de F1, de manière plus importante pour MO et Bd, sans distinction entre elles, que pour Té. A T2, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs négatives de F1. La projection des valeurs factorielles des sous-parcelles MO et Bd est identique à T0, T1 et T2 selon F2.
L'analyse du cercle de corrélation des variables indique que les variables Mn^{2+}, K^{+}, Mn, Na^{+}, Mg^{2+}, C org et N tot sont significativement corrélées à F1 (valeurs positives). Fe et P sont corrélés aux valeurs positives de F2, et la CEC est corrélée aux valeurs négatives de F2.

La même analyse ACP inter-classes réalisée sur les données récoltées en 2005 indique que les deux premiers facteurs de l'analyse représentent 78,01% de la variance des données (Figure 10). A T0, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans la sous-parcelle Bd sont proches des valeurs nulles de F1, alors que celles des échantillons prélevés dans les sous-parcelles Té et MO sont respectivement situées dans les valeurs négatives et positives de F1. Pour les trois sous-parcelles, les valeurs factorielles sont toutes situées dans les valeurs négatives de F2. A T1 et selon F1, seules les valeurs factorielles des échantillons prélevés sur Bd sont déplacées vers les valeurs positives de F1. Les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans Té et MO ne varient pas selon ce facteur. A cette date, seules les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans MO sont déplacées vers les valeurs positives de F2. En revanche, à T2, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles Té, MO et Bd sont situées dans les valeurs négatives de F1 et sont toutes déplacées vers les valeurs positives de F2.
L'analyse du cercle de corrélation des variables analysées en 2005 indique une distribution des variables selon F1 et F2 proche de celle des variables analysées en 2004. La variable Fe est corrélée avec les valeurs négatives de F1.

Enfin, l'analyse ACP réalisée sur les données récoltées en 2004 et 2005 indique que les deux premiers facteurs de l'analyse représentent 66,15% de la variance des données (Figure 11). Cette analyse distingue les valeurs factorielles des données récoltées dans la sous-parcelle Té (situées dans les valeurs positives de F2) de celles récoltées dans les sous-parcelles MO et Bd (situées majoritairement dans les valeurs négatives de F2). Le facteur F1 représente un facteur temporel. Sa contribution n'est significative pour les valeurs des données récoltées sur la sous-

parcelle Té qu'entre les dates T1 et T2 de chacune des deux années. En revanche, sa contribution est significative pour les valeurs des données récoltées sur les sous-parcelles MO et Bd entre les dates T0 et T1 (déplacement vers les valeurs positives de F1) et entre T1 et T2 (déplacement vers les valeurs négatives de F1).
L'analyse du cercle de corrélation des variables chimiques mesurées en 2004 et 2005 indique une distribution des variables selon F1 et F2 identique à celle des variables analysées chaque année.

I.3 / Suivi du sol pendant la biodésinfection

Dans les heures qui suivent le bâchage de la sous-parcelle Bd, l'augmentation de la teneur en dioxyde de carbone dans l'atmosphère du sol, à 10 cm de profondeur, est très importante (Figure 12). En 2004, la teneur en dioxyde de carbone reste supérieure à 15% pendant 6 jours, puis elle diminue. Elle reste supérieure à 10% pendant les 6 jours suivants, puis continue à descendre mais ne descend jamais sous les 3%. Au contraire, à 10 cm sous le sol nu, la teneur en dioxyde de carbone ne dépasse pas 2,3%. Parallèlement, la teneur en dioxygène dans le sol de la sous-parcelle Bd diminue fortement, et reste inférieure à 5% pendant 7 jours. Elle augmente ensuite, mais reste entre 15 et 17%. Sous le sol nu, la teneur en oxygène est de 20%.
En 2005, la teneur en dioxyde de carbone reste supérieure à 10% pendant 12 jours dans le sol de la sous-parcelle Bd, puis elle varie de façon assez irrégulière. Elle reste cependant toujours supérieure à 7%, alors que sous le sol témoin, elle est autour de 5%. La teneur en dioxygène diminue suite au bâchage, et reste inférieure à 10% pendant 11 jours. Ensuite, elle oscille, mais reste toujours inférieure à 15%. Sous le sol témoin, la teneur en dioxygène est comprise entre 15 et 18%.

La biodésinfection augmente la part d'azote ammoniacal du sol (Figure 13). En 2004, avant le broyage et l'enfouissement du radis fourrager, la part d'azote ammoniacal dans le sol de la sous-parcelle Bd est cinq fois plus élevée que dans les autres sous-parcelles. En 2004 comme en 2005, le bâchage de la sous-parcelle après enfouissement du radis broyé entraîne une augmentation de la part d'azote ammoniacal dans le sol. Elle atteint près de 70% une semaine après le bâchage. Ensuite, elle diminue, mais reste toujours supérieure à 40%. Pendant la même période, dans les sous-parcelles Té et MO, la part d'azote ammoniacal du sol ne dépasse pas 10%. Après le débâchage, la part d'azote ammoniacal dans le sol de la sous-parcelle Bd retombe à 20%.

Le bâchage de la sous-parcelle Bd entraîne une élévation de la température dans le sol (Figure14). En 2004, la température extérieure moyenne, à la surface du sol, varie entre 17 et 30°C. La température moyenne à 10 cm sous la bâche varie entre 25 et 40°C. En moyenne, sur toute la période de bâchage, l'écart est de 8,7°C. Pour les températures maximales, l'écart est de 12,5°C en moyenne. La température maximale relevée à 10 cm sous la bâche est de 64°C.
En 2005, la température moyenne à 10 cm sous la bâche varie également entre 25 et 40°C. A la surface du sol, ou à 10 cm de profondeur sous le sol témoin, elle varie entre 20 et un peu plus de 30°C. Cela représente un écart de 6°C en moyenne sur toute la période. Pour les températures maximales, elles atteignent 71°C à 10 cm sous la bâche, 52°C à l'extérieur, et 45°C sous le sol témoin. L'écart est de 26°C en moyenne, à 10 cm de profondeur, entre le sol bâché et le sol témoin. L'écart est de 17,6°C en moyenne entre le sol bâché à 10 cm de profondeur et la surface extérieure.

I.4 / Discussion

La parcelle est globalement limono-sableuse, mais plus limoneuse dans sa partie Nord-Est qu'ailleurs. Cette situation ne semble pas affecter la densité apparente du sol, comprise entre 1,4 et 1,8, ce qui correspond à des valeurs relativement élevées, mais caractéristiques de ce type de sol. Cette partie Nord-Est se distingue également pour l'indice d'eau qui y est plus élevé, et pour les composantes de sa texture : teneurs plus élevées en limons fins et en argile et des teneurs moins élevées en sables grossiers. Ceci est cohérent avec une plus grande capacité de rétention de l'eau et donc un plus fort indice d'eau.
Les analyses de sols ont montré une assez grande hétérogénéité de certaines caractéristiques chimiques dans la parcelle, et ce avant la mise en place des traitements. Cette hétérogénéité se traduit principalement par l'existence de deux gradients, l'un Nord-Sud, et l'autre Est-Ouest. L'approche multivariée utilisée dans cette étude permet de ne pas rejeter *a priori* cette hétérogénéité, voire même de s'en servir pour comprendre les modifications de certains descripteurs mises en évidence.
Les analyses ACP montrent clairement la succession de trois phénomènes distincts et leurs effets directs sur les caractéristiques chimiques du sol : l'apport de matière organique et le type d'apport (variation entre T0 et T1 de chaque année), la culture de la carotte (variation entre T1 et T2 de chaque année), et le repos de la parcelle (variation entre T2 2004 et T0 2005).
L'effet prépondérant (facteur F1 des ACPs) des apports de matière organique est une augmentation des teneurs en C et N dans le sol. En outre, la complexion de la fraction humique apportée est d'autant plus forte dans les zones les plus argileuses de la parcelle, ce qui se traduit par une rétention accrue des cations bivalents Ca^{2+} et Mg^{2+} sur les feuillets argileux et un accroissement de la capacité d'échange cationique (CEC). Plus secondairement, ces apports se traduisent par un accroissement de la teneur de certains ions (K^{+} et Mn^{+} principalement). Enfin (facteur F2 des ACPs), ils complémentent le sol en oligo-éléments (Cu et Fe). Il est intéressant de remarquer que si les deux amendements organiques ont eu des effets identiques en 2004, l'effet du fumier composté (MO) a été plus "minéral" (ions) qu'"organique" (C et N) à l'inverse de celui obtenu avec le radis fourrager (Bd) en 2005.
La culture de la carotte se traduit surtout par une diminution des teneurs en matière organique quel que soit le type d'apport en matière organique (MO et Bd), et que le sol ait été amendé ou non (Té). Ceci s'accompagne par une baisse sévère du fonctionnement du complexe argilo-humique (chute de la CEC et des cations bivalents), ainsi que de la teneur des autres ions (K^{+}, Mn^{++}). Il est en outre remarquable de constater que, chaque année, le solde fertilisant est négatif puisque l'épuisement du sol par la culture de carotte est supérieur à l'enrichissement par les amendements organiques. Par conséquent, si l'amendement organique pratiqué en 2005 peut compenser le solde négatif 2004, cet épuisement est cumulatif dans le cas d'une culture non amendée (valeurs factorielles plus négatives en 2005 qu'en 2004 dans la sous-parcelle Té).
Quelle que soit la sous-parcelle (Té, MO ou Bd), on observe un accroissement des facteurs physicochimiques les plus significatifs entre les dates T2 2004 et T0 2005. Cet effet "repos du sol" est confirmé par le même accroissement constaté dans la sous-parcelle Té entre les dates T0 et T1 2004, mais qui n'a pas lieu entre les dates T0 et T1 2005, à cause certainement de l'épuisement du sol dû à la première culture de carotte.

Lors de la période de bâchage, un suivi spécifique de la température et de la composition de l'atmosphère du sol a été réalisé dans la sous-parcelle biodésinfectée. Les températures sous la

bâche sont plus élevées en 2005 qu'en 2004. En 2004, la température maximale ne dépasse 50°C que 4 fois, alors qu'en 2005, elle est toujours supérieure à 50°C. De la même façon, la température moyenne est rarement supérieure à 30°C en 2004, alors qu'en 2005 elle oscille la plupart du temps entre 30 et 40°C. Pour la composition de l'atmosphère, les différences sont beaucoup moins marquées entre les 2 années. En 2005, les variations sont importantes pendant la période de bâchage. Cela pourrait provenir de dégâts sur la bâche. L'atmosphère du sol n'est alors plus confinée, et un certain équilibre se rétablit avec l'atmosphère extérieure. La biodésinfection entraine aussi une augmentation forte de la part d'azote ammoniacal dans le sol.

II / Caractéristiques biotiques

II.1 / Analyses quantitatives

II.1.1 / Biomasse microbienne

La MOV (Matière Organique Vivante), calculée à partir des mesures de carbone microbien par la méthode de fumigation-extraction, varie dans notre étude (2004 et 2005) entre 90 et 140 mg de C / kg de sol sec (Annexe 4).

En 2004 (Figure 15), l'analyse de variance montre un effet du traitement (p=0,007) uniquement au temps T1. La MOV est significativement plus forte dans les échantillons de la sous-parcelle Bd. Globalement, les variations saisonnières sont aussi faibles.

En 2005 (Figure 16), l'analyse de variance montre un effet du traitement au temps T1 (p=0,034) et au temps T2 (p=0,049). A T1, la MOV est significativement plus importante dans les échantillons de la sous-parcelle Bd, comparés à ceux de Té. La situation des échantillons de la sous-parcelle MO est intermédiaire. Au temps T2, la MOV est significativement plus forte dans les échantillons des sous-parcelles MO et Bd comparés à ceux de Té.

Les résultats de mesure de biomasse microbienne peuvent aussi être exprimés en % de la masse de carbone organique total (MOV%Ct). Ceci permet d'avoir une indication sur la "destination" des amendements organiques. Les matières organiques peuvent stimuler la biomasse, et donc augmenter la MOV, ou bien alimenter directement le stock du sol. La projection des valeurs sur le plan de la parcelle permet d'avoir une représentation de la variabilité de ce paramètre. Pour mesurer l'effet des traitements, des analyses de variance ont été réalisées.

En 2004, les analyses ont été réalisées sur les 21 points de chaque sous-parcelle. A T0, on observe une hétérogénéité spatiale avec un gradient vers l'ouest de valeurs plus faibles (Figure 15). Cette hétérogénéité est confirmée par l'analyse de variance (p=0,029). Au temps T1, après le débâchage de la sous-parcelle Bd, les valeurs de MOV%Ct sont significativement (p=0,001) plus fortes dans les échantillons des sous-parcelles Té et Bd par rapport à la sous-parcelle MO (Figure 15). Au temps T2, les valeurs sont significativement plus fortes dans la sous-parcelle Té que dans la sous-parcelle MO, la sous-parcelle Bd présentant des valeurs intermédiaires. Globalement, entre T0 et T1, alors que les traitements ont été mis en place, les valeurs de MOV%Ct diminuent, sauf pour la sous-parcelle Bd. Entre T1 et T2, pendant la culture de carottes, les valeurs de MOV%Ct augmentent, surtout dans les sous-parcelles Té et MO.

En 2005, les résultats sont beaucoup moins nets. L'hétérogénéité des résultats obtenus pour des échantillons d'une même sous-parcelle est forte (Figure 16). L'analyse de variance met cependant en évidence un effet du traitement sur la mesure au temps T1 (p=0,016). Les

valeurs de MOV%Ct sont significativement plus faibles dans les échantillons de la sous-parcelle MO que dans les sous-parcelles Té et Bd (Figure 16). Aux autres dates de prélèvement, il n'y a pas d'effet de la sous-parcelle d'origine.

II.1.2 / Densités de microorganismes

Les densités de microorganismes dénombrés dans le sol de la parcelle expérimentale correspondent à des valeurs habituelles pour ce type de sol, de l'ordre de 10^7 CFU/g de sol sec pour les bactéries et 10^5 CFU/g de sol sec pour les champignons (Annexe 5 et Figure 17). L'analyse de variance réalisée sur les données montre un effet significatif du traitement, et de l'interaction date x traitement (Figure 17).

En 2004, au temps T0, les densités de microorganismes sont homogènes dans la parcelle. Il n'y a pas de différence significative entre les trois (futures) sous-parcelles pour les densités de champignons ou de bactéries cultivables. Au temps T1, il y a significativement plus de bactéries dans la sous-parcelle Bd que dans les deux autres sous-parcelles. Par contre, il n'y a pas de différence entre les sous-parcelles Té et MO. Au temps T2, la sous-parcelle MO a une situation intermédiaire entre Té et Bd. Au temps T0 de 2005, il y a significativement plus de bactéries dans les sous-parcelles MO et Bd que dans la sous-parcelle Té. Au temps T1, il y en a significativement plus dans la sous-parcelle Bd, et il n'y a pas de différence entre Té et MO. Enfin, au temps T2, la parcelle retourne à une certaine homogénéité. Il n'y a pas de différence entre les densités de bactéries dans les trois sous-parcelles.

Pour les champignons, la situation est identique à celle des bactéries au temps T1. Et cette situation perdure au temps T2. Il y a significativement plus de champignons dans la sous-parcelle biodésinfectée que dans les deux autres sous-parcelles. Les différences mises en évidence en 2004 à T1 et T2 persistent en 2005. A toutes les dates de prélèvement, il y a significativement plus de champignons dans le sol biodésinfecté.

Lors des dénombrements de champignons des échantillons de sols prélevés au temps T1, en 2004 comme en 2005, la présence d'une population spécifique a été observée dans les échantillons biodésinfectés. Il n'y a pas eu, à ce moment là, de dénombrement spécifique de cette population. Cependant, on peut dire qu'elle était largement prédominante par sa fréquence dans les échantillons biodésinfectés par rapport aux autres, et par sa densité dans ces échantillons. Une étude plus précise de cette population a été mise en place. Ce travail est décrit dans le chapitre 5.

II.1.3 / Densités de nématodes

Lors des deux années de suivi de la parcelle, 15 espèces de nématodes phytoparasites ont été identifiées. Le détail est présenté dans la table 5 et en annexe 6. Notons que deux espèces dangereuses pour la culture de la carotte sont présentes sur la parcelle : *Pratylenchus penetrans* et *Trichodorus primitivus*. Les densités de nématodes phytoparasites varient entre 0 et 2480 nématodes/dm^3, selon les espèces, les prélèvements et les sous-parcelles. Ces valeurs sont assez faibles pour un sol cultivé, et très faibles comparées à celles retrouvées dans des sols cultivés ou en jachère de la zone soudano-sahélienne (Cadet *et al*., 2003 ; Cadet *et al*., 2005). Les nématodes libres ont aussi été dénombrés.

Une ANOVA a été réalisée en prenant en compte la densité totale de nématodes, phytoparasites et libres. Cette analyse montre un effet des traitements, de la date de prélèvement et de l'interaction traitement x date (Figure 18).

Globalement, il y a significativement plus de nématodes dans le sol témoin que dans le sol biodésinfecté. Le sol ayant reçu le fumier composté présente des densités intermédiaires.

Concernant la période de prélèvement, il y a significativement moins de nématodes à T1 par rapport à T0 et T2, pour les deux années. Lorsqu'on compare les deux années, il y a significativement moins de nématodes à T1 2004 comparé à T1 2005.

Lorsqu'on compare les traitements pour chaque date séparément, au temps T2 de 2004, il y a significativement moins de nématodes dans les sous-parcelles Té et MO comparées à la sous-parcelle Bd. Au temps T1 de 2005, il y a significativement plus de nématodes dans la sous-parcelle témoin, par rapport à la parcelle MO, puis par rapport à la sous-parcelle Bd.

II.1.4 / Activité microbienne

Les mesures de respiration ont été analysées séparément pour les différentes périodes d'échantillonnage, 0-3 et 3-8 heures en 2004, 0-3, 3-5 et 5-8 heures en 2005. Il faut noter qu'une grande hétérogénéité existe dans ces mesures (Annexe 7).

En 2004, l'ANOVA montre un effet du traitement, de la date de prélèvement et de l'interaction de ces deux facteurs (Figure 19). Globalement, l'activité microbienne est significativement plus faible à T2 et significativement plus forte à T1. Pour la période 0-3 heures, il y a significativement plus de CO_2 produit dans les sols biodésinfectés, et pas de différence entre les sols Té et MO. Pour la période 3-8, la production de CO_2 est significativement plus forte dans la sous-parcelle Bd que dans la sous-parcelle MO. La sous-parcelle Té a une activité microbienne intermédiaire.

Les résultats sont ensuite analysés séparément pour chaque date de prélèvement. Les résultats sont identiques pour les deux périodes, 0-3 et 3-8 heures. Sur les prélèvements T0, l'activité est semblable dans toute la parcelle. Sur les prélèvements T1, la production de CO_2 est significativement plus importante dans les échantillons de la sous-parcelle Bd. Il n'y a pas de différence entre les sols Té et MO. Au temps T2, il n'y a pas de différence entre les trois sous-sous-parcelles.

En 2005, l'ANOVA montre un effet de la date de prélèvement et de l'interaction date de prélèvement x traitement (Figure 20). Globalement, l'activité microbienne est significativement plus forte à T2.

Sur les prélèvements de T0, sur la période 5-8 heures, la production de CO_2 est significativement plus faible dans le sol de la sous-parcelle Bd. Au temps T1, pour toutes les périodes d'incubation, l'activité est significativement plus forte dans la sous-parcelle Bd. Il n'y a pas de différence entre Té et MO. Au temps T2, pour toutes les périodes de prélèvement, il n'y a pas de différence entre les 3 sous-parcelles.

II.1.5 / Analyses quantitatives : discussion

La biomasse microbienne est un indicateur de la qualité des sols proposé par Jenkinson en 1966. La méthode pour la mesurer est biocide et permet d'estimer la fraction vivante de la matière organique du sol. Ainsi, le terme de biomasse microbienne, ou taille du "pool" microbien, est un terme qui semble inapproprié. En effet, la fumigation au chloroforme rend disponible non seulement le carbone microbien, c'est-à-dire, littéralement, le carbone des microorganismes, mais aussi celui du reste de la microflore, des algues et de la microfaune (protozoaires, nématodes, etc.). Nous parlerons donc plutôt de matière organique vivante, ou MOV.

Les matières organiques du sol influent sur la MOV, et en général ces deux mesures sont fortement corrélées (Lemaître *et al.*, 1995 ; Vian, 2005). En effet, les matières organiques sont une source d'énergie pour les organismes vivants du sol. Ceux-ci sont responsables de la transformation des matières organiques du sol : ils digèrent les résidus, participent à la fabrication de l'humus, libèrent des éléments minéraux, etc.

Les valeurs de MOV obtenues dans notre étude sont faibles (90 à 140 mg de C / kg de sol sec) au regard de la littérature. Dans les travaux cités en références, les valeurs s'échelonnent entre 100 et presque 500 mg de C / kg de sol sec, à une exception près (Yao *et al.*, 2000 ; Garcia-Gil *et al.*, 2004 ; Biederbeck *et al.*, 2005 ; Collins *et al.*, 2006 ; Ros *et al.*, 2006). Dans notre cas, les sols ont été tamisés à 2 mm avant analyse, ce qui pourrait expliquer les faibles valeurs

obtenues. Ce tamisage détruit certains agrégats. Des microorganismes peuvent ainsi être remis en activité. Mais s'ils ne trouvent pas de support ou de ressources pour se développer, ils peuvent rapidement mourir, et ainsi, ils ne sont pas pris en compte dans la fraction vivante du C microbien. Par ailleurs, les sols n'étant pas forcément prélevés, tamisés, conservés puis manipulés avant analyse de façon similaire, il est très difficile de comparer des résultats issus de différentes études entre eux.

Les résultats ont aussi été exploités en MOV%Ct, c'est-à-dire en exprimant la part de matière organique vivante dans le stock total de carbone organique du sol. Ce paramètre permet d'évaluer l'évolution du système, puisqu'il donne une indication sur la "destination" de la matière organique : alimenter la MOV ou directement le stock de matière organique du sol. De plus, selon la nature de l'amendement organique, le "pool" vivant est plus ou moins bien alimenté.

En 2004, la MOV%Ct n'était pas homogène sur l'ensemble de la parcelle au moment de la mise en place de l'essai. Malgré cela, des évolutions liées aux différents traitements peuvent être mises en évidence. L'augmentation importante dans la sous-parcelle biodésinfectée montre que l'apport de matière organique sous forme de tissus frais broyés a constitué une ressource exploitable par la biomasse, qui a pu se développer. A l'inverse, l'apport de fumier de bovin composté dans la sous-parcelle MO n'a pas entraîné d'augmentation semblable du MOV%Ct. Ceci indique que cet apport a surtout contribué à augmenter le stock de carbone organique total. L'augmentation du rapport MOV%Ct entre T1 et T2 peut correspondre à une augmentation de la biomasse microbienne, stimulée par la culture de carottes. Les exsudats racinaires et les rhizodépôts libérés par les plantes en croissance sont particulièrement favorables aux microorganismes.

En 2005, les évolutions ont été beaucoup moins marquées, et ceci malgré l'apport renouvelé de matière organique dans les sous-parcelles MO et Bd. On retrouve cependant le même phénomène au temps T1, à savoir que le fumier composté n'est pas une source trophique très efficace pour les microorganismes.

La méthode de dénombrement des flores totales bactériennes et fongiques sur milieu gélosé peu spécifique après mise en suspension et dilution du sol est utilisée depuis de très nombreuses années (Winogradski, 1949). Elle est biaisée, en ce qu'elle ne prend en compte que la part facilement cultivable des microorganismes du sol, qui ne représente que 0.1 à 1% de la microflore totale (Torsvik *et al.*, 1990a et b). De plus, au sein de cette microflore cultivable, les espèces à croissance rapide et dont la température optimale de croissance se situe autour de 25°C sont favorisées. Cependant, cette méthode permet toujours d'obtenir des résultats reproductibles et fiables, donnant une information globale sur les densités de champignons et de bactéries dans les sols. Elle a aussi l'avantage, par rapport aux méthodes moléculaires appliquées directement à l'ADN du sol, de permettre de disposer des microorganismes et de les isoler. Les hypothèses relatives au fonctionnement du système peuvent aussi être testées. Ainsi, il a été possible de mettre en évidence la population fongique préférentiellement associée aux sols biodésinfectés.

Seule la biodésinfection a eu un effet sur les densités microbiennes. L'apport de matière organique fraîche et les conditions environnementales pendant la biodésinfection ont favorisé le développement microbien. Ceci est en accord avec de nombreuses études ayant mis en évidence un effet bénéfique des apports organiques sur la flore totale. Par contre, il n'y a que peu de différence entre les traitements Té et MO. La microflore a donc réagi différemment aux deux types d'apport organique. Le fumier composté, dans un état d'évolution avancé, est plus difficilement dégradable par les microorganismes qui ne possèdent pas l'équipement enzymatique adapté. Les hydrates de carbone facilement utilisables ont été consommés lors du compostage. Seules les molécules complexes, dont certaines présentent un cycle

aromatique, résistent au compostage. Au contraire, le radis broyé constitue un bon support de développement, car des molécules simples, facilement utilisables, sont encore disponibles.
Les champignons et les bactéries n'ont pas répondu de la même façon à la biodésinfection. Les densités fongiques augmentent après l'enfouissement du radis broyé et le bâchage. Cette différence persiste au cours du temps, même après la culture de carottes et la période hivernale. La pratique a donc un effet à long terme, il n'y a pas de résilience pendant la période d'étude. Après une deuxième période de repos de la parcelle, une analyse a été réalisée sur des échantillons prélevés au printemps 2006 (T0 2006). Elle montre toujours des densités fongiques plus importantes dans la sous-parcelle ayant été biodésinfectée. Au contraire, l'augmentation des densités bactériennes dans le sol après la biodésinfection est temporaire. Après la première culture de carottes, à T2 2004, puis après la période hivernale, à T0 2005, il n'y a plus de différence entre Bd et MO. En 2005 à T2 (et à T0 en 2006), il n'y a plus aucun effet du traitement. Les densités bactériennes retournent donc rapidement à la situation initiale.

Les résultats obtenus par la mesure de la biomasse microbienne sont cohérents avec les valeurs de dénombrements sur milieu gélosé. La biodésinfection augmente les densités de microorganismes cultivables et la MOV%Ct. L'apport de matière organique fraîche a stimulé le développement des microorganismes. Mais cet effet n'est que transitoire puisqu'il n'est plus détecté à la fin de la culture de carottes. L'apport de matière organique compostée, au contraire, ne stimule pas la croissance des microorganismes, il n'y a pas d'augmentation de la MOV, ni des densités de microorganismes, par rapport à la sous-parcelle témoin. La matière organique, déjà bien décomposée, a directement enrichi le stock du sol.
On peut s'attendre à une MOV faible étant données les densités microbiennes qui ne sont pas très élevées. Certains sols peuvent atteindre 10^{8-9} CFU/g de sol sec pour les bactéries et 10^{6-7} CFU/g de sol sec pour les champignons, en particulier dans les sols riches en matières organiques, les litières et les prairies. Les études de la littérature mentionnent assez peu des sols ayant un historique conventionnel. Il n'y a pas eu beaucoup de stimulation de la microflore dans la parcelle avant la mise en place de ce dispositif. Il apparaît que deux années consécutives d'amendement organique ne suffisent pas à augmenter significativement la MOV. Ainsi, l'augmentation de l'activité dans la sous-parcelle biodésinfectée est temporaire. Il n'y a plus ensuite assez de substrat facilement assimilable. Il faut sûrement plusieurs années de répétition des pratiques, pour que s'installe une MOV plus importante, suite à une adaptation de la microflore.

Concernant les densités globales de nématodes, elles varient en fonction de la date de prélèvement et du traitement appliqué à chaque sous-parcelle. Avant la mise en place de l'expérimentation, la parcelle n'est pas homogène. Ensuite, au temps T1 de 2004, on constate une diminution forte des densités, dans toute la parcelle. Plusieurs auteurs ont déjà montré que les nématodes ne sont pas favorisés par la présence de matière organique dans les sols (Bhosle *et al*., 2006 ; Ferris et Bongers, 2006). Ceci pourrait expliquer les faibles densités retrouvées dans les sous-parcelles MO et Bd. Pour la sous-parcelle Té, il peut s'agir uniquement d'un effet de la saison. Globalement, il y a ensuite plus de nématodes dans toute la parcelle au temps T2 qu'au temps T1. Ceci s'explique par la présence, pendant cette période, de la culture de carotte. Or, tous les nématodes dénombrés sont des phytophages. Ils ont besoin de la plante pour se développer. A l'inverse de la situation initiale, à la fin de la culture de carotte, il y a plus de nématodes dans la sous-parcelle biodésinfectée. Une hypothèse pourrait être que dans les sols biodésinfectés, les carottes se développent mieux, et favorisent la multiplication des nématodes. Puisque les densités de champignons sont plus fortes dans cette sous-parcelle, cela pourrait aussi entraîner une augmentation des densités de nématodes mycophages. Au temps

T1 de 2005, les densités de nématodes sont à nouveau plus faibles dans les deux sous-parcelles ayant reçu de la matière organique.

Les mesures d'activité microbienne sont plus difficiles à interpréter. La mesure de la respiration basale a donné des résultats parfois très variables d'un échantillon à l'autre. Cependant, une tendance se dégage, répétée lors des deux années de mesure. En fin de biodésinfection, l'activité microbienne est plus forte dans la sous-parcelle biodésinfectée. Il n'y a pas de différence entre la sous-parcelle témoin et celle ayant reçu l'apport de fumier composté. Ceci est en accord avec les différences mises en évidence pour les densités de microorganismes cultivables.
Concernant la variabilité temporelle de cette mesure, des résultats opposés sont obtenus en 2004 et 2005. En 2004, c'est au temps T2 que l'activité est la plus faible, alors qu'en 2005, c'est à cette date qu'elle est la plus forte. L'hétérogénéité des mesures mise en évidence ne semble pas provenir d'une structuration au niveau spatial dans la parcelle. Cette variabilité des mesures est sûrement due à la technique de mesure elle-même.
Les mesures de respiration basale peuvent être réalisées avec d'autres techniques, comme la titration acide ou la respirométrie par exemple (Anderson, 1982 ; Watts *et al.*, 1999). En outre, l'activité microbienne peut également être appréhendée par d'autres mesures. L'hydrolyse du FDA (fluorescein diacetate) est une bonne mesure de l'activité microbienne totale, car de nombreuses enzymes présentes chez les bactéries et les champignons sont capables de réaliser cette hydrolyse (Schnürer et Rosswall, 1982 ; Adam et Duncan, 2001). Pour les mesures de respiration, il y a le plus souvent ajout d'un substrat (en général, du glucose). Dans ce cas, c'est une respiration induite qui est mesurée. L'activité microbienne peut aussi être mesurée via des activités enzymatiques spécifiques, comme les activités déshydrogénase, phosphatase ou β-glucosidase (Trasar-Cepada *et al.*, 1998 ; Bandick et Dick, 1999).

II.2 / Analyse qualitative : diversité des communautés de nematodes

II.2.1 / Résultats

L'extraction et le comptage des nématodes, ainsi que la détermination au niveau du genre des nématodes phytoparasites a permis d'étudier les structure et diversité des communautés de nématodes au sein de la parcelle. Les espèces et densités retrouvées sont présentées dans la table 5 et en annexe 6.
Des ACP ont ensuite été réalisées sur les densités de nématodes phytoparasites, afin d'évaluer les modifications de la structure des communautés. Compte tenu des faibles effectifs trouvés, *Filenchus hamuliger* et *Meloidogyne* spp. ne figurent pas dans les ACP.
L'ACP inter-classes réalisée sur les données relatives aux échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles Té, MO et Bd à T0, T1 et T2 en 2004 indique que les deux premiers facteurs de l'analyse représentent 60,54% de la variance des données (Figure 21). A T0, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont proches. Elles sont situées dans les valeurs positives de F1 et dans les valeurs négatives de F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té et MO sont proches, dans les valeurs positives de F1 et de F2. Pour la sous-parcelle Bd, elles sont situées dans les valeurs négatives de F1 et proches des valeurs nulles de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle Té sont proches des valeurs nulles sur F1 et dans les valeurs les plus positives de F2. Les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles MO et Bd sont situées dans les valeurs négatives de F1, surtout pour Bd. Elles sont proches et situées dans les valeurs négatives de F2.

L'analyse du cercle de corrélation des variables indique que les variables densités de *Ditylenchus longimatricalis* et de *Merlinius brevidens* (valeurs positives) et densités de *Trichodorus primitivus*, *Boleodorus thylactus* et *Psilenchus terextremus* (valeurs négatives) sont corrélées à F1. Les variables densités de *Coslenchus andrassyi* et *Aphelenchus avenae* sont corrélées à F2 (valeurs négatives).

La même ACP inter-classes réalisée sur les données récoltées en 2005 indique que les deux premiers facteurs de l'analyse représentent 86,28% de la variance des données (Figure 22). A T0, les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle Té sont situées dans les extrêmes des valeurs positives de F1 et des valeurs négatives de F2. Celles des échantillons de MO et Bd sont situées dans les valeurs positives de F1 et dans les valeurs négatives et positives, respectivement, de F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle Té sont très proches de celles des échantillons de la sous-parcelle MO à T0. Celles des échantillons des sous-parcelles MO et Bd sont proches des valeurs nulles de F1, et des valeurs positives de F2, surtout pour Bd. A T2, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les 3 sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives de F1, sans distinction entre elles. Sur F2, les valeurs factorielles sont très négatives, proches de zéro et positives, respectivement, pour les sous-parcelles Té, MO et Bd.
L'analyse du cercle de corrélation des variables indique que les variables densités d'*A. avenae*, de *Coslenchus rugosus*, de *B. thylactus*, de *P. terextremus* et de *Coslenchus* sp. sont corrélées à F1 (valeurs positives). Les variables densités de *D. longimatricalis* et de *M. brevidens* sont aussi corrélées à F1, mais pour les valeurs négatives. La variable *C. andrassyi* est corrélée à F2 (valeurs négatives).

II.2.2 / Discussion

Tous les nématodes identifiés appartiennent à des genres fréquemment retrouvés dans des sols cultivés. Les densités retrouvées sont assez faibles, pour ce type de sol et de culture. Un point notable est l'hétérogénéité de la distribution des nématodes au sein de la parcelle. Il est arrivé qu'un genre ne soit retrouvé qu'en un seul point de prélèvement sur toute la parcelle. Cette variabilité spatiale de la distribution des nématodes phytoparasites à l'échelle de la parcelle a déjà été mise en évidence (Cadet *et al.*, 2004).
Comme pour les analyses sur les données physico-chimiques, les ACP sur les données relatives aux densités de nématodes phytoparasites montrent la succession de deux phénomènes distincts et leurs effets sur la structure des communautés : l'apport de matière organique (variation entre T0 et T1 de chaque année) et la culture de carotte (variation entre T1 et T2 de chaque année).
En 2004, l'effet prépondérant de l'apport de matière organique concerne la sous-parcelle biodésinfectée, et se traduit par une augmentation des densités de *P. terextremus*, *B. thylactus* et *T. primitivus* (F1 de l'ACP). Cet apport se traduit aussi par une diminution des densités de *C. andrassyi* et *A. avenae* (F2 de l'ACP). En 2005, l'effet des apports de matière organique est pour partie similaire. Les densités d'*A. avenae* et *C. andrassyi* diminuent (F1 et F2 de l'ACP). Mais cet apport se traduit aussi par une diminution des densités de *B. thylactus*, à l'inverse de 2004, et de celles de *C. rugosus*.
L'effet prépondérant de la culture de carotte, en 2004, est une augmentation des densités de *P. terextremus*, *B. thylactus* et *T. primitivus* (F1 de l'ACP). Pour les sous-parcelles préalablement amendées, la culture de carotte se traduit aussi par une diminution des densités d'*A. avenae* et *C. andrassyi* (F2 de l'ACP). En 2005, l'effet prépondérant de la culture de carotte est une augmentation des densités de *D. longimatricalis* et *M. brevidens* (F1 de l'ACP). Comme en 2004, il y a aussi diminution des densités de *C. andrassyi* (F2 de l'ACP).

II.3 / Structure des communautés microbiennes

II.3.1 / Extraction d'ADN, PCR et T-RFLP sur communautés totales

Le protocole d'extraction d'ADN de sol utilisé a permis d'obtenir pour tous les échantillons des suspensions d'ADN suffisamment concentrées et purifiées (de 4 à 36 ng/µl) pour servir de matrice aux amplifications par PCR d'ADNr 16S et 18S. Toutes les PCR 16S ont permis l'amplification de fragments d'environ 1500 pb, conformément à ce qui était attendu. Après purification, les produits de PCR avaient une concentration en ADN suffisante pour réaliser les digestions par une enzyme de restriction.
Toutes les PCR 18S ont permis l'amplification de fragments d'environ 750 pb, conformément à ce qui était attendu. Après purification, les produits de PCR avaient une concentration en ADN suffisante pour réaliser les digestions.
Il a été possible d'obtenir trois profils de T-RFLP 16S et trois profils de T-RFLP 18S pour la quasi totalité des échantillons. Dans de très rares cas, il a fallu travailler avec seulement 1 ou 2 profils. Le nombre de pics détectés et pris en compte dans les analyses a varié entre 47 et 116 pour les profils 16S et entre 11 et 88 pour les profils 18S. Des exemples de profils de T-RFLP 16S et 18S sont présentés dans la figure 23.

II.3.2 / Structure des communautés bactériennes : analyse de T-RFLP 16S

L'ACP inter-classes réalisée sur les données de T-RFLP des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles Té, MO et Bd à T0, T1 et T2 en 2004 indique que les deux premiers facteurs de l'ACP représentent 67,91% de la variance des données (Figure 24). A T0, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives, au même niveau pour MO et Bd, et de façon plus marquée pour Té. Cette différentiation "préexistante" des trois sous-parcelles à la mise en place de l'expérimentation est aussi visible sur la carte de l'ACP réalisée sur les données de cette date, et confirmé par le test de permutation. Les valeurs factorielles de MO et Bd sont situées dans les valeurs positives de F2, et celles de Té dans les valeurs négatives (Figure 24 C). A T1, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs positives de F1. Les valeurs factorielles des échantillons de Té et MO sont proches des valeurs nulles sur F2, et fortement négatives pour les échantillons de Bd. A T2, les valeurs factorielles des échantillons sur F1 sont identiques à celles à T1. Sur F2, les valeurs factorielles des échantillons sont positives pour la sous-parcelle Té et proches des valeurs nulles pour MO et Bd.
L'analyse du plan factoriel des variables indique que les variables fragments de 613,74 et 217,49 pb sont corrélées à F1 (valeurs négatives), tout comme la variable fragment de 296,24 pb (valeur positive). Pour F2, le fragment de 328,74 pb est corrélé aux valeurs positives, comme ceux de 296,24, 204,99 et 193,74 pb. Le fragment de 294,99 pb est corrélé aux valeurs négatives de F2

La même ACP inter-classes réalisée sur les données de T-RFLP obtenues en 2005 indique que les deux premiers facteurs de l'analyse représentent 77,81% de la variance des données (Figure 25). A T0, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles sont proches des valeurs nulles de F1. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour la sous-parcelle Té et dans les valeurs négatives pour MO et Bd. A T1, les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle Té sont similaires à celles à T0. Les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle MO sont situées dans les valeurs négatives de F1 et proches de la valeur nulle de F2. Les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle Bd sont situées, de façon très marquée, dans les valeurs positives de F1. Elles sont proches des valeurs nulles de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans

les sous-parcelles Té et MO sont situées dans les valeurs négatives de F2, et proches des valeurs nulles pour Bd. Elles sont situées respectivement dans les valeurs positives, proches des valeurs nulles et négatives de F2 pour les sous-parcelles Té, MO et Bd, respectivement. Il est important de noter que seuls les échantillons de la sous-parcelle Bd à T1 sont clairement séparés des autres. Tous les autres échantillons ont des valeurs factorielles proches, aux trois dates de prélèvement.
L'analyse du plan factoriel des variables indique que les variables fragments de 64,93 et 232,43 pb sont corrélées aux valeurs positives de F1. Les variables fragments de 328,68, 221,18, 296,18 et 61,18 pb sont corrélées aux valeurs négatives de F1.

Afin de mieux distinguer les différences entre les sous-parcelles, une nouvelle analyse a été réalisée sans les données relatives aux échantillons prélevés dans la sous-parcelle Bd à T1. L'ACP inter-classes indique que les deux premiers facteurs de l'analyse représentent 61,25% de la variance des données (Figure 26). A T0, les valeurs factorielles des échantillons sont proches des valeurs nulles de F1 pour les échantillons prélevés dans la sous-parcelle Té, et situées dans les valeurs positives de F1 pour ceux prélevés dans les sous-parcelles MO et Bd. Les valeurs factorielles des échantillons de Té et MO sont situées dans les valeurs négatives de F2 et proches des valeurs nulles pour Bd. A T1, les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle Té sont situées dans les valeurs négatives de F1, et proches des valeurs nulles pour la sous-parcelle MO. Elles sont situées dans les valeurs négatives et positives de F2 pour Té et MO, respectivement. A T2, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs négatives, proches des valeurs nulles et positives de F1 pour les sous-parcelles Té, MO et Bd, respectivement. Elles sont proches des valeurs nulles de F2 pour les échantillons de la sous-parcelle Té, et dans les valeurs positives de F2 pour les sous-parcelles MO et Bd.
L'analyse du plan factoriel des variables indique que de très nombreuses variables sont discriminantes, et corrélées aux deux premiers facteurs de l'analyse. Pour F1, c'est surtout la variable fragment de 328,68 pb qui est corrélée aux valeurs négatives. Les variables fragments de 292,43 et 327,43 pb sont corrélées aux valeurs positives de F1. Les variables fragments de 193,68, 257,43, 613,68 et 323,68 pb sont corrélées à F2 (valeurs négatives), comme celles de 296,18, 194,93, 203,68, 298,68 et 411,18 pb (valeurs positives).

II.3.3 / Structure des communautés fongiques : analyse de T-RFLP 18S

Comme pour les résultats de T-RFLP 16S, les résultats concernant les communautés fongiques ont été analysés en prenant en compte les données d'une année complète.
L'ACP inter-classes réalisée sur les données de T-RFLP des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles Té, MO et Bd à T0, T1 et T2 en 2004 indique que les deux premiers facteurs de l'ACP représentent 79,42% de la variance des données (Figure 27). A T0, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles sont proches des valeurs nulles de F1 et F2. La structure des communautés fongiques est semblable dans toute la parcelle. Ceci est confirmé par l'ACP inter-classes sur les données de cette date ainsi que la projection des coordonnées factorielles des échantillons sur le plan d'expérimentation (Figure 27). A T1, il n'y a pas de changement pour les échantillons de la sous-parcelle Té. Pour la sous-parcelle MO, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs négatives de F1, et dans les valeurs positives de F2. Pour la sous-parcelle Bd, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les fortes valeurs positives de F1, et dans les valeurs positives de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont proches des valeurs nulles de F1, et situées dans les valeurs négatives de F2. Il est important de noter que, de façon similaire à ce qui a été mis en évidence pour les communautés bactériennes en 2004, seuls les échantillons de la sous-parcelle Bd à T1 sont clairement séparés des autres. Cette forte différentiation des échantillons de la sous-parcelle

Bd à T1 est aussi mise en évidence par l'ACP réalisée avec uniquement les données de T1, et la représentation spatiale des coordonnées factorielles (Figure 29).
L'analyse du plan factoriel des variables indique que les variables fragments de 97,45 pb (valeurs négatives), 564,95, 559,95 et 581,2 pb (valeurs positives) sont corrélées à F1. Les deux premiers fragments (valeurs positives), ainsi que celui de 561,2 pb (valeurs négatives), sont aussi corrélés à F2.

La même ACP inter-classes réalisée sur les données de T-RFLP des échantillons prélevés en 2005 indique que les deux premiers facteurs représentent 83,11% de la variance des données (Figure 28). A T0, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives de F1 et dans les valeurs positives de F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té et MO sont proches des valeurs nulles de F1 et situées dans les valeurs négatives de F2. Pour la sous-parcelle Bd, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs positives extrêmes de F1, et dans les valeurs positives de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té et MO sont proches des valeurs nulles de F1. Elles sont situées dans les valeurs négatives de F2 pour Té et proches des valeurs nulles pour MO. Pour Bd, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs positives de F1, mais dans une moindre mesure par rapport aux échantillons prélevés à T1. Elles sont situées dans les valeurs positives fortes de F2.
L'analyse du plan factoriel des variables indique que les variables fragments de 97,49, 96,24 et 309,99 pb sont corrélées à F1, pour les valeurs négatives. Les variables fragments de 574,99, 581,24 et 566,24 pb sont aussi corrélées à F1, pour les valeurs positives. Les variables fragments de 97,49 et 574,99 pb sont également corrélées à F2 (valeurs positives).
Les ACP réalisées sur les données de chaque date de prélèvement séparément permettent de voir précisément quels sont les fragments (et donc, à terme, les espèces) responsables des différences observées entre les structures des communautés dans les trois sous-parcelles. La projection des variables sur le plan factoriel des données de T1, pour 2004, met en évidence des fragments discriminants : 564,95, 559,95, 581,2 et 566,2 pb, associés positivement aux échantillons de la sous-parcelle Bd ; et 97,45 pb, associé négativement (intensité moins forte de ce fragment) à ces échantillons (Figure 29).
Pour 2005, les fragments de 566,12, 574,87, 581,12 et 559,87 pb sont associés positivement, et le fragment de 97,37 pb est associé négativement, aux échantillons de la sous-parcelle Bd (Figure 29).
L'importance de ces fragments dans les profils complexes varie fortement selon la sous-parcelle d'origine de l'échantillon (Table 6).

II.3.4 / Structure des communautés microbiennes : discussion

II.3.4.1 / Structure des communautés bactériennes

Le premier fait notable concernant l'analyse de la structure des communautés bactériennes dans la parcelle est l'hétérogénéité préexistante en 2004, avant la mise en place des traitements. Presque tous les échantillons (9/11) issus de la (future) sous-parcelle Té ont une coordonnée factorielle négative sur le F1 de l'ACP des données de T0 2004, contre seulement 2 parmi les 22 autres échantillons, des sous-parcelles MO et Bd. Cette différence pourrait être mise en relation avec l'hétérogénéité des caractéristiques physico-chimiques dans la parcelle. Plusieurs auteurs ont ainsi montré que la structure des communautés bactériennes est avant tout dépendante des caractéristiques du sol, notamment sa texture (Girvan *et al.*, 2001). Dans la parcelle, il existe un gradient de granulométrie Nord-Sud et la zone Nord-Est, dans les sous-parcelles MO et Bd, a des caractéristiques chimiques différentes du reste de la parcelle.

Cette variabilité spatiale n'est pas exactement la même que celle de la structure des communautés bactériennes, mais il est possible qu'il y ait une relation. Cette hétérogénéité n'est en tout cas plus prépondérante au temps T1, où l'effet de la biodésinfection est le plus fort. L'analyse ACP des données de 2004 montre clairement l'effet de plusieurs phénomènes distincts sur la structure des communautés bactériennes : la variabilité temporelle de la structure des communautés bactériennes (variation entre T0 et T1, surtout pour la sous-parcelle Té) et l'effet de l'apport de matière organique (variation entre T0 et T1 pour les sous-parcelles MO et Bd). La culture de carotte n'a pas d'effet net sur la structure des communautés bactériennes en 2004. Les modifications dans les échantillons de la sous-parcelle Bd ont plus probablement pour origine le fait que l'effet de la biodésinfection n'est que transitoire.
En 2005, l'effet prépondérant (facteur F1 de l'ACP) est celui de la biodésinfection. Cet effet est tellement important que les autres modifications au cours de l'année ne sont pas visibles avec l'ACP réalisée sur l'ensemble des données. La biodésinfection se traduit par l'augmentation de l'importance relative des pics correspondants aux fragments de 232,43 et 64,93 pb. Cette ACP montre l'effet de la sous-parcelle d'origine des échantillons, et donc des traitements réalisés en 2004 (facteur F2 de l'ACP).
Une ACP a été réalisée avec les données de T-RFLP 16S des deux années de suivi (Figure 30). Elle met clairement en évidence l'effet de la biodésinfection sur la structure des communautés bactériennes, avec des modifications de plus grande ampleur lors de la deuxième année. Par contre, cet effet est transitoire, il y a résilience de la communauté, avec une situation en fin de culture de carotte semblable pour les 3 sous-parcelles, et proche de celle des sous-parcelles Té et MO à T0 et T1. La période hivernale n'a pas modifié la structure des communautés bactériennes, ou bien il y a eu des modifications et ensuite un retour à la situation initiale au printemps.

II.3.4.2 / Structure des communautés fongiques

Les analyses ACP montrent clairement la succession de plusieurs phénomènes distincts et leurs effets sur la structure des communautés fongiques : l'apport de matière organique (variation entre T0 et T1 pour les sous-parcelles MO et Bd), les modifications des conditions environnementales (notamment variation entre T0 et T1 pour la sous-parcelle Té), la culture de carotte (variation entre T1 et T2 pour les trois sous-parcelles), et le repos de la parcelle (variation entre T2 de 2004 et T0 de 2005).
L'effet de l'apport de matière organique se traduit différemment pour les deux types d'apport, lors des deux années de suivi. En 2004, les modifications le long de F1 se font dans des directions opposées, et avec une ampleur bien plus grande pour la biodésinfection. En 2005, les modifications le long de F1 se font dans la même direction, mais une nouvelle fois, elles sont plus marquées pour les échantillons de la sous-parcelle Bd. Concernant les variables spécifiquement modifiées, il est difficile de mettre en évidence des points communs entre l'apport de fumier composté et la biodésinfection.
L'effet des conditions environnementales est visible dans l'ACP réalisée avec les données de 2005. Les coordonnées factorielles des échantillons de la sous-parcelle Té sont modifiées, de façon similaire à ceux de MO. Il semble qu'il s'agit donc d'un effet des conditions environnementales, plus fort que celui de l'apport de matière organique compostée. Cela se traduit par une augmentation de l'importance relative du pic correspondant au fragment à 68,74 pb.
L'effet prépondérant de la culture de carotte en 2004 se traduit par une augmentation de l'importance relative du pic correspondant au fragment de 561,2 pb, dans les trois sous-parcelles. Les communautés fongiques dans la sous-parcelle biodésinfectée montrent leur capacité de résilience. Les échantillons de cette sous-parcelle retrouvent des coordonnées factorielles sur F1 proches de celles des autres sous-parcelles. En 2005, cette résilience n'est

pas complète. L'effet de la biodésinfection répétée aurait vaincu la résistance structurelle de la communauté fongique.
Ces ACP montrent aussi que pour ce qui concerne la variabilité entre échantillons d'une même sous-parcelle, c'est toujours dans la sous-parcelle Bd qu'elle est la plus importante. Ceci pourrait provenir du fait que la biodésinfection n'est pas homogène dans la sous-parcelle. Certaines zones peuvent correspondre à des "hot spots", à proximité immédiate d'un résidu de radis, par exemple.
Une ACP a été réalisée avec les données des deux années (Figure 30). Elle permet de suivre la structure des communautés fongiques au cours de la période de repos de la parcelle. Il semble que la période hivernale, pendant laquelle la parcelle a été laissée nue, entre la récolte des carottes en 2004 et la mise en place des traitements en 2005, a entraîné des modifications importantes de la structure des communautés, dans toute la parcelle (facteur F1 de l'ACP). Cet effet fort de la saison, indépendamment de toute autre action anthropique, a déjà été mis en évidence (Bossio *et al*., 1998).
Concernant la structure des communautés fongiques au temps T1, et la différenciation nette des échantillons biodésinfectés à cette date, l'analyse de la projection des variables sur les plans factoriels a permis de mettre en évidence lesquelles sont discriminantes. Il est très intéressant de noter que quatre de ces fragments semblent communs aux analyses de 2004 et 2005 : 559,95/559,87, 581,2/581,12, 566,2/566,12 et 97,45/97,37 pb. Les légères différences en termes de longueur en paires de bases viennent de la méthode d'analyse utilisée pour ces données. Les deux jeux de données ayant été analysés séparément, ils ne donnent pas des fragments étiquetés avec exactement les mêmes valeurs. Ces fragments sont "typiques" des sols biodésinfectés, qui sont les plus résistants aux fontes de semis dues à *R. solani*, comme nous le verrons plus loin dans ce chapitre. Dans les sols biodésinfectés, au prélèvement T1, l'intensité des pics des fragments de 559 et 581 pb est multipliée par un facteur 3,4 à 9,1 selon le fragment et l'année, par rapport aux sols de la sous-parcelle Té. Pour le pic du fragment de 566 pb, c'est uniquement en 2005 que son intensité est multipliée par 5,03 par rapport à la sous-parcelle Té. Au contraire, pour le fragment de 97 pb, l'intensité du pic est divisée par 12,51 et 87,72, respectivement, en 2004 et 2005, dans les sols biodésinfectés par rapport aux sols de la sous-parcelle Té. Tous ces fragments sont déjà présents aux temps de prélèvement T0 en 2004 et 2005, sans différence d'intensité relative entre les échantillons des sols des sous-parcelles Té ou Bd.
Ces fragments constituent donc une piste d'intérêt pour la recherche d'indicateurs de la santé des sols, vis-à-vis de *R. solani*.

II.3.4.3 / Structure des communautés bactériennes et fongiques : premier bilan

Cette étude a été menée sans *a priori* quant au type de modification pouvant advenir dans la structure des communautés microbiennes, que ce soit pour les bactéries comme pour les champignons. De plus, le travail ayant été réalisé sur une parcelle expérimentale, tout au long de deux années de culture, il y avait plusieurs facteurs possibles de perturbation, avec des interactions possibles. Certains sont communs à l'ensemble de la parcelle, comme les conditions climatiques et le stade de la culture. D'autres ont affecté différemment les 3 sous-parcelles, comme les caractéristiques physico-chimiques du sol et les traitements.
L'analyse par T-RFLP se révèle un outil adapté à l'étude de la structuration des communautés microbiennes en réponse à ces différents facteurs de variation. Les tests de permutation sur les matrices de données se sont toujours révélés significatifs, c'est-à-dire qu'il y a bien des différences de structure de communauté bactérienne ou fongique, selon le traitement appliqué aux sous-parcelles.
Les deux premiers facteurs des ACP interclasses expliquent environ 70% et 80% de variance totale des données pour les communautés bactériennes et fongiques, respectivement. Etant

donné le nombre important de variables prises en compte dans ces analyses, les résultats peuvent être considérés comme robustes.
Il a été possible de mettre en évidence plusieurs types d'effets. Tout d'abord, l'effet "saison", à savoir les conditions climatiques et/ou le stade de la culture, a pu être mis en évidence lorsque la sous-parcelle Té et l'une ou les deux autres sous-parcelles voient leurs caractéristiques se modifier de façon analogue. L'effet des traitements est mis en évidence lorsque la modification est nettement plus importante dans les sous-parcelles ayant reçu un traitement par rapport à la sous-parcelle Té.
Les communautés fongiques et bactériennes ont des comportements différents. Si on s'attarde sur les données de 2004, plusieurs différences peuvent être mises en évidence. La situation à T0 indique que les communautés bactériennes semblent plus conditionnées par les caractéristiques physico-chimiques du sol. De même, elles sont plus sensibles à la saison, puisqu'entre T0 et T1, une période sans aucun amendement ni aucune culture pour la sous-parcelle Té, la structure des communautés bactériennes dans cette sous-parcelle varie, alors que la structure des communautés fongiques reste stable.
Si on compare les ACP réalisées sur les deux années d'étude, des différences peuvent être mises en évidence entre les bactéries et les champignons. La saison d'hiver, pendant laquelle la parcelle est nue, n'a pas le même effet sur les communautés fongiques et bactériennes. Les communautés bactériennes ne varient pas pendant cette période, à l'inverse des communautés fongiques, fortement modifiées. Concernant la résilience des communautés, elle est rapide pour les communautés bactériennes, en 2004 et 2005, entre T1 et T2. Pour les champignons, elle est rapide en 2004, mais en 2005, il n'y a pas de retour à la situation initiale.

II.3.5 / Structure moléculaire des communautés microbiennes : discussion méthodologique

Les approches moléculaires d'analyse de la structure des communautés microbiennes, basées sur l'amplification par PCR d'ADN extrait directement à partir du sol, présentent différents biais. Tout d'abord, seule une fraction des ADN présents dans un environnement est extraite, puis amplifiée et enfin visualisée. De plus, une partie de l'ADN extrait peut provenir de cellules mortes et donc le profil ne représente pas uniquement la communauté réellement présente au moment du prélèvement. Durant les PCR, certains ADN peuvent être amplifiés préférentiellement. De plus, toutes les espèces bactériennes ou fongiques ne sont peut-être pas amplifiées, du fait que les séquences des amorces sont basées sur des séquences connues. Des espèces non encore identifiées pourraient avoir des séquences différentes. Enfin, les espèces présentes en faible proportion dans le sol peuvent ne pas être prises en compte. Mais malgré ces biais, ces approches moléculaires sont performantes pour analyser la structure des communautés microbiennes en situations comparatives, dans un sol ayant subi différentes perturbations.
L'influence des pratiques agricoles sur les communautés microbiennes a été reportée par de nombreux auteurs, avec des changements de structure (Hartmann *et al.*, 2006 ; Rousseaux *et al.*, 2003 ; Widmer *et al.*, 2006) et des diminutions de la diversité bactérienne (Lupwayi *et al.*, 1998). Parmi les techniques d'empreinte moléculaire, la T-RFLP a permis de révéler l'effet de différents traitements sur la structure des communautés microbiennes (Pérez-Piqueres *et al.*, 2006). Cette méthode permet l'estimation semi-quantitative de l'importance relative de chacun des groupes microbiens correspondant à chacun des pics détectés. A l'origine, elle était également décrite comme permettant l'identification du genre voire de l'espèce correspondant à une longueur de fragment, grâce à la comparaison avec des bases de données. Dans les faits, cette identification est difficile (Pérez-Piqueres *et al.*, 2006). La T-RFLP est donc principalement utilisée pour analyser la structure des communautés microbiennes en situations comparatives. Dans une étude récente, cette méthode s'est révélée plus sensible qu'une approche basée sur la comparaison d'indices de diversité pour mettre en évidence les

variations de structure des communautés en fonction du type d'agriculture (biodynamie, amendement organique, minéral) (Hartmann et Widmer, 2006). Il a été suggéré que ce sont les espèces dominantes qui contribuent principalement au fonctionnement des écosystèmes (Bardgett, 2002 ; Dunbar *et al.*, 2002). Ainsi, une description des espèces abondantes, telle que le permettent les méthodes d'empreinte génétique, pourrait être suffisante pour l'étude des effets de pratiques culturales. Cependant, cette assertion est toujours sujette à discussions (Bengtsson, 1998).

Les techniques d'empreinte moléculaire génèrent des grands jeux de données, pouvant être analysés par des méthodes variées. Les données d'empreinte moléculaire sont utilisées par de nombreux auteurs pour calculer des indices de diversité/abondance des communautés. A partir des matrices de données, l'indice de Shannon-Weaver (H', Shannon et Weaver, 1949), qui prend en compte le nombre d'espèces présentes et leur abondance relative, ou l'indice de Pielou (J, Pielou, 1975), qui reflète l'importance relative de chaque taxon dans l'assemblage complet, peuvent être calculés (Zak *et al.*, 1994). Cependant, ces interprétations peuvent être sujettes à caution. Les techniques de fingerprint ne mesurent pas réellement la diversité, sauf si les communautés sont simples. L'interprétation de ce type de profils doit prendre en compte plusieurs réserves possibles. La première réserve est liée aux biais liés à l'extraction et/ou l'amplification préférentielle d'ADN décrite ci-dessus. Pour cette raison, l'analyse des données sous forme d'indices de diversité ne devrait être effectuée qu'en situation comparative pour un même sol sous l'effet de différents traitements. De plus, tous les calculs d'indices présument que le nombre de fragments représente le nombre d'espèces (richesse en génotypes/phylotypes) et que la hauteur des pics représente l'abondance relative de chaque espèce. Or, ceci n'est pas forcément vrai, pour des raisons biologiques, ou physiques. Concernant les champignons, certains peuvent avoir plusieurs noyaux génétiquement distincts, ou des clusters d'ADNr hétérogènes (O'Donnell et Cigelnik, 1997 ; Kuln *et al.*, 2001). Plusieurs copies des fragments d'intérêt peuvent aussi être présentes chez certaines espèces bactériennes. L'amplification de telles séquences d'ADNr génère des fragments différents pour une même espèce, pouvant éventuellement être différenciés par l'enzyme de restriction utilisée en T-RFLP. Dans ce cas, il y a donc surestimation de la diversité. A l'inverse, de nombreux fragments de taille identique mais de séquences différentes peuvent être regroupés dans un même pic de T-RFLP. Ainsi, un même pic peut correspondre à plusieurs taxons (Mitchell et Zuccaro, 2006). Dans ce cas, au contraire, il y a une sous-estimation de la diversité. Plusieurs auteurs estiment aussi que par PCR-DGGE, seules les espèces représentant plus de 1% de la communauté bactérienne sont prises en compte (Muyzer *et al.*, 1993 ; Murray *et al.*, 1996). Foucher *et al.* (2004) ont montré que pour les communautés de nématodes extraits de sol, la richesse spécifique estimée par PCR-DGGE est sous-estimée par rapport à celle estimée morphologiquement.
Enfin, les différences d'intensité des bandes/de hauteur des pics entre espèces ne devraient pas être utilisées comme des indicateurs de l'abondance de ces espèces dans l'absolu (Muyzer et Smalla, 1998 ; Gelsomino *et al.*, 1999). Cependant, si l'intensité d'une bande donnée augmente ou diminue dans des échantillons différents, ceci correspond à une augmentation ou une diminution de l'abondance relative de cette espèce (Marschner *et al.*, 2001).
Les analyses multivariées sont performantes pour comparer les données générées par les techniques d'empreinte moléculaire et appréhender la variabilité intra- et inter-traitements. L'ACP et les analyses de distances représentées sous forme d'arbres sont fréquemment utilisées pour résumer cette somme d'information. Ces outils donnent des représentations simples des similitudes et différences entre les profils complexes. Mais ces méthodes ne fournissent pas la signification des différences ou les corrélations entre échantillons. L'ACP ne présuppose pas une hypothèse de structuration des données. Elle ne permet donc pas de

tester statistiquement l'existence de différence entre/parmi des groupes dans un plan factoriel (Thalib *et al.*, 1999). Dans notre cas, nous avons utilisé le test de Monte-Carlo sur les tables de données pour tester la signification statistique des structures mises en évidence par l'ACP. Mais cette technique ne permet pas de dire comment se classent les groupes les uns par rapport aux autres, de faire des comparaisons 2 à 2. En général, lorsqu'il existe a priori une structuration en groupes dans des données multivariées, les méthodes utilisées sont l'analyse discriminante et l'analyse canonique, qui correspond à une analyse discriminante multiple pour plus de deux groupes. L'analyse canonique propose des combinaisons linéaires de variables qui maximisent le ratio entre variabilité inter-groupes et variabilité totale (intra-groupes) des données de départ. Mais l'analyse canonique ne peut pas être appliquée aux jeux de données dans lesquels le nombre de variables dépasse le degré de liberté intra-groupe. Ceci arrive lorsque le nombre de variables est supérieur au nombre d'observations, ce qui est généralement le cas pour les profils de T-RFLP. Dans ce cas, si les différences entre groupes sont prédominantes pour la majorité des variables mesurées, l'ACP permettra de les révéler tout comme une analyse canonique (Thalib *et al.*, 1999).
Au final, le traitement et l'analyse des profils semble l'aspect technique le plus variable entre les différentes études de la littérature. En plus de l'ACP, de nombreuses autres méthodes ont été utilisées dans la littérature : calcul de distances euclidiennes ou autres distences, suivi éventuellement de clustering (Dunbar *et al.*, 2001 ; Blackwood *et al.*, 2003 ; Mummey et Stahl, 2004), réseau de neurones (Dollhopf *et al.*, 2001), analyse des correspondances (Edel-Hermann *et al.*, 2004), calculs d'indices (Danovaro *et al.*, 2006), analyses séparées pour chaque pic (Lukow *et al.*, 2000), analyse multivariée de variance (MANOVA, Lukow *et al.*, 2000). Les justifications proposées pour le choix d'une méthode sont plus ou moins développées. Des controverses ont d'ailleurs lieu sur ce sujet (Grant et Ogilvie, 2003).

Dans notre étude, l'ACP s'est révélée adaptée à nos tables de données. Elle permet d'appréhender les variabilités intra- et inter-traitement simultanément, ainsi qu'une analyse dynamique. Les cercles de corrélation permettent de mettre en évidence les variables explicatives. Enfin, les ACP permettent de mettre également en œuvre des analyses de co-inertie, telles que présentées dans le chapitre 4.

III / Caractéristiques phytosanitaires

III.1 / Notations à la récolte

La notation de la récolte a eu lieu les deux années (Table 7). En 2004, le peuplement a varié entre 29,8 et 33,3 carottes en moyenne par mètre linéaire, selon les sous-parcelles. C'est dans la sous-parcelle ayant reçu la matière organique que cette densité est la plus faible. Ceci se retrouve dans les notations de poids à la récolte. Le poids unitaire moyen des carottes est plus important dans cette sous-parcelle, 88,3 g, contre 82,6 et 80,6 g pour les sous-parcelles Té et Bd, respectivement.
Concernant la notation qualitative de la récolte, l'ANOVA ne montre aucun effet significatif des traitements. Cependant, il y a dans la sous-parcelle MO moins de carottes éclatées et courtes ou en bouchons, mais plus de carottes fourchues et plus de carottes tachées que dans les sous-parcelles Té et Bd (tableau). L'indice pathologique, qui reflète les symptômes dus à *Pythium* spp. et *R. solani*, est plus fort dans la sous-parcelle MO (8,3) que dans les sous-parcelles Té (7,5) et Bd (5,1).

En 2005, la densité varie entre 23,2 et 50,8 carottes en moyenne au mètre linéaire, selon les sous-parcelles. Au contraire de 2004, c'est dans la sous-parcelle MO que la densité de peuplement est la plus forte, mais les peuplements au sein d'une même sous-parcelle ne sont pas du tout homogènes. Concernant le poids moyen des carottes, il est plus important dans la sous-parcelle MO (102,6 g), par rapport aux deux autres sous-parcelles (80,9 g pour Té et 97,3 g pour Bd).
Pour les notations qualitatives, il y a plus de carottes éclatées dans la sous-parcelle MO. Pour les carottes courtes ou en bouchons, c'est dans la sous-parcelle Té qu'il y en a le plus. Pour les carottes fourchues, c'est dans la sous-parcelle Bd. Dans ces deux cas, la sous-parcelle MO est en position intermédiaire.
Pour les notations phytosanitaires, l'ANOVA montre un effet des traitements. Il y a significativement ($p=0,015$) plus de carottes tachées dans la sous-parcelle MO que dans la sous-parcelle Bd, et la position de Té est intermédiaire. Pour l'indice pathologique, il est significativement ($p=0,01$) plus fort dans la sous-parcelle MO que dans les deux autres sous-parcelles.

III.2 / Essais biologiques de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *Rhizoctonia solani*

Les résultats de l'essai biologique réalisé avec les échantillons du premier prélèvement de 2004 ne sont pas exploitables. Les mortalités étaient beaucoup trop faibles. Pour les autres essais, les courbes d'évolution de la maladie au cours du temps ont une allure typique, avec une augmentation rapide de la mortalité dans les premiers jours, puis un plateau au bout de 7 à 10 jours après l'inoculation (Figure 31). Pour la dose forte d'inoculum (1/30), la mortalité des plantules dépasse le plus souvent 80%.
Les analyses de variance sont faites sur le pourcentage cumulé de mortalité des plantules, 9 ou 10 jours après inoculation. Pour ces analyses, ce sont les facteurs dose d'inoculum et traitement de la sous-parcelle qui sont pris en compte. A toutes les dates de prélèvements l'effet de la dose d'inoculum est significatif ($p<0,001$). L'effet du traitement est analysé séparément pour chaque dose d'inoculum (Table 8).
En 2004 et 2005, au prélèvement T1, l'analyse de variance met en évidence un effet significatif du traitement sur la mortalité des plantules, aux deux doses d'inoculum. La mortalité est significativement plus faible dans les échantillons de sols de la sous-parcelle biodésinfectée. Il n'y a pas de différence significative entre les échantillons de sol des sous-parcelles Té et MO. Cinq jours après l'inoculation, il y a déjà 70% de plantes mortes dans les mélanges à la dose forte d'inoculum avec les sols Té ou MO, contre moins de 50% pour les sols Bd.
Pour le prélèvement T2 de 2004, il n'y a aucun effet des traitements sur la mortalité des plantules. Au premier prélèvement de 2005, l'analyse de variance met en évidence un effet du traitement sur la mortalité des plantules, mais uniquement à la dose faible d'inoculum. Il y a significativement plus de mortalité dans les échantillons de sol de la sous-parcelle MO, et il n'y a pas de différence entre les sous-parcelles Té et Bd. Au dernier prélèvement de 2005, à la fin des deux années de traitement, il y a toujours un effet du traitement, aux deux doses d'inoculum. Il y a significativement plus de mortalité dans les échantillons de la sous-parcelle MO.

III.3 / Analyse en composantes principales de l'ensemble des données biologiques

Des ACP ont été réalisées sur les données biologiques, à savoir les résultats des essais biologiques ainsi que les densités de bactéries et champignons cultivables, la densité totale de nématodes, la MOV%Ct et les valeurs de respiration aux différentes périodes de temps. Ceci a pour objectif de rechercher quelles sont les variables qui sont les plus sensibles aux pratiques culturales et/ou associées avec la réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R. solani*.
Pour l'année 2004, les données de l'essai biologique de T0 n'étant pas exploitables, une première ACP a porté sur les données relatives aux échantillons prélevées dans les sous-parcelles Té, MO et Bd à T1 et T2 (Figure 32). L'ACP inter-classes indique que les deux premiers axes factoriels représentent 74,30% de la variance des données. A T1, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs positives de F1, de manière beaucoup plus importante pour Bd. Les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs positives de F2 pour Té et MO et dans les valeurs négatives de F2 pour Bd. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives de F1 et de F2.
L'analyse du cercle de corrélation des variables indique que les taux de respiration et les densités microbiennes sont significativement corrélés à F1, du coté des valeurs positives. Ces variables sont opposées aux mortalités dans les essais biologiques (valeurs négatives de F1). La MOV%Ct et la densité de nématodes sont significativement corrélées aux valeurs négatives de F2.
Une autre analyse a été réalisée avec les données des trois dates de prélèvement, mais sans les résultats des essais biologiques. L'ACP inter-classes indique que les deux premiers axes factoriels représentent 87,45% de la variance des données (Figure 33). A T0, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont proches des valeurs nulles pour les deux axes F1 et F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té et MO sont proches des valeurs nulles de F1, et situées dans les valeurs négatives de F2. Celles des échantillons de la sous-parcelle Bd sont situées dans les fortes valeurs négatives de F1 et dans les valeurs positives de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs positives de F1. Elles sont proches des valeurs nulles de F2 pour les sous-parcelles Té et MO, et situées dans les valeurs positives de F2 pour Bd.
L'analyse du cercle de corrélation des variables indique que les taux de respiration et les densités microbiennes sont significativement corrélées à F1 (valeurs négatives). La MOV%Ct et la densité de nématodes sont significativement corrélées aux valeurs positives de F2.

L'ACP inter-classes a été réalisée avec toutes les donnés biologiques relatives aux échantillons prélevées dans les sous-parcelles Té, MO et Bd à T0, T1 et T2 en 2005. L'ACP indique que les deux premiers axes factoriels représentent 84,62% de la variance des données (Figure 34). A T0, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives de F1. Elles sont proches des valeurs nulles de F2 pour la sous-parcelle Té, et dans les valeurs négatives pour MO et Bd. A T1, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té et MO sont similaires, dans les valeurs négatives de F1 et proches des valeurs nulles de F2. Pour la sous-parcelle Bd, elles sont situées dans les valeurs positives extrêmes de F1 et dans les valeurs négatives de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs positives de F1. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2, surtout pour la sous-parcelle Té.
L'analyse du cercle de corrélation des variables indique que les taux de respiration sont corrélés à F1 (valeurs positives), opposés aux mortalités dans les essais biologiques (valeurs négatives de F1). Les densités microbiennes sont corrélées aux valeurs négatives de F2.

Les ACP montrent clairement plusieurs phénomènes distincts et leurs effets sur les caractéristiques biologiques des sols : l'apport de matière organique (variation entre T0 et T1 pour les sous-parcelles MO et Bd), l'effet des conditions environnementales (variation entre T0 et T1 pour la sous-parcelle Té) et la culture de carotte (variation entre T1 et T2 pour les trois sous-parcelles).
C'est essentiellement la biodésinfection qui a un effet prépondérant (facteur F1 des ACPs) sur les caractéristiques biologiques des sols. La biodésinfection se traduit par une augmentation de l'activité et des densités microbiennes et par une diminution de la sensibilité des sols aux fontes de semis dues à *R. solani*.
Entre T0 et T1, pour les deux autres sous-parcelles, les modifications sont moins fortes (facteur F2 des ACPs). En 2004, les variations sont similaires pour les deux sous-parcelles. La diminution de la MOV%Ct et de la densité de nématodes semble donc liée aux modifications des conditions environnementales plus qu'à l'apport de fumier composté. Au contraire, en 2005, seules les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle MO sont modifiées sur F2. Il s'agit donc cette fois d'un effet de l'apport de fumier composté, qui entraîne une augmentation de la densité de nématodes.
La culture de carotte se traduit par une diminution des densités microbiennes et une augmentation de la densité de nématodes, dans les sols des trois sous-parcelles. En outre, pour les sous-parcelles Té et MO, la culture de carotte se traduit par une diminution de la réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R. solani*.

III.4 / Discussion

En 2004 comme en 2005, il n'y a pas d'effet fort des pratiques culturales sur la récolte, que ce soit sur un plan quantitatif ou qualitatif. Cependant, des tendances se dégagent. Ainsi, l'apport de fumier composté dans la sous-parcelle MO, répété deux années consécutives, pourrait expliquer les différences de densités retrouvées à la récolte.
Les symptômes d'éclatements, de fourches et de carottes courtes ou en bouchons peuvent avoir différentes origines. La structure du sol peut être directement responsable de ces symptômes. Les nématodes et également des agents pathogènes telluriques tels *Pythium* spp. peuvent aussi engendrer ce type de défauts. Pour tous ces symptômes, il n'y a pas un traitement qui se distingue des autres.
Le pourcentage de carottes tachées et l'indice pathologique reflètent mieux l'état sanitaire de la parcelle. Les taches peuvent être dues à différentes espèces de *Pythium*, ou à *R. solani*. Au stade récolte, il est difficile d'attribuer avec certitude un agent responsable à un symptôme. Il faut noter que, malgré la présence des agents pathogènes dans la parcelle, les dégâts ont été très faibles. Les conditions d'expression des maladies, notamment celle due à *R. solani*, n'étaient pas forcément réunies (date de semis, conditions climatiques). Le pourcentage de carottes tachées et l'indice pathologique (IP) moyen ont cependant augmenté entre 2004 et 2005, ce qui était prévisible pour une seconde culture de carotte sur un précédent carotte.
L'apport de matière organique, dans notre parcelle, ne semble pas avoir un effet bénéfique sur la qualité phytosanitaire du sol. Au contraire, c'est toujours dans cette sous-parcelle, en 2004 et en 2005, qu'il y a le plus de carottes tachées et l'IP le plus fort. Dans la sous-parcelle biodésinfectée, au contraire, il y a moins de carottes tachées et un IP plus faible, comparés aux deux autres sous-parcelles, en 2004. En 2005, pour l'IP, cette sous-parcelle est dans une position intermédiaire, mais toujours bien en dessous de la sous-parcelle MO.
Si les notations à la récolte n'ont pas révélé de différences très marquées entre les traitements, c'est peut-être dû au fait que les perturbations ne sont pas trop fortes, et que les changements induits le sont uniquement à court terme. Et, surtout, la pression de maladie était faible dans la

parcelle. Des attaques plus fortes, de *Pythium* spp. ou de *R. solani*, auraient peut-être permis de voir l'effet bénéfique des traitements sur la réceptivité des sols.
C'est aussi pour cette raison, la parcelle n'étant pas suffisamment infestée et donc les attaques de pathogènes telluriques incertaines, que des essais biologiques en conditions contrôlées ont été mis en place. Ils ont aussi permis une approche dynamique des caractéristiques sanitaires de la parcelle.
Une des composantes majeures de la qualité phytosanitaire d'un sol est sa réceptivité aux différentes maladies pouvant attaquer la culture en place. Les protocoles d'essais de réceptivité n'existent pas pour tous les pathosystèmes et ce type d'essai est souvent assez lourd à mettre en place. Comme *R. solani* est un agent pathogène d'importance pour la production de carotte et que l'essai de réceptivité ne nécessitait que peu de mise au point, il a été décidé de suivre la réceptivité du sol aux fontes de semis dues à cet agresseur en particulier.
Les essais biologiques de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R. solani* donnent une information, même si elle n'est que partielle, sur la santé des sols. La mortalité maximale n'atteint pas 100%, le test se déroule sur une durée limitée, et l'effet de la dose d'inoculum est toujours significatif. De plus, cet essai est reproductible. Il est donc tout à fait approprié à l'étude de l'impact de pratiques culturales, ou tout autre traitement, sur la réceptivité des sols, que l'effet soit positif ou délétère.
Dans la sous-parcelle biodésinfectée, juste à la fin du processus de biodésinfection, les plantules de carottes sont significativement moins attaquées par l'agent pathogène, quelle que soit la dose inoculée. Ce résultat a été répété sur deux années consécutives. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cet effet bénéfique. Elles sont présentées plus loin dans ce chapitre. En fin de culture de carotte, en 2005, les notations à la récolte et les résultats de l'essai biologique semblent cohérents. La mortalité des plantules après inoculation avec *R. solani* est plus forte dans les sols provenant de la sous-parcelle MO, dans laquelle l'indice pathologique est le plus fort. Un essai biologique a été réalisé avec des échantillons de sols prélevés à T0 en 2006, après un deuxième hiver où la parcelle est restée sans culture. Cet essai montre au contraire des mortalités de plantules plus faibles dans les sols de la sous-parcelle MO. L'apport d'amendement organique pourrait avoir un effet bénéfique, mais uniquement à long terme, si les mécanismes en jeu sont plus longs à se mettre en place.

IV / Discussion générale

IV.1 / Variabilité spatio-temporelle des caractéristiques abiotiques et biotiques

La projection des différents types de résultats sur le plan de la parcelle a permis d'avoir une représentation graphique de l'hétérogénéité spatiale au sein de la parcelle. Cependant, la dimension spatiale n'a pas été prise en compte dans les analyses. Les méthodes de géostatistiques (Goovaerts, 1998 et 1999) et la prise en compte des relations de voisinage permettent d'intégrer la composante spatiale dans l'analyse de données. Ceci peut-être intéressant dans le cas de grandes zones d'études, ou dans des études épidémiologiques. Les méthodes géostatistiques ont par exemple été utilisées pour caractériser quantitativement les variations temporelles dans la répartition spatiale des maladies (Campbell et Noe, 1985 ; Chellemi *et al.*, 1988 ; Todd et Tisserat, 1990 ; Larkin *et al.*, 1995 ; Vereijssen *et al.*, 2006). Elles sont aussi un outil pour améliorer les connaissances en épidémiologie et en écologie (Stein *et al.*, 1998 ; Ettema et Wardle, 2002). Dans les cas où les points de prélèvements ne sont pas disposés selon une grille bien définie mais de façon non régulière (type "semis de

points"), les analyses spatialisées peuvent permettre de faciliter les interprétations. Cependant, il est important de noter que vus les objectifs définis et le dispositif mis en place pour cette étude, ce type d'analyse n'était pas nécessaire. La "maille" de notre grille d'échantillonnage n'est pas adaptée, et une analyse spatiale n'aurait pas apporté plus d'information. D'ailleurs, les plans d'échantillonnage spatialisés sont en général spécifiques (Stein et Ettema, 2003). Les objectifs définis pour ce travail ne nécessitaient pas plus de points d'échantillonnage ou une surface plus grande.

Le repérage des points de prélèvement dans la parcelle puis l'analyse de chaque échantillon individuellement a permis d'appréhender la variabilité spatiale des descripteurs suivis. La situation initiale, avant la mise en place des traitements, est particulièrement intéressante. Les analyses physico-chimiques montrent l'existence d'importants gradients dans la parcelle et d'une zone différenciée, dans le quart Nord-Est. Ces différences peuvent être reliées aux variations de certaines caractéristiques biotiques du sol. L'analyse des données du prélèvement T0 de 2004 montre sur la carte de la parcelle des densités plus importantes de microorganismes dans la même zone, particulièrement pour les champignons. Pour la structure moléculaire des communautés fongiques, il n'y a pas de structuration spatiale existante avant la mise en place des traitements. Ainsi, il semble que les champignons soient affectés uniquement de façon quantitative par les caractéristiques physico-chimiques. Au contraire, la structure moléculaire des communautés bactériennes est déjà différente entre les trois futures sous-parcelles, avec un gradient entre la sous-parcelle Té et les autres, sans que la partie haute ne se différencie particulièrement. Les bactéries sont donc principalement affectées de façon qualitative par les caractéristiques physico-chimiques.

En ce qui concerne les champignons, il semble qu'ils soient beaucoup moins affectés, d'un point de vue qualitatif, par les caractéristiques physico-chimiques du sol à des échelles fines. Les champignons sont essentiellement présents dans le sol sous forme de mycélium, pouvant s'étendre sur des distances importantes. Des mécanismes de translocation des ressources permettent un maintien du mycélium même dans des zones a priori peu favorables (Deacon, 1996).

Dans notre dispositif, la distance entre deux points de prélèvement est de l'ordre de quelques mètres. Des études ont démontré que les communautés microbiennes ne sont pas distribuées aléatoirement dans le sol (Nunan *et al.*, 2002). Des trames spatiales ont été identifiées dans la distribution des bactéries et de leurs fonctions, à des échelles allant de quelques millimètres à plusieurs mètres. Des patrons existent même à micro-échelle, inférieure au mm (Nunan *et al.*, 2003). Les caractéristiques physico-chimiques et structurales des sols sont à l'origine de nombreux micro-environnements dans lesquels les communautés bactériennes peuvent évoluer (Ranjard *et al.*, 2000a et b). Les bactéries sont aussi influencées par la disponibilité des nutriments, résultant de la rhizodéposition et de la décomposition des matières organiques (Lynch et Whipps, 1990). Enfin, les facteurs environnementaux comme la température et l'humidité régulent aussi la survie et le développement des bactéries. Il n'est donc pas étonnant de retrouver au point zéro de cette étude un gradient préexistant dans la structure des communautés bactériennes. Il n'est par contre pas évident de connaître son origine. La station expérimentale du Ctifl est installée à Lanxade depuis 1955. Depuis cette date, le parcellaire a été plusieurs fois modifié. Il est donc tout à fait possible que l'ensemble de la parcelle expérimentale n'ait pas exactement le même historique, tant d'un point de vue des cultures en place que des pratiques ou traitements appliqués. De plus, il semble qu'il y ait eu, dans un passé assez récent, une pépinière de plants fruitiers en place dans la zone correspondant à la sous-parcelle Té. Ceci a entraîné des traitements à base de cuivre répétés. Ceci pourrait expliquer la présence du cuivre comme variable chimique discriminante de cette sous-parcelle, et la structuration initiale des communautés bactériennes.

Cet effet déterminant du sol sur la structure génétique ou fonctionnelle des communautés bactériennes a été mis en évidence par Girvan *et al.* (2003). Les communautés bactériennes de huit sols agricoles ont été étudiées par les méthodes Biolog, DGGE et T-RFLP. Dans les arbres construits avec les indices de diversité, les communautés bactériennes se regroupent en fonction du type de sol, sans influence des caractéristiques biologiques du sol et du type de pratique culturale. Ulrich et Becker (2006) ont même montré que, plus que le type de sol, l'origine du matériel "parent" a une influence sur la structure des communautés bactériennes. Des sols provenant de dépôts glaciaires, fluvioglaciaires, de sédiments éoliens ou de sables de rivières ne se regroupent pas ensemble, d'après des données de T-RFLP.
Comme pour les communautés microbiennes, la distribution spatiale de certaines espèces de nématodes est dépendante du type de sol et des caractéristiques abiotiques des sols (Norton, 1989 ; Blair *et al.*, 1999 ; Cadet *et al.*, 2004).
L'hétérogénéité spatiale des descripteurs du sol a aussi été révélée tout au long des analyses. Dans les ACP, même si un effet des traitements est mis en évidence, les nuages de points correspondant à chaque sous-parcelle sont le plus souvent très dispersés.

En plus de la variabilité spatiale, notre étude a permis de mettre en évidence la variabilité temporelle de plusieurs descripteurs. Entre T0 et T1 pour la sous-parcelle Té et entre T2 2004 et T0 2005 pour l'ensemble de la parcelle, il n'y a pas de facteur de variation identifié, hormis la date de prélèvement. Or, les analyses de données montrent que plusieurs descripteurs, dont certaines caractéristiques chimiques et les densités microbiennes varient de façon significative entre ces dates. Ces variations peuvent donc être attribuées à la saison, c'est-à-dire aux conditions environnementales communes à toute la parcelle (climat, irrigation, travail du sol, etc.).
Wick *et al.* (2002) ont montré que les fluctuations temporelles de la biomasse microbienne pendant la période de culture ne sont pas liées aux variations saisonnières d'apport de différents résidus de culture. Les modifications saisonnières sont contrôlées par l'humidité du sol et la teneur totale en matière organique du sol, plus que par ces apports de résidus organiques. Smit *et al.* (2001) ont réalisé quatre prélèvements dans une même parcelle, au cours d'une année. Ils n'ont pas mis en évidence de différence pour les densités de bactéries cultivables. Par contre, des différences nettes existent dans la structure de ces communautés. De la même façon, Griffiths *et al.* (2003) ont mis en évidence des variations saisonnières de la structure des communautés bactériennes dans la couche organique, mais pas en profondeur. Buyer et Kaufman (1996) ont montré que dans trois systèmes de cultures différents (amendement fumier / chimique / légumineuses), le mois de prélèvement (juin / juillet / août) a un effet plus fort que le système sur la diversité des bactéries et champignons rhizosphériques. De même, Schutter *et al.* (2001) ont montré que c'est la saison de prélèvement qui a le plus fort effet sur les communautés microbiennes, dans une étude comparant différentes méthodes de gestion de l'interculture (jachère ou engrais vert). Cependant, l'effet du type de sol devient prépondérant si des sols très différents (sableux / argileux) sont comparés. A l'intérieur d'une même saison, les profils de communautés sont plus influencés par le type de sol que par les choix culturaux.

IV.2 / Effet des amendements organiques sur les caractéristiques abiotiques et biotiques

IV.2.1 / Absence d'effet de l'apport de fumier composté dans notre étude

Dans notre étude, pour la majorité des descripteurs suivis, l'apport de matière organique sous forme de fumier composté n'a pas eu de conséquences. Pour les densités de microorganismes cultivables et l'activité microbienne, il n'y a aucune différence avec la sous-parcelle témoin.

La sous-parcelle ayant reçu la matière organique se distingue par une MOV%Ct en général plus faible que dans les autres sous-parcelles. La biomasse microbienne est la même dans cette sous-parcelle et dans la sous-parcelle témoin, mais la quantité de carbone organique est plus importante suite à l'amendement de la sous-parcelle MO, ce qui explique la plus faible valeur de MOV%Ct. Concernant la structure des communautés microbiennes, l'apport de matière organique entraîne une modification moins importante que la biodésinfection. Cette modification se fait rapidement, dans les 4 semaines qui suivent l'apport du fumier. Il n'y a plus ensuite de changement important dans la structure des communautés. Le plus souvent, la structure des communautés microbiennes dans la sous-parcelle amendée est très proche de celle de la sous-parcelle témoin.

C'est dans la notation des caractéristiques phytosanitaires que la sous-parcelle MO se distingue. Lors des notations de la récolte, le nombre de carottes tachées et l'indice pathologique sont plus élevés dans cette sous-parcelle. Cette différence n'est pas visible dans les essais biologiques sur le dernier prélèvement de 2004, peu avant la première récolte. Par contre, des différences sont mises en évidence en 2005. Lors du premier prélèvement, après un hiver de sol nu, il y a significativement plus de mortalité des plantules dans les sols amendés inoculés à la dose faible, par rapport aux sols témoin et biodésinfecté. Et lors du dernier prélèvement, ceci est vrai pour les deux doses d'inoculum. L'apport de matière organique, répété deux années consécutives, accroît la sensibilité des sols aux problèmes phytosanitaires et en particulier aux fontes de semis dues à *R. solani*. Tous ces résultats semblent indiquer que l'apport de matière organique compostée n'est pas une méthode efficace pour stimuler la biomasse microbienne et/ou pour protéger la culture de carotte contre les attaques de *R. solani* et *Pythium* spp.

Pour la culture de carotte, l'impact négatif potentiel de la matière organique avait déjà été montré. L'apport de matière organique modifie la structure du sol, pouvant entraîner des défauts de formes sur les carottes (Villeneuve et Leteinturier, 1992a et b).

Pour l'utilisation des amendements organiques pour se protéger contre les maladies, on ne peut pas généraliser à partir d'un seul pathosystème. De nombreux auteurs ont étudié l'impact d'amendements organiques sur les maladies. Le plus souvent, la conclusion est plutôt en faveur de l'amendement organique, que l'effet soit clairement bénéfique, ou qu'il n'y ait pas d'amélioration significative.

IV.2.2 / Amendements organiques et maladies

Les amendements organiques sont de plus en plus utilisés comme méthode alternative de protection contre les maladies. Cependant, des résultats très contrastés peuvent être obtenus (Termorshuizen *et al.*, 2006). Le type d'amendement utilisé, sa composition, son degré de stabilisation, sont des paramètres essentiels à prendre en compte. Dans un essai au champ, Wang *et al.* (2006) ont montré que l'application de fumier frais au printemps diminuait la levée du maïs, et parfois le rendement. Mais si cette application est faite à l'automne précédent, ou après compostage du fumier, ces problèmes sont évités. De la même façon, un amendement avec des boues est moins efficace qu'avec ce même matériel composté, plus stable, pour réduire les maladies dues à *Pythium ultimum* et *Phytophthora* spp. sur poivron et pois (Garcia *et al.*, 2004). Les caractéristiques physico-chimiques de la matrice du compost, qui varient fortement selon le matériel d'origine, semblent avoir un effet plus important que les microorganismes indigènes du compost, sur les caractéristiques des communautés microbiennes du sol (Saison *et al.*, 2006).

Il existe un lien entre la maturité des composts et leur capacité de contrôle des maladies. Il est donc nécessaire de pouvoir prévoir la résistance des composts. Deux approches existent, l'une estimant la maturité du compost, l'autre se focalisant sur l'activité microbienne.

La maturité des composts peut être estimée par le test du "self-heating" (Koenig et Bari, 2000), par la mesure du taux de respiration (Iannotti, 1994) ou l'hydrolyse du FDA (Boehm et Hoitink, 1992).
La présence d'un antagoniste connu dans le compost n'assure pas le contrôle de *R. solani* (Chung et Hoitink, 1990). La matière organique fraîche, non décomposée, et pas complètement colonisée par des microorganismes capables d'induire la biostase, non seulement stimule les microorganismes mais assure aussi le développement de populations pathogènes (Hoitink et Boehm, 1999). La matière fraîche ne permet pas le contrôle de *Rhizoctonia* spp. car les fortes teneurs en nutriments libres inhibent la production d'enzymes par les agents de lutte biologiques tels que *Trichoderma* spp. (Nelson *et al.*, 1983; Chung *et al.*, 1988). Un amendement insuffisamment décomposé s'est révélé néfaste, avec des effets phytotoxiques et une augmentation de l'incidence de certaines maladies (Bonanomi *et al.*, 2006).
Afin de raisonner les applications d'amendements organiques, il est important de connaître la durabilité des effets entraînés sur les communautés microbiennes et d'autres caractéristiques du sol. Dans l'étude de Saison *et al.* (2006), suite à l'application de compost à forte dose, il n'y a pas de résilience des caractéristiques microbiennes mesurées (respiration, biomasse, structure de communauté), 6 mois après l'amendement. Au contraire, dans une étude de Darby *et al.* (2006), un sol ayant reçu un amendement de fumier, frais ou composté, s'est montré résistant à la fonte de semis du concombre et aux pourritures racinaires du pois et du mais, 2 mois après l'application, mais plus du tout 12 mois après. Suite à un nouvel amendement, la résistance a été restaurée, mais pour une durée inférieure à 6 mois.
Les stratégies de protection contre les maladies avec des amendements organiques doivent être étudiées au moins à moyen terme. En effet, il est très rare d'obtenir, comme pour un pesticide classique, un effet bénéfique net dès la première année de mise en place. Ainsi, van Bruggen et Termorshuizen (2003) montrent que pendant une période d'environ 5 ans, lorsqu'on passe d'un système conventionnel à un système biologique, les problèmes telluriques peuvent être importants. Ce n'est qu'après plusieurs années que le système biologique se révèle supérieur au système conventionnel. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le contrôle des maladies grâce aux apports organiques repose essentiellement sur des phénomènes biologiques, suite à la réorganisation des communautés microbiennes, notamment. Or, ceci peut être un processus long, stimulé par des amendements répétés.

IV.2.3 / Amendements organiques et caractéristiques microbiologiques

Un mécanisme attendu lors de l'utilisation d'amendement organique est souvent l'augmentation de l'activité microbienne, qui contribue au phénomène de résistance générale des sols. Cependant, cette forte activité microbienne n'est pas forcément prédictive de la résistance aux maladies (Erhart *et al.*, 1999). L'étude de la diversité microbienne et des changements de populations, en plus de l'activité, est un paramètre utile pour prédire la résistance aux maladies. De nombreux auteurs ont donc étudié la réponse quantitative et qualitative des microorganismes aux apports de matière organique.
Plusieurs auteurs ont montré que l'apport de matière organique augmente les densités de bactéries et champignons cultivables et stimule la biomasse microbienne. Ainsi, différentes études ont révélé des densités plus importantes de bactéries oligo- et copiotrophes dans les sols cultivés en agriculture biologique que dans ceux en agriculture conventionnelle (Mäder *et al.*, 2002 ; Mulder *et al.*, 2003 ; van Diepeningen *et al.*, 2006). Dans une comparaison entre sols amendés avec des engrais chimiques, avec ou sans un complément de fumier, Toyota et Kuninaga (2006) ont dénombré 6 fois plus de bactéries cultivables dans le sol ayant reçu le fumier. L'activité microbienne est aussi plus forte dans les sols organiques (Mäder *et al.*, 2002 ; van Diepeningen *et al.*, 2006). L'augmentation de la biomasse microbienne et de la

respiration basale suite à l'apport d'amendement a aussi été mise en évidence par Ros *et al.* (2006), quel que soit le type de compost utilisé. Concernant les champignons, Oehl *et al.* (2003) ont montré une diversité plus grande dans les sols cultivés en agriculture biologique. Dans de tels sols, Bulluck *et al.* (2002) ont trouvé plus de *Trichoderma* spp. et plus de microorganismes thermophiles, dont les actinomycètes, tous deux connus pour leurs propriétés antagonistes. Leur présence pourrait s'expliquer par une température plus élevée dans les sols ayant reçu des amendements organiques. En effet, la matière organique, de couleur foncée, capte la chaleur, et il peut aussi y avoir des processus de fermentation.
Dans des essais en microcosmes, la biomasse microbienne a également augmenté suite à l'incorporation de compost dans le sol (Perucci *et al.,* 2000 ; Perez-Piqueres *et al.,* 2006).
Un élément mis en évidence par plusieurs auteurs est la variabilité des résultats d'une année sur l'autre. Dans une étude de Bulluck *et al.* (2002), les densités totales de champignons et bactéries cultivables étaient plus fortes dans les sols ayant reçu des amendements organiques que dans ceux ayant reçu des engrais synthétiques, seulement une année sur les deux que comportait l'étude.

De nombreux auteurs ont étudié l'impact de l'apport d'amendement organique sur la structure des communautés microbiennes du sol (Franke-Snyder *et al.,* 2001 ; Bulluck *et al.,* 2002). Toyota et Kuninaga (2006) montrent une différence de structure des communautés bactériennes selon que le sol a reçu ou non du fumier, et ceci avec plusieurs méthodes moléculaires et biochimiques. Yao *et al.* (2006) ont suivi la structure des communautés de bactéries et de champignons dans des sols de vergers soit non traités, soit ayant reçu un amendement organique ou une fumigation chimique. Le suivi a été réalisé par PCR-DGGE entre 8 et 22 mois après plantation. Les profils de communautés bactériennes sont très différents entre les traitements, jusqu'à 1 an après l'application. Mais durant la deuxième année, les différences s'estompent. Dans la même étude, le phénomène a été plus rapide pour les champignons, avec un retour à des profils de communautés semblables dans tous les traitements 10 mois après les applications. Ces auteurs ont donc mis en évidence une résilience plus rapide des communautés fongiques par rapport aux communautés bactériennes. Cependant, ces modifications dans la structure des communautés microbiennes en réponse aux traitements du sol n'ont pas de relation évidente avec la performance des arbres du verger.
Gelsomino et Cacco (2006) ont suivi par PCR-DGGE la structure des communautés de bactéries, actinomycètes, alpha et beta-protéobactéries dans un sol ayant reçu un amendement organique et/ou une solarisation. La solarisation induit de forts changements des populations bactériennes, variables au cours du temps, que le sol soit amendé ou pas. De même, l'apport d'amendement organique modifie la structure de communautés bactériennes, mais elle reste ensuite assez stable. Dans ce cas, il n'y a pas de résilience.
De plus, la réponse de la microflore peut également dépendre de la quantité d'amendement organique appliquée. Saison *et al.* (2006) ont étudié la structure des communautés microbiennes totales (PLFA) et bactériennes (A-RISA), en réponse à un apport de compost à faible ou forte dose. Le compost à faible dose modifie légèrement, mais significativement, la structure des communautés microbiennes totales, mais pas celle de la communauté bactérienne. Pour le compost à forte dose, les modifications ont été fortes dans les deux cas.
Van Rijn (2007) propose que la capacité des composts à modifier la composition microbienne de la rhizosphère soit un premier critère de sélection de composts efficaces pour réduire l'incidence des maladies d'origine tellurique. En effet, tous les agents pathogènes telluriques doivent passer cette zone pour atteindre la plante. Seuls les composts capables d'induire des changements notables dans la rhizosphère seraient donc de bons candidats pour l'utilisation en protection des plantes. Dans notre étude, nous n'avons pas spécifiquement étudié la

rhizosphère. Mais le compost ayant été apporté bien avant la mise en place de la culture, ce critère semble difficile à appliquer.

IV.3 / Effet de la biodésinfection sur les caractéristiques abiotiques et biotiques

IV.3.1 / Modifications quantitatives des caractéristiques biotiques

Les essais biologiques de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R. solani* ont permis de mettre en évidence un effet bénéfique de la biodésinfection, au moins à court terme, sur la santé des sols. Les résultats des notations à la récolte sont moins nets, et les différences entre traitements pas ou peu significatives. Les agents pathogènes telluriques visés étaient essentiellement *R. solani* et *Pythium* spp. Si la sensibilité de *R. solani* aux isothiocyanates a été montrée *in vitro*, *P. sulcatum* s'est révélé résistant (Sarwar *et al.*, 1998). Ceci est en accord avec l'absence de maîtrise de ce champignon par des résidus de *Brassica* spp. incorporés (Stephens et Davoren, 1997), et avec nos résultats.

Lors des deux années de suivi des caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol, la biodésinfection a été le levier le plus fort. C'est cette pratique qui a entraîné les plus fortes modifications. Par rapport à la sous-parcelle témoin, la culture, le broyage, l'enfouissement et le bâchage du radis fourrager ont eu comme conséquences une augmentation des densités de champignons et bactéries, et à l'inverse une diminution des densités de nématodes, une augmentation de l'activité microbienne, ainsi que des modifications de la structure des communautés de bactéries, champignons et nématodes. Toutes ces modifications ont été mises en évidence juste à la fin du processus de biodésinfection, au moment du débâchage. Ces modifications doivent être mises en relation avec ce qui caractérise la sous-parcelle biodésinfecté par rapport à la sous-parcelle témoin.

Il s'agit tout d'abord de la mise en place de la culture de radis fourrager. La culture d'une plante a bien entendu un effet sur les microorganismes du sol. La production d'exsudats racinaires ou de composés allélochimiques et les rhizodépôts ont une influence, qualitative et quantitative, sur les bactéries et champignons du sol, rhizosphériques ou non. L'ensemble de ces modifications sont couramment regroupées sous le vocable d'effet rhizosphère (Rovira, 1965 ; Lemanceau et Heulin, 1998).

Cependant, la phase d'enfouissement et de bâchage doit aussi être à l'origine de fortes modifications. Il y a eu un apport important de matière organique fraîche. De plus, durant la période de quatre semaines de bâchage, la composition de l'atmosphère du sol a été modifiée, avec une élévation de la teneur en dioxyde de carbone, aux dépends de la teneur en oxygène, et une augmentation de la température du sol. L'augmentation des densités de microorganismes cultivables peut avoir plusieurs origines. Tout d'abord, le radis qui est enfoui est porteur de sa propre microflore. Les fragments broyés et enfouis constituent ensuite une excellente base trophique pour le développement de la microflore du sol. Des études spécifiques ont été menées pour ce qui concerne l'enfouissement d'engrais vert. Collins *et al.* (2006) notent une augmentation de densité des champignons, doublée par rapport à un sol fumigé ou nu, mais des résultats variables pour les bactéries. Sur un dispositif de long terme, Biederbeck *et al.* (2005) ont montré que même 15 mois après la culture des engrais verts, les populations bactériennes sont toujours 3 à 4 fois plus fortes dans ces sols par rapport aux sols en jachère et plus de 2 fois plus fortes que dans les sols en monoculture de blé. Les résultats sont similaires pour les populations de champignons, avec des densités doublées dans les sols ayant reçu un engrais vert. D'autres études ont révélé l'absence d'augmentation significative des populations microbiennes suite à un engrais vert (Bolton *et al.*, 1985 ; Shannon *et al.*, 2002), ou des augmentations très temporaires après l'enfouissement (Martyniuk et Wagner, 1978 ; Fraser *et al.*, 1988 ; Lundquist *et al.*, 1999).

Pour ce qui concerne l'effet de la solarisation ou du bâchage, des résultats contrastés ont été obtenus. Dans certains cas, les densités bactériennes augmentent (Khair et Bakir, 1995), mais dans la majorité des études, la solarisation entraîne une diminution de ces densités (Mahmoud, 1996 ; Patel et Patel, 1997; Itoh *et al.*, 2000; Barbour *et al.*, 2002 ; Sharma et Sharma, 2005). Des auteurs reportent que la solarisation a surtout un effet négatif sur les populations fongiques (Coates-Beckford *et al.*, 1997 ; Shukla *et al.*, 2000). A l'inverse, Culman *et al.* (2006) montrent que la solarisation augmente les densités fongiques.
L'augmentation globale des densités microbiennes peut aussi être une conséquence secondaire, suite à la diminution de certaines populations spécifiques. Dans le processus de biodésinfection, le broyage et l'enfouissement des radis doit entraîner une libération d'isothiocyanates, suite à l'hydrolyse des glucosinolates par la myrosinase. Ces composés ont des propriétés biocides reconnues, notamment à l'encontre de certains agents pathogènes. De la même façon, l'augmentation de la part d'azote d'ammoniacal dans le sol peut entraîner une diminution des populations de microorganismes sensibles (Tenuta et Lazarovitz, 2004). Ainsi, la "disparition" de certaines populations, sous l'effet de ces composés toxiques, laisse un vide biologique. S'il se trouve dans le sol des populations bactériennes ou fongiques, ayant de bonnes capacités saprophytes, elles peuvent se développer plus facilement, et ainsi entraîner une augmentation globale des densités microbiennes. Pour les populations fongiques, ces "re-colonisateurs" peuvent correspondre aux genres *Trichoderma*, *Aspergillus* ou *Penicillium*, qui sont de bons saprophytes.
De la même façon, les modifications de l'atmosphère et de la température dans le sol créent des vides biologiques. Les populations aérobies strictes, incapables de se développer en cas de teneur trop faible en oxygène, peuvent être considérablement limitées. Il en va de même pour les microorganismes dont les températures limites de développement sont dépassées. Une nouvelle fois, les microorganismes adaptés à ces conditions ont alors la possibilité de se développer dans un environnement beaucoup moins compétitif. Ainsi, la majorité des champignons phytopathogènes supporte mal les conditions anaérobies. Le CO_2 inhibe la sporulation ou la germination des conidies de nombreux champignons (Jhooty, 1967). Ainsi, à des concentrations supérieures à 10%, le CO_2 inhibe la croissance de *Fusarium solani* et *F. oxysporum* (Louvet, 1970).
De même, de nombreux champignons du sol ont une température optimale de croissance entre 20 et 30°C. A partir de 35°C, leur croissance s'arrête et ils commencent à réellement "souffrir" à partir de 40-45°C. La mort des champignons dépend de la température atteinte mais également de la durée d'exposition. Ainsi, dans des conditions de laboratoire, on considère qu'il faut ¼ d'heure à 55-60°C pour détruire la majorité des champignons du sol. Or, pendant la période de bâchage, il y a eu, à 10-15 cm de profondeur, des pics de température au delà de 45°C.

L'augmentation des densités microbiennes suite à la biodésinfection est à mettre en relation avec l'augmentation de l'activité microbienne sur la même période. Plusieurs auteurs ont mis en évidence une augmentation de l'activité microbienne suite à une biodésinfection ou à un enfouissement d'engrais vert (Biederbeck *et al.*, 2005). Les résidus verts constituant une base trophique facilement utilisable, les populations microbiennes peuvent se développer de façon active, contribuant ainsi à la respiration globale du sol.
Concernant la biomasse microbienne, exprimée en grammes de C microbien/kg de sol sec, elle est plus forte dans la sous-parcelle biodésinfectée à la fin de la période de bâchage, comparée à la sous-parcelle témoin. Ceci est en accord avec l'augmentation des densités de microorganismes cultivables. De nombreux auteurs ont ainsi établi un lien entre biodésinfection ou apport d'engrais vert et augmentation de la biomasse microbienne (Collins

et al., 2006). Trois cycles "engrais vert-blé" peuvent augmenter la biomasse microbienne de 54 à 83% par rapport à des cycles "jachère-blé" (Biederbeck *et al.*, 2005).
Cependant, c'est surtout la part du carbone microbien dans le carbone organique total qui a une valeur indicatrice. En effet, cette valeur permet de connaître la "destination" des apports de matière organique, soit pour approvisionner directement le stock du sol (diminution de MOV%Ct), soit pour servir de ressource pour les microorganismes (augmentation de MOV%Ct). Dans le cas de la biodésinfection mise en place, il y a eu une augmentation de la biomasse microbienne, mais aussi de la teneur en carbone organique du sol. De ce fait, la MOV%Ct de la sous-parcelle biodésinfectée n'est pas, au final, différente de celle de la sous-parcelle témoin.
Si la biodésinfection a un effet promoteur/positif sur les communautés microbiennes, elle a aussi un effet inhibiteur/négatif sur les nématodes. Les densités totales de nématodes à la fin de la biodésinfection sont plus faibles que dans le sol de la sous-parcelle témoin. L'effet négatif de la matière organique sur les nématodes a déjà été documenté par plusieurs auteurs (Pandey *et al*., 2005 ; Bhosle *et al*., 2006 ; Ferris et Bongers, 2006).
Après le processus de biodésinfection, toute la parcelle a été conduite de façon similaire pendant la culture de carottes. Ceci permet de mesurer la persistance des modifications consécutives à la biodésinfection. Les caractéristiques biotiques ne suivent pas toutes la même évolution. Les densités de champignons, après une première augmentation lors de la première biodésinfection en 2004, restent ensuite tout au long des deux années de suivi plus fortes dans la sous-parcelle biodésinfectée par rapport à la sous-parcelle témoin. L'effet de la biodésinfection sur les champignons du sol est donc durable. On peut supposer que la première biodésinfection a entraîné des modifications fortes, avec des changements de populations majoritaires et/ou la mise en place de conditions de développement très favorables. La culture de carotte puis la pause hivernale n'ont ensuite pas eu un effet perturbateur suffisant, ce qui a permis aux populations qui s'étaient développées de se maintenir à des densités fortes. En effet, même pendant la culture de carottes, les résidus de radis pourraient rester une ressource.

IV.3.2 / Modification des structure de communautés

La biodésinfection a également entraîné des modifications de la structure des communautés bactériennes et fongiques. Pour les communautés fongiques, la modification est forte suite à la première biodésinfection, mais les trois sous-parcelles retrouvent des profils similaires après la culture de carottes. En 2005, suite à la deuxième biodésinfection, la structure de la communauté fongique est de nouveau modifiée. Mais au cours de cette deuxième année, même après la culture de carotte, il n'y a pas de retour à une situation homogène pour les 3 sous-parcelles. Il n'y a plus de résilience de la communauté.
Comme pour ce qui concerne l'aspect quantitatif, les modifications qualitatives des communautés microbiennes, notamment en termes de structure, peuvent avoir pour origine les différentes étapes de la biodésinfection. La culture du radis a très certainement un premier effet sur les communautés microbiennes, notamment rhizosphériques. La composition en espèces bactériennes dans la rhizosphère est essentiellement déterminée par l'espèce de plante cultivée (Westover *et al.*, 1997 ; Grayston *et al.*, 1998 ; Ibekwe et Kennedy, 1998). Les différences s'expliquent par des variations en quantité et en composition chimique des rhizodépôts (Rovira, 1965 ; Grayston *et al.*, 1998 ; Merbach *et al.*, 1999). Pour ce qui concerne le sol non rhizosphérique, les études sont plus rares, mais l'effet du couvert végétal a aussi été mis en évidence (Abadie *et al.*, 1998). Notre étude, telle que mise en place, ne pouvait pas mettre en évidence un effet de la culture de radis fourrager, le sol n'ayant pas été analysé avant l'enfouissement.

L'augmentation de l'activité microbienne du sol après un enfouissement de matière organique fraîche (résidus de cultures par exemple) peut aussi s'accompagner d'une augmentation de la diversité microbienne. Des études ont montré que le sol sous des cultures de légumineuses, dont des engrais verts, abritent des communautés microbiennes avec une plus grande diversité physiologique (Lupwayi *et al.*, 1998 ; Shannon *et al.*, 2002). Cependant, dans d'autres études, la mise en place d'un engrais vert à l'inter-culture n'a que très peu d'effet sur la structure des communautés microbiennes (Schutter *et al.*, 2001).

Culman *et al.* (2006) ont étudié l'impact d'une solarisation de 28 jours sur les communautés bactériennes et fongiques de sols cultivés en riz puis en blé, par T-RFLP. Pour les bactéries, la structure de communauté dépend principalement de la date d'échantillonnage, et donc des facteurs environnementaux associés. Ces facteurs sont nombreux et variés, mais il semble que l'état hydrique du sol, la teneur en oxygène, la présence et le type de culture ainsi que la température et le type de travail du sol jouent un rôle important. Pour les communautés fongiques, l'impact de la solarisation est plus net. Les changements induits restent discernables pendant une période plus grande qu'une saison culturale. Cependant, les communautés fongiques finissent par se rééquilibrer. Ceci est assez semblable avec nos résultats.

Les nématodes présentent des traits de vie variés et remplissent de nombreuses fonctions dans les réseaux trophiques du sol (Bongers et Bongers, 1998). Comme pour d'autres communautés du sol, les structures des communautés de nématodes sont affectées par les perturbations naturelles ou anthropiques. En réponse à une perturbation, la communauté devient dominée par les nématodes à croissance rapide, bactérivores, et est ensuite en général transformée en une communauté plus diverse, incluant des bactéri- et fongivores à croissance plus lente, et enfin des nématodes omnivores et prédateurs (Yeates *et al.*, 1999 ; Fu *et al.*, 2000).

Nahar *et al.* (2006), ont étudié l'effet de l'apport d'un amendement organique, frais ou composté, sur les nématodes dans une culture de tomates de plein champ. L'incorporation des deux types d'amendement a augmenté la densité des nématodes bactériophages, mycophages, omnivores et prédateurs, mais a diminué les populations phytoparasites. Cette diminution des nématodes phytoparasites est plus importante avec l'amendement frais.

L'accumulation de composés azotés, toxiques pour les nématodes, durant la décomposition de la matière organique est souvent citée comme un mécanisme possible pour réduire les densités de nématodes phytoparasites (Rodriguez-Kabana, 1986). La réponse rapide des nématodes non phytoparasites aux amendements organiques a été attribuée à une augmentation dans la disponibilité de leurs ressources alimentaires (bactéries et champignons) (Wardle *et al.*, 1995 ; Ferris *et al.*, 2001).

Dans un essai à long terme (3 cycles de rotations sur 4 ans), les communautés de nématodes ont été comparées dans des systèmes de production biologique, conventionnel et à faibles intrants (Berkelmans *et al.*, 2003). Il ressort de cet essai que la composition des genres de nématodes est différente d'une année à l'autre, mais aussi chaque année entre systèmes de production, le système conventionnel se différenciant des deux autres (plus de *Pratylenchus* spp. et moins de *Tylenchorhynchus* spp.). Plusieurs indices fonctionnels ont été calculés à partir des dénombrements de nématodes, et ils montrent chaque année un effet significatif de la culture en place. Par contre, après une année d'homogénéisation avec la même culture partout, les différences entre indices disparaissent. L'effet de la culture est plus important que celui du système de production. Dans cette étude, la communauté de nématodes répond rapidement à un changement de système de culture et reste stable aussi longtemps que ce système est maintenu. Au contraire, la diminution de certaines populations de nématodes semble très lente et non détectable après trois ans de mise en jachère (Cadet *et al.*, 2005), probablement grâce aux bonnes capacités de ces espèces à survivre sur d'autres plantes hôtes, même si elles ne sont pas les plus adaptées.

Dans notre étude, c'est essentiellement la culture de carotte qui a eu un effet sur la structure des communautés de nématodes.

IV.4 / Conclusion

Les caractéristiques physico-chimiques et biologiques des sols dans des sous-parcelles ayant reçu des amendements organiques différents ont été suivies pendant deux années. Ceci a permis de révéler un impact différent des deux types d'amendements, avec des caractéristiques du sol affectés de façon variable. La réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R. solani* a aussi été modifiée. Parmi les descripteurs étudiés, il est donc possible que certains puissent devenir des indicateurs de la santé des sols.
Suite à cette première approche descriptive, deux stratégies ont été suivies. D'une part, l'approche globale a été poursuivie. Des analyses de co-inertie ont été utilisées pour mettre en évidence les relations entre les différents types de descripteurs (Chapitre 4). Ceci permet de choisir ceux qui présentent un intérêt comme indicateurs potentiels. D'autre part, une étude plus approfondie a été menée sur la population fongique préférentiellement associée aux sols biodésinfectés (Chapitre 5). Cette population pourrait être un marqueur de la biodésinfection, et un potentiel indicateur de la santé des sols.

Chapitre 4 : Recherche d'indicateurs de la santé des sols

RECHERCHE D'INDICATEURS DE LA SANTE DES SOLS ***103***

I / Introduction **103**

II / Résultats **103**

II.1 / Co-inertie caractéristiques chimiques/structure des communautés bactériennes 103

II.2 / Co-inertie caractéristiques chimiques/structure des communautés fongiques 105

II.3 / Co-inertie structure des communautés de nématodes/caractéristiques chimiques 106

II.3.1 / Données de 2004 106

II.3.2 / Données de 2005 107

II.4 / Co-inertie caractéristiques biologiques/caractéristiques chimiques 108

II.4.1 / Données de T1 et T2 en 2004 108

II.4.2 / Données de 2005 109

II.5 / Co-inertie caractéristiques biologique/structure des communautés de nématodes 110

III / Discussion **111**

RECHERCHE D'INDICATEURS DE LA SANTE DES SOLS

I / Introduction

L'analyse de co-inertie (CIA, Dray *et al.*, 2003) est une technique d'analyse multivariée qui décrit la relation entre deux tables de données. Elle peut être utilisée sur des matrices quantitatives, qualitatives, ou de distances. Les méthodes classiques, comme l'ACP ou l'analyse des correspondances, permettent de résumer un jeu de données en cherchant des axes orthogonaux sur lesquels la projection des points échantillonnés (lignes de la table) a la variance la plus forte possible. Cette caractéristique assure que les représentations associées (plans factoriels) représentent au mieux les données initiales.
Pour extraire l'information commune à deux tables, l'analyse canonique (CANCOR, Gittins, 1985) recherche des paires successives d'axes (une pour chaque table) avec une corrélation maximum. Le problème est que cette analyse peut conduire à des axes fortement corrélés, mais avec peu de variance expliquée. Ceci signifie qu'il sera difficile de donner une interprétation biologique de ces axes. Pour dépasser cette difficulté, l'analyse de co-inertie recherche des paires d'axes avec une covariance maximale (au lieu de la corrélation). Cela assure que les axes de co-inertie auront une corrélation haute, mais aussi de bons pourcentages d'explication de la variance de chaque table. Les calculs sont basés sur la table croisée entre les variables des deux tables. L'importance de chaque axe est donnée par un pourcentage de la co-inertie totale, similaire au pourcentage de variance expliquée pour les axes canoniques.
L'analyse de co-inertie a été utilisée avec succès pour visualiser les relations entre données de micropuces pour plusieurs plateformes (Culhane *et al*., 2003). L'analyse de co-inertie est une approche intéressante, car elle peut être appliquée sur des données dont le nombre de variables (ex: gènes) excède de loin le nombre de situations, comme dans le cas de micropuces. Avec une taille d'échantillon si faible, l'analyse canonique ne peut pas être utilisée, et l'analyse canonique des correspondances (ter Braak, 1986) est réduite à une analyse des correspondances.
Les tests de Monte-Carlo permettent de vérifier la significativité des relations entre deux tables. La méthode consiste à faire de nombreuses permutations aléatoires des échantillons (lignes des tables), suivies par le recalcul de la co-inertie totale. En comparant la co-inertie totale obtenue dans l'analyse normale, avec les co-inerties obtenues après permutations aléatoires, on obtient une estimation de la probabilité de rencontrer une situation semblable à celle observée, sans relation entre les deux tables (par exemple, un test de significativité de la relation).

II / Résultats

II.1 / Co-inertie caractéristiques chimiques/structure des communautés bactériennes

Les analyses de co-inertie entre les caractéristiques chimiques et la structure des communautés bactériennes ont donné des résultats semblables en 2004 et en 2005. En conséquence, seuls les résultats de 2004 sont détaillés (Figure 35).

Le test de Monte-Carlo réalisé sur les deux matrices de données relatives aux échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles Té, MO et Bd à T0, T1 et T2 de 2004 est significatif ($p<0,001$). Ceci indique l'existence d'une co-structure entre les données physico-chimiques et la structure des communautés bactériennes. Les deux premiers facteurs de l'analyse conservent ensemble 94,96% de l'inertie totale des données chimiques et 65,37% de celle des données de T-RFLP 16S.

Description des données chimiques (Figure 35 A et C)

A T0, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont proches des valeurs nulles sur F1 et F2. Il n'y a pas de changement à T1 pour les échantillons de la sous-parcelle Té. Par contre, à T1, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles MO et Bd sont situées dans les valeurs négatives de F1 et les valeurs positives de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs positives de F1.
Concernant les variables structurantes, la teneur en Cu est corrélée à F1 (valeurs positives). La CEC, les teneurs en ions, en Mn, en N et en C sont corrélées aux valeurs négatives de F1, et sont associées aux sous-parcelles MO et Bd à T1. Les teneurs en P, Fe et Zn ainsi que le pH sont corrélées aux valeurs négatives de F2.

Description des données T-RFLP 16S (Figure 35 B et D)

La représentation des échantillons selon leur structure de communautés bactériennes montre des différences entre le plan de l'ACP initiale (Figure 24) et le plan de co-inertie. Les échantillons prélevés dans la sous-parcelle Té à T0 et dans la sous-parcelle Bd à T1 restent bien distincts des autres. Cependant, sur le plan de co-inertie, ce sont les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans la sous-parcelle Bd à T1 qui sont les plus négatives sur F1. Sur le plan d'ACP, ce sont les échantillons de Té à T0 qui ont les valeurs factorielles les plus négatives sur F1. Sur le plan de co-inertie, elles sont situées dans les valeurs négatives de F2. Enfin, les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle Té à T2 sont situées dans les valeurs positives de F1 et dans les valeurs négatives de F2. Les valeurs factorielles de tous les autres échantillons sont proches des valeurs nulles de F1 et F2. La différenciation des sous-parcelles MO et Bd au temps T0, qui n'est plus visible sur le plan de co-inertie, n'est donc surement pas reliée à des caractéristiques chimiques "structurantes", mais à d'autres paramètres.
Concernant les variables, les plans d'ACP et de co-inertie montrent des changements parmi les variables discriminantes. Les fragments de 296,24 et 294,99 pb restent corrélés à F1, et ceux de 613,74 et 198,74 pb à F2. Cependant, le fragment de 613,74, qui expliquait la séparation des échantillons du prélèvement T0 sur F2, perd de son importance, et n'est plus lié qu'à la sous-parcelle Té au temps T0. D'autre part, des nouveaux fragments apparaissent comme importants dans le plan de co-inertie: 292,49 et 376,24 sur F1, et 204,99 et 73,74 pb sur F2. Les deux premiers sont caractéristiques des échantillons de la sous-parcelle Bd à T1, les deux autres semblent liés à aux échantillons de Té à T0.

Relations entre caractéristiques chimiques et bactériennes

Il y a une co-structure significative entre les données chimiques et la structure des communautés bactériennes dans les sols, au cours de l'année 2004. Les échantillons de la sous-parcelle Bd au temps T1 sont caractérisés d'une part par l'importance des fragments de 292,49 et 376,24 pb, et d'autre part par les fortes teneurs dans ces sols en ions, Mn, N et C. A T0, les échantillons de la sous-parcelle Té montrent la relation entre le fragment de 294,99 pb et la teneur en P et le pH. Les teneurs en Fe et Zn sont liées aux fragments discriminants de F2 : 613,74, 198,74, 204,99 et 73,74 pb. La teneur en Cu semble à mettre en rapport avec le fragment de 296,24 pb.

II.2 / Co-inertie caractéristiques chimiques/structure des communautés fongiques

Les analyses de co-inertie entre les caractéristiques chimiques et la structure des communautés fongiques ont donné des résultats semblables en 2004 et en 2005. En conséquence, seuls les résultats de 2005 sont détaillés (Figure 36).
Le test de Monte-Carlo réalisé sur les deux matrices de données relatives aux échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles Té, MO et Bd à T0, T1 et T2 de 2005 est significatif ($p<0,001$). Ceci indique l'existence d'une co-structure entre les caractéristiques chimiques et la structure des communautés fongiques des échantillons. Les deux premiers facteurs de l'analyse de co-inertie conservent ensemble 82,37% de l'inertie totale des caractéristiques physico-chimiques et 78,47% de celle des données de T-RFLP 18S.

Description des caractéristiques chimiques (Figure 36 A et C)

Les représentations des échantillons selon leurs caractéristiques chimiques sur le plan d'ACP initial et sur le plan de co-inertie sont très proches. Il y a une inversion de signe par rapport à F2, mais les évolutions au cours de l'année sont semblables. A T0, les valeurs factorielles des échantillons sont proches des valeurs nulles de F1 et F2. Les échantillons de la sous-parcelle Té à T1 restent proches de ceux à T0. Par contre, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles MO et Bd à T1 sont situées dans les valeurs positives de F1, surtout pour Bd. A T2, les valeurs factorielles des échantillons se retrouvent dans les valeurs négatives de F1 (surtout pour la sous-parcelle Té) et de F2.
La projection des variables sur le plan de co-inertie indique que le F1 est caractérisé par les teneurs en ions, Mn, N et C et le pH. Les teneurs en P, Fe et Zn gardent une importance forte sur le F2 (valeurs négatives), ainsi que la teneur en Mn^{2+}, dans le sens opposé. La teneur en Cu perd de l'importance dans l'analyse de co-inertie.

Description des données T-RFLP 18S (Figure 36 B et D)

A T0, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont proches, situées dans les valeurs négatives de F1 et dans les valeurs positives de F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té et MO sont proches des valeurs nulles de F1 et F2, alors qu'elles sont situées dans les valeurs positives extrêmes de F1. A T2, elles sont situées dans les valeurs négatives, nulles et positives de F1, respectivement, pour Té, MO et Bd. Elles sont situées dans les valeurs négatives de F2.
La projection des variables sur le plan de co-inertie indique que les fragments de 574,99, 581,24 et 566,24 pb sont corrélés aux deux facteurs F1 et F2. Les fragments de 583,74 et 559,99 pb sont corrélés aux valeurs positives de F2 et ceux de 564,99 et 578,74 pb aux valeurs négatives. Le fragment de 97,49 pb, discriminant sur le F1 de l'ACP, ne ressort pas dans l'analyse de co-inertie.

Relations entre caractéristiques chimiques et fongiques

Il y a une co-structure significative entre les caractéristiques chimiques et la structure des communautés fongiques dans les sols, au cours de l'année 2005. Les échantillons de T0 sont caractérisés par des teneurs plus faibles en C, Na^{+}, M^{2+}, Ca^{2+}, pH et N, et par une importance relative plus forte des pics correspondants aux fragments de 96,24 et 309,99 pb. Les échantillons de T2 sont marqués par des teneurs plus fortes en Fe, Zn et P, et plus faibles en Mn, Mn^{2+} et K^{+}, ainsi que par l'importance des fragments de 564,99 et 578,74 pb. Enfin, les échantillons de la sous-parcelle Bd prélevés à T1 sont caractérisés à la fois par des teneurs fortes en Mn, K^{+} et Na^{+}, et par une importance relative forte des pics correspondants aux fragments de 574,99, 581,24 et 566,24 pb.

II.3 / Co-inertie structure des communautés de nématodes/caractéristiques chimiques

II.3.1 / Données de 2004

Le test de Monte-Carlo réalisé sur les deux matrices de données relatives aux échantillons des sous-parcelles Té, MO et Bd prélevés à T0, T1 et T2 de 2004 est significatif ($p<0,001$). Ceci indique l'existence d'une co-structure entre la structure des communautés de nématodes et les caractéristiques chimiques des échantillons. Les deux premiers facteurs de l'analyse de co-inertie conservent ensemble 81,56% de l'inertie totale des données sur les nématodes et 91,45% de celle des données physico-chimiques (Figure 37).

Description des structures de communautés de nématodes (Figure 37 A et C)

A T0, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té et Bd sont proches des valeurs nulles de F1 et situées dans les valeurs positives de F2. Pour la sous-parcelle MO, elles sont situées dans les valeurs positives de F1 et proches des valeurs nulles de F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons de Té et MO sont proches, situées dans les valeurs positives de F1 et proches des valeurs nulles de F2. Pour Bd, elles sont proches des valeurs nulles de F1 et situées dans les valeurs négatives de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs négatives de F1, de façon la plus marquée pour ceux de la sous-parcelle Bd. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour la sous-parcelle Té, et dans les valeurs négatives pour MO et Bd. Les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans la sous-parcelle Té à T0 et à T2 sont semblables.
La projection des variables sur le plan de co-inertie indique quelles espèces de nématodes expliquent ces différences de structure entre sous-parcelles. Les densités de *Trichodorus primitivus* et *Boleodorus thylactus* sont corrélées aux valeurs négatives de F1, et opposées à la densité de *Merlinius brevidens*. Les densités de *Ditylenchus longimatricalis*, *Pratylenchus penetrans* et *Coslenchus rugosus* sont corrélées aux valeurs positives de F2. Les densités de *Psilenchus terextremus*, *Coslenchus andrassyi*, *Aphelenchus avenae* et *Discolaimium sp.* sont corrélées aux valeurs négatives de F2.

Description des caractéristiques chimiques (Figure 37 B et D)

A T0, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont proches des valeurs nulles de F1. Elles sont également proches des valeurs nulles de F2 pour MO et Bd, et situées dans les valeurs positives de F2 pour Té. A T1, les valeurs factorielles des échantillons de la sous-parcelle Té sont proches de celles à T0. Pour les deux autres sous-parcelles, elles sont situées dans les valeurs positives de F1 et dans les valeurs négatives de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs négatives de F1. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour Té et proches des valeurs nulles de F2 pour MO et Bd.
La projection des variables dans le plan de co-inertie indique que les teneurs en ions, en Mn, C et N, ainsi que la CEC, sont corrélées à F1, et opposées à la teneur en Cu. La teneur en Na^+ est fortement corrélée au F2, et opposée au pH et aux teneurs en Zn, Fe et P (valeurs positives). Cette répartition des variables dans le plan de co-inertie est assez semblable à celle dans le plan d'ACP initial.

Relations entre structure des communautés de nématodes et caractéristiques chimiques

Il y a une co-structure significative entre la structure des communautés de nématodes et les caractéristiques chimiques des échantillons prélevés en 2004.
Les échantillons du prélèvement T2 sont caractérisés par des densités plus importantes en *T. primitivus* et *B. thylactus*, et par des teneurs plus fortes en Cu. Les variables Fe, Zn, P et pH semblent associées aux densités de *D. longimatricalis*, *P. penetrans* et *C. rugosus*. Les

densités en *Hemicycliophora similes*, *Coslenchus* sp. et *Helicotylenchus pseudorobustus* n'ont pas une valeur structurante importante

II.3.2 / Données de 2005

Le test de Monte-Carlo réalisé sur les deux matrices de données relatives aux échantillons des sous-parcelles Té, MO et Bd prélevés à T0, T1 et T2 de 2005 est significatif ($p<0,001$). Ceci indique l'existence d'une co-structure entre la structure des communautés de nématodes et les caractéristiques chimiques des échantillons. Les deux premiers facteurs de l'analyse de co-inertie conservent ensemble 96,21% de l'inertie totale des données sur les nématodes et 91,59% de celle des données physico-chimiques (Figure 38).

Description des structures de communautés de nématodes (Figure 38 A et C)

Les représentations des échantillons selon leur structure de communautés de nématodes sont très semblables entre le plan d'ACP et le plan de co-inertie. Le F1 oppose les trois sous-parcelles à T0 et la sous-parcelle Té à T1 avec les trois sous-parcelles à T2. Les sous-parcelles MO et Bd à T1 se différencient sur le F2. A T0, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives de F1 et de F2. Celles des échantillons de Té à T1 sont semblables. Pour les sous-parcelles MO et Bd, les valeurs factorielles des échantillons sont proches des valeurs nulles de F1 et situées dans les valeurs positives de F2, de façon la plus nette pour Bd. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs positives de F1. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour MO et Bd, et dans les valeurs négatives pour Té.
Concernant les espèces de nématodes responsables de ces différences, le F1 oppose les densités de *C. rugosus*, *A. avenae* et *B. thylactus* (valeurs négatives), avec la densité de *D. longimatricalis* (valeur positive). Le F2 est corrélé à la densité de *C. andrassyi* (valeur négative). Les densités de *Coslenchus* sp., *P. penetrans*, *H. similes* et *H. pseudorobustus* n'ont pas une valeur discriminante importante.

Description des caractéristiques physico-chimiques (Figure 38 B et D)

La représentation des échantillons selon leurs caractéristiques chimiques est très proche de celle prenant en compte les données relatives aux densités de nématodes. A T0, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les sous-parcelles MO et Bd sont situées dans les valeurs négatives de F1, et proches des valeurs nulles de F2. Pour la sous-parcelle Té, les valeurs factorielles des échantillons de T0 et de T1 sont proches des valeurs nulles de F1 et situées dans les valeurs négatives de F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons sont proches des valeurs nulles de F1 pour la sous-parcelle MO et situées dans les fortes valeurs négatives de F2 pour Bd. A T2, elles sont situées dans les valeurs positives de F1. Elles sont situées dans les valeurs négatives, positives et proches des valeurs nulles pour les échantillons des sous-parcelles Té, MO et Bd, respectivement.
La projection des variables dans le plan de co-inertie indique que les teneurs en Mn^{2+}, Mn et K^+ sont corrélés au F1 (valeurs négatives). Elles sont opposées aux teneurs en Zn et en Fe, associées aux valeurs positives de F2. La teneur en Cu est corrélée au F2 (valeurs négatives). Les teneurs en ions, C, N, le pH et la CEC sont associés aux valeurs positives de F2.

Relations entre structure des communautés de nématodes et caractéristiques chimiques

Il y a une co-structure significative entre la structure des communautés de nématodes et les caractéristiques chimiques des échantillons en 2005. Les échantillons prélevés à T2 sont caractérisés par des densités plus importantes en *D. longimatricalis* et des teneurs plus fortes en Fe et Zn. Les échantillons de la sous-parcelle Bd à T1 se caractérisent par des densités plus importantes d'*A. avenae*, *C. rugosus* et *B. thylactus*, associées à des plus fortes teneurs en Mn^{2+}, Mn et K^+. La teneur en Cu semble associée à la densité en *C. andrassyi*.

II.4 / Co-inertie caractéristiques biologiques/caractéristiques chimiques

II.4.1 / Données de T1 et T2 en 2004

Les données de l'essai biologique ne sont pas disponibles pour le premier prélèvement de 2004. Pour pouvoir prendre en compte les résultats des essais biologiques, l'analyse de co-inertie est réalisée avec les données des prélèvements T1 et T2 (Figure 39).
Le test de Monte-Carlo réalisé sur les deux matrices de données relatives aux échantillons des sous-parcelles Té, MO et Bd prélevés à T1 et T2 de 2004 est significatif ($p<0,001$). Ceci indique l'existence d'une co-structure entre les caractéristiques biologique et chimiques des échantillons. Les deux premiers facteurs de l'analyse de co-inertie conservent ensemble 98,13% de l'inertie totale des données biologiques et 74,05% de celle des données physico-chimiques.

Description des caractéristiques biologiques (Figure 39 A et C)

Les représentations des échantillons selon leurs caractéristiques biologiques sur le plan d'ACP (Figure 32) et sur le plan de co-inertie sont très proches. Il y a une inversion de signe par rapport au F2, mais les évolutions au cours de l'année sont semblables. A T1, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té et MO sont proches, situées dans les valeurs négatives de F1 et dans les valeurs positives de F2. La sous-parcelle Bd se distingue, avec des valeurs factorielles des échantillons situées dans les valeurs négatives fortes sur F1 et F2. Les modifications entre T1 et T2, le long de F1, rapprochent les échantillons des trois sous-parcelles, avec des valeurs factorielles situées dans les valeurs positives de F1 et proches des valeurs nulles de F2.

La projection des variables sur le plan de co-inertie indique que les mortalités dans les essais biologiques sont corrélées à F1 (valeurs positives), et opposées aux taux d'activité respiratoire et aux densités microbiennes (valeurs négatives de F1). Les densités microbiennes sont aussi corrélées à F2, tout comme la MOV%Ct et la densité totale de nématodes (valeurs négatives). La répartition des variables est identique dans le plan d'ACP et dans le plan de co-inertie.

Description des caractéristiques chimiques (Figure 39 B et D)

Les représentations des échantillons selon leurs caractéristiques chimiques montrent des similitudes entre le plan de l'ACP (Figure 9) et le plan de co-inertie. Sur le plan de co-inertie, les sous-parcelles sont plus séparées les unes par rapport aux autres, essentiellement le long de F2. A T1, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs négatives de F1 pour les sous-parcelles MO et Bd, et proches des valeurs nulles pour Té. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour les sous-parcelles Té et MO, et dans les valeurs négatives pour Bd. A T2, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs positives de F1. Elles sont proches des valeurs nulles de F2 pour Té et MO, et situées dans les valeurs négatives de F2 pour Bd.

Concernant les variables, il y a des différences entre les résultats de l'ACP et ceux de l'analyse de co-inertie. La teneur en Cu, importante sur le F1 de l'ACP, et caractéristique des échantillons prélevés à T2, perd son importance sur le plan de co-inertie. Le Cu devient corrélé au F2. Les teneurs en Fe et Zn et le pH, regroupés dans l'ACP, ne le sont plus dans la co-inertie. La projection des variables dans le plan de co-inertie indique que les teneurs en ions, en P, en C et en N sont corrélés au F1 (valeurs négatives), et opposées à la teneur en Zn. La teneur en Cu et le pH sont corrélés aux valeurs négatives de F2, et la CEC et la teneur en Fe sont corrélées aux valeurs positives.

Relations entre caractéristiques biologiques et chimiques

Il y a une co-structure significative entre les caractéristiques biologiques et chimiques pour les échantillons prélevés à T1 et T2 en 2004. Les échantillons prélevés dans la sous-parcelle Bd à T1 sont caractérisés par des taux de respiration et des densités de microorganismes cultivables plus fortes, et des mortalités plus faibles dans l'essai biologique. Ces échantillons sont aussi caractérisés par des teneurs plus élevées en K^+, P, Mg^{2+}, C et N. Les échantillons prélevés à T2 sont opposés à ceux prélevés à T1, sur F1. Ils sont caractérisés par une sensibilité plus forte aux fontes de semis dues à *R. solani* et par des teneurs plus fortes en Zn. La teneur en Cu et les variables MOV%Ct et densité de nématodes sont associées.

II.4.2 / Données de 2005

Le test de Monte-Carlo réalisé sur les deux matrices de données relatives aux échantillons des sous-parcelles Té, MO et Bd prélevés à T0, T1 et T2 de 2005 est significatif ($p<0,001$). Ceci indique l'existence d'une co-structure entre les caractéristiques biologique et chimiques des échantillons. Les deux premiers facteurs de l'analyse de co-inertie conservent ensemble 78,36% de l'inertie totale des données biologiques et 66,71% de celle des données chimiques (Figure 40).

Description des caractéristiques biologiques (Figure 40 A et C)

A T0, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans les trois sous-parcelles sont proches des valeurs négatives de F1 pour la sous-parcelle Té, et situées dans les valeurs positives pour MO et Bd. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2. A T1, pour les sous-parcelles Té et MO, il n'y a pas de modification nette des valeurs factorielles des échantillons. Pour la sous-parcelle Bd, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs positives fortes de F1 et dans les valeurs négatives fortes de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives de F1 et de F2.

Concernant les variables structurantes, elles ne sont pas disposées de la même façon sur le plan d'ACP (Figure 34) et sur le plan de co-inertie. Le F1 du plan d'ACP oppose les résultats des essais biologiques et les mesures de respiration. Le F2 oppose les densités de microorganismes cultivables et la densité de nématodes. La projection des variables dans le plan de co-inertie indique que le F1 oppose la densité de nématodes et les mesures de respiration (valeurs négatives), avec les densités microbiennes valeurs positives). Le F2 oppose la MOV%Ct et les résultats des essais biologiques, qui n'ont plus de poids sur le F1.

Description des caractéristiques chimiques (Figure 40 B et D)

Les représentations des échantillons selon leurs caractéristiques chimiques sont assez proches dans le plan d'ACP (Figure 10) et dans le plan de co-inertie. A T0 et T1, les valeurs factorielles des échantillons prélevés dans la sous-parcelle Té sont situées dans les valeurs négatives de F1 et proches des valeurs nulles de F2. Pour la sous-parcelle MO, elles sont situées dans les valeurs positives de F1 et proches des valeurs nulles de F2. A T0, les échantillons de la sous-parcelle Bd ont des valeurs factorielles proches des valeurs nulles de F1 et de F2. A T1, elles sont situées dans les valeurs positives les plus fortes de F1, et dans les valeurs négatives de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives de F1, de façon la plus marquée pour Té. Elles sont situées proches des valeurs nulles de F2, du côté négatif.

Concernant les variables, il y a des différences entre les résultats de l'ACP et ceux de l'analyse de co-inertie. La projection des variables sur le plan de co-inertie indique que la teneur en Fe est corrélée aux valeurs négatives de F1, opposée aux teneurs en ions, Mn, C et N ainsi qu'à la CEC. Le pH est corrélé aux valeurs négatives de F2, opposée à la CEC.

Relations entre caractéristiques biologiques et chimiques

Il y a une co-structure significative entre les caractéristiques biologiques et chimiques pour les échantillons prélevés en 2005. Les échantillons prélevés dans la sous-parcelle Bd à T1 sont caractérisés par des densités microbiennes plus fortes et une plus grande résistance aux fontes de semis. Ils sont aussi associés aux fortes teneurs en Mn, Mn^{2+} et K^{+}. Les échantillons prélevés à T2 ont des taux de respiration et des densités de nématodes plus fortes, associés avec des teneurs plus fortes en Fe, Zn, Cu et P.

II.5 / Co-inertie caractéristiques biologique/structure des communautés de nématodes

Les analyses de co-inertie entre les caractéristiques biologiques et la structure des communautés bactériennes ont donné des résultats semblables en 2004 et en 2005. En conséquence, seuls les résultats de 2005 sont détaillés (Figure 41).
Le test de Monte-Carlo réalisé sur les deux matrices de données relatives aux échantillons des sous-parcelles Té, MO et Bd prélevés à T0, T1 et T2 de 2005 est significatif ($p<0,001$). Ceci indique l'existence d'une co-structure entre la structure des communautés de nématodes et les caractéristiques physico-chimiques des échantillons. Les deux premiers facteurs de l'analyse de co-inertie conservent ensemble 87,65% de l'inertie totale des données biologiques et 94,91% de celle des données sur les nématodes.

Description des caractéristiques biologiques (Figure 41 A et C)

A T0, les valeurs factorielles des échantillons des sous-parcelles Té, MO et Bd sont situées dans les valeurs positives de F1 et proches des valeurs nulles de F2. A T1, pour les sous-parcelles Té et MO, les valeurs factorielles des échantillons sont semblables à celles de T0. Pour la sous-parcelle Bd, elles sont situées dans les valeurs négatives extrêmes de F1 et de F2. A T2, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles sont situées dans les valeurs négatives de F1. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour les sous-parcelles Té et MO, et dans les valeurs négatives pour la sous-parcelle Bd.
La projection des variables sur le plan de co-inertie indique que les mortalités dans les essais biologiques sont corrélées aux valeurs positives de F1. Les taux de respiration sont corrélés aux valeurs négatives de F1. Le F2 oppose les densités microbiennes, dans les valeurs négatives, et la densité totale de nématode, dans les valeurs positives.

Description des structures de communautés de nématodes (Figure 41 B et D)

A T0, les valeurs factorielles des échantillons des trois sous-parcelles situées dans les valeurs positives de F1, surtout pour Té. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour les sous-parcelles Té et MO, et dans les valeurs négatives pour Bd. A T1, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs positives de F1 pour la sous-parcelle Té, et proches des valeurs nulles pour les sous-parcelles MO et Bd. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour Té, et dans les valeurs négatives pour MO et surtout Bd. A T2, les valeurs factorielles des échantillons sont situées dans les valeurs négatives de F1. Elles sont situées dans les valeurs positives de F2 pour les sous-parcelles Té et MO, et dans les valeurs négatives pour Bd.
Concernant les espèces de nématodes responsables de ces différences, les densités de *B. thylactus*, *C. rugosus*, *Coslenchus* sp., *P. terextremus* et *A. avenae* sont corrélées au facteur F1, pour les valeurs positives. Les densités de *D. longimatricalis* et de *M. brevidens* sont associées aux valeurs négatives de F1. Le F2 est surtout corrélé à la densité de *C. andrassyi* (valeurs positives). La densité en *A. avenae* est associée aux valeurs négatives de F2.

Relations entre caractéristiques biologiques et structure des communautés de nématodes

Il y a une co-structure significative entre les caractéristiques biologiques et la structure des communautés de nématodes des échantillons prélevés en 2004.
Les échantillons du prélèvement pour les trois sous-parcelles et ceux de T0 pour Té sont caractérisés par des mortalités plus fortes dans les essais biologiques et par des densités plus fortes *B. thylactus*, *C. rugosus*, *Coslenchus* sp. et *P. terextremus*. Les échantillons de la sous-parcelle Bd prélevés au temps T1 indiquent que les densités microbiennes élevées sont associées aux densités importantes en *A. avenae*. Les taux de respiration semblent associés aux densités de *D. longimatricalis* et de *M. brevidens*, et la densité totale de nématode est associée à la densité en *C. andrassyi.*

III / Discussion

Toutes les analyses de co-inertie ont pu être réalisées, car les tests de Monte-Carlo sur les paires de matrices de données ont tous mis en évidence des co-structures significatives ($p<0.001$). En général, les inerties conservées sur les 2 premiers axes sont fortes, entre 65,37% et 98,13%. C'est pour la co-inertie entre les données biologiques et les caractéristiques chimiques en 2005 que ces valeurs sont les plus faibles (78,36 et 66,71%). C'est celle entre les données de structure des communautés de nématodes et les caractéristiques chimiques en 2005 qui donne les plus fortes valeurs (96,21 et 91,59%).
Les co-inerties entre les caractéristiques chimiques et les données de T-RFLP 16S montrent des associations préférentielles entre certaines caractéristiques chimiques des sols et des fragments de T-RFLP, représentant une ou plusieurs espèces bactériennes. En 2004, trois groupes de variables peuvent être distingués. La teneur en Cu est isolée. Un second groupe est composé du pH et des teneurs en Fe, Zn et P. Enfin, toutes les autres variables sont regroupées, et s'opposent au Cu sur le F1. En 2005 (données non présentées), la situation est assez semblable. L'opposition entre le Cu et les autres variables est surtout visible sur le F2. Concernant les fragments de T-RFLP, il y en a moins qui se distinguent en 2004 par rapport à 2005. On peut cependant mettre en évidence les fragments suivants : 296 pb, associé à Cu, ainsi que ceux de 61,64 ou 294 pb pour les 2 années, 292 et 376 pb en 2004, et 232 et 328 pb en 2005. Ces fragments pourraient être l'objet de recherches plus détaillées. L'augmentation du nombre de fragments discriminants en 2005 pour les bactéries par rapport à 2004 pourrait résulter de la répétition des pratiques culturales sur les sous-parcelles.
Les analyses avec les données sur les structures des communautés fongiques montrent aussi des relations entre caractéristiques chimiques et populations de champignons. Pour les variables chimiques, elles se structurent de la même façon que dans les analyses avec les communautés bactériennes. Dans ces analyses, le Cu se distingue surtout en 2004 (données non présentées) et moins en 2005. Les fragments de T-RFLP "structurants" sont ceux de 581, 566, 583, 559, 574, 578 et 564 pb. En 2004, les fragments de 639 et 561 pb se distinguent aussi.
Tous ces fragments pourraient correspondre à des espèces microbiennes particulièrement sensibles aux conditions d'environnement chimique. Les techniques potentiellement utilisables pour déterminer les espèces concernées sont présentées dans le chapitre V de ce manuscrit. L'influence des caractéristiques chimiques sur le développement de ces microorganismes pourrait être étudiée en conditions contrôlées. Si, en plus, ces espèces se révèlent être antagonistes d'agents pathogènes telluriques, on peut imaginer un "pilotage" des communautés microbiennes par les caractéristiques abiotiques, pour protéger les cultures. Les amendements minéraux, afin d'apporter certains ions ou oligo-éléments, semblent envisageables d'un point de vue technique.

Les analyses de co-inertie ont aussi été réalisées avec les structures de communautés de nématodes en lien avec les caractéristiques chimiques. Les données chimiques se structurent de façon similaire à ce qui a été mis en évidence dans les autres analyses. Les densités d'*H. similes*, d'*H. pseudorobustus* et de *Coslenchus* sp. ne font pas partie des variables importantes. Pour les deux années, les teneurs en Fe et Zn sont associées aux densités de *D. longimatricalis*. Contrairement à ce qui a été mis en évidence pour les communautés bactériennes et fongiques, pour la structure des communautés de nématodes, il n'y a pas de fortes similitudes entre les résultats des co-inerties de 2004 et 2005. Les nématodes phytoparasites sont plus inféodés aux cultures en place qu'aux caractéristiques chimiques des sols. Les modifications les plus visibles sur le facteur principal des ACP sont celles qui ont lieu pendant la culture de carotte, entre T1 et T2.
Les co-inerties entre les données biologiques et les caractéristiques chimiques des sols montrent une nouvelle fois les différents groupes qui se forment au sein des données chimiques. A noter que dans ces analyses de co-inertie entre données biologiques et chimiques, le Cu se sépare moins des autres variables. Les analyses de 2004 et de 2005 donnent des résultats un peu différents pour ce qui concerne les relations entre variables biologiques. En 2004, les mesures de respiration et de densités microbiennes sont corrélées, du même coté sur le F1. En 2005, ces deux types de variables sont opposés sur le F1. Les résultats de l'essai biologique sont fortement associés au F1 en 2004, et au F2 en 2005.
Il est clair que les interactions entre caractéristiques abiotiques et biotiques des sols sont fortes. De plus, l'influence de ces caractéristiques abiotiques sur la réceptivité des sols a déjà été démontrée. Cependant, il est probable que cet effet soit indirect, la modification de la réceptivité étant la conséquence d'un effet sur les communautés microbiennes. Il semble donc difficile de vouloir améliorer la santé des sols en ne tenant compte que de caractéristiques biologiques globales.
Les co-inerties prenant en compte uniquement des données biotiques, à savoir celles réalisées entre les caractéristiques biologiques "globales" et la structure des communautés de nématodes, montrent qu'il existe bien une co-structure au sein de ces variables. Certaines espèces de nématodes se retrouvent préférentiellement dans les sols ayant une forte densité microbienne ou dans les sols plus sensibles aux fontes de semis dues à *R. solani*. Il pourrait donc être intéressant d'intégrer certaines espèces de nématodes parmi les descripteurs de la santé des sols. Il peut sembler difficile d'utiliser les communautés de nématodes pour améliorer la santé des sols. Cependant, plusieurs études ont montré que plus la densité de nématodes phytoparasites, c'est la diversité des espèces qui donne à la communauté sont caractère pathogène ou non (Cadet *et al*., 2003 ; Lavelle *et al*., 2004). Cela peut s'expliquer par une compétition accrue entre espèces, ou par la dominance d'espèces moins pathogènes. Il pourrait donc être possible d'orienter les communautés de nématodes vers des communautés non pathogènes, grâce à des pratiques culturales adaptées. Cependant, il faut aussi prendre en compte que ces changements de communautés peuvent être longs à s'installer, et que de nombreuses interactions semblent impliquées dans ce processus (Cadet *et al*., 2003).

L'analyse de co-inertie est une méthode descriptive. Dans la recherche d'indicateurs de la santé des sols, elle constitue une première étape. L'analyse de nombreuses variables sur de multiples points d'échantillonnage permet de mettre en évidence les variables structurantes ou non, ainsi que celles corrélées entre elles. Afin de proposer des indicateurs, l'étape suivante serait l'utilisation de méthodes prédictives, comme des régressions, l'analyse canonique des correspondances ou les analyses discriminantes. Dans ce cas, il est nécessaire d'examiner moins de variables sur un grand nombre d'échantillons.
Les analyses de co-inertie ont révélé l'importance structurante de la teneur en cuivre. Ceci est particulièrement marqué dans la sous-parcelle témoin. Il semble que cette teneur élevée en

cuivre soit un reliquat des traitements phytosanitaires qui ont eu lieu lorsque cette partie de parcelle abritait une pépinière de plants fruitiers. Le cuivre a des propriétés antimicrobiennes connues et est utilisé depuis de très nombreuses années en protection des cultures. Cette teneur en cuivre plus élevée dans la sous-parcelle témoin a certainement eu un impact sur les communautés bactériennes et fongiques, sans lien avec les pratiques mises en place dans cette étude. Ceci complique considérablement les interprétations biologiques pouvant être tirées de nos résultats. Cependant, il est important de noter que notre approche descriptive a permis de mettre en évidence ce fait. Une approche prédictive aurait pu masquer l'hétérogénéité initiale liée à la distribution du Cu, et de ce fait aurait pu conduire à une interprétation biologique erronée.

Pour une approche prédictive, il faudrait utiliser un dispositif plus adapté. Ainsi, seules certaines variables, choisies grâce à ces premières analyses, pourraient être suivies. Ce sont : la teneur en cuivre, quelques cations de la solution du sol et quelques oligo-éléments, les mesures de densités microbiennes, et des fragments d'ADN résultant de l'analyse de structure des différentes communautés.

Concernant les variables physico-chimiques, il semble important de continuer à suivre la teneur en Cu. Dans les analyses de co-inertie, cette variable a eu un certain effet "masquant" vis-à-vis des effets des autres variables. Cet effet fort du Cu n'a pas forcément une explication biologique. Il semble que le Cu ait eu un effet structurant dans les analyses de co-inertie à cause de sa présence accrue dans la sous-parcelle Té. Cependant, il semble important de continuer à suivre cette variable dans d'autres parcelles, pour infirmer ou confirmer son importance biologique. D'autres variables physico-chimiques semblent corrélées entre elles. Si cela est vérifié, il n'est pas nécessaire de les suivre toutes. C'est par exemple le cas pour les teneurs en Fe, Zn et P d'une part, et pour les teneurs en ions Ca^{2+}, Na^{+}, Mg^{2+} et dans une moindre mesure K^{+} et Mn^{2+}, d'autre part. Le suivi de deux ou trois variables représentatives de ces groupes pourrait être suffisant dans un second temps.

Pour les données biologiques, les variables d'intérêt semblent être les mesures de densités et d'activité microbiennes. La biomasse microbienne et la densité totale de nématodes semblent moins intéressantes, moins liées à la santé des sols, représentées par sa réceptivité aux fontes de semis. Cependant, dans ce cas, un autre facteur à prendre en compte est la facilité de mesure de chaque variable et sa fiabilité. Ainsi, dans notre étude, les mesures de respiration se sont révélées très variables au sein de la parcelle. C'est *a priori* la méthode de mesure qui est à remettre en cause. Au contraire, la mesure des densités microbiennes par suspension-dilution donne des résultats fiables, et elle est facile à mettre en œuvre.

Les analyses de co-inertie mettant en jeu les données de structure de communautés microbiennes ont montré que seuls quelques fragments de T-RFLP se révèlent discriminants. Ce sont ces fragments ou les espèces correspondantes qui devraient par la suite être suivies prioritairement. Il semble important de déterminer les espèces correspondantes à ces fragments, afin de pouvoir proposer des interprétations biologiques relatives aux relations mises en évidence entre les différentes variables suivies. Si ces espèces microbiennes peuvent être isolées sur milieu gélosée, elles pourraient être suivies par des méthodes de microbiologie classique, de façon qualitative et quantitative. Il est aussi possible d'utiliser des méthodes moléculaires. Dans ce cas, soit les espèces d'intérêt sont directement ciblées, avec des amorces spécifiques, par exemple, soit elles sont recherchées dans des profils complexes, tels que réalisés dans cette étude.

Enfin, pour la structure des communautés de nématodes, il semble pour l'instant encore difficile d'intégrer cette approche avec l'approche purement "microbienne". Les microorganismes semblent prioritairement influencés par les caractéristiques du sol, avec des effets forts et des réponses rapides. Les nématodes phytoparasites sont beaucoup plus sous l'influence de la culture mise en place. Cependant, les analyses de co-inertie ont montré qu'il

existe un lien entre communautés de nématodes et santé des sols, même lorsque celle-ci est essentiellement abordée sous l'angle microbien.

Les analyses de co-inertie ont permis de sélectionner des variables chimiques et biologiques qui sont des indicateurs possibles du fonctionnement biologique du sol, à mettre en relation avec la santé du sol et de la plante. Ce premier bouquet est à valider expérimentalement par des mesures aux champs, et par une approche modélisatrice utilisant des outils déjà développés (chapitre 1 de ce manuscrit), dont des méthodes statistiques prédictives. Ces outils ont été développés dans des situations agronomiques avec la mesure de la qualité des sols comme objectif, mais sans inclure la composante phytosanitaire. Néanmoins, les données relatives à l'aspect sanitaire sont insuffisantes au regard de leur importance fonctionnelle. Un travail visant à identifier des marqueurs de l'activité pathogène (gènes exprimés lors des interactions plantes / agent pathogène, enzymes ou métabolites secondaires impliqués dans l'infection) apparaît comme nécessaire. Ainsi, la santé des sols pourrait être appréhendée par plusieurs descripteurs.

Chapitre 5 : Identification d'une population fongique préférentiellement associé au sol biodésinfecté

IDENTIFICATION D'UNE POPULATION FONGIQUE PREFERENTIELLEMENT ASSOCIEE AU SOL BIODESINFECTE ***116***

I / Introduction **116**

II / Matériels et méthodes **116**
II.1 / Isolements 116
II.2 / Purification des isolats sous forme de monospores 117
II.3 / Extraction d'ADN d'isolat fongique 117
II.4 / Identification moléculaire des isolats fongiques 117
II.4.1 / PCR ITS1-ITS4 117
II.4.2 / Clonage et séquençage 118

III / Résultats **120**
III.1 / Récupération et identification morphologique des isolats fongiques 120
III.2 / Identification moléculaire par clonage-séquençage du fragment de PCR ITS1-ITS4 120
III.3 / PCR 18S et T-RFLP sur ADN d'isolats fongiques 121

IV / Discussion **121**
IV.1 / Discussion méthodologique 121
IV.2 / Discussion biologique 123

IDENTIFICATION D'UNE POPULATION FONGIQUE PREFERENTIELLEMENT ASSOCIEE AU SOL BIODESINFECTE

I / Introduction

L'étude des données de T-RFLP 18S a permis de mettre en évidence un effet très marqué de la biodésinfection sur la structure des communautés fongiques, juste après le débâchage (prélèvements T1), lors des deux années de suivi. En outre, la représentation des variables sur les plans d'ACP a montré que les mêmes fragments terminaux de restriction (TRF), donc potentiellement les mêmes espèces microbiennes, étaient en cause les deux années. Les espèces représentées par les fragments de 559, 566 et 581 pb sont favorisées, avec une augmentation de la densité de ces espèces pendant la biodésinfection. L'espèce représentée par le fragment de 97 pb est au contraire défavorisée, avec une diminution de sa densité. De plus, les dénombrements de champignons cultivables ont révélé des densités de champignons significativement plus élevées dans les échantillons biodésinfectés. Cette augmentation a pu être visuellement associée à la présence en abondance, dans ces échantillons, d'une population spécifique de champignons. Cette population est au contraire très rare ou non détectée dans les échantillons des sous-parcelles Té et MO. Ainsi cette population pourrait correspondre à un de ces fragments discriminants, et donc représenter un indicateur de la biodésinfection. Afin de tester cette hypothèse, nous avons décidé (i) d'isoler ces champignons et de les identifier par une méthode moléculaire, et (ii) de faire une analyse T-RFLP des souches pures pour les comparer aux TRF discriminants identifiés dans les profils complexes des ADN de sols, d'autre part.

II / Matériels et méthodes

II.1 / Isolements

Des isolats fongiques sont récupérés d'échantillons de sol par suspension-dilution comme décrit dans le chapitre 2. Cette étude a porté sur 18 échantillons prélevés aux dates T1 de 2004 et 2005, et conservés ensuite en chambre froide à 4°C (2 Té, 2 MO et 5 Bd/an). A partir des boîtes d'isolement, 10 isolats sont isolés pour chaque échantillon, et transférés sur milieu PDA. Ces isolats sont choisis de façon à représenter au mieux la diversité de chaque échantillon. Lorsque c'est possible, le maximum d'isolats phénotypiquement différents sont isolés. Dans les échantillons des sols biodésinfectés, il n'y a parfois pas de diversité apparente. Après les isolements, une première étape d'identification morphologique est réalisée par observations macro- et microscopiques. Les isolats sont identifiés au niveau du genre, et de l'espèce pour certains.

II.2 / Purification des isolats sous forme de monospores

Des isolats fongiques (55) sont purifiés sous forme de monospores. Pour cela, des cultures sur milieu PDA de 6 à 10 jours sont recouvertes par 5 ml d'eau stérile. La surface de la colonie est grattée, et la suspension est filtrée sur verre fritté N°2 (taille des pores 40-200 µm). Cette suspension mère est diluée au 1/10ème en série et des aliquotes de 100 µl sont étalées avec des billes de verre sur milieu Malt gélosé complémenté de Triton X 100 (3 ml/L, Packard Instrument Company). Le Triton (iso-octylphenoxypolyethoxythanol) est un agent mouillant qui facilite l'isolement des colonies. Dès que les colonies apparaissent sur les boîtes, une colonie bien isolée est prélevée et repiquée sur milieu PDA.

II.3 / Extraction d'ADN d'isolat fongique

L'ADN des isolats est extrait à partir de cultures sur milieu PDA âgées d'au moins une semaine. Un ml de tampon de lyse (TrisHCl pH 7.2 50 mM; EDTA 50 mM; SDS 3%) est ajouté sur la culture. Les conidies et le mycélium sont détachés par aspiration-refoulement. Le mélange est incubé 30 min à 65°C puis agité à l'aide d'un vortex. Les protéines sont éliminées par addition d'un volume de phénol-chloroforme-alcool isoamyl (25/24/1) et agitation. Après centrifugation (12000 g, 10 min, 4°C), la phase aqueuse contenant l'ADN est récupérée et purifiée une nouvelle fois avec un volume de chloroforme-alcool isoamyl (24/1). Une première série de 20 extractions d'ADN d'isolats sans ces étapes de purification au phénol et au chloroforme a généré des ADNs de qualité insuffisante pour une amplification efficace par PCR. C'est pourquoi les étapes de purification ont été ajoutées dans les extractions suivantes. L'ADN est précipité avec 1/10ème de volume d'acétate d'ammonium 7,5M et 1 volume d'isopropanol. Après centrifugation (12000 g, 15 min, 4°C), le culot est lavé avec 300 µl d'éthanol 70° (-20°C). Après centrifugation (12000 g, 3 min, 4°C), le culot est séché puis resuspendu dans 100 µl d'eau ultrapure (Eppendorf). La concentration en ADN des échantillons est évaluée par quantification sur gel d'agarose (0,8% ; migration 100V, 40 min) et comparaison avec une gamme d'ADN de thymus de veau de concentration connue.

II.4 / Identification moléculaire des isolats fongiques

Les isolats des échantillons de sol sont identifiés par séquençage de la région ITS (Internal Transcribed Spacer) de l'ADN ribosomique. Cette région est classiquement utilisée comme marqueur taxonomique pour différencier les espèces fongiques. Pour cela, la région ITS est amplifiée par PCR puis clonée afin d'être séquencée.

II.4.1 / PCR ITS1-ITS4

La région de l'ADNr comprenant les ITS 1 et 2 ainsi que le gène de l'ARNr 5,8S est amplifiée par PCR avec les amorces ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) et ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White *et al.*, 1990). Les réactions de PCR sont réalisées dans 25 µl final (tampon 1X, dNTP 150 µM, ITS1 0,6 µM, ITS4 0,6 µM, *Taq* Polymerase 2U, ADN 20 ng). Les amplifications sont réalisées dans un thermocycleur Mastercycler (Eppendorf, Hambourg, Allemagne), dans les conditions suivantes : dénaturation initiale 3 min 94°C, 35 cycles de dénaturation 1 min 94°C-hybridation 1 min 50°C-élongation 1 min 72°C, élongation finale 10 min 72°C.
Après une première vérification par électrophorèse sur gel d'agarose, les produits de PCR sont purifiés sur gel avec le kit QiaEx II Gel Extraction kit (Qiagen, Courtabœuf, France), selon les

recommandations du fournisseur. Les produits de PCR purifiés sont quantifiés par électrophorèse en gel d'agaorse 2% et comparaison à une gamme de quantités connues du marqueur de poids moléculaire Smart Ladder (Eurogentec, Seraing, Belgique).

II.4.2 / Clonage et séquençage

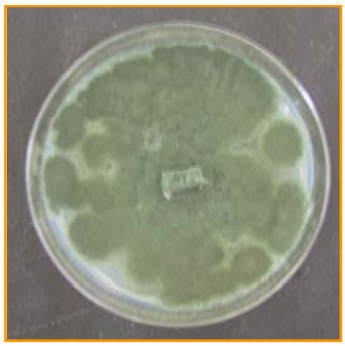
Le fragment ITS purifié est introduit par ligation dans des plasmides vecteurs pGEM-T (kit pGEM-T easy vector system II, Promega). La ligation est réalisée dans un volume final de 10 µl (insert 30 ng, vecteur 50 ng, tampon 1X, T4 DNA ligase 1 µl). Après incubation une nuit à 4°C, la ligation est vérifiée par électrophorèse en gel d'agarose (2%). Cinquante µl de cellules bactériennes JM109 sont transformées avec 4 µl de produit de ligation selon les recommandations du fournisseur. Après 20 min d'incubation dans la glace, un choc thermique (2 min à 42°C puis 5 min dans la glace) est imposé aux cellules compétentes. 950 µl de milieu LB liquide sont ajoutés et les cultures bactériennes sont incubées sous agitation pendant 2 heures à 37°C.

Les cellules sont étalées sur milieu LB gélosé complémenté (ampicilline, 100 µg/ml de LB) additionné d'IPTG (100 µl/boîte) (inducteur de l'activité de la β-galactosidase) et de X-Gal (20 µl/boîte) (substrat de la β-galactosidase). Les boîtes sont incubées une nuit à 37°C. Afin de vérifier le caractère recombinant des cellules, quatre clones recombinants (blancs) par souche sont prélevés et étalés en stries sur milieu gélosé LB+amp+IPTG+X-Gal. Ils sont incubés une nuit à 37°C. Le reste de la colonie est cultivé dans 2 ml de milieu LB liquide complémenté (ampicilline, 100 µg/ml de LB) sous agitation à 37°C.

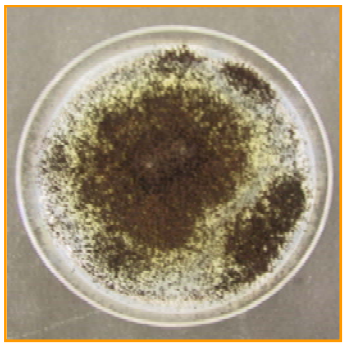
Après au minimum une nuit d'incubation, l'ADN plasmidique est extrait des cultures bactériennes liquides selon le protocole de Birnboim et Doly (1979), avec les produits du kit QiaFilter Plasmid midi kit (Qiagen). Après centrifugation (12000 g, 5 min, T° ambiante) de 1,5 ml de culture, le culot est remis en suspension dans du tampon P1. Les bactéries sont lysées grâce au tampon P2 contenant du SDS. Le mélange est homogénéisé puis les protéines sont précipitées à froid par de l'acétate de potassium (P3). Après incubation dans la glace et centrifugation (5 min, 12000 g, T° ambiante), le surnageant est transféré dans un nouveau tube. L'ADN est précipité à l'éthanol et le mélange est incubé 5 min à température ambiante avant d'être centrifugé (5 min, 12000 g, T° ambiante). Le culot est récupéré, lavé à froid à l'éthanol, séché et remis en suspension dans 30 µl d'eau stérile. La quantité d'ADN purifié est mesurée par spectrophotométrie (BioPhotometer, Eppendorf).

Le fragment d'ADN cloné est amplifié par PCR avec les amorces SP6 (GATTTAGGTGACACTATAG) et T7 (AATACGACTCACTATAG) qui s'hybrident sur le vecteur de clonage. La réaction de PCR est réalisée dans 50 µl final (tampon 1X, dNTP 200 µM, SP6 0,2 µM, T7 0,2 µM, *Taq* Polymerase 0,12 U, ADN 50 ng). Les amplifications sont réalisées dans un thermocycleur Mastercycler (Eppendorf), dans les conditions suivantes : dénaturation initiale 5 min 94°C, 35 cycles de dénaturation 1 min 94°C-hybridation 1 min 55°C-élongation 1 min 72°C, élongation finale 5 min 72°C.

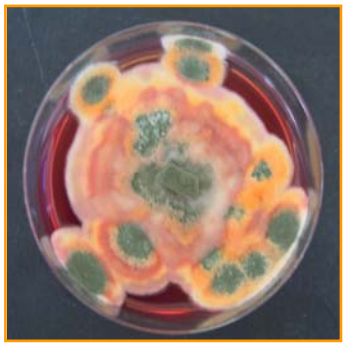
Le séquençage des inserts est réalisé à partir de l'amorce T7, par une société de service (Genome Express, Meylan, France). Les séquences obtenues sont comparées par alignement avec celles référencées dans la base de données du National Center for Biotechnology Information (NCBI), grâce au logiciel Blast (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi).



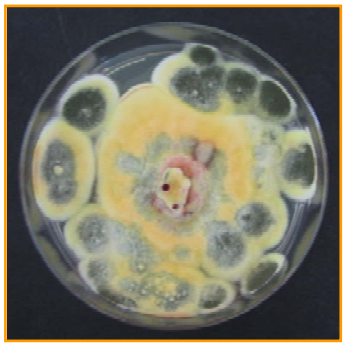
A



B



C



D

Aspergillus fumigatus

E

Penicillium expansum

Planche photos 5
Cultures sur milieu gélosé de souches fongiques isolées de sol biodésinfecté.
A- *A. fumigatus* sur milieu PDA, B- *A. fumigatus* sur milieu CZ,
C et D- *A. fumigatus* sur milieu CYA.
E- *Penicillium expansum* sur milieu PDA
Composition des milieux en annexe 2
Source M. Fiers

II.5 / Analyse de T-RFLP d'isolats fongiques

Une analyse T-RFLP est réalisée sur 21 isolats fongiques des sols. Toutes les souches pour lesquelles l'identification moléculaire a été réalisée n'ont pas pu être analysées par T-RFLP. Le protocole de PCR, de digestion et de migration est identique à celui utilisé pour les communautés totales du sol (chapitre II), hormis le fait que la digestion ne se fait qu'avec 40 ng de produit de PCR, ce qui correspond ensuite à une seule répétition d'analyse T-RFLP.

III / Résultats

III.1 / Récupération et identification morphologique des isolats fongiques

La méthode de dilution-étalement a permis d'obtenir des boîtes avec des colonies suffisamment isolées pour pouvoir être repiquées avant purification. L'identification morphologique des isolats a permis d'estimer la répartition des genres fongiques dans les différents échantillons de sols, avant l'identification moléculaire plus précise (Table 9). Les genres *Penicillium* et *Aspergillus* sont observés majoritairement dans les échantillons étudiés (Planche photos 5). Concernant le genre *Aspergillus*, il est possible d'identifier morphologiquement quelques isolats d'*A. niger*. Pour les autres, ils ont tous le même aspect sur milieu gélosé, et pourraient appartenir à l'espèce *A. fumigatus*, d'après les descriptions de Singh *et al.* (1991).
Les genres *Fusarium*, *Phytophthora*, *Trichoderma* et d'autres genres non identifiés sont aussi isolés.
Dans 8 échantillons biodésinfectés sur 10, *Aspergillus* (*fumigatus*?) est présent. Dans ces isolements, il représente de 30 à 100% des isolats. *Aspergillus* (*fumigatus*?) n'est jamais retrouvé dans les autres échantillons. Au contraire, *Penicillium* est retrouvé dans tous les échantillons Té et MO, où il représente entre 30 et 80% des isolements. Mais il n'est présent que dans 5 échantillons biodésinfectés sur 10.

III.2 / Identification moléculaire par clonage-séquençage du fragment de PCR ITS1-ITS4

Les extractions d'ADN ont permis d'obtenir 1,4 à 104 ng d'ADN/µl selon les isolats. La PCR ITS1-ITS4 a permis d'amplifier pour chaque isolat un fragment de taille d'environ 600 pb. Seuls deux ADN *d'Aspergillus niger* (déterminés morphologiquement) n'ont pas pu être amplifiés. Une étape de purification supplémentaire pouvait être nécessaire.
Le pourcentage de réussite de ligation est de 94% (33 souches sur 35 passées). Il a été possible d'obtenir des transformants pour tous les clones. La PCR SP6-T7 avant séquençage a permis d'obtenir pour tous les échantillons l'amplification d'un fragment d'environ 750 pb. Tous les produits envoyés à séquencer ont donné en retour une séquence exploitable. Les espèces dont la séquence présente le plus fort pourcentage de similarité avec chaque séquence soumise à la base de données sont utilisées pour déterminer l'espèce correspondante la plus probable. Pour toutes les souches, ces séquences présentent 97 à 100% de similarité avec la séquence d'intérêt (Table 10).
Parmi les 26 séquences du genre *Aspergillus* obtenues, toutes ont entre 97 et 100% de similarité avec uniquement des souches d'*A. fumigatus*.

La séquence de la souche 8 permet de déterminer l'appartenance au genre *Trichoderma*, mais n'est pas suffisante pour déterminer l'espèce. La séquence de la souche 39 correspond à deux espèces possibles, *T. atroviride* et *T. harzianum*.
Parmi les 5 souches de *Penicillium*, seule la souche 44 a 100% de similarité avec une souche de *P. expansum*. Pour les 4 autres souches, la séquence de la région ITS l'ADNr est insuffisante pour identifier une espèce unique.

III.3 / PCR 18S et T-RFLP sur ADN d'isolats fongiques

La PCR 18S a permis l'amplification d'un fragment de taille d'environ 750 pb pour 21 des 26 échantillons analysés. Un profil a ensuite été obtenu pour chaque isolat. Quatorze isolats supposés d'*Aspergillus*, 5 de *Penicillium* et 2 de *Trichoderma* ont été analysés. Plusieurs isolats d'*Aspergillus* ont été analysés pour vérifier "l'homogénéité" de la population. Les autres isolats ont été analysés pour vérifier que tous ces genres ne génèrent pas un même pic en T-RFLP, et pour déterminer si les fragments de ces genres correspondent à des fragments discriminants des profils complexes des ADN de sols biodésinfectés.
Le fragment terminal a une longueur estimée comprise entre 558,94 et 559,71 pb pour onze souches d'*Aspergillus* (moyenne 559,30 pb). Pour les 3 autres souches d'*Aspergillus*, l'une présente un fragment terminal de longueur estimée 553,29 pb et les 2 autres n'ont pas de fragment terminal dans cette zone de taille (Table 10).
Le fragment terminal a une longueur estimée comprise entre 558,27 et 558,48 pb pour les 5 souches de *Penicillium* (moyenne 558,38 pb).
Une analyse T-RFLP de 4 souches de chaque espèce, avec une migration électrophorétique commune, a permis de vérifier que cette différence de taille de 1 pb est réelle. On a obtenu dans ce cas un fragment prépondérant de 559,72 pb en moyenne pour *Aspergillus* et 558,65 pb en moyenne pour *Penicillium*.
Les 2 souches de *Trichoderma* ont des fragments terminaux de 580,51 et 580,45 pb.
Pour 3 des 21 souches analysées, en plus du fragment "558 ou 559", un autre fragment marqué a été détecté, entre 64 et 71 pb.

IV / Discussion

IV.1 / Discussion méthodologique

Pour pouvoir *in fine* amplifier les fragments désirés par PCR, l'ADN des souches a dû être extrait par une méthode utilisant du phénol-chloroforme. Cette méthode est assez stringente, et permet une bonne purification des ADN. Ceci a sûrement été rendu nécessaire par la forte coloration des spores des isolats travaillés (principalement *Aspergillus* sp.), et donc une forte teneur en molécules potentiellement inhibitrices de PCR.
En théorie, si on travaille avec des souches pures, la digestion du produit de PCR ne doit générer qu'un fragment terminal marqué, puisque la digestion est complète. Or, pour plusieurs profils de T-RFLP, un pic est détecté autour de 55 pb. Ce pic n'est pas pris en compte, car il se situe en dehors de la gamme du standard (60-640 pb). Il est possible qu'il corresponde à des amorces marquées non éliminées lors de la purification des produits de PCR. De même, les 3 fragments détectés entre 63 et 71 pb pourraient correspondre à des dimères d'amorces.
L'alignement de séquences pour 26 souches révèle des pourcentages de similarité compris entre 97 et 100% avec des séquences d'*A. fumigatus*. Or, Travis *et al.* (2000) ont montré que le pourcentage de similarité inter-espèces est au maximum de 91,7% pour *Aspergillus*. Et

l'espèce *A. fumigatus* a une diversité génétique intraspécifique très faible (Hong *et al.*, 2005 ; Rydholm *et al.*, 2006). La séquence de la région ITS est donc suffisante pour attribuer un nom d'espèce à un isolat dans le genre *Aspergillus*. A l'inverse, les séquences d'ITS ne sont pas suffisantes pour différencier de façon certaine les isolats de *Trichoderma* au niveau spécifique. La base de données NCBI contient un grand nombre d'espèces de *Trichoderma* ayant au moins 99% de similarité avec nos séquences d'intérêt. De plus, le genre *Trichoderma* fait partie des genres fongiques très étudiés, et dont la taxonomie est encore en évolution (Kinderman *et al.*, 1998 ; Lieckfeld et Seifert, 2000). Ainsi, la souche 39 présente 99% de similarité avec *T. atroviride* et *T. harzianum*. Mais ce n'est que récemment que la distinction entre ces deux espèces a été clairement proposée.
De la même façon, pour les isolats de *Penicillium*, la distinction au niveau spécifique n'a pas été possible dans tous les cas.
Il faut aussi prendre en considération le fait que les bases de données sont en général bien renseignées pour ce qui concerne les bactéries et champignons pathogènes de l'homme, ou pour ceux utilisés par l'industrie. C'est beaucoup moins vrai pour les souches fongiques du sol. Ainsi, cela entraîne un biais dans les résultats obtenus, toutes les espèces n'étant pas représentées dans les banques. Dans les cas où les séquences d'ITS ne sont pas suffisamment discriminantes, l'identification moléculaire des espèces pourra être complétée par le séquençage d'autres régions d'ADN discriminantes, telles que les domaines variables du gène codant l'ARNr 28S ou les gènes codant pour les β-tubulines, la calmoduline ou l'actine (Balajee *et al.*, 2005 ; Hong *et al.*, 2005). Cependant, Hinrikson *et al.* (2005a et 2005b) ont montré que le séquençage des régions IT1 et ITS2 est plus intéressant que celui de la région variable D1-D2 de l'ADNr 28S pour l'identification d'espèces d'*Aspergillus* d'importance médicale.
Enfin, il serait intéressant de déterminer si les souches d'*A. fumigatus* retrouvées dans les échantillons de sol proviennent d'une population clonale ou non. Pour cela, il serait nécessaire de mettre en œuvre des méthodes plus discriminantes que le séquençage de la région ITS, par exemple l'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, Vos *et al.*, 1995) ou la RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA, Williams *et al.*, 1990).

Les isolements à partir des échantillons de sol qui avaient été conservés en chambre froide ont permis de confirmer ce qui avait déjà été remarqué lors de l'analyse des communautés microbiennes totales. Sur les prélèvements de T1 dans la sous-parcelle Bd, l'augmentation significative de la densité microbienne cultivable semble principalement le fait d'une population spécifique qui se développe très rapidement, et qui n'est pas (ou très peu) présente dans les autres sous-parcelles. Les identifications phénotypiques préliminaires ont montré qu'il s'agit principalement de champignons du genre *Aspergillus*. L'identification moléculaire des souches préférentiellement associées aux échantillons de sols biodésinfectés a permis de déterminer qu'elles appartiennent à l'espèce *A. fumigatus*. En parallèle, l'étude T-RFLP a généré pour ces souches d'*A. fumigatus* un fragment terminal de 559,30 paires de bases en moyenne. Or, des fragments "étiquetés" 559,95 et 559,87 pb sont présents parmi les variables discriminantes sur les plans factoriels des ACP des données de T-RFLP aux temps T1 de 2004 et 2005, respectivement. Il semble donc qu'*A. fumigatus* soit une espèce adaptée aux conditions de la biodésinfection, et qu'elle se développe alors fortement aux dépends des autres espèces. Les résultats obtenus par toutes les méthodes (isolement sur milieu gélosé, analyse des ACP de T-RFLP d'ADN de sol, identification moléculaire et T-RFLP sur clones) sont cohérents.
Le fragment de 581 pb est également très discriminant dans les ACP réalisées sur les données de T-RFLP 18S à T1. Son abondance relative dans les profils augmente de 3 à 12% en 2004 et de 6 à 21% en 2005 (Table 6). Or, dans les analyses de densités fongiques, il n'y a pas eu

d'autre population apparemment prédominante. Ce fragment pourrait correspondre à une espèce fongique non cultivable. Une autre hypothèse est que cette espèce a une croissance lente, ou tout au moins plus lente que celle d'*A. fumigatus*. Dans ce cas, il est très difficile de l'isoler sur milieu gélosé à partir des échantillons de sol. Ceci montre bien l'intérêt de combiner les méthodes moléculaires avec les méthodes de microbiologie classique.
L'identification de l'espèce correspondant au fragment discriminant 559,95-559,87 dans l'analyse T-RFLP à partir d'ADN de sol devrait cependant être confirmée. L'analyse T-RFLP *in silico* sur des séquences de différentes espèces d'*Aspergillus* pourrait être réalisée pour identifier l'espèce (les espèces?) correspondant à cette longueur de TRF.
La question de l'identification des espèces correspondant aux fragments discriminants a été abordée par plusieurs auteurs. La technique la plus "simple" semble être la comparaison de profils complexes avec une banque de profils simples, réalisés à partir de souches pures. Ceci a été réalisé pour des sporocarpes de champignons (Avis *et al.*, 2006), des ectomycorhizes (Dickie *et al.*, 2002), les ascomycètes associés aux feuilles de spartine (*Spartina alternifolia*) en décomposition (Buchan *et al.*, 2002). Cependant, cette méthode ne peut s'appliquer qu'en cas de communautés relativement simples, et pour lesquelles l'obtention de banques de souches pures est possible (isolement, culture, extraction d'ADN…).
Une autre possibilité est d'effectuer une nouvelle amplification par PCR. Le clonage des fragments amplifiés et la T-RFLP sur chaque clone permet de repérer le clone d'intérêt. Le séquençage permet ensuite d'identifier le microorganisme impliqué (Grant et Ogilvie, 2004).
Widmer *et al.* (2006) ont validé une méthode, à partir d'un fragment de T-RFLP dominant dans les échantillons de sol contaminés par des métaux lourds. Un fragment de restriction terminal est caractérisé par une séquence spécifique de primer PCR d'un coté, et un site de restriction spécifique de l'autre. Cette structure ne permet pas une réamplification directe. La méthode proposée repose sur la ligation, au niveau du site de restriction de l'enzyme en 3' du TRF, d'adaptateurs spécifiques contenant une amorce PCR. Ceci permet la réamplification des TRF et la sélection des fragments d'une catégorie de taille, contenant le fragment d'intérêt. Le clonage des produits amplifiés puis le screening de la banque de clones permet d'isoler le fragment d'intérêt. Le séquençage des clones est ensuite mis en œuvre pour l'affiliation phylogénique.
Plusieurs obstacles rendent l'assignation phylogénique difficile à partir des fingerprints moléculaires. La taille des fragments déterminée par l'électrophorèse ne correspond pas exactement aux tailles déterminées par séquençage (Rosenblum *et al.*, 1997; Kaplan et Kitts, 2003). Des séquences de gènes d'ADNr d'espèces différentes peuvent générer des fragments de même taille (Schmitt-Wagner *et al.*, 2003). Ceci explique pourquoi les tentatives d'identification *in silico* ont eu des succès limités (Dunbar *et al.*, 2001; Kitts, 2001). Ainsi, le programme TAP (T-RFLP analysis program) du site du Ribosomal Database Project (RDP, Marsh *et al.*, 2000) a donné, pour un TRF, 19 espèces bactériennes (Pérez-Piqueres *et al.*, 2006).

IV.2 / Discussion biologique

Les *Aspergillus* spp. ont une répartition mondiale. Ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales (Raper et Fennell, 1965). Ils sont présents dans l'environnement humain, notamment dans les plantes, les fruits, la poussière ou l'air. Plus de 185 espèces d'*Aspergillus* sont répertoriées, dont une vingtaine sont impliquées dans des pathologies humaines. Les *Aspergillus* sont également très utilisés dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie des biotechnologies, notamment

pour la fermentation, la production d'enzymes, la production d'acides organiques, et la production de composés antimicrobiens.
Au sein de ce genre, *A. fumigatus* est un champignon cosmopolite, fréquemment retrouvé dans l'air, le sol, sur les céréales ou les matières organiques en décomposition. Cette espèce est thermotolérante, elle est capable de pousser entre 12 et 57°C et peut survivre jusqu'à 75°C (Beffa *et al.*, 1998 ; Ryckeboer *et al.*, 2003). On le retrouve en abondance dans le compost, les silos à grains ou le foin tassé. Même après chauffage pendant 1 heure à 70°C, *A. fumigatus* est le champignon dominant retrouvé dans des ordures ménagères (Schnürer et Schnürer, 2006). C'est une des espèces thermophile et thermotolérante la plus fréquemment retrouvée dans les composts (Klamer et Sochting, 1998).
A. fumigatus fait aussi partie des espèces retrouvées dans des sols désertiques (Mandeel, 2002 ; Grishkan *et al.*, 2007). *A. fumigatus* peut produire divers métabolites dont plusieurs sont très toxiques (gliotoxine). Ces métabolites ont une large gamme d'activité biologique (Son *et al.*, 1996). *A. fumigatus* produit notamment des antibiotiques antifongiques (Mukhopadhyay *et al.*, 1987 ; Ando *et al.*, 1991). Il est important de noter qu'*A. fumigatus* est également un agent d'aspergillose aviaire et humaine, représentant 80 à 90% des aspergilloses humaines. *A. fumigatus* est responsable d'aspergillose broncho-pulmonaire, d'asthme aspergillaire, d'aspergillomes et d'aspergilloses profondes.

En ce qui concerne *Aspergillus* dans le sol, la littérature est moins riche que pour les espèces pathogènes pour l'homme ou utilisées dans l'industrie. Pour les sols agricoles, il y a très peu de références. Ce genre fongique ne faisant pas partie de ceux possédant des espèces antagonistes reconnues, il n'est que très rarement recherché spécifiquement dans les sols. *A. fumigatus* a notamment été retrouvé dans des sols cultivés en blé en Turquie (Ilhan et Asan, 2001). Nous avons mis en évidence qu'*A. fumigatus* se développe largement dans les sols biodésinfectés. Cependant, la relation avec l'augmentation de la résistance de ces sols aux fontes de semis dues à *R. solani* n'a pas été testée. Il est possible qu'*A. fumigatus* soit un indicateur de la résistance des sols à *R. solani*, sans qu'il y ait pour autant une action directe d'antagonisme. Il pourrait aussi être uniquement un indicateur de la biodésinfection.
En tout état de cause, même si parmi les souches d'*A. fumigatus* isolées dans les sols biodésinfectés se trouvait une souche avec une action antagoniste contre *R. solani*, ou un autre agent pathogène, il semble difficile d'envisager une utilisation pratique. En effet, le caractère pathogène humain de certaines souches de cette espèce rendrait difficile une utilisation au champ. Pourtant, récemment, des souches d'*A. fumigatus* isolées de composts matures se sont révélées antagonistes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis in vitro*. Dans des essais en conditions contrôlées, l'inoculation avec certaines souches d'*A. fumigatus* a permis de réduire l'incidence de la fusariose du melon de plus de 90% (Suarez-Estrella *et al.*, 2007).

Les méthodes moléculaires ont permis d'identifier l'espèce fongique que la technique de suspension-dilution avait révélée comme dominante dans les sols biodésinfectés. Il a aussi été possible de rattacher cette espèce à un pic dominant des profils de T-RFLP des communautés fongiques totales des sols biodésinfectés. Il reste désormais à vérifier que cette espèce est la seule représentée par ce fragment, et à tester, éventuellement, son efficacité comme agent antagoniste. Pour cet exemple, il y a bien complémentarité des approches microbiologique "classique" et moléculaire. Il serait très intéressant d'adopter la même démarche pour identifier les espèces correspondant aux autres pics discriminants des profils de T-RFLP. Cependant, cela n'est envisageable que s'il s'agit d'une espèce qui est favorisée par la biodésinfection, donc à des densités importantes, et qu'il est possible d'isoler sur milieu gélosé.

Discussion générale

DISCUSSION GENERALE

Le développement des préoccupations sociétales vis-à-vis de la protection de l'environnement et l'émergence de la notion de durabilité de l'agriculture ont changé la donne dans le monde agricole. Pour ce qui est de la protection des cultures, la pression exercée par le consommateur qui n'a des pesticides qu'une image biaisée mettant en avant les effets potentiellement dangereux pour la santé contribue à une nette stagnation voire une diminution de l'emploi d'intrants de synthèse (80 000 tonnes de substances actives vendues en France en 2005, contre 120 000 tonnes en 1999, source UIPP, Union de l'Industrie de la Protection des Plantes). Cette réduction des intrants chimiques a également une cause réglementaire puisque de nombreuses substances actives ont été retirées du marché (déjà 630 substances actives non inscrites sur les 984 à revoir dans le cadre de la révision de la directive 91/414), laissant l'agriculteur sans possibilité d'intervention vis-à-vis de certaines maladies. L'intérêt pour les méthodes dites alternatives de protection des cultures s'en trouve renouvelé. On peut d'ailleurs noter que l'expression "protection des cultures" tend à remplacer l'expression " lutte contre les maladies ou les ravageurs ", indiquant ainsi que les pratiques tendent à devenir préventives et de ce fait doivent être réfléchies à l'échelle de l'exploitation et de la rotation culturale. Les maladies d'origine tellurique posent des problèmes particulièrement difficiles à résoudre dès lors que les procédés drastiques de désinfection des sols sont interdits. Il est en effet impossible de raisonner des moyens de protection des plantes sans prendre en considération le sol dans lequel se développent les racines et qui héberge les agents pathogènes. En opposition avec l'approche strictement agronomique qui considère le sol comme un support pour les cultures, l'approche intégrée de la protection des plantes oblige à considérer le sol comme un écosystème vivant à part entière. Cette vision du sol conduit à définir le concept de santé des sols et à proposer des indicateurs qui permettent de la mesurer. En effet, l'objectif étant de proposer des méthodes d'amélioration de la santé des sols, il convient de mettre à disposition du praticien des outils permettant de mesurer l'impact des pratiques sur la santé des sols.

L'objectif principal de ce travail étant la recherche de paramètres pouvant à terme servir d'indicateurs de la santé des sols, il convenait d'induire des variations mesurables de ces paramètres pour apprécier leur capacité à devenir des indicateurs. Pour faire varier ces descripteurs, nous avons choisi de comparer à un itinéraire classique de production de carotte, deux pratiques qui possèdent, *a priori*, la capacité d'améliorer la santé des sols, considérée sous l'angle de la protection des cultures. Avant de discuter du choix des descripteurs pouvant faire partie d'un "minimum data set", il est utile de rappeler les principaux résultats acquis, en relation avec les pratiques culturales assainissantes.
Parmi les pratiques culturales innovantes, nous avons choisi d'étudier les effets de la biodésinfection qui, selon les données de la bibliographie (Blok *et al.*, 2000 ; Messiha *et al.*, 2007), est susceptible de modifier durablement l'état sanitaire du sol. L'apport de composts (ici de fumier composté) représente une autre pratique en développement qu'il était intéressant de comparer à la biodésinfection afin de différencier les effets d'une matière organique fraîche de ceux d'une matière organique compostée. La biodésinfection a un impact important sur les caractéristiques biotiques mais également sur les caractéristiques abiotiques du sol qui sont modifiées, de façon quantitative et qualitative. Ces modifications sont corrélées avec une augmentation de la résistance du sol aux fontes de semis dues à *Rhizoctonia solani.* L'apport de fumier composté entraîne également des modifications de certaines caractéristiques du sol, mais l'impact de cette pratique est moindre que celui de la

biodésinfection et n'entraîne aucune modification bénéfique de la résistance du sol vis-à-vis des maladies provoquées par *Rhizoctonia solani.* La comparaison de ces deux pratiques, mises en place deux années consécutives, permet de proposer quelques hypothèses quant aux mécanismes en jeu.

La biodésinfection est en fait une combinaison de plusieurs pratiques culturales : la culture d'une plante de la famille des Brassicacées, l'enfouissement de la biomasse produite suivie d'une période de bâchage, entraînant à la fois des conditions d'anaérobiose et une élévation de température pouvant être comparée à une solarisation de courte durée. Plusieurs mécanismes sont sans doute responsables des effets observés. L'augmentation de la biomasse microbienne peut être mise en relation avec l'apport de matière organique fraîche. Nous l'observons en effet dans la sous-parcelle biodésinfectée mais pas dans la sous-parcelle qui a reçu l'apport de fumier composté. Ceci est certainement lié au stade d'évolution de la matière organique qui, lorsqu'elle ne contient plus suffisamment de composés facilement dégradables, n'est plus capable de stimuler les microorganismes du sol. L'augmentation de la biomasse microbienne induit une augmentation de la microbiostase et en particulier de la fongistase, qui contribue à la résistance générale des sols aux maladies. Il n'est donc pas surprenant de constater une augmentation significative de la résistance du sol aux maladies engendrées par *Rhizoctonia solani* uniquement dans la sous-parcelle biodésinfectée. Mais la biodésinfection entraîne également des modifications qualitatives des communautés microbiennes. Il n'est donc pas exclu que les *Aspergillus* spp., qui deviennent dominants dans la microflore fongique, participent de manière spécifique à la résistance du sol biodésinfecté. De plus, la biodésinfection entraînant des modifications de l'atmosphère et de la température du sol, il est difficile de déterminer la contribution relative de chacune de ces modifications au phénomène bénéfique observé. Quoiqu'il en soit nos résultats sont conformes avec ceux de la littérature qui indique un effet bénéfique de la biodésinfection sur l'état sanitaire donc la santé des sols.

Quels que soient les mécanismes en jeu, l'utilisation de méthodes alternatives en protection des cultures ne pourra être préconisée que si les effets bénéfiques sont reproductibles. Dans notre étude, les mêmes effets ont été mis en évidence deux années consécutives, dans la sous-parcelle biodésinfectée. La perturbation liée à la biodésinfection apparaît donc reproductible. Mais il est prématuré de généraliser des résultats qui n'ont été observés que deux années consécutives sur un même site. Il est permis de penser que les conséquences de la biodésinfection seront différentes selon l'état initial des communautés microbiennes du sol et des conditions climatiques imprévisibles. Il est donc indispensable de poursuivre ce type d'expérimentation dans des sites variés afin de définir les conditions optimales de mise en place de la biodésinfection ou d'autres pratiques alternatives de protection des plantes.

Avant de préconiser l'application de méthodes alternatives, il convient d'appréhender la pérennité des modifications observées. En effet, contrairement aux intrants chimiques qui permettent des interventions répétées en cours de culture, les méthodes alternatives sont souvent mises en place lors des périodes d'interculture. Elles doivent donc avoir un effet à moyen ou long terme pour protéger les cultures suivantes. La question est donc de savoir si les modifications qualitatives et quantitatives qui affectent les communautés microbiennes persistent suffisamment longtemps pour assurer la protection des cultures qui succèdent à la pratique assainissante. Les méthodes alternatives de protection des plantes ne doivent pas être raisonnées au niveau de la culture, mais plus globalement, à l'échelle de la rotation et du système de culture.

Dans notre étude, la biodésinfection et l'apport de fumier composté ont été répétés deux années consécutives. Ceci a permis de mettre en évidence l'effet cumulatif de ces pratiques, notamment dans la sous-parcelle biodésinfectée où nous avons mis en évidence que cette pratique avait détruit la capacité de résilience des communautés fongiques. On entend par résilience la capacité des communautés fongiques à retourner à une situation d'équilibre, suite

à une perturbation ayant entrainé une rupture de l'équilibre initial. Lors de la troisième année, au printemps 2006, les trois sous-parcelles ont été semées en carottes afin d'apprécier l'effet à moyen terme des pratiques effectuées lors des deux campagnes précédentes dans les sous-parcelles biodésinfectée et amendée en fumier composté. A l'issue de cette année d'itinéraire technique commun, il n'y a plus de différence visible quant à la qualité phytosanitaire des carottes récoltées dans les anciennes sous-parcelles amendées. On ne retrouve ni l'effet bénéfique de la biodésinfection ni l'effet néfaste de l'apport de fumier enregistrés lors des campagnes précédentes. Cependant la qualité sanitaire des carottes est globalement meilleure sur ces sous-parcelles que sur l'ancienne sous-parcelle témoin. Une hypothèse pourrait être que l'apport de fumier composté lors des deux années précédentes a pu entraîner des modifications des caractéristiques du sol, qui n'ont des conséquences bénéfiques qu'après une phase de latence.
Si l'impact de la biodésinfection a été clairement mis en évidence, notre étude a aussi révélé la variabilité spatio-temporelle des caractéristiques du sol, même en absence de toute perturbation voulue. La connaissance de l'évolution naturelle du système ne doit pas être négligée, si l'on veut dégager l'impact des pratiques culturales. Cette variabilité doit être prise en compte notamment lorsque sont définies les stratégies d'échantillonnage pour la mesure de la santé des sols. Cependant, il est clair qu'il ne sera pas possible de tenir compte des variations fines de chaque parcelle, en particulier lors de la proposition de méthodes alternatives. Par contre, il devrait être possible de faire des propositions de pratiques en fonction des pathosystèmes et des grands types de conditions pédoclimatiques.

L'objectif principal de ce travail était de proposer à terme des indicateurs de la santé des sols. Le dispositif mis en œuvre ainsi que les méthodes d'analyses utilisées ont permis d'initier ce travail, avec une approche descriptive. A l'issue de ce travail, il convient de discuter de la validité et de la représentativité des descripteurs mesurés et d'indiquer ceux qui pourraient constituer des indicateurs de la santé des sols.
Concernant les caractéristiques physico-chimiques, il semble nécessaire de conserver le suivi de quelques-unes d'entre elles. Ainsi, les teneurs de certains cations (Na^+, Ca^{2+} ou K^+) et de quelques oligo-éléments (Fe ou Zn) devraient faire partie d'un bouquet d'indicateurs. En général les caractéristiques physico-chimiques varient peu au cours du temps ; elles ne nécessitent donc pas un suivi fréquent, sauf s'il y a des apports organiques visant spécifiquement à améliorer certaines de ces teneurs. Le cuivre a constitué un cas à part dans notre étude, du fait de l'antécédent de la parcelle. Cette caractéristique s'est révélée très discriminante, mais pas forcément en lien avec les pratiques mises en œuvre. Il faudrait faire un suivi du cuivre dans une autre parcelle, sans historique d'apport de cet oligo-élément, afin de confirmer ou d'infirmer son intérêt comme indicateur.
Concernant les indicateurs biologiques, nous proposons de les classer en indicateurs "généraux", reflets du fonctionnement global du sol, et indicateurs "spécifiques".
La mesure des densités microbiennes par la technique des suspensions-dilutions de sol nous semble un bon indicateur général. Cette mesure est facile à réaliser, économique, et elle donne des résultats fiables et reproductibles. Même s'il n'y a pas forcément de lien direct entre densité microbienne forte et résistance générale, il est évident qu'un sol riche en microorganismes sera, *a priori*, plus susceptible de résister aux bioagresseurs du sol. Il faut noter toutefois qu'une forte densité microbienne n'est pas obligatoirement synonyme d'une activité importante. Il ne faut pas oublier que c'est essentiellement la diversité fonctionnelle qui est garante d'un bon fonctionnement du sol. La biomasse et l'activité microbiennes, telles que mesurées par les méthodes utilisées dans cette étude, ont généré des résultats peu reproductibles et difficiles à appréhender. En outre, ces mesures n'ont pas fourni plus d'information que la mesure des densités microbiennes. Notre étude aurait pu être complétée

par une approche plus détaillée de l'activité microbienne, avec par exemple des profils physiologiques ou des mesures de respiration de substrats spécifiques. De plus, lorsque les progrès méthodologiques permettront de suivre *in situ* l'activité de gènes codant des fonctions spécifiques, il sera particulièrement intéressant de suivre ces fonctions, qui pourront être incorporées au bouquet d'indicateurs de la santé des sols.
L'analyse de la structure des communautés bactériennes et fongiques, grâce à la méthode de T-RFLP, permet d'une part de déterminer si les pratiques ont globalement modifié de manière significative les communautés, et d'autre part de révéler quels sont les fragments spécifiquement discriminants. Les deux niveaux d'analyse sont importants pour juger de l'effet des pratiques. Dans ce travail, une population fongique, préférentiellement associée à la biodésinfection, a pu être identifiée. Mais il est nécessaire de poursuivre ce type de travail, afin, notamment, de donner une signification biologique aux changements de structure mis en évidence. Le caractère indicateur d'une espèce ne doit pas être confondu avec sa possible implication (directe ou indirecte) dans l'amélioration de la santé des sols. La démonstration de son activité antagoniste vis-à-vis de certains agents pathogènes nécessite d'autres approches. Cependant, il n'est pas utile de développer ces approches, dès lors que l'objectif est d'utiliser cette espèce comme indicatrice de l'état sanitaire du sol. Lorsque le caractère indicateur d'une population est confirmé, il est possible de détecter sa présence dans les sols, par exemple grâce à des amorces spécifiques, ou en recherchant son profil particulier au sein d'empreintes moléculaires complexes. Il reste donc beaucoup de travail afin d'identifier des descripteurs pouvant servir d'indicateurs de la santé des sols.

L'objectif principal de ce travail étant cependant de proposer des indicateurs de la santé des sols, il convient maintenant d'examiner les résultats acquis en fonction de cet objectif. Comme nous l'avons déjà indiqué, seul un bouquet de descripteurs pourrait être validé. Le bouquet que nous proposons rassemble des variables physico-chimiques, microbiologiques et moléculaires, mesurées par différentes techniques. Toutes ces techniques ne doivent pas être considérées comme concurrentes, mais plutôt comme complémentaires. Les méthodes de biologie moléculaire permettent de traiter relativement rapidement de grands nombres d'échantillons et d'appréhender les microorganismes à toutes les échelles, des empreintes de communautés totales à la quantification d'espèce ou de groupes fonctionnels particuliers. Mais la microbiologie classique conserve un intérêt non négligeable, elle permet en particulier d'isoler les espèces d'intérêt, sous réserve de disposer d'un milieu de culture adapté.
Si ce travail a permis d'identifier des descripteurs physico-chimiques ou microbiologiques relativement robustes, il convient de souligner que nous manquons de descripteurs de la qualité phytosanitaire des sols. En effet, pour des raisons évidentes de charge de travail, nous n'avons pris en considération que la réceptivité des sols aux fontes de semis induites par *R. solani*. Il est clair que nos analyses se trouvent biaisées par le fait que nous rapportons à cette seule variable l'ensemble des autres données mesurées. Comme nous l'avons déjà signalé, il serait important de pouvoir mesurer l'activité infectieuse ou pathogène des autres organismes, y compris les nématodes, présents dans le sol et capables d'induire des symptômes sur carotte. De plus, si nous souhaitons généraliser cette démarche à d'autres systèmes culturaux, il conviendrait d'identifier des descripteurs généraux, qui ne soient pas spécifiques d'une culture donnée.
Lorsqu'un bouquet de descripteurs potentiellement indicateurs de la santé des sols sera proposé, il ne faudra pas minimiser le travail nécessaire pour en faire un outil utile aux prescripteurs ou aux agriculteurs eux-mêmes. Une première étape est la construction du ou des indicateurs, par la combinaison (mathématique et non aléatoire) des descripteurs choisis. Les indicateurs doivent ensuite être validés, non seulement scientifiquement mais aussi techniquement et pratiquement parlant. Le travail doit être poursuivi afin de pouvoir proposer

un outil d'aide à la décision qui, à partir d'une série de mesures des indicateurs et des objectifs visés (selon la culture, les bioagresseurs dominants, les conditions environnementales…), indiquerait des méthodes alternatives à mettre en œuvre afin d'améliorer la santé des sols.
La microbiologie seule ne peut pas tout expliquer et fournir les indicateurs nécessaires à la mesure de la santé des sols. Elle doit se rapprocher de l'agronomie pour que des notions de gestion de l'espace et du temps soient appréhendées et intégrées, et pour que le message passe auprès des acteurs de terrain. Mais il faut aussi que l'agronomie fasse l'effort de sortir de la définition restrictive du système "sol-plante-climat" pour intégrer les aspects biotiques aux échelles micro- et macroscopiques.

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abadie, C., Edel, V., and Alabouvette, C. 1998. Soil suppressiveness to Fusarium wilt: influence of a cover-plant on density and diversity of *Fusarium* populations. *Soil Biology & Biochemistry* 30: 643-649.

Abawi, G. S., and Widmer, T. L. 2000. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetables crops. *Applied Soil Ecology* 15: 37-47.

Abbasi, P. A., Al-Dahmani, J., Sahin, F., Hoitink, H. A. J., and Miller, S. A. 2002. Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventionel and organic production systems. *Plant Disease* 86: 156-161.

Adam, G., and Duncan, H. 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 943-951.

Aidahmani, J. H., Abbasi, P. A., Sahin, F., Hoitink, H. A. J., and Miller, S. A. 2005. Reduction of bacterial leaf spot severity on radish, lettice, and tomato plants grown in compost-amended potting mixes. *Canadian Journal of Plant Pathology* 27: 186-193.

Alabouvette, C., Couteaudier, Y., and Louvet, J. 1982. Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux fusarioses vasculaires. *Agronomie* 2: 1-6.

Alabouvette, C. 1990. Biological control of Fusarium wilt pathogens in suppressive soils. In *Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens*, edited by Hornby, D. p. 27-43. CAB International. Wallinford.

Allain-Boule, N., Levesque, C. A., Martinez, C., Belanger, R. R., and Tweddell, R. J. 2004. Identification of *Pythium* species associated with cavity-spot lesions on carrots in eastern Quebec. *Canadian Journal of Plant Pathology* 26: 365-370.

Anderson, J. P. E., and Domsch, K. H. 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 10: 215-221.

Anderson, J. P. E. 1982. Soil respiration. In *Methods of soil analysis-Part 2-Chemical and microbiological properties*, edited by Page, A. L. p. 837-871. SSSA Madison.

Ando, O., Satake, H., Nakajima, M., Sato, A., Nakamura, T., Kinoshita, T., Furuya, K., and Haneishi, T. 1991. Synerazol, a new antifungal antibiotic. *Journal of Antibiotics* 44: 382-389.

Andrén, O., and Balandreau, J. 1999. Biodiversity and soil functionning: from black box to can of worms? *Applied Soil Ecology* 10: 105-108.

Andrews, S. S., and Carroll, C. R. 2001. Designing a soil quality assessment tool for sustainable agroecosystem management. *Ecological Applications* 11: 1573-1585.

Andrews, S. S., Karlen, D. L., and Mitchell, J. P. 2002. A comparison of soil quality indexing methods for vegetable production systems in Northern California. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 90: 25-45.

Andrews, S. S., Flora, C. B., Mitchell, J. P., and Karlen, D. L. 2003. Growers' perceptions and acceptance of soil quality indices. *Geoderma* 114: 187-213.

Arnault, I., Mondy, N., Diwo, S., and Auger, J. 2004. Soil behaviour of sulfur natural fumigants used as methyl bromide substitutes. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 84: 75-82.

Aryantha, I. P., Cross, R., and Guest, D. I. 2000. Suppression of *Phytophthora cinnamomi* in potting mixes amended with uncomposted and composted animal manure. *Phytopathology* 90: 775-782.

Auger, J., Dugravot, S., Naudin, A., Abo-Ghalia, A., Pierre, D., and Thibout, E. 2002. Potential of *Allium* allelochemicals for safe insect control. *Bulletin OILB/SROP* 25: 295-306.

Auger, J., and Thibout, E. 2005. Sulfur compounds derived from *Allium* and crucifers and their potential applications in crop protection. In *Biopesticides of plant origin*, edited by Regnault-Roger, C., Philogene, B. J. R. and Vincent, C. p. 69-86. Lavoisier. Paris, France.

Avis, P. G., Dickie, I. A., and Mueller, G. M. 2006. A 'dirty' business: testing the limitations of terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP) analysis of soil fungi. *Molecular Ecology* 15: 873-882.

Bailey, D. J., and Duczek, L. J. 1996. Managing cereal diseases under reduced tillage. *Canadian Journal of Plant Pathology* 18: 159-167.

Bailey, D. J., and Gilligan, C. A. 1999. Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. *Phytopathology* 89.

Bailey, K. L., and Lazarovits, G. 2003. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. *Soil & Tillage Research* 72: 169-180.

Baker, K. F., and Cook, R. J. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. Edited by Freeman, W. H. American Phytopathology Society. San Fransisco, USA

Balajee, S. A., Gribskov, J. L., Hanley, E., Nickle, D., and Marr, K. A. 2005. *Aspergillus lentulus* sp nov., a new sibling species of *A. fumigatus*. *Eukaryotic Cell* 4: 625-632.

Balestra, G. M., and Misaghi, I. J. 1997. Increasing the efficiency of the plate counting method for estimating bacterial diversity. *Journal of Microbiological Methods* 30: 111-117.

Bandick, A. K., and Dick, R. P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology & Biochemistry* 31: 1471-1479.

Barbour, E. K., Husseini, S. A., Farran, M. T., Itani, D. A., Houalla, R. H., and Hamadeh, S. K. 2002. Soil solarization: a sustainable agriculture approach to reduce microorganisms in chicken manure-treated soil. *Journal of Sustainable Agriculture* 19: 95-104.

Bardgett, R. D. 2002. Causes and consequences of biological diversity in soil. *Zoology* 105: 367-374.

Beffa, T., Staib, F., Fischer, J. L., Lyon, P. F., Gumowski, P., Marfenina, O. E., Dunoyer-Geindre, S., Georgen, F., Roch-Susuki, R., and Gallaz, L. 1998. Mycological control and surveillance of biological wastes and compost. *Medical Mycology* 36: 137-145.

Bengtsson, J. 1998. Which species? What kind of diversity? Which ecosystem function? Some problems in studies of relations between biodiversity and ecosystem function. *Applied Soil Ecology* 10: 191-199.

Benizri, E., Piutti, S., Verger, S., Pages, L., Vercambre, G., Poessel, J. L., and Michelot, P. 2005. Replant diseases: bacterial community structure and diversity in peach rhizosphere as determined by metabolic and genetic fingerprinting. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1738-1746.

Berkelmans, R., Ferris, H., Tenuta, M., and van Bruggen, A. H. C. 2003. Effects of long-term crop management on nematode trophic levels. *Applied Soil Ecology* 23: 223-235.

Bhosle, B. B., Sehgal, M., Puri, S. N., Sardana, H. R., and Singh, D. K. 2006. Efficacy of organic amendment in management of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on okra. *Indian Journal of Nematology* 36: 37-40.

Biederbeck, V. O., Zentner, R. P., and Campbell, C. A. 2005. Soil microbial populations and activities as influenced by legume green fallow in a semiarid climate. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1775-1784.

Birnboim, H. C., and Doly, J. 1979. A rapid alkaline procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Research* 7: 1513-1523.

Blackwood, C. B., Marsh, T., Kim, S.-H., and Paul, E. A. 2003. Terminal restriction fragment length polymorphism data analysis for quantitative comparison of microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 926-932.

Blair, B. L., Stirling, G. R., and Whittle, P. J. L. 1999. Distribution of pest nematodes on sugarcane in South Queensland and relationship to soil texture, cultivar, crop age and region. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 39: 43-49.

Blok, W. J., Lamers, J. G., Termorshuizen, A. J., and Bollen, G. J. 2000. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90: 253-259.

Bockstaller, C., Girardin, P., and van der Werf, H. M. G. 1997. Use of agro-ecological indicators for the evaluation of farming systems. *European Journal of Agronomy* 7: 261-270.

Bockstaller, C., and Girardin, P. 2003. How to validate environmental indicators. *Agricultural Systems* 76: 639-653.

Bockus, W. W., and Shroyer, J. P. 1998. The impact of reduced tillage on soilborne plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 36: 485-500.

Boehm, M. J., and Hoitink, H. A. J. 1992. Sustenance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of Pythium root rot of poinsettia. *Phytopathology* 82: 259-264.

Bollen, G. J., and Volker, D. 1996. Phytohygienic aspects of composting. In *The Science of Composting*, edited by Bertoldi, M., Sequi, P., Lemmes, B. and Papi, T. p. 223-246. Blackie Academic & Professional. Glasgow, UK.

Bolton, H., Elliott, L. F., Papendick, R. I., and Bezdicek, D. F. 1985. Soil microbial biomass and selected soil enzymes activities: effect of fertilization and cropping practices. *Soil Biology & Biochemistry* 17: 297-302.

Bonanomi, G., Giorgi, V., Sorbo, G. D., Neri, D., and Scala, F. 2006. Olive mill residues affect saprophytic growth and disease incidence of foliar and soilborne plant fungal pathogens. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 115: 194-200.

Bones, A. M., and Rossiter, J. T. 1996. The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiologia Plantarum* 97: 194-208.

Bongers, T., and Bongers, M. 1998. Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology* 10: 239-251.

Borneman, J., and Triplett, E. W. 1997. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: Evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 2647-2653.

Borneman, J., and Hartin, R. J. 2000. PCR primers that amplify fungal rRNA genes from environmental samples,. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4356–4360.

Borrero, C., Trillas, M. I., Ordovas, J., Tello, J. C., and Aviles, M. 2004. Predictive factors for the suppression of Fusarium wilt of tomato in plant growth media. *Phytopathology* 94: 1094-1101.

Borrero, C., Ordovas, J., Trillas, M. I., and Aviles, M. 2006. Tomato Fusarium wilt suppressiveness. The relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterised by Biolog (R). *Soil Biology & Biochemistry* 38: 1631-1637.

Bossio, D. A., Scow, K. M., Gunapala, N., and Graham, K. J. 1998. Determinants of soil microbial communities : effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microbial Ecology* 36: 1-12.

Boulter, J. I., Boland, G. J., and Trevors, J. T. 2002. Assessment of compost for suppression of Fusarium Patch (*Microdochium nivale*) and Typhula Blight (T*yphula ishikariensis*) snow molds of turfgrass. *Biological Control* 25: 162-172.

Boulter-Bitzer, J. I., Trevors, J. T., and Boland, G. J. 2006. A polyphasic approach for assessing maturity and stability in compost intended for suppression of plant pathogens. *Applied Soil Ecology* 34: 65-81.

Braker, G., Ayala-Del-Rio, H. L., Devol, A. H., Fesefeldt, A., and Tiedje, J. M. 2001. Community structure of denitrifiers, Bacteria, and Archaea along redox gradients in pacific Northwest marine sediments by terminal restriction fragment length polymorphism analysis of amplified nitrite reductase (nirS) and 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 1893–1901.

Breton, D., and Rouxel, F. 1994. Recent findings relevant to cavity-spot of carrots in France. *Acta Horticulturae* 354: 159-170.

Brown, P. D., Morra, M. J., McCafrey, J. P., Auld, D. L., and Williams, L. 1991. Allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. *Journal of Chemical Ecology* 17: 2021-2034.

Brown, P. D., and Morra, M. J. 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advances in Agronomy* 61: 167-231.

Buchan, A., Newell, S. Y., Moreta, J. I. L., and Moran, M. A. 2002. Analysis of internal transribed spacer (ITS) regions of rRNA genes in fungal communities in a southeastern U.S. salt marsh. *Microbial Ecology* 43: 329-340.

Bulluck, L. R., III, Brosius, M., Evanylo, G. K., and Ristaino, J. B. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19: 147-160.

Bulluck, L. R., III, and Ristaino, J. B. 2002. Effect of synthetic and organic soil fertility amendments on southern blight, soil microbial communities, and yield of processing tomatoes. *Phytopathology* 92: 181-189.

Buyer, J. S., and Kaufman, D. D. 1996. Microbial diversity in the rhizosphere of corn grown under conventional and low-input systems. *Applied Soil Ecology* 5: 21-27.

Cadet, P., Pate, E., and N'Diaye-Faye, N. 2003. Nematode community changes and survival rates under natural fallow in the sudano-sahelian area of Senegal. *Pedobiologia* 47: 149-160.

Cadet, P., Berry, S. D., and Spaull, V. W. 2004. Mapping of interactions between soil factors and nematodes. *European Journal of Soil Biology* 40: 77-86.

Cadet, P., Masse, D., and Thioulouse, J. 2005. Relationships between plant-parasitic nematode community, fallow duration and soil factors in the Sudano-Sahelian area of Senegal. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 108: 302-317.

Cai, Y., Zhao, S., Liao, Z., He, C., and Zhuang, X. 2003. Effect of fertilization on tomato bacterial wilt biocontrolling and soil health restoration using FAME analysis. *Agricultural Sciences in China* 2: 779-785.

Campbell, C. L., and Noe, J. P. 1985. The spatial analysis of soilborne pathogens and root diseases. *Annual Review of Phytopathology* 23: 127-148.

Carisse, O., Bernier, J., and Benhamou, N. 2003. Selection of biological agents from composts for control of damping-off of cucumber caused by *Pythium ultimum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 25: 258-267.

Carpenter-Boggs, L., Kennedy, A. C., and Renagold, J. P. 2000. Organic and biodynamic management: effects on soil biology. *Soil Science Society of America Journal* 64: 1651-1659.

Carter, M. R. 1994. *Conservation Tillage in Temperate Agroecosystems*. Lewis Publishers, CRC Press. Boca Raton, Florida, USA

Chamberlain, K., and Crawford, D. L. 1999. *In vitro* and *in vivo* antagonism of pathogenic turfgrass fungi by *Streptomyces hygroscopicus* strains YCED9 and WYE53. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 23: 641-646.

Chellemi, D. O., Rohrbach, K. G., Yost, R. S., and Sonoda, R. M. 1988. Analysis of the spatial pattern of plant pathogens and diseases using geostatistics. *Phytopathology* 78: 221-226.

Chung, Y. R., Hoitink, H. A. J., and Lipps, P. E. 1988. Interactions between organic-matter decomposition level and soilborne disease severity. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 24: 183-193.

Chung, Y. R., and Hoitink, H. A. J. 1990. Intercations between thermophilic fungi and *Trichoderma hamatum* in suppression of Rhizoctonia damping-off in a bark compost-amended container medium. *Phytopathology* 80: 73-77.

Clercq, D. D., Vandesteene, L., Coosemans, J., and Ryckeboer, J. 2004. Use of compost as suppressor of plant diseases. In *Organic solid waste management*, edited by Lens, P., Hamelers, B., Hoitink, H. and Bidlingmaier, W. p. 331-351. IWA publishing. London.

Coates-Beckford, P. L., Cohen, J. E., Ogle, L. R., Prendergast, C. H., and Riley, D. M. 1997. Effects of plastic mulches on growth and yield of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and on nematode and microbial population densities in the soil. *Nematropica* 27: 191-207.

Cohen, M. F., Yamasaki, H., and Mazzola, M. 2005. *Brassica napus* seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of Rhizoctonia root rot. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1215-1227.

Collins, H. P., Alva, A., Boydston, R., Cochran, R. L., Hamm, P. B., McGuire, A., and Riga, E. 2006. Soil microbial, fungal, and nematode responses to soil fumigation and cover crops under potato production. *Biology and Fertility of Soils* 42: 247-257.

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.

Conway, K. E. 1996. An overview of the influence of sustainable agricultural systems on plant diseases. *Crop Protection* 15: 223-228.

Cook, R. J., and Baker, K. F. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota

Cook, R. J., and Haglund, W. A. 1991. Wheat yield depression associated with conservation tillage caused by root pathogens in the soil not phytotoxins from the straw. *Soil Biology and Biochemistry* 23: 1125-1132.

Coventry, E., Noble, R., Mead, A., and Whipps, J. M. 2005. Suppression of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) in different soils using vegetable wastes. *European Journal of Plant Pathology* 111: 101-112.

Coventry, E., Noble, R., Mead, A., Marin, F. R., Perez, J. A., and Whipps, J. M. 2006. *Allium* white rot suppression with composts and *Trichoderma viride* in relation to sclerotia viability. *Phytopathology* 96: 1009-1020.

Craft, C. M., and Nelson, E. B. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 1550-1557.

Culhane, A. C., Perrière, G., Considine, E. C., Cotter, T. G., and Higgins, D. G. 2002. Between-group analysis of microarray data. *Bioinformatics* 18: 1600-1608.

Culhane, A. C., and Thioulouse, J. 2006. A multivariate approach to integrating datasets using made4 and ade4. *R News* 6: 54-58.

Culman, S. W., Duxbury, J. M., Lauren, J. G., and Thies, J. E. 2006. Microbial community response to soil solarization in Nepal's rice-wheat cropping system. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 3359-3371.

Danovaro, R., Luna, G. M., Dell'Anno, A., and Pietrangeli, B. 2006. Comparison of two fingerprinting techniques, terminal restriction fragment length polymorphism and automated ribosomal intergenic spacer analysis, for determination of bacterial diversity in aquatic environments. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 5982-5989.

Darby, H. M., Stone, A. G., and Dick, R. P. 2006. Compost and manure mediated impacts on soilborne pathogens and soil quality. *Soil Science Society of America Journal* 70: 347-358.

de Boer, R. F., Steed, G. R., Kollmorgen, J. F., and Macauley, B. J. 1993. Effects of rotation, stubble retention and cultivation on take-all and eyespot of wheat in northeastern Victoria, Australia. *Soil and Tillage Research* 25: 263-280.

de Ceuster, T. J. J., and Hoitink, H. A. J. 1999. Using compost to control plant diseases. *BioCycle* 40: 61-64.

de Ceuster, T. J. J., and Hoitink, H. A. J. 1999. Prospects for composts and biocontrol agents as substitutes for methyl bromide in biological control of plant diseases. *Compost Science & Utilization* 7: 6-15.

de Wolf, E. D., and Francl, L. J. 1997. Neural networks that distinguish infection periods of wheat tan spot in an outdoor environment. *Phytopathology* 87: 83-87.

de Wolf, E. D., and Francl, L. J. 2000. Neural network classification of tan spot and Stagonospora blotch infection periods in a wheat field environment. *Phytopathology* 90: 108-113.

Deacon, J. W. 1996. Translocation and transfer in *Rhizoctonia*: mechanisms and significance. In *Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control*, edited by Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S. and Dijst, G. p. 117-125. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.

Deadman, M., Al-Hasani, H., and Al-Sa'di, A. 2006. Solarization and biofumigation reduce *Pythium aphanidermatum* induced damping-off and enhance vegetative growth of greenhouse cucumber in Oman. *Journal of Plant Pathology* 88: 335-337.

Delledonne, M., Xia, Y. J., Dixon, R. A., and Lamb, C. 1998. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature* 394: 585-588.

Dickie, I. A., Xu, B., and Koide, R. T. 2002. Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytologist* 156: 527-535.

Dolédec, S., and Chessel, D. 1987. Rythmes saisonniers et composantes stationnelles en milieu aquatique I-Description d'un plan d'observations complet par projection des variables. *Acta Oecologia, Oecologia Generalis* 8: 403-426.

Dolédec, S., and Chessel, D. 1989. Rythmes saisonniers et composantes stationnelles en milieu aquatique II-Prise en compte et élimination d'effets dans un tableau faunistique. *Acta Oecologia, Oecologia Generalis* 10: 207-232.

Dollhopf, S. L., Hashsham, S. A., and Tiedje, J. M. 2001. Interpreting 16S rDNA T-RFLP data: application of self-organizing maps and principal component analysis to describe community dynamics and convergence. *Microbial Ecology* 42: 495-505.

Dominguez, J., Negrin, M. A., and Rodriguez, C. M. 2001. Aggregate water-stability, particle-size and soil solution properties in conducive and suppressive soils to Fusarium wilt of banana from Canary Islands (Spain). *Soil Biology & Biochemistry* 33: 449-455.

Doran, J. W., Sarrantonio, M., and Liebig, M. A. 1996. Soil health and sustainability. *Advances in Agronomy* 56: 1-54.

Doran, J. W., and Zeiss, M. R. 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology* 15: 3-11.

Dray, S., Chessel, D., and Thioulouse, J. 2003. Co-inertia analysis and the linking of ecological tables. *Ecology* 84: 3078-3089.

Duffy, B. K., Ownley, B. H., and Weller, D. M. 1997. Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii*. *Phytopathology* 87: 1118-1124.

Dunbar, J., Ticknor, L. O., and Ruske, C. R. 2001. Phylogenetic specificity and reproducibility and new method for analysis of terminal restriction fragment profiles of 16S rRNA genes from bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 190-197.

Dunbar, J., Barns, S. M., Ticknor, L. O., and Kuske, C. R. 2002. Empirical and theoretical bacterial diversity in four Arizona soils. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 3035-3045.

Edel-Hermann, V., Dreumont, C., Pérez-Piqueres, A., and Steinberg, C. 2004. Terminal restriction fragment length polymorphism analysis of ribosomal RNA genes to assess changes in fungal community structure in soils. *FEMS Microbiology Ecology* 47: 397-404.

Edwards, U., Rogall, T., Blöcker, H., Emde, M., and Böttger, E. C. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal DNA. *Nucleic Acids Research* 17: 7843–7853.

Erhart, E., Burian, K., Hartl, W., and Stich, K. 1999. Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. *Journal of Phytopathology* 147: 299-305.

Ettema, C. H., and Wardle, D. A. 2002. Spatial soil ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 177-183.

FAO. 1989. Sustainable agricultural production: implication for intenational agricultural research. *FAO Research and Technical Paper* 4: 1-5.

Farrar, J. J., Pryor, B. A., and Davis, R. M. 2004. Alternaria diseases of carot. *Plant Disease* 88: 776-784.

Fayolle, L., Noble, R., Coventry, E., Aimé, S., and Alabouvette, C. 2006. Eradication of *Plasmodiophora brassicae* during composting of wastes. *Plant Pathology* 55: 553-558.

Ferris, H., Bongers, T., and de Goede, R. G. M. 2001. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology* 18: 13-29.

Ferris, H., and Bongers, T. 2006. Nematode indicators of organic enrichment. *Journal of Nematology* 38: 3-12.

Fischer, M. M., and Triplett, E. 1999. Automated approach for ribosomal intergenic spacer analysis of microbial diversity and its application to fresh-water bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 4630-4636.

Flores-Moctezuma, H. E., Montes-Belmont, R., Jimenez-Perez, A., and Nava-Juarez, R. 2006. Pathogenic diversity of *Sclerotium rolfsii* isolates from Mexico, and potential control of southern blight through solarization and organic amendments. *Crop Protection* 25: 195-201.

Foucher, A. L. J. L., Bongers, T., Noble, L. R., and Wilson, M. J. 2004. Assessment of nematode biodiversity using DGGE of 18S rDNA following extraction of nematodes from soil. *Soil Biology & Biochemistry* 36: 2027-2032.

Franke-Snyder, M., Douds, D. D., Galvez, L., Phillips, J. G., Wagoner, P., Drinkwater, L., and Morton, J. B. 2001. Diversity of communities of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi present in conventional versus low-input agricultural sites in eastern Pennsylvania, USA. *Applied Soil Ecology* 16: 35-48.

Fraser, D. G., Doran, J. W., Sahs, W. W., and Lesoing, G. W. 1988. Soil microbial populations and activities under conventional and organic management. *Journal of Environmental Quality* 17: 585-590.

Fravel, D. R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 26: 75-91.

Fu, S., Coleman, D. C., Hendrix, P. F., and Crossley Jr, D. A. 2000. Responses of trophic groups of soil nematodes to residue application under conventional tillage and no-till regimes. *Soil Biology & Biochemistry* 32: 1731-1745.

Garbeva, P., Postma, J., van Veen, J. A., and van Elsas, J. D. 2006. Effect of above-ground plant species on soil microbial community structure and its impact on suppressionn of *Rhizoctonia solani* AG3. *Environmental Microbiology* 8: 233-246.

Garcia, C., Pascual, J. A., Mena, E., and Hernandez, T. 2004. Influence of the stabilisation of organic materials on their biopesticide effect in soils. *Bioresource Technology* 95: 215-221.

Garcia-Gil, J. C., Plaza, C., Senesi, N., Brunetti, G., and Polo, A. 2004. Effects of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil. *Biology and Fertility of Soils* 39: 320-328.

Garland, J. L., and Mills, A. L. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 2351-2359.

Gelsomino, A., and Cacco, G. 2006. Compositional shifts of bacterial groups in a solarized and amended soil as determined by denaturing gradient gel electrophoresis. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 91-102.

Ghini, R., Patricio, F. P. A., Souza, M. D., Sinigaglia, C., Barros, B. C., Lopes, M. E. B. M., Neto, J. T., and Cantarella, H. 2003. Solarization effects on physical, chemical and biological properties of soils. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 27: 71-79.

Gilligan, C. A. 1990. Antagonistic interactions involving plant pathogens: fitting and analysis of models to non-monotonic curves for population and disease dynamics. *New Phytologist* 115.

Girardin, P., Bockstaller, C., and van der Werf, H. M. G. 1999. Indicators: a tool to evaluate the environmental impacts of farming systems. *Jounal of Sustainable Agriculture* 13: 5-21.

Girvan, M. S., Bullimore, J., Pretty, J. N., Osborn, A. M., and Ball, A. S. 2003. Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 1800-1809.

Gittins, R. 1979. Ecological applications of canonical analysis. In *Multivariate analysis in ecological work*, edited by Orloci, L., Rao, C. R. and Stiteler, W. M. p. 309-535. International Co-operative Publishing House. Fairland, Maryland, USA.

Goovaerts, P. 1998. Geostatistical tools for characterizing the spatial variability of microbiological and physico-chemical soil properties. *Biology and Fertility of Soils* 27: 315-334.

Goovaerts, P. 1999. Geostatistics in soil science: state-of-the-art and perspectives. *Geoderma* 89: 1-45.

Gorissen, A., van Overbeek, L. S., and van Elsas, J. D. 2004. Pig slurry reduces the survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 in soil. *Canadian Journal of Microbiology* 50: 587-593.

Goud, J. K. C., Termorshuizen, A. J., Blok, W. J., and Bruggen, A. H. C. v. 2004. Long-term effect of biological soil disinfestation on verticillium wilt. *Plant Disease* 88: 688-694.

Grant, A., and Ogilvie, L. O. 2003. Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism data analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 6342-6343.

Grant, A., and Ogilvie, L. A. 2004. Name that microbe: rapid identification of taxa responsible for individual frgaments in fingerprints of microbial community structure. *Molecular Ecology Notes* 4: 133-136.

Gras, R., Benoit, M., Deffontaines, J. P., Duru, M., Lafarge, M., Langlet, A., and Osty, P. L. 1989. *Le Fait Technique en Agronomie. Activité Agricole, Concepts et Méthodes d'Etude*. Institut National de la Recherche Agronomique ed. L'Harmattan. Paris, France

Grayston, S. J., Wang, S., Campbell, C. D., and Edwards, A. C. 1998. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry* 30: 369-378.

Griffiths, B. S., Ritz, K., Bardgett, R. D., Cook, R., Christensen, S., Ekelund, F., Sorensen, S. J., Baath, E., Bloem, J., de Ruiter, P. C., Dolfing, J., and Nicolardot, B. 2000. Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity-ecosystem function relationship. *OIKOS* 90: 279-294.

Griffiths, B. S., Bonkowski, M., Roy, J., and Ritz, K. 2001. Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts. *Applied Soil Ecology* 16: 49-61.

Griffiths, B. S., Ritz, K., Wheatley, R., Kuan, H. L., Boag, B., Christensen, S., Ekelund, F., Sorensen, S. J., Muller, S., and Bloem, J. 2001. An examination of the biodiversity-ecosystem function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1713-1722.

Griffiths, R. I., Whiteley, A. S., O'Donnell, A. G., and BAiley, M. J. 2003. Influence of depth and sampling time on bacterial communtiy structure in an upland grassland soil. *FEMS Microbiology Ecology* 43: 35-43.

Grishkan, I., Beharav, A., Kirzhner, V., and Nevo, E. 2007. Adaptative spatiotemporal distribution of soil microfungi in 'Evolution Canyon' III, Nahal Shaharut, extreme southern Negev Desert, Israel. *Biological Journal of the Linnean Society* 2: 263-277.

Grünwald, N. J., Hu, S., and van Bruggen, A. H. C. 2000. Short-term cover-crop decomposition in organic and conventionnal soils: oil microbial and nutrient cycling indicator variables associated with different levels of soil supressiveness to *Pythium aphanidermatum*. *European Journal of Plant Pathology* 106: 51-65.

Gu, Y. H., and Mazzola, M. 2003. Modification of fluorescent pseudomonad community and control of apple replant disease induced in a wheat cultivar-specific manner. *Applied Soil Ecology* 24: 57-72.

Guerin, L., Briard, M., and Rouxel, F. 1994. Biochemical characterisation of *Pythium* spp. involved in cavity spot of carrots in France. *Annals of Applied Biology* 125: 255-265.

Hamel, C., Vujanovic, V., Jeannotte, R., Nakano-Hylander, A., and St-Arnaud, M. 2005. Negative feedback on a perennial crop: Fusarium crown and root rot of Asparagus is related to changes in soil microbial community structure. *Plant and Soil* 268: 75-87.

Hamel, C., Vujanovic, V., Nakano-Hylander, A., Jeannotte, R., and St-Arnaud, M. 2005. Factors associated with Fusarium crown and root rot of Asparagus outbreaks in Quebec. *Phytopathology* 95: 867-873.

Hartmann, M., Fliessbach, A., Oberholzer, H.-R., and Widmer, F. 2006. Ranking of crop and long-term farming system effects based on soil bacterial genetic profiles. *FEMS Microbiology Ecology* 57: 378-388.

Hartmann, M., and Widmer, F. 2006. Community structure analyses are more sensitive to differences in soil bacterial communities than anonymous diversity indices. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 7804-7812.

Henry, S., Baudoin, E., Lopez-Gutierrez, J. C., Martin-Laurent, F., Brauman, A., and Philippot, L. 2004. Quantification of denitrifying bacteria in soils by nirK gene targeted real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods* 59: 327-335.

Hersman, L. E., and Temple, K. L. 1979. Comparison of ATP, phosphatase, pectinolyase, and respiration as indicators of microbial activity in reclaimed coal strip mine spoils. *Soil Science* 127: 70-73.

Hiddink, G. A., van Bruggen, A. H. C., Termorshuizen, A. J., Raaijmakers, J. M., and Semenov, A. V. 2005. Effect of organic management of soils on suppressiveness to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and its antagonist, *Pseudomonas fluorescens*. *European Journal of Plant Pathology* 113: 417-435.

Hill, G. T., Mitkowski, N. A., Aldrich-Wolfe, L., Emele, L. R., Jurkonie, D. D., Ficke, A., Maldonado-Ramirez, S., Lynch, S. T., and Nelson, E. B. 2000. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology* 15: 25-36.

Hiltunen, L. H., and White, J. G. 2002. Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology* 141: 201-223.

Hinrikson, H. P., Hurst, S. F., Aguirre, L. D., and Morrison, C. J. 2005. Molecular methods for the identification of *Aspergillus* species. *Medical Mycology* 43: 129-137.

Hinrikson, H. P., Hurst, S. F., Lott, T. J., Warnock, D. W., and Morrison, C. J. 2005. Assessment of ribosomal large-subunit D1-D2, internal transcribed spacer 1, and internal transcribed spacer 2 regions as targets for molecular identification of medically important *Aspergillus* species. *Jounal of Clinical Microbiology* 43: 2092-2103.

Hoitink, H. A. J., and Boehm, M. J. 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annual Review of Phytopathology* 37.

Hong, S. B., Go, S. J., Shin, H. D., Frisvad, J. C., and R. A. Samso. 2005. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and related species. *Mycologia* 97: 1316-1329.

Höper, H., Steinberg, C., and Alabouvette, C. 1995. Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to fusarium wilt of flax. *Soil Biology & Biochemistry* 27: 955-967.

Höper, H., and Alabouvette, C. 1996. Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soils to plant diseases. *European Journal of Soil Biology* 32: 41-58.

Howard, R. J. 1996. Cultural control of plant diseases: a historical perspective. *Canadian Journal of Plant Pathology* 18: 145-150.

Hussain, I., Olson, K. R., Wander, M. M., and Karlen, D. L. 1999. Adaptation of soil quality indices and application to three tillage systems in southern Illinois. *Soil & Tillage Research* 50: 237-249.

Iannotti, D. A., Pang, T., Toth, B. L., Elwell, D. L., Keener, H. M., and Hoitink, H. A. J. 1993. A quantitative respirometric method for monitoring compost stability. *Compost Science & Utilization* 1: 52-65.

Ibekwe, A. M., and Kennedy, A. C. 1998. Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as a tool to investigate community structure of two agricultural soils. *Plant and Soil* 206: 151-161.

Ibekwe, A. M., Papiernik, S. K., Gan, J., Yates, S. R., Yang, C.-H., and Crowley, D. E. 2001. Impact of fumigants on soil microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 3245-3257.

Ilhan, S., and Asan, A. 2001. Soilborne fungi in wheat fields of Kirka Vicinity (Eskisehir-Turkey). *Biologia* 56: 363-371.

Israel, S., MAwar, R., and Lodha, S. 2005. Soil solarisation, amendments and bio-control agents for the control of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini* in aridisols. *Annals of Applied Biology* 146: 481-491.

Itoh, K., Toyota, K., and Kimura, M. 2000. Effects of soil solarization and fumigation on rot rot of melon caused by *Phomopsis sclerotioides* and on soil microbial community. *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 71: 154-164.

Janvier, C., Villeneuve, F., Alabouvette, C., Edel-Hermann, V., Mateille, T., and Steinberg, C. 2007. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? *Soil Biology & Biochemistry* 39: 1-23.

Jeger, M. J. 2004. Analysis of disease progress as a basis for evaluating disease management practices. *Annual Review of Phytopathology* 42: 61-82.

Jenkinson, D. S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-IV. The decomposition of fuligated organisms in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 8: 203-208.

Jenkinson, D. S., and Powlson, D. S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-V. TA method for measuring soil biomass. *Soil Biology & Biochemistry* 8: 209-213.

Jenkinson, D. S., and Powlson, D. S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-I. Fumigation with chloroform. *Soil Biology & Biochemistry* 8: 167-177.

Jhooty, J. S. 1967. Effect of CO_2 and O_2 on germination of *Erysiphe polygoni* conidia. *Transcriptions of the Britanic Mycological Society* 50: 299-304.

Jones, C. R., and Samac, D. A. 1996. Biological control of fungi causing Alfalfa seedling damping-off with a disease-suppressive strain of *Streptomyces*. *Biological Control* 7: 196-204.

Kandeler, E., Tscherko, D., and Spiegel, H. 1999. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralisation and enzyme activities of a Chernozem under different tillage management. *Biology and Fertility of Soils* 28: 343-351.

Kang, G. S., Beri, V., Sidhu, B. S., and Rupela, O. P. 2005. A new index to assess soil quality and sustainability of wheat-based cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 41: 389-398.

Karlen, D. L., Mausbach, M. J., Doran, J. W., Cline, R. G., Harris, R. F., and Schuman, G. E. 1997. Soil quality : a concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Science Society of America Journal* 61: 4-10.

Katan, J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soil-borne pests. *Annual Review of Phytopathology* 19: 211-236.

Katan, J., and Vay, J. E. D. 1991. *Soil Solarization*. Edited by Katan, J. and Vay, J. E. D. CRC Press. Boca Raton, FL, USA

Katan, J. 1996. Soil solarization: integrated control aspects. In *Strategies for Managing Soilborne Plant Pathogens*, edited by Hall, R. p. 250-278. APS Press. St Paul, USA.

Khair, A., and Bakir, M. A. 1995. Investigations on the effect of solarization on soil borne fungal and bacterial population. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial research* 30: 137-145.

Kim, S. W., Kubec, R., and Musah, R. A. 2006. Antibacterial and antifungal activity of sulfur-containing compounds from *Petiveria alliacea* L. *Journal of Ethnopharmacology* 104: 188-192.

Kindermann, J., El-Ayouti, Y., Samuels, G. J., and Kubicek, C. P. 1998. Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the internal transcribed spacer region 1 of the rDNA cluster. *Fungal Genetics and Biology* 24: 298-309.

Kirkegaard, J. A., Wong, P. T. W., Desmarchelier, J. M., and Sarwar, M. 1996. Suppression of soil-borne cereal pathogens and inhibition of wheat germination by mustard seed meal. 8th Australian Agronomy Conference, at Toowoomba, Queensland, Australia.

Kirkegaard, J. A., and Sarwar, M. 1998. Biofumigation potential of brassicas. I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil* 201: 71-89.

Kitts, C. L. 2001. Terminal restriction fragment patterns: a tool for comparing microbial communities and assessing community dynamics. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 2: 17-25.

Klamer, M., and Sochting, U. 1998. Fungi in controlled compost system-with special emphasis on the thermophilic fungi. *Acta Horticulturae* 469: 405-413.

Koenig, A., and Bari, Q. H. 2000. Application of self-heating test for indirect estimation of respirometric activity of compost: theory and practice. *Compost Science & Utilization* 8: 99-107.

Kora, C., McDonald, M. R., and Boland, G. J. 2005. Epidemiology of sclerotinia rot of carrot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 27: 245-258.

Kotsou, M., Mari, I., Lasaridi, K., Chatzipavlidis, I., Balis, C., and Kyriacou, A. 2004. The effect of olive oil mill wastewater (OMW) on soil microbial communities and suppressiveness against *Rhizoctonia solani*. *Applied Soil Ecology* 26: 113-121.

Kowalchuk, G. A., Os, G. J., Aartrijk, J., and Veen, J. A. 2003. Microbial community responses to disease management soil treatments used in flower bulb cultivation. *Biology and Fertility of Soils* 37: 55-63.

Krupinsky, J. M., Bailey, K. L., McMullen, M. P., Gossen, B. D., and Turkington, T. K. 2002. Managing plant disease risk in diversified cropping systems. *Agronomy Journal* 94: 198-209.

Kuln, G., Hijri, M., and Sanders, I. R. 2001. Evidence for the evolution of multiple genomes in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 414: 745-748.

Kurle, J. E., Grau, C. R., Oplinger, E. S., and Mengistu, A. 2001. Tillage, crop sequence and cultivar effects on Sclerotinia stem rot incidence and yield in soybean. *Agronomy Journal* 93: 973-982.

Kuter, G. A., Nelson, E. B., Hoitink, H. A. J., and Madden, L. V. 1983. Fungal populations in container media amended with composted hardwood bark suppressive and conducive to Rhizoctonia damping-off. *Phytopathology* 73: 1450-1456.

Lacey, M. J., and Wilson, C. R. 2001. Relationship of common scab incidence of potatoes grown in Tasmanian ferrosol soils with pH, exchangeable cations and other chemical properties of those soils. *Journal of Phytopathology* 149: 679-683.

Larkin, R. P., Gumpertz, M. L., and Ristaino, J. B. 1995. Geostatistical analysis of *Phytophthora* epidemic development in commercial bell pepper fields. *Phytopathology* 85: 191-203.

Larson, W. E., and Pierce, F. J. 1991. Conservation and enhancement of soil quality. Evaluation for sustainable land management in the developing world, at Chiang Rai, Thailand.

Lavelle, P., Blouin, M., Boyer, J., Cadet, P., Laffray, D., Pham-Thi, A. T., Reversat, G., Settle, W., and Zuily, Y. 2004. Plant parasite control and soil fauna diversity. *Comptes-Rendus Biologies* 327: 629-638.

Lazzeri, L., Baruzzi, G., Malaguti, L., and Antoniacci, L. 2003. Replacing methyl bromide in annual strawberry production with glucosinolate-containing green manure crops. *Pest Management Science* 59: 983-990.

Lazzeri, L., Leoni, O., and Manici, L. M. 2004. Biocidal plant dried pellets for biofumigation. *Industrial Crops and Products* 20: 59-65.

Lee, D.-H., Zo, Y.-G., and Kim, S.-J. 1996. Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-single strand conformation polymorphism. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 3112-3120.

Lemaitre, A., Chaussod, R., Tavant, Y., and Bruckert, S. 1995. An attempt to determine a pool of labile organic matter associated with the soil microbial biomass. *European Journal of Soil Biology* 31: 121-125.

Lemanceau, P., and Heulin, T. 1998. La rhizosphère. In *Sol : interface fragile*, edited by Stengel, P. and Gelin, S. p. 95-106. INRA Editions. Paris, France.

Leon, M. C. C., Stone, A., and Dick, R. P. 2006. Organic soil amendments: Impacts on snap bean common root rot (*Aphanomyces euteiches*) and soil quality. *Applied Soil Ecology* 31: 199-210.

Lieckfeld, E., and Seifert, K. A. 2000. An evaluation of the use of ITS sequences in the taxonomy of the Hypocreales. *Studies in Mycology* 45: 35-44.

Linderman, R. G., Moore, L. W., Baker, K. F., and Cooksey, D. A. 1983. Strategies for detecting and characterising systems of biological control of soil-borne plant pathogens. *Plant Disease* 67: 1058-1064.

Lindsey, K. L., and van Staden, J. 2004. Growth inhibition of plant pathogenic fungi by extracts of *Allium sativum* and *Tulbaghia violacea*. *South African Journal of Botany* 70: 671-673.

Liu, W., Marsh, T. L., Cheng, H., and Forney, L. J. 1997. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16Sr RNA. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 4516-4522.

Lodha, S., Sharma, S. K., Mathur, B. K., and Aggarwal, R. K. 2003. Integrating sub-lethal heating with *Brassica* amendments and summer irrigation for control of *Macrophomina phaseolina*. *Plant and Soil* 256: 423-430.

Lopez-Escudero, F. J., and Blanco-Lopez, M. A. 2001. Effect of a single or double soil solarization to control Verticillium wilt in established olive orchards in Spain. *Plant Disease* 85: 489-496.

Louvet, J. 1970. Effect of aeration and of concentration of carbon dioxide on the activity of plant pathogenic fungi in the soil. In *Root diseases and soil-borne pathogens*, edited by Toussoun, T. A., Bega, R. V. and Nelson, P. E. p. 89-91. University of California Press. London.

Lukow, T., Dunfield, P. F., and Liesack, W. 2000. Use of the T-RFLP technique to assess spatial and temporal changes in the bacterial community structure within an agricultural soil planted with transgenic and non-transgenic potato plants. *FEMS Microbiology Ecology* 32: 241-247.

Lumsden, R. D., Lewis, J. A., and Millner, P. D. 1983. Effect of composted sewage sludge on several soilborne pathogens and diseases. *Phytopathology* 73: 1543-1548.

Lundquist, E. J., Jackson, L. E., Scow, K. M., and Hsu, C. 1999. Changes in microbial biomass and community composition, and soil carbon and nitrogen pools after incorporation of rye into three California gricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry* 31: 221-236.

Lupwayi, N. Z., Rice, W. A., and Clayton, G. W. 1998. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biology & Biochemistry* 30: 1733-1741.

Lynch, J. M., and Whipps, J. M. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil* 129: 1-10.

Madden, L. V., Hughes, G., and Irwin, M. E. 2000. Coupling disease-progress-curve and time-of-infection functions for predicting yield loss of crops. *Phytopathology* 90.

Mäder, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., and Niggli, U. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296: 1694-1697.

Mahmoud, S. M. 1996. Effect of soil solarization on population densities of some soil microorganisms. *Assiut Journal of Agricultural Sciences* 27: 93-105.

Mai, W. F., and Lyon, H. H. 1975. *Pictorial key to genera of plant-parasitic nematodes. 4th Ed.* Cornell University Press.

Mallett, K. I., and Maynard, D. G. 1998. Armillaria root disease, stand characteristics, and soil properties in young lodgepole pine. *Forest Ecology and Management* 105: 37-44.

Maloney, K., Pritts, M., Wilcox, W., and Kelly, M. J. 2005. Suppression of Phytophthora root rot in red raspberries with cultural practices and soil amendments. *Hortscience* 40: 1790-1795.

Mandeel, Q. A. 2002. Microfungal community associated with rhizosphere soil of *Zygophyllum qatarense* in arid habitats of Bahrain. *Journal of Arid Environments* 50: 665-681.

Manici, L. M., Ciavatta, C., Kelderer, M., and Erschbaumer, G. 2003. Replant problems in South Tyrol: role of fungal pathogens and microbial population in conventional and organic apple orchards. *Plant and Soil* 256: 315-324.

Marschner, P., Yang, C.-Y., Lieberei, R., and Crowley, D. E. 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1437-1445.

Marsh, T. L. 1999. Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP): an emerging method for characterizing diversity among homologous populations of amplification products. *Current Opinion in Microbiology* 2: 323-327.

Marsh, T. L., Saxman, P., Cole, J., and Tiedje, J. 2000. Terminal restriction fragment length polymorphism analysis program, a web-based research tool for microbial community analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3616-3620.

Martin, F. N. 2003. Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with methyl bromide. *Annual Review of Phytopathology* 41: 325-350.

Martinez, C., Michaud, M., Belanger, R. R., and Tweddell, R. J. 2002. Identification of soils suppressive against *Helminthosporium solani*, the causal agent of potato silver scurf. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 1861-1868.

Martin-Laurent, F., Philippot, L., Hallet, S., Chaussod, R., Germon, J. C., Soulas, G., and Catroux, G. 2001. DNA extraction from soils: old bias for new microbial diversity analysis methods. *Applied and Environmental Microbiology* 67.

Martyniuk, S., and Wagner, G. H. 1978. Quantitative and qualitative examination of soil microflora associated with different management systems. *Soil Science* 125: 343-350.

Marziano, F., Nanni, B., Scalcione, M., and Noviello, C. 1992. *Fusarium solani* and *F. avenaceum* as causal agents of a post-harvest rot of carrots. *Informatore Fitopatologico* 42: 57-63.

Mazzola, M. 1999. Transformation of soil microbial community structure and Rhizoctonia-suppressive potential in response to apple roots. *Phytopathology* 89: 920-927.

Mazzola, M., and Gu, Y. 2000. Impact of wheat cultivation on microbial communities from replant soils and apple growth in greenhouse trials. *Phytopathology* 90: 114-119.

Mazzola, M., Granatstein, D. M., Elfving, D. C., and Mullinix, K. 2001. Suppression of specific apple root pathogens by *Brassica napus* seed meal amendment regardless of glucosinolate content. *Phytopathology* 91: 673-679.

Mazzola, M., and Gu, Y. H. 2002. Wheat genotype-specific induction of soil microbial communities suppressive to disease incited by *Rhizoctonia solani* anastomosis group (AG)-5 and AG-8. *Phytopathology* 92: 1300-1307.

Mazzola, M. 2004. Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression. *Annual Review of Phytopathology* 42: 35-59.

Merbach, W., Mirus, E., Knof, G., Remus, R., Ruppel, S., Russow, R., Gransee, A., and Schulze, J. 1999. Release of carbon and nitrogen compounds by plant roots and their possible ecological imprtance. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 162: 373-383.

Merny, G., and Luc, M. 1969. Les techniques d'échantillonnage des peuplements de nématodes dans le sol. In *Problèmes d'écologie : l'échantillonnage des peuplements animaux des milieux terrestres*, edited by Lamotte, M. and Bourlière, F. p. 237-272. Mason et Cie. Paris, France.

Messiha, N. A. S., van Diepeningen, A. D., Wenneker, M., van Beuningen, A. R., Janse, J. D., Coenen, T. G. C., Termorshuizen, A. J., van Bruggen, A. H. C., and Blok, W. J. 2007. Biological soil disinfestation, a new control method for potato brown rot, caused by *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2. *European Journal of Plant Pathology* submitted.

Millner, P. D., Ringer, C. E., and Maas, J. L. 2004. Suppression of strawberry root disease with animal manure composts. *Compost Science & Utilization* 12: 298-307.

Mitchell, G., May, A., and McDonald, A. 1995. PICABUE: a methodological framework for the development of indicators of sustainable development. *International Journal of Sustainable Development and World Ecology* 2: 104-123.

Mitchell, J. I., and Zuccaro, A. 2006. Sequences, the environment and fungi. *Mycologist* 20: 62-74.

Mougel, C., Thioulouse, J., Perriere, G., and Nesme, X. 2002. A mathematical method for determining genome divergence and species delineation using AFLP. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 573-586.

Mukhopadhyay, T., Roy, K., Coutinho, L., Rupp, R. H., and Ganguli, B. N. 1987. Fumifungin, a new antifungal antibiotic from *Aspergillus fumigatus* Fresemius 1863. *Journal of Antibiotics* 40: 1050-1052.

Mulder, C., Zwart, D. d., Wijnen, H. J. v., Schouten, A. J., and Breure, A. M. 2003. Observational and simulated evidence of ecological shifts within the soil nematode community of agroecosystems under conventional and organic farming. *Functional Ecology* 17: 516-525.

Mummey, D. L., and Stahl, P. D. 2004. Analysis of soil whole- and inner-microaggregate bacterial communities. *Microbial Ecology* 48: 41-50.

Murray, D. C., Lucas, J. A., Davey, M. R., and Renwick, A. 1992. Interaction of *Pseudomonas fluorescens* with *Pythium* species. *Bulletin OILB/SROP* 15: 115-117.

Muyzer, G., De Waal, E. C., and Uitterlinden, A. C. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* 55: 695-700.

Muyzer, G., and Smalla, K. 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek* 73: 127-141.

Naeem, S., Thompson, L. J., Lawler, S. P., Lawton, J. H., and Woodfin, R. M. 1994. Declining Biodiversity Can Alter the Performance of Ecosystems. *Nature* 368: 734-737.

Nahar, M. S., Grewal, P. S., Miller, S. A., Stinner, D., Stinner, B. R., Kleinhenz, M. D., Wszelaki, A., and Doohan, D. 2006. Differential effects of raw and composted manure on nematode community, and its indicative value for microbial, physical and chemical properties. *Applied Soil Ecology* 34: 140-151.

Nelson, E. B., Kuter, G. A., and Hoitink, H. A. J. 1983. Effects of fungal antagonists and compost age on suppression of Rhizoctonia damping-off in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology* 73: 1457-1462.

Network, E. C. *www.compostnetwork.info/index.php?id=10* 2006 [cited.

Noble, R., and Roberts, S. J. 2004. Eradication of plant pathogens and nematodes during composting: a review. *Plant Pathology* 53: 548-568.

Noble, R., and Coventry, E. 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. *Biocontrol Science and Technology* 15: 3-20.

Norton, D. C. 1989. Abiotic soil factors and plant-parasitic nematode communities. *Journal of Nematology* 21: 299-307.

Ntahimpera, N., Dillard, H. R., Cobb, A. C., and Seem, R. C. 1997. Influence of tillage practices on anthracnose development and distribution in dry bean fields. *Plant Disease* 81: 71-76.

Nunan, N., Wu, K., Young, I. M., Crawford, J. W., and Ritz, K. 2002. *In situ* spatial patterns of soil bacterial populations, mapped at multiple spatial scales, in an arable soil. *Microbial Ecology* 44: 296-305.

Nunan, N., Wu, K., Young, I. M., Crawford, J. W., and Ritz, K. 2003. Spatial distribution of bacterial communities and their relationships with the micro-architecture of soil. *FEMS Microbiology Ecology* 44: 203-215.

O'Donnell, K., and Cigelnik, E. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 7: 103-116.

Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mader, P., Boller, T., and Wiemken, A. 2003. Impact of land use intensity o the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2816-2824.

Osunlaja, S. O. 1990. Effect of organic soil amendments on the incidence of stalk rot of maize. *Plant and Soil* 127.

Otten, W., Hall, D., Harris, K., Ritz, K., Young, I. M., and Gilligan, C. A. 2001. Soil physics, fungal epidemiology and the spread of *Rhizoctonia solani*. *New Phytologist* 151: 459-468.

Otten, W., Filipe, J. A. N., and Gilligan, C. A. 2004. An empirical method to estimate the effect of soil on the rate for transmission of damping-off disease. *New Phytologist* 162.

Ownley, B. H., Duffy, B. K., and Weller, D. M. 2003. Identification and manipulation of soil properties to improve the biological control performance of phenazine-producing *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 3333-3343.

Oyarzun, P. J., Gerlagh, M., and Zadoks, J. C. 1998. Factors associated with soil receptivity to some fungal root rot pathogens of peas. *Applied Soil Ecology* 10: 151-169.

Pandey, G., Pandey, R. K., and Pant, H. 2005. Influence of organic amendments on nematode fauna and microflora of chickpea rhizosphere. *Indian Journal of Pulses Research* 18: 263-264.

Pankhurst, C. E., McDonald, H. J., Hawke, B. G., and Kirkby, C. A. 2002. Effect of tillage and stubble management on chemical and microbiological properties and the development of suppression towards cereal root disease in soils from two sites in NSW, Australia. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 833-840.

Pankhurst, C. E., Blair, B. L., Magarey, R. C., Stirling, G. R., Bell, M. J., and Garside, A. L. 2005. Effect of rotation breaks and organic matter amendments on the capacity of soils to develop biological suppression towards soil organisms associated with yield decline of sugarcane. *Applied Soil Ecology* 28: 271-282.

Parkin, T. B. 1993. Spatial variability of microbial processes in soil-a review. *Journal of Environmental Quality* 22: 409-416.

Patel, B. K., and Patel, H. R. 1997. Effect of soil solarization, rabbing, nematicides and green manuring on soil microbes in bidi tobacco nursery. *Indian Journal of Environment and Toxicology* 7: 42-46.

Patricio, F. R. A., Sinigaglia, C., Barros, B. C., Freitas, S. S., Neto, J. T., Cantarella, H., and Ghini, R. 2006. Solarization and fungicides for the control of drop, bottom rot and weeds in lettuce. *Crop Protection* 25: 31-38.

Paul, P. A., and Munkvold, G. P. 2005. Regression and artificial neural network modeling for the prediction of gray leaf spot of maize. *Phytopathology* 95: 388-396.

Paulitz, T. C. 1989. Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. New directions in biological control. Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases., at Frisco, USA.

Paulitz, T. C., Smiley, R. W., and Cook, R. J. 2002. Insights into the prevalence and management of soilborne cereal pathogens under direct seeding in the Pacific Northwest, U.S.A. *Canadian Journal of Plant Pathology* 24: 416-428.

Peng, H. X., Sivasithamparam, K., and Turner, D. W. 1999. Chlamydospore germination and Fusarium wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils are affected by physical and chemical factors. *Soil Biology & Biochemistry* 31: 1363-1374.

Perez-Piqueres, A., Edel-Hermann, V., Alabouvette, C., and Steinberg, C. 2006. Response of soil microbial communities to compost amendments. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 460-470.

Perucci, P., Dumontet, S., Bufo, S. A., Mazzatura, A., and Casucci, C. 2000. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* 32: 17-23.

Peters, R. D., Sturz, A. V., Carter, M. R., and Sanderson, J. B. 2003. Developing disease-suppressive soils through crop rotation and tillage management practices. *Soil & Tillage Research* 72: 181-192.

Pielou, E. C. 1975. *Ecological diversity*. Wiley. New York, USA

Pinkerton, J. N., Ivors, K. L., Miller, M. L., and Moore, L. W. 2000. Effect of soil solarization and cover crops on populations of selected soilborne plant pathogens in western Oregon. *Plant Disease* 84: 952-960.

Pinkerton, J. N., Ivors, K. L., Reeser, P. W., Bristow, P. R., and Window, G. E. 2002. The use of soil solarization for the management of soilborne plant pathogens in strawberry and red raspberry production. *Plant Disease* 86.

Pitt, D., Tilston, E. L., and Groenhof, A. C. 1998. Recycled organic materials (ROM) in the control of plant disease. *International Symposium on Composting and Use of Composted Materials for Horticulture* 469: 391-403.

Ponnamperuma, F. N. 1972. The chemistry of submerged soils. *Advanced Agronomy* 24: 29-96.

Postma, J., Montanari, M., and Boogert, P. H. J. F. v. d. 2003. Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. *European Journal of Soil Biology* 39: 157-163.

Raaijmakers, J. M., Weller, D. M., and Thomashow, L. S. 1997. Frequency of antibiotic producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 881-887.

Raj, H., and Bhardwaj, M. L. 2000. Soil solarization for controllong soil-borne pathogens in vegetable crops. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 70: 305-307.

Ramette, A., Moenne-Loccoz, Y., and Defago, G. 2003. Prevalence of fluorescent pseudomonads producing antifungal phloroglucinols and/or hydrogen cyanide in soils naturally suppressive or conducive to tobacco black root rot. *FEMS Microbiology Ecology* 44: 35-43.

Ranjard, L., Nazaret, S., Gourbière, F., Thioulouse, J., Linet, P., and Richaume, A. 2000. A soil microscale study to reveal the heterogeneity of Hg(II) impact on indigenous bacteria by quantification of adapted phenotypes and analysis of commmunity DNA fingerprints. *FEMS Microbiology Ecology* 31: 107-115.

Ranjard, L., Poly, F., Combrisson, J., Gourbiere, F., Richaume, A., Thioulouse, J., and Nazaret, S. 2000. Heterogeneous cell density and genetic structure of bacterial pools associated with various soil microenvironments as determined by enumeration and DNA fingerprinting approach (RISA). *Microbial Ecology* 39: 263-272.

Ranjard, L., Poly, F., and Nazaret, S. 2000. Monitoring complex bacterial communities using culture-independent molecular techniques : application to soil environment. *Research in Microbiology* 151: 167-177.

Ranjard, L., Poly, F., Lata, J. C., Mougel, C., Thioulouse, J., and Nazaret, S. 2001. Characterization of bacterial and fungal soil communities by Automated Ribosomal Intergenic Spacer analysis fingerprints : biological and methodological variability. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 4479-4487.

Raper, K. B., and Fennell, D. I. 1965. *The genus Aspergillus*. Williams & Wilkins. Baltimore, USA

Rasmussen, P. H., Knudsen, I. M. B., Elmholt, S., and Jensen, D. F. 2002. Relationship between soil cellulolytic activity and suppression of seedling blight of barley in arable soils. *Applied Soil Ecology* 19: 91-96.

Raviv, M. 2005. Production of high-quality composts for horticultural purposes: a mini-review. *Horttechnology* 15: 52-57.

Rigby, D., Woodhouse, P., Young, T., and Burton, M. 2001. Constructing a farm level indicator of sustainable agricultural practice. *Ecological Economics* 39: 463-478.

Rimé, D., Nazaret, S., Gourbiere, F., Cadet, P., and Moenne-Loccoz, Y. 2003. Comparison of sandy soils suppressive or conducive to ectoparasitic nematode damage on sugarcane. *Phytopathology* 93: 1437-1444.

Roberts, J., Fischer, S., and Freuler, J. 1985. The pests of carot: description and relative importance of the observed damage. *Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture* 17: 351-356.

Rodrigues Almeida, A. M., Ferreira Saraiva, O., Bouças Farias, J. R., Almeida Gaudêncio, C., and Torres, E. 2001. Survival of pathogens on soybean debris under no-tillage and conventionnal tillage systems. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 36: 1231-1238.

Rodriguez-Kabana, R. 1986. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. *Journal of Nematology* 18: 129-135.

Ros, M., Hernandez, M. T., Garcia, C., Bernal, A., and Pascual, J. A. 2005. Biopesticide effect of green compost against Fusarium wilt on melon plants. *Journal of Applied Microbiology* 98: 845-854.

Ros, M., Pascual, J. A., Garcia, C., Hernandez, M. T., and Insam, H. 2006. Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 3443-3452.

Rosenblum, B. B., Oaks, F., Menchen, S., and Johnson, B. 1997. Improved single-strand DNA sizing accuracy in capillary electrophoresis. *Nucleic Acids Research* 25: 3925-3929.

Rotenberg, D., Cooperband, L., and Stone, A. 2005. Dynamic relationships between soil properties and foliar disease as affected by annual additions of organic amendment to a sandy-soil vegetable production system. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1343-1357.

Rousseaux, S., Hartmann, A., Rouard, N., and Soulas, G. 2003. A simplified procedure for terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the soil bacterial community to study the

effects of pesticides on the soil microflora using 4,6-dinitroorthocresol as a test case. *Biology and Fertility of Soils* 37: 250-254.

Rovira, A. D. 1965. Interactions between plant roots and soil microorganisms. *Annual Review of Microbiology* 19: 241-266.

Ryckeboer, J. 2001. Biowaste and yard waste composts: microbiological and hygienic aspects-suppressiveness to plant diseases. p. 1-245. Katholieke Universiteit Leuven. Leuven, Belgium.

Ryckeboer, J. 2002. The fate of plant pathogens and seeds during anaerobic digestion and aerobic composting of source separated household wastes. *Compost Science & Utilization* 10: 204-216.

Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K., Klammer, S., Clercq, D. d., Coosemans, J., Insam, H., and Swings, J. 2003. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology* 53: 349-410.

Rydholm, C., Szakacs, G., and Lutzoni, F. 2006. Low genetic variation and no detectable population structure in *Aspergillus fumigatus* compared to closely related *Neosartorya* species. *Eukaryotic Cell* 5: 650-657.

Sahu, K. C., and Narain, A. 1995. Viability of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil at different temperature and moisture levels. *Environment and Ecology* 13: 300-303.

Saison, C., Degrange, V., Oliver, R., Millard, P., Commeaux, C., Montagne, D., and le Roux, X. 2006. Alteration and resilience of the soil microbial community following compost amendment: effects of compost level and compost-borne microbial community. *Environmental Microbiology* 8: 247-257.

Salerno, M. I., Lori, G. A., Gimenez, D. O., Gimenez, J. E., and Beltrano, J. 2000. Use of soil solarization to improve growth of eucalyptus forest nursery in Argentina. *New Forests* 20: 235-248.

Samac, D. A., and Kinkel, L. L. 2001. Suppression of the root-lesion nematode (*Pratylenchus penetrans*) in alfalfa (*Medicago sativa*) by *Streptomyces* spp. *Plant and Soil* 235: 35-44.

Sarwar, M., Kirkegaard, J. A., Wong, P. T. W., and Desmarchelier, J. M. 1998. Biofumigation potential of brassicas. III. *In vitro* toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant and Soil* 201: 103-112.

Scheuerell, S. J., Sullivan, D. M., and Mahafee, W. F. 2005. Suppression of seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*, *P. irregulare*, and *Rhizoctonia solani* in container media amended with a diverse range of Pacific northwest compost sources. *Phytopathology* 95: 306-315.

Schippers, B. 1992. Prospects for management of natural suppressiveness to control soilborne pathogens. In *Biological Control of Plant Diseases*, edited by Tjamos, E. C., Papavizas, G. C. and Cook, R. J. p. 21-34. Plenum Press. New York.

Schmitt-Wagner, D., Friedrich, M. W., Wagner, B., and Brune, A. 2003. Phylogenetic diversity, abundance, and axial distribution of bacteria in the intestinal tract of two soil-feeding termites (*Cubitermes* spp.). *Applied and Environmental Microbiology* 69: 6007-6017.

Schneider, R. W. 1982. *Suppressive Soils and Plant Disease*. American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota

Schnürer, A., and Schnürer, J. 2006. Fungal survival during anaerobic digestion of organic household waste. *Waste Management* 26: 1205-1211.

Schnürer, J., and Rosswall, T. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology* 43: 1256-1261.

Schoeny, A., Jeuffroy, M. H., and Lucas, P. 2001. Influence of take-all epidemics on winter wheat yield formation and yield loss. *Phytopathology* 91: 694-701.

Schönfeld, J., Gelsomino, A., van Overbeek, L. S., Gorissen, A., Smalla, K., and van Elsas, J. D. 2003. Effects of compost addition and simulated solarisation on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. *FEMS Microbiology Ecology* 43: 63-74.

Schutter, M. E., Sandeno, J. M., and Dick, R. P. 2001. Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 34: 397-410.

Seinhorst, J. W. 1962. Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. *Nematologica* 8: 117-128.

Shannon, C. E., and Weaver, W. 1949. *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press. Urbana, USA

Shannon, D., Sen, A. M., and Johnson, D. B. 2002. A comparative study of the microbiology of soils managed under organic and conventional regimes. *Soil Use and Management* 18: 274-283.

Sharma, A., and Sharma, S. K. 2005. Effect of soil solarization on soilborne pathogens and soil microbial population in apple nurseries. *Plant Disease Research (Ludhiana)* 20: 138-142.

Shetty, K. G., Subbarao, K. V., Huisman, O. C., and Hubbard, J. C. 2000. Mechanism of broccoli-mediated Verticillium wilt reduction in cauliflower. *Phytopathology* 90: 305-310.

Shukla, L., Singh, D. K., Yaduraju, N. T., Das, T. K., and Magu, S. P. 2000. Effect of soil solarization on soil microflora and soil enzymatic activity. *Annals of Plant Protection Sciences* 8: 218-222.

Smit, E., Leeflang, P., Gommans, S., Broek, J. v. d., Mil, S. v., and Wernars, K. 2001. Diversity and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 2284-2291.

Smith, B. J., Kirkegaard, J. A., and Howe, G. N. 2004. Impacts of Brassica break-crops on soil biology and yield of following wheat crops. *Australian Journal of Agricultural Research* 55: 1-11.

Smolinska, U., Knudsen, G. R., Morra, M. J., and Borek, V. 1997. Inhibitin of *Aphanomyces euteiches* f. sp. *pisi* by volatiles produced by hydrolysis of *Brassica napus* seed meal. *Plant Disease* 81: 288-292.

Soltner, D. 1982. *Les bases de la production végétale : le sol*. Sciences et Techniques Agricoles. Angers, France

Son, K. H., Kim, Y. K., Lee, H. W., Lee, W. S., Kim, S. U., Jeong, T. S., Kwon, B. M., and Bok, S. H. 1996. Amplification of farnesyl protein transferase inhibitory activity from A*spergillus fumigatus* F93 by Plackett-Burman design. *Biotechnology Letters* 18: 1297-1300.

Stacey, A. J., Truscott, J. E., Asher, M. J. C., and Gilligan, C. A. 2004. A model for the invasion and spread of rhizomania in the United Kingdom: implications for disease control strategies. *Phytopathology* 94.

Staley, T. E., Caskey, W. H., and Boyer, D. G. 1990. Soil denitrification and nitrification potentials during the growing season relative to tillage. *Soil Science Society of America Journal* 6: 1602-1608.

Stapleton, J. J., and Vay, J. E. D. 1995. Soil solarization: A natural mechanism of integrated pest management. In *Novel Approaches to Integrated Pest Management*, edited by Reuveni, R. p. 309-322. Lewis Publishers. Boca Raton.

Stapleton, J. J. 1997. Solarization: An implementable alternative for soil disinfestation. In *Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases*, edited by Canaday, C. p. 1-6. APS Press. St Paul.

Stapleton, J. J. 2000. Soil solarization in various agricultural production systems. *Crop Protection* 19: 837-841.

Stein, A., Groeningen, J. W. v., Jeger, M. J., and Hoosbeek, M. R. 1998. Space-time statistics for environmental and agricultural related phenomena. *Environmental and Ecological Statistics* 5: 155-172.

Stein, A., and Ettema, C. 2003. An overview of spatial sampling procedures and experimental design of spatial studies for ecosystem comparisons. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 94: 31-47.

Stephens, P. M., Davoren, C. W., and Wicks, T. 1999. Effect of methyl bromide, metham sodium and the biofumigants Indian mustard and canola on the incidence of soilborne fungal pathogens and growth of grapevine nursery stock. *Australasian Plant pathology* 28: 187-196.

Stevens, C., Khan, V. A., Rodriguez-Kabana, R., Ploper, L. D., Backman, P. A., Collins, D. J., Brown, J. E., Wilson, M. A., and Igwegbe, E. C. K. 2003. Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soilborne diseases of vegetables. *Plant and Soil* 253: 493-506.

Strandberg, J. O. 1987. The effect of flooding on plant pathogen populations. *Bulletin - Agricultural Experiment Stations, University of Florida* 870: 41-56.

Sturz, A. V., Carter, M. R., and Johnston, H. W. 1997. A review of plant disease, pathogen interactions and microbial antagonism. *Soil & Tillage Research* 41: 169-189.

Suarez-Estrella, F., Vargas-Garcia, C., Lopez, M. J., Capel, C., and Moreno, J. 2007. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Crop Protection* 26: 46-53.

Subbarao, K. V., Hubbard, J. C., and Koike, S. T. 1999. Evaluation of broccoli residue incorporation into field soil for Verticillium wilt control in cauliflower. *Plant Disease* 83: 124-129.

Suffert, F., and Guibert, M. 2007. The ecology of a *Pythium* community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot. *Applied Soil Ecology* 35: 488-501.

Sutton, B. C., and Gibson, I. A. S. 1998. *Mycocentrospora acerina*. In *IMI Descriptions of Fungi and Bacteria*. p. Sheet 537.

Suzuki, C., Kunito, T., Aono, T., Liu, C. T., and Oyaizu, H. 2005. Microbial indices of soil fertility. *Journal of Applied Microbiology* 98: 1062-1074.

Tamietti, G., and Valentino, D. 2001. Soil solarization: a useful tool for control of verticillium wilt and weeds in eggplant crops under plastic in the Po Valley. *Journal of Plant Pathology* 83: 173-180.

Tenuta, M., and Lazarovits, G. 2004. Soil properties associated with the variable effectiveness of meat and bone meal to kill microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Applied Soil Ecology* 25: 219-236.

ter Braak, C. J. F. 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67: 1167-1179.

Termorshuizen, A. J., van Rijn, E., and Blok, W. J. 2005. Phytosanitary risk assessment of composts. *Compost Science & Utilization* 13: 108-115.

Termorshuizen, A. J., van Rijn, E., van der Gaag, E. D. J., Alabouvette, C., Chen, Y., Lagerlof, J., Malandrakis, A. A., Paplomatas, E. J., Ramert, B., Rickeboer, J., Steinberg, C., and Zmora-Nahum, S. 2006. Suppressiveness of 18 composts against 7 pathosystems: variability in pathogen response. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 2461-2477.

Tessier, S., and Steppuhn, H. 1990. Quick-mount soil core sampler for measuring bulk density. *Canadian Journal of Soil Science* 70: 115-118.

Thalib, L., Kitching, R. L., and Bhatti, M. I. 1999. Principal component analysis for grouped data - a case study. *Environmetrics* 10: 565-574.

Thioulouse, J., Chessel, D., Dolédec, S., and Olivier, J. M. 1997. ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing* 7: 75-83.

Tiedje, J. M., Asuming-Brempong, S., Nüsslein, K., Marsh, T. L., and Flynn, S. J. 1999. Opening the black box of soil microbial diversity. *Applied Soil Ecology* 13: 109-122.

Tiwari, R. K. S., Vinay, S., and Parihar, S. S. 1997. Soil solarization using different colour plastic mulches for the control of collar rot of tomato caused by *Sclerotium rolfsii*. *Vegetable Science* 24: 49-51.

Todd, T. C., and Tisserat, N. A. 1990. Occurrence, spatial distribution, and pathogenicity of some phytoparasitic nematodes on creeping bentgrass putting greens in Kansas. *Plant Disease* 74: 660-663.

Torsvik, V., Goksoyr, J., and Daae, F. L. 1990. High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 782-787.

Torsvik, V., Salte, K., Sorheim, R., and Goksoyr, J. 1990. Comparison of phenotypic diversity and DNA heterogeneity in a population of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 776-781.

Toyota, K., and Kuninaga, S. 2006. Comparison of soil microbial community between soils amended with or without farmyard manure. *Applied Soil Ecology* 33: 39-48.

Trasar-Cepeda, C., Leiros, C., Gil-Sotres, F., and Seoane, S. 1998. Towards a biochemical index for soils : an expression relating several biological and biochemical properties. *Biology and Fertility of Soils* 26: 100-106.

Travis, H., Iwen, P. C., and Hinrichs, S. H. 2000. Identification of *Aspergillus* species using internal transcribed spacer regions 1 and 2. *Journal of Clinical Microbiology* 38: 1510-1515.

Ulrich, A., and Becker, R. 2006. Soil parent material is a key determinant of the bacterial community structure in arable soils. *FEMS Microbiology Ecology* 56: 430-443.

Umaerus, V. R., Scholte, K., and Turkensteen, L. J. 1989. Crop rotation and the occurrence of fungal diseases in potatoes. In *Effects of Crop Rotation on Potato Productions in the Temperate*

Zones, edited by Vos, J., Van Loon, C. D. and Bollen, G. J. p. 171-189. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.

Vallad, G. E., Cooperband, L., and Goodman, R. M. 2003. Plant foliar disease suppression mediated by composted forms of paper mill residuals exhibits molecular features of induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 63: 65-77.

van Bruggen, A. H. C., and Semenov, A. M. 1999. A new approach to the search for indicators of root disease suppression. *Australasian Plant pathology* 28: 4-10.

van Bruggen, A. H. C., and Semenov, A. M. 2000. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology* 15: 13-24.

van Bruggen, A. H. C., and Termorshuizen, A. J. 2003. Integrated approaches to root disease management in organic farming systems. *Australasian Plant pathology* 32: 141-156.

van Diepeningen, A. D., de Vos, O. J., Korthals, G. W., and van Bruggen, A. H. C. 2006. Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils. *Applied Soil Ecology* 31: 120-135.

van Etten, C. H., and Tookey, H. L. 1979. Chemistry and biological effects of glucosinolates. In *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*, edited by Rosenthal, G. A. and Janzen, D. H. p. 471-500. Academic Press. Peoria, USA.

van Os, G. J., and van Ginkel, J. H. 2001. Suppression of Pythium root rot in bulbous Iris in relation to biomass and activity of the soil microflora. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1447-1454.

van Rijn, E. 2007. Disease suppression and phytosanitary aspects of composts. Doctoral thesis, Biological Farming Systems Group, Wageningen University, Wageningen.

Vance, E. D., Brookes, P. C., and Jenkinson, D. S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19: 703-707.

Vereijssen, J., Schneider, J. H. M., Stein, A., and Jeger, M. J. 2006. Spatial pattern of Cercospora leaf spot of sugar beet in fields in long- and recently-established areas. *European Journal of Plant Pathology* 116: 187-198.

Vian, J. F. 2005. Analyse de la variabilité spatiale de descripteurs physico-chimiques et microbiologiques du sol. Caractérisation initiale d'une parcelle d'essai sur le travail du sol: Master Ecologie, Ecologie Microbienne, Evolution, UCBL1.

Villeneuve, F., and Leteinturier, J. 1992. *La carotte. Tome 2. Etat des connaissances*. Editions Ctifl. Paris, France

Villeneuve, F., and Leteinturier, J. 1992. *La carotte. Tome 1. Guide pratique*. Editions Ctifl. Paris, France

Villeneuve, F., Bosc, J. P., Rouxel, F., and Breton, D. 1997. Intra and inter specific variability of *Pythium* and possibility of varietal resistance improvement in carrot. *Journal of Applied Genetics* 39: 71-80.

Villeneuve, F. 1999. *Légumes plein champ : Protection phytosanitaire respectueuse de l'environnement*. Editions Ctifl. Paris, France

Villeneuve, F., Bossis, M., Breton, D., Brunel, E., Diare, N., and Rouxel, F. 2001. La carotte en France. Principaux ennemis de la culture et programmes de recherches en cours. *Phytoma* 536: 35-39.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Pelemna, J., Kuiper, M., and Zabeau, M. 1997. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.

Wang, P., Durkalski, J. T., Yu, W. T., Hoitink, H. A. J., and Dick, W. A. 2006. Agronomic and soil responses to compost and manure amendments under different tillage systems. *Soil Science* 171: 456-467.

Wardle, D. A., Yeates, G. W., Watson, R. N., and Nicholson, K. S. 1995. Development of the decomposer food-web, trophic relationships, and ecosystem properties during a three-year primary succession in sawdust. *Oikos* 73: 155-166.

Waterhouse, G. M., and Waterston, J. M. 1998. *Phytophthora megasperma*. In *IMI Descriptions of Fungi and Bacteria*. p. Sheet 115.

Watts, C. W., HAllet, P. D., and Dexter, A. R. 1999. Effects of stresses and strains on soil respiration. In *The effect of mineral-organic-microbial interactions on soil and freshwater enviroments*,

edited by Berthelin, J., Huang, P. M., Bolag, J. M. and Andreux, F. p. 305-316. Plenum Press. New York, USA.

Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., and Thomashow, L. S. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 40: 309-348.

Westover, K. M., Kennedy, A. C., and Kelley, S. E. 1997. Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plan species. *Journal of Ecology (Oxford)* 85: 863-873.

Westphal, A., and Becker, J. O. 2001. Components of soil suppressiveness against *Heterodera schachtii*. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 9-16.

White, J. G. 1986. The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. *Annals of Applied Biology* 108: 265-273.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR protocols: a guide to methods and applications*, edited by Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J. p. Academic Press. New Yoek.

Wick, B., Kühne, R. F., Vielhauer, K., and Vlek, P. L. G. 2002. Temporal variability of selected soil microbiological and biochemical indicators under different soil quality conditions in south-western Nigeria. *Biology and Fertility of Soils* 35: 155-167.

Widmer, F., Hartmann, M., Frey, B., and Kölliker, R. 2006. A novel strategy to extract specific phylogenetic sequence information from community T-RFLP. *Journal of Microbiological Methods* 66: 512-520.

Widmer, F., rasche, F., hartmann, M., and Fliessbach, A. 2006. Community structures and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment. *Applied Soil Ecology* 33: 294-307.

Wiggins, B. E., and Kinkel, L. L. 2005. Green manures and crop sequences influence alfalfa root rot and pathogen inhibitory activity among soil-borne streptomycetes. *Plant and Soil* 268: 271-283.

Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic merkers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.

Winogradsky, S. 1949. *Microbiologie du sol*. Masson et Cie. Paris, France

Workneh, F., Bruggen, A. H. C. v., Drinkwater, L. E., and Shennan, C. 1993. Variables associated with corky root and Phytophthora root rot of tomatoes in organic and conventional farms. *Phytopathology* 83: 581-589.

Workneh, F., Yang, X. B., and Tylka, G. L. 1999. Soybean brown stem rot, *Phytophthora sojae*, and *Heterodera glycines* affected by soil texture and tillage relations. *Phytopathology* 89: 844-850.

Wu, J., Joergensen, R. G., Pommerening, B., Chaussod, R., and Brookes, P. C. 1990. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction : an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 1167-1169.

Yang, C. H., Crowley, D. E., and Menge, J. A. 2001. 16S rDNA fingerprinting of rhizosphere bacterial communities associated with healthy and Phytophthora infected avocado roots. *FEMS Microbiology Ecology* 35: 129-136.

Yao, H., He, Z., Wilson, M. J., and Campbell, C. D. 2000. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. *Microbial Ecology* 40: 223-237.

Yao, S. R., Merwin, I. A., Abawi, G. S., and Thies, J. E. 2006. Soil fumigation and compost amendment alter soil microbial community composition but do not improve tree growth or yield in an apple replant site. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 587-599.

Yeates, G. W., Newton, P. C. D., and Ross, D. J. 2003. Significant changes in soil microfauna in grazed pasture under elevated carbon dioxide. *Biology and Fertility of Soils* 38.

Yin, B., Scupham, A. J., Menge, J. A., and Borneman, J. 2004. Identifying microorganisms which fill a niche similar to that of the pathogen: a new investigative approach for discovering biological control organisms. *Plant and Soil* 259: 19-27.

Yogev, A., Raviv, M., Hadar, Y., Cohen, R., and Katan, J. 2006. Plant waste-based composts suppressive to diseases caused by pathogenic *Fusarium oxysporum*. *European Journal of Plant Pathology* 116: 267-278.

Yu, J. R. 1999. Allelopathic suppression of *Pseudomonas solanacearum* infection of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in a tomati-chinese chive (*Allium tuberosum*) intercropping system. *Journal of Chemical Ecology* 25: 2409-2417.

Zak, J. C., Willig, M. R., Moorhead, D. L., and Wildman, H. G. 1994. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 1101-1108.

Zasada, I. A., and Ferris, H. 2003. Sensitivity of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchus semipenetrans* to isothiocyanates in laboratory assays. *Phytopathology* 93: 747-750.

Zasada, I. A., and Ferris, H. 2004. Nematode suppression with brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 1017-1024.

Zelles, L. 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil : a review. *Biology and Fertility of Soils* 29: 111-129.

Institut National Agronomique Paris-Grignon

Ecole doctorale ABIES

THESE

pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

Discipline : Microbiologie du sol

présentée et soutenue publiquement par

Céline JANVIER

le 12 Juin 2007

Recherche d'indicateurs de la santé des sols

Figures et annexes

Directeurs de thèse : Claude ALABOUVETTE et Christian STEINBERG

Jury

Corinne LEYVAL	Directeur de Recherche	CNRS Nancy	Rapporteur
Claire NEEMA	Professeur	INA P-G Paris	Examinateur
Patrice CADET	Directeur de Recherche	IRD Montpellier	Rapporteur
Stéphane DRAY	Chargé de Recherche	CNRS Lyon	Examinateur
Christian STEINBERG	Directeur de Recherche	INRA Dijon	Co-directeur de thèse
Frédéric SUFFERT	Ingénieur de Recherche	INRA Grignon	Examinateur
Daniel VESCHAMBRE	Chef de Département	Ctifl Paris	Examinateur

Unité Mixte de Recherche INRA/Université de Bourgogne
Microbiologie du Sol et de l'Environnement
17 rue Sully - BP 86510 - 21065 Dijon cedex

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES ***2***

FIGURES ET TABLES ***5***

Figures et tables du chapitre 2 : Variabilité spatio-temporelle des descripteurs du sol dans une parcelle expérimentale et effets d'un apport d'amendement organique et d'une biodésinfection : matériels et méthodes ***5***

Figure 1 : Plan de la parcelle expérimentale et localisation des points d'échantillonnage dans les trois sous-parcelles 5

Figure 2 : Principales interventions sur la parcelle et positionnement des périodes de prélèvement . 5

Table 3 : Caractéristiques physico-chimiques du fumier de bovin composté 6

Table 4 : Analyses physico-chimiques réalisées, méthodes utilisées et code des variables 6

Figure 3 : Schéma de la structure de l'unité d'ADN ribosomique (ADNr) bactérien et fongique et position des amorces utilisées 7

Figure 4 : Schéma de principe de l'analyse de la structure des communautés microbiennes du sol par T-RFLP 7

Figure 5 : Exemple de représentation spatiale des résultats d'ACP 8

Figures et tables du chapitre 3 : Variabilité spatio-temporelle des descripteurs du sol dans une parcelle expérimentale et effets d'un apport d'amendement organique et d'une biodésinfection : résultats et discussions ***9***

Figure 6 : Granulométrie de la parcelle 9

Figure 7 : Densité apparente et humidité pondérale de la parcelle 9

Figure 8 : Caractéristiques chimiques de la parcelle 10

Figure 9 : ACP des caractéristiques chimiques en 2004 11

Figure 10 : ACP des caractéristiques chimiques en 2005 12

Figure 11 : ACP des caractéristiques chimiques en 2004 et 2005 13

Figure 12 : Evolution de la teneur en O_2 et CO_2 de l'atmosphère du sol pendant la période de bâchage 14

Figure 13 : Evolution de la teneur en azote ammoniacal du sol pendant la période de bâchage 14

Figure 14 : Evolution de la température maximum et de la température moyenne du sol pendant la période de bâchage 15

Figure 15 : Matière organique vivante (MOV) en 2004 16

Figure 16 : Matière organique vivante (MOV) en 2005 17

Figure 17 : Densité de bactéries et de champignons dans les sols 18

Table 5 : Dénombrement des nématodes phytoparasites et libres dans les échantillons de sol 19

Figure 18 : Densité totale de nématodes dans les sols 20

Figure 19 : Activité microbienne en 2004 21

Figure 20 : Activité microbienne en 2005 22

Figure 21 : Structure des communautés de nématodes en 2004 23

Figure 22 : Structure des communautés de nématodes en 2005 24

Figure 23 : Profils de T-RFLP 16S et 18S 25

Figure 24 : Structure des communautés bactériennes en 2004 26

Figure 25 : Structure des communautés bactériennes en 2005 27

Figure 26 : Structure des communautés bactériennes en 2005, sans les échantillons du prélèvement T1 dans la sous-parcelle Bd 28

Figure 27 : Structure des communautés fongiques en 2004Figure 28 : Structure des communautés fongiques en 2005 29

Figure 28 : Structure des communautés fongiques en 2005 30

Figure 29 : Structure des communautés fongiques dans les échantillons prélevés à T1 31

Table 6 : Importance relative moyenne de fragments discriminants dans les profils T-RFLP des communautés fongiques des échantillons de sol prélevés à T1 en 2004 et 2005 31

Figure 30 : Structure des communautés bactériennes et fongiques en 2004 et 2005 32

Table 7 : Récoltes de carottes : notations quantitatives et qualitatives 33

Figure 31 : Essai biologique de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R.solani* : évolution de la mortalité des plantules au cours du temps 33

Table 8 : Essai biologique de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R.solani* : résultats des essais 33

Figure 32 : ACP des caractéristiques biologiques des échantillons prélevés à T1 et T2 en 2004..... 34

Figure 33 : ACP des caractéristiques biologiques en 2004, sans les résultats des essais biologiques 35

Figure 34 : ACP des caractéristiques biologiques en 2005 36

Figures du chapitre 4 : Recherche d'indicateurs de la santé des sols..... 37

Figure 35 : Analyse de co-inertie des données chimiques et des données de structure des communautés bactériennes en 2004 37

Figure 36 : Analyse de co-inertie des données chimiques et des données de structure des communautés fongiques en 2005 38

Figure 37 : Analyse de co-inertie des données de structure des communautés de nématodes et des données chimiques en 2004 39

Figure 38 : Analyse de co-inertie des données de structure des communautés de nématodes et des données chimiques en 2005 40

Figure 39 : Analyse de co-inertie des données biologiques et des données chimiques en 2004..... 41

Figure 40 : Analyse de co-inertie des données biologiques et des données chimiques en 2005..... 42

Figure 41 : Analyse de co-inertie des données biologiques et des données de structure des communautés de nématodes en 2005 43

Tables du chapitre 5 : Identification d'une population fongique préférentiellement associée aux sols biodésinfectés 44

Table 9 : Répartition entre différents genres fongiques des isolats récupérés dans les échantillons de sol aux dates de prélèvement T1 en 2004 et 2005 44

Table 10 : Identification des espèces fongiques isolées des sols aux dates de prélèvement T1 en 2004 et 2005..... 45

ANNEXES ***46***

Annexe 1 : Itinéraire technique suivi dans la parcelle expérimentale 46

Annexe 2 : Composition des milieux utilisés 47

Annexe 3 : Analyses physico-chimiques des échantillons de sol 49

Prélèvement T0 de 2004 49
Prélèvement T1 de 2004 50
Prélèvement T2 de 2004 51
Prélèvement T0 de 2005 52
Prélèvement T1 de 2005 53
Prélèvement T2 de 2005 54
Analyse granulométrique des échantillons de sol prélevés à T0 en 2005 (g/kg de sol sec) 55

Annexe 4 : Matière organique vivante (MOV, en mg C/kg sol sec) 56

Annexe 5 : Densités microbiennes, CFU/g sol sec, moyenne de 3 répétitions par échantillon 57

Annexe 6 : densités de nématodes (/dm3) dans les échantillons de sol 58

Prélèvement T0 de 2004 58
Prélèvement T1 de 2004 59
Prélèvement T2 de 2004 60
Prélèvement T0 de 2005 61
Prélèvement T1 de 2005 62
Prélèvement T2 de 2005 63

Annexe 7 : Mesure de respiration basale des échantillons de sol (ml CO_2 / g sol sec / heure) 64

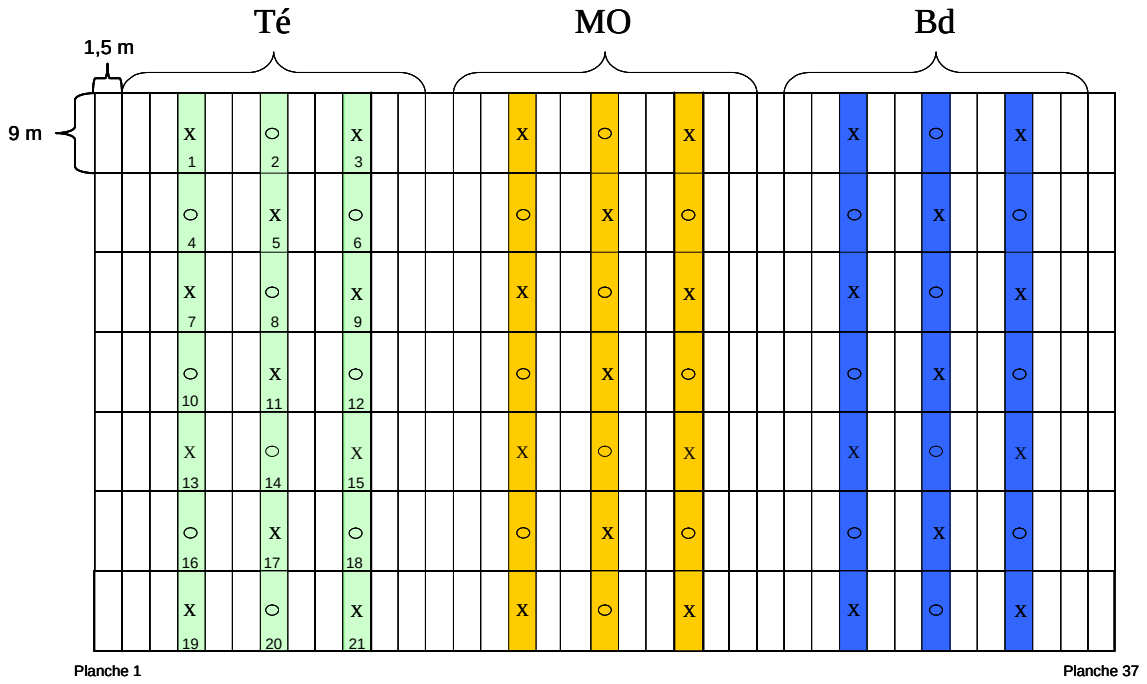


Figure 1
Plan de la parcelle expérimentale et localisation des points d'échantillonnage dans les trois sous-parcelles : témoin (Té), apport de fumier composté (MO) et biodésinfection (Bd). X = points impairs, O = points pairs.

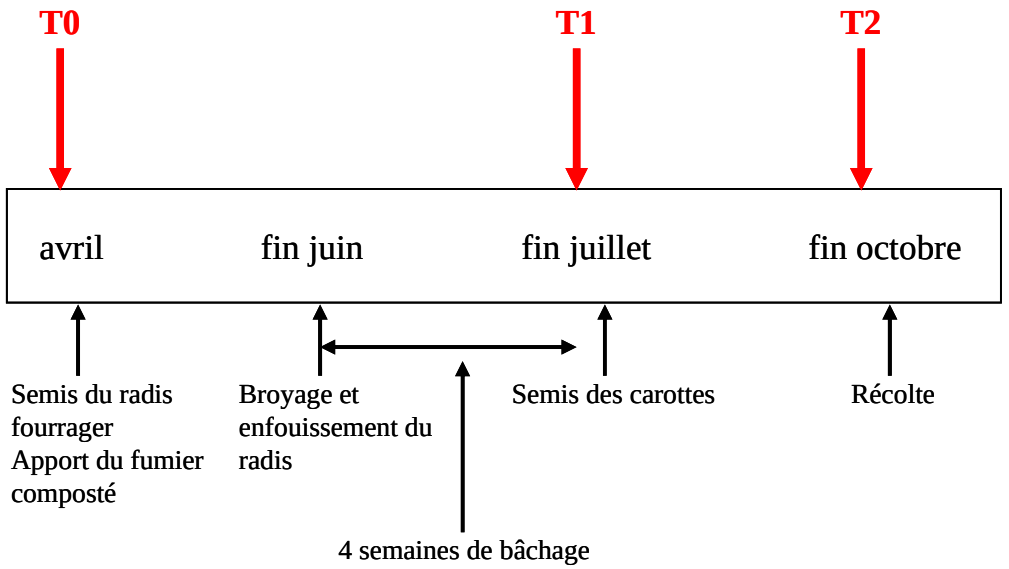


Figure 2
Principales interventions sur la parcelle et positionnement des périodes de prélèvement en 2004 et 2005.

	2004		2005	
	/poids brut	/poids sec	/poids brut	/poids sec
Matière sèche	27,20%		29,60%	
Matière organique, g/kg (par perte au feu)	122	449	202	682
Carbone organique, g/kg	61	224	101	341
Azote Kjeldahl NTK, g/kg	5,91	21,7	8,59	29
C/N	10,4		11,8	
Matière minérale, g/kg	150	551	94	318

Table 3
Caractéristiques physico-chimiques du fumier de bovin composté Génética. Analyses réalisées par le laboratoire LCA de Bordeaux.

Analyse	Norme	Code variable
Granulométrie 5 fractions sans décarbonatation	NF X 31-107	Argile, limons fins, limons grossiers, sables fins, sables grossiers
Carbone organique	NF ISO 10694	Corg
Azote total	NF ISO 13878	Ntot
PH eau	NF ISO 10390	PH
Phosphore (P2O5) méthode Olsen	NF ISO 11263	P
Capacité d'échange cationique méthode Metson	NF X 31-130	CEC
Calcium (Ca) échangeable à l'acétate d'ammonium (AAF)	NF X 31-108	Ca++
Magnésium (Mg) échangeable à l'acétate d'ammonium (AAF)	NF X 31-108	Mg++
Potassium (K) échangeable à l'acétate d'ammonium (EAF)	NF X 31-108	K+
Sodium (Na) échangeable à l'acétate d'ammonium (EAF)	NF X 31-108	Na+
Manganèse (Mn) échangeable à l'acétate d'ammonium (AAF)	Méthode INRA	Mn++
Cuivre (Cu) extractible à l'EDTA (ICP-AES)	Méthode INRA	Cu
Fer (Fe) extractible à l'EDTA (ICP-AES)	Méthode INRA	Fe
Manganèse (Mn) extractible à l'EDTA (ICP-AES)	Méthode INRA	Mn
Zinc (Zn) extractible à l'EDTA (ICP-AES)	Méthode INRA	Zn

Table 4
Analyses physico-chimiques réalisées par le laboratoire d'analyse des sols d'Arras, méthodes utilisées et code des variables.

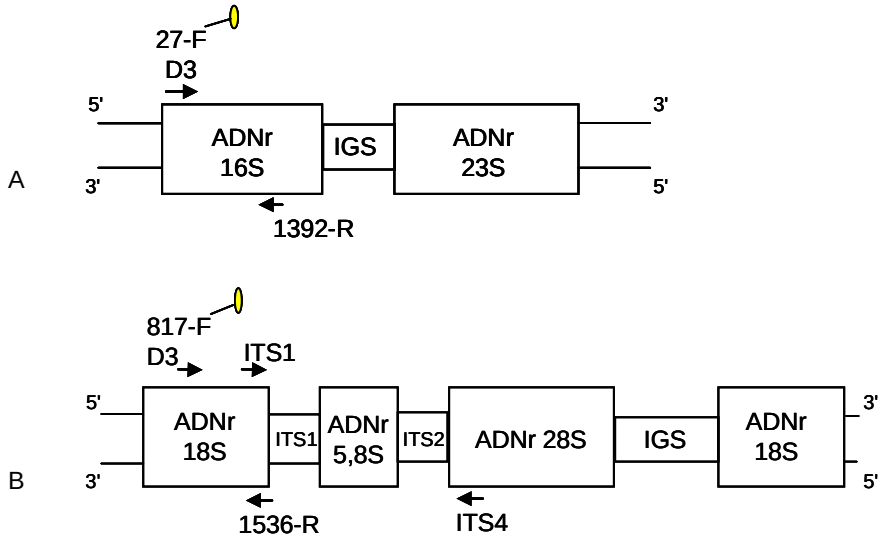


Figure 3
Schéma de la structure de l'unité d'ADN ribosomique (ADNr) bactérien (A) et fongique (B) et position des amorces utilisées. IGS = intergenic spacer, ITS = internal transcribed spacer.

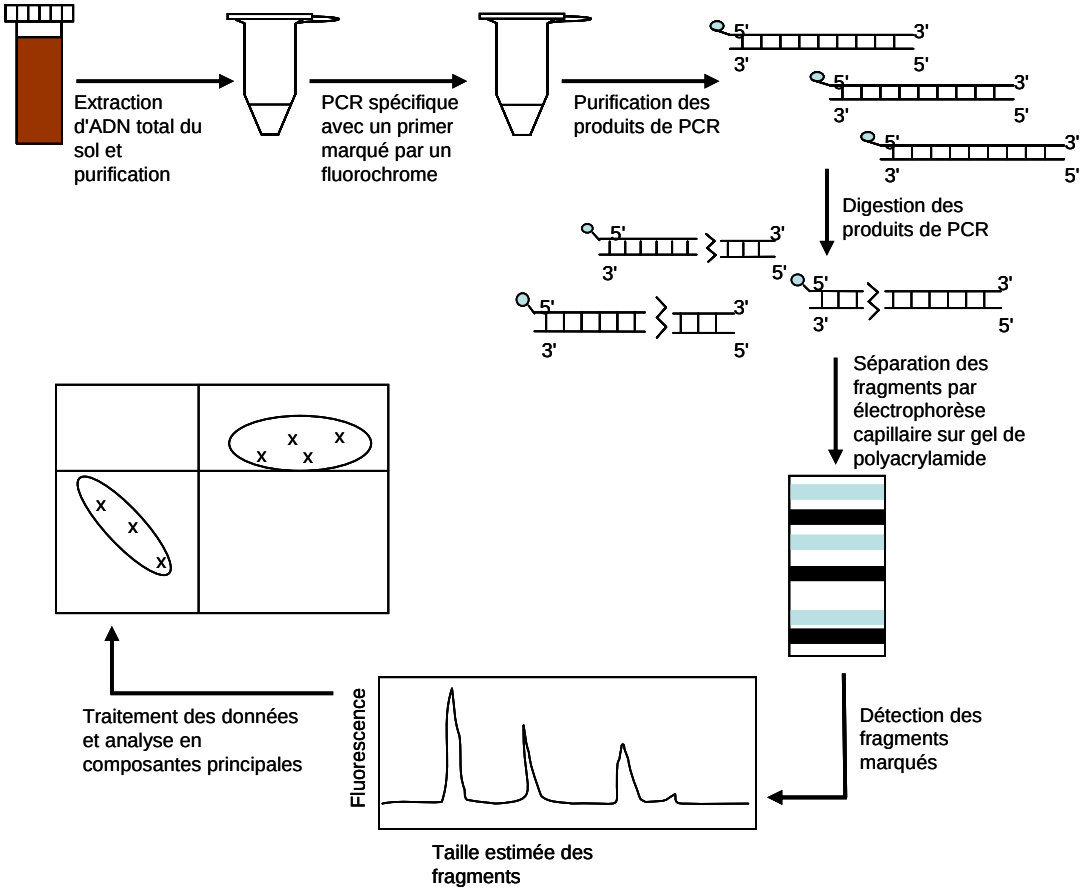


Figure 4
Schéma de principe de l'analyse de la structure des communautés microbiennes du sol par T-RFLP. D'après Grüntzig *et al*., 2002.

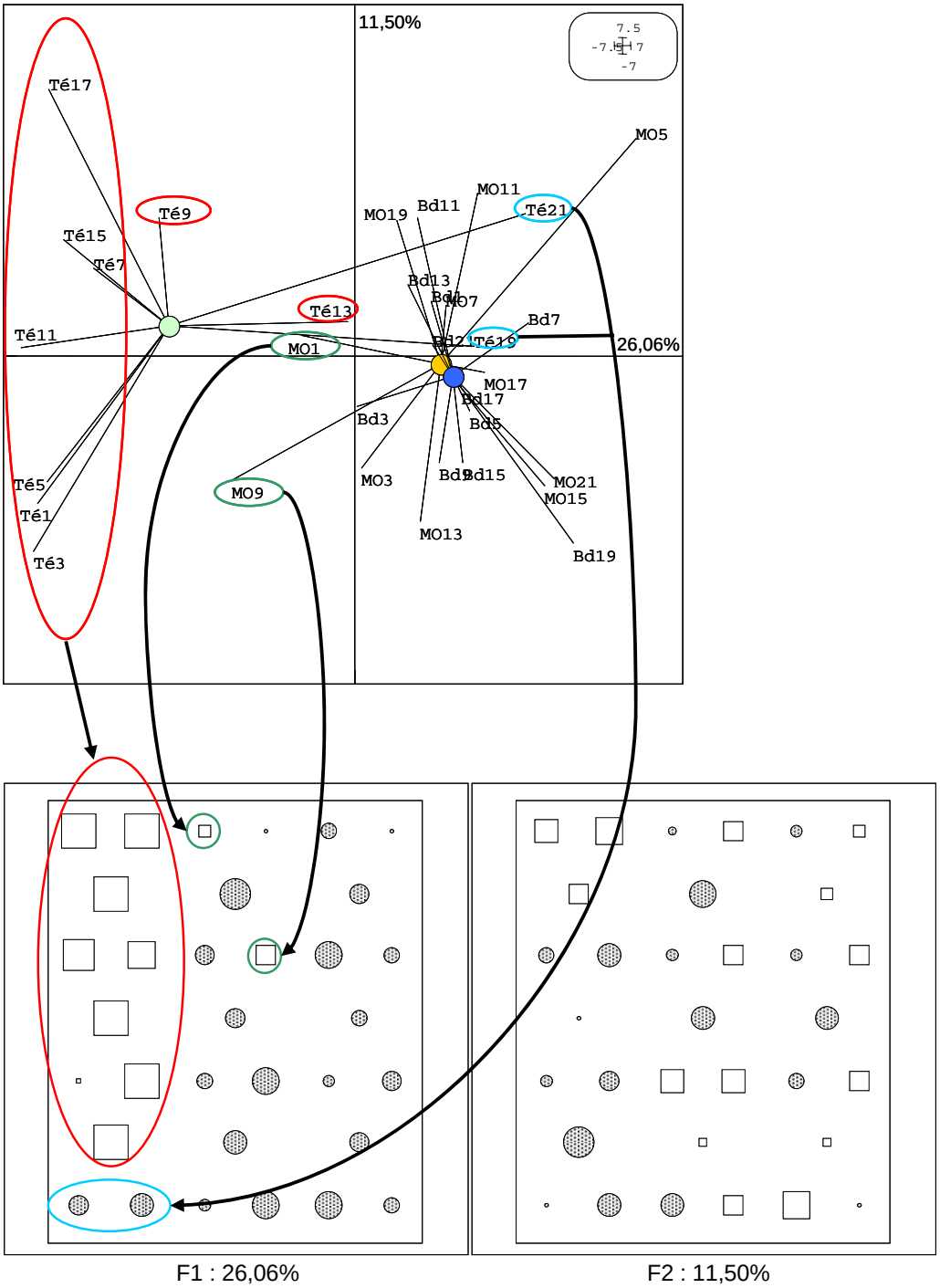


Figure 5
Structure des communautés bactériennes au prélèvement T0 de 2004 : exemple de représentation spatiale des résultats.
A-Carte factorielle F1xF2 des échantillons. B-Valeurs des projections sur F1 et F2, représentation sur le plan de la parcelle. Les carrés représentent les valeurs négatives, les ronds les valeurs positives. La taille du symbole est proportionnelle à la valeur absolue représentée.

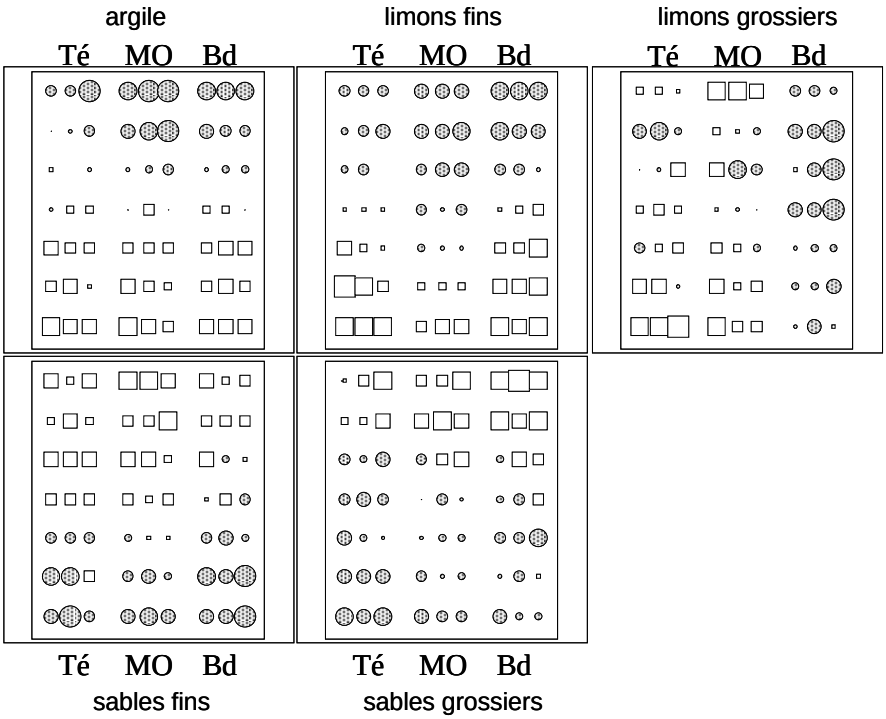


Figure 6
Granulométrie de la parcelle : représentation des valeurs centrées réduites de granulométrie 5 fractions de chaque échantillon, à T0 2005.

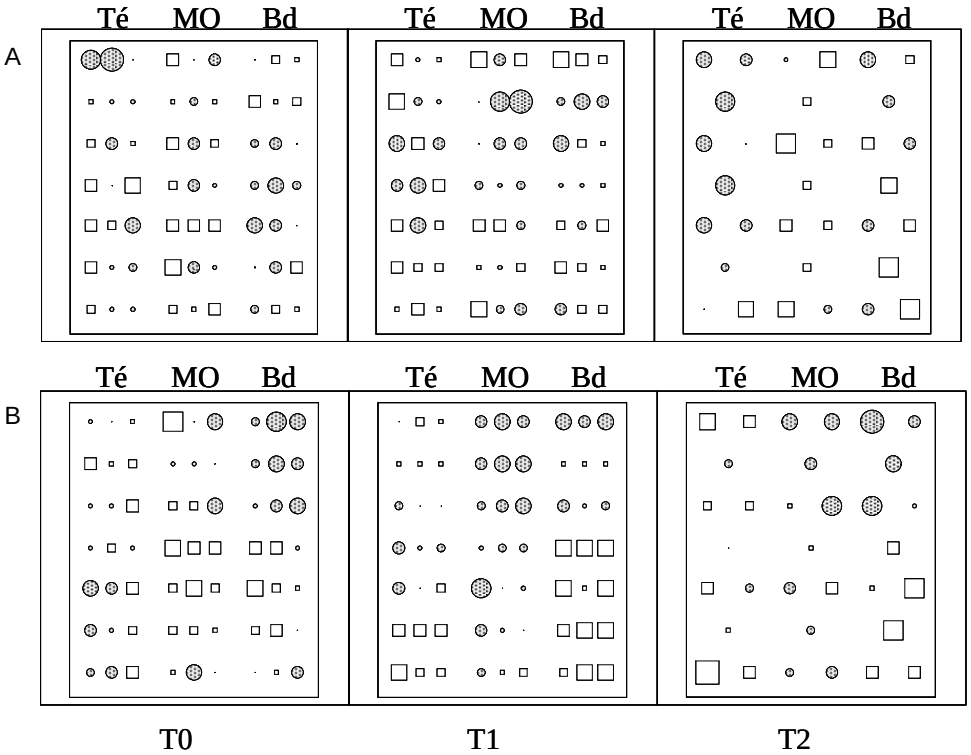


Figure 7
Densité apparente (A) et humidité pondérale (B) de la parcelle : représentation des valeurs centrées réduites de chaque échantillon en 2005, aux trois dates de prélèvement, dans chaque sous-parcelle.

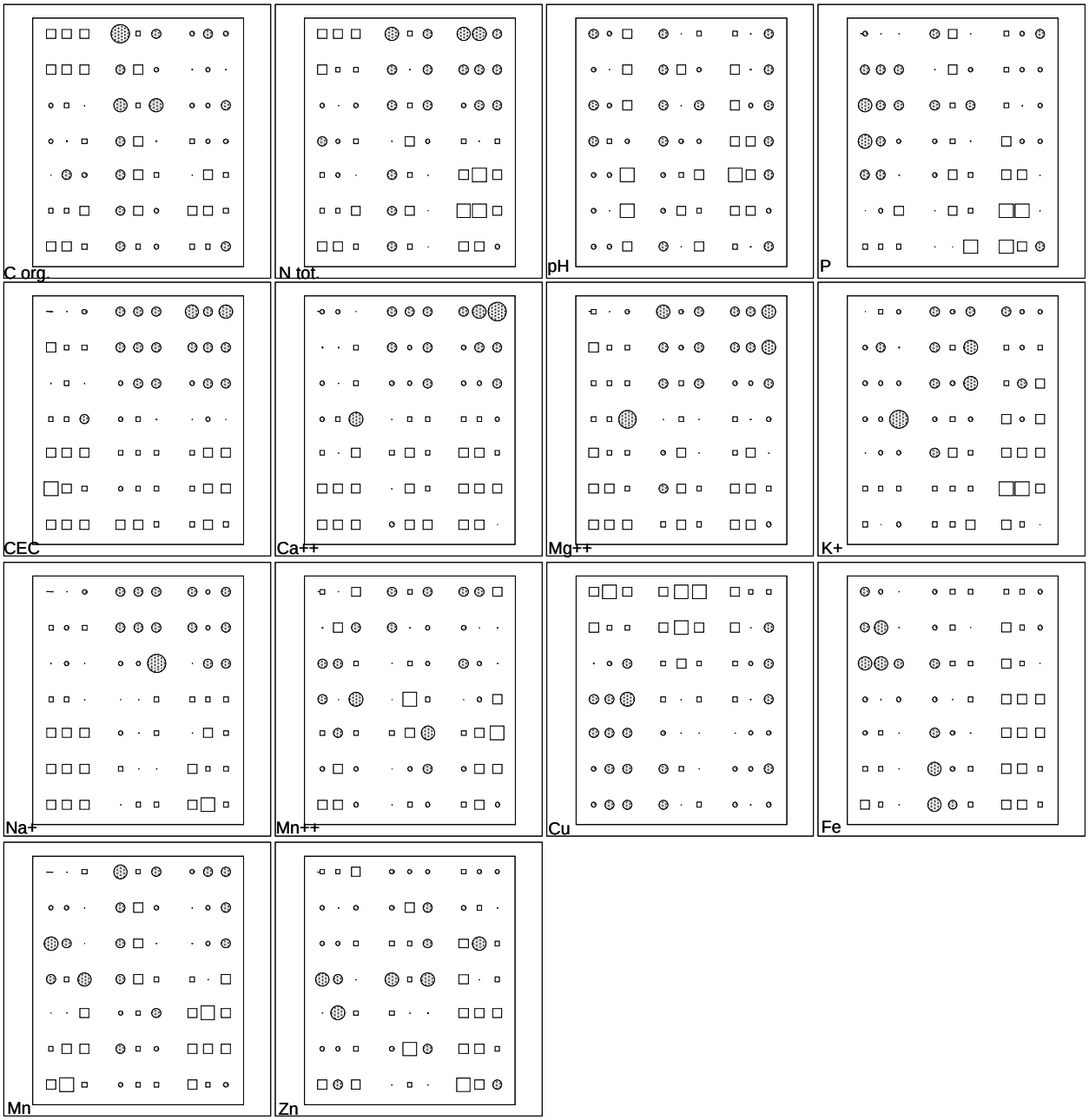


Figure 8
Caractéristiques chimiques de la parcelle : représentation des valeurs centrées réduites des variables mesurées avant la mise en place du dispositif, à T0 2004.

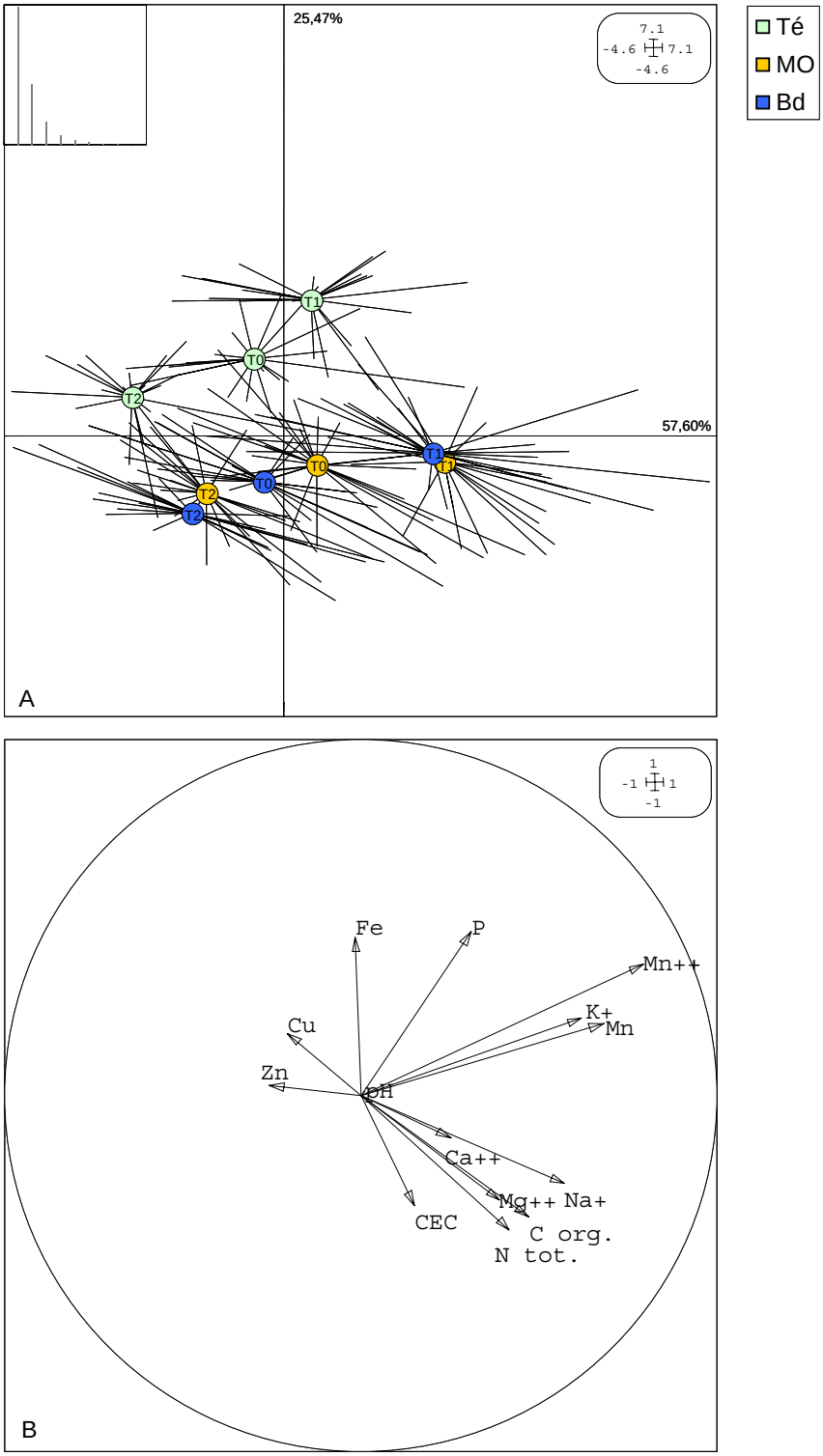


Figure 9
ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des caractéristiques chimiques en 2004.
A-Carte factorielle F1xF2 des échantillons. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Cercle de corrélation des variables (C org. = Carbone organique ; N tot. = Azote total).

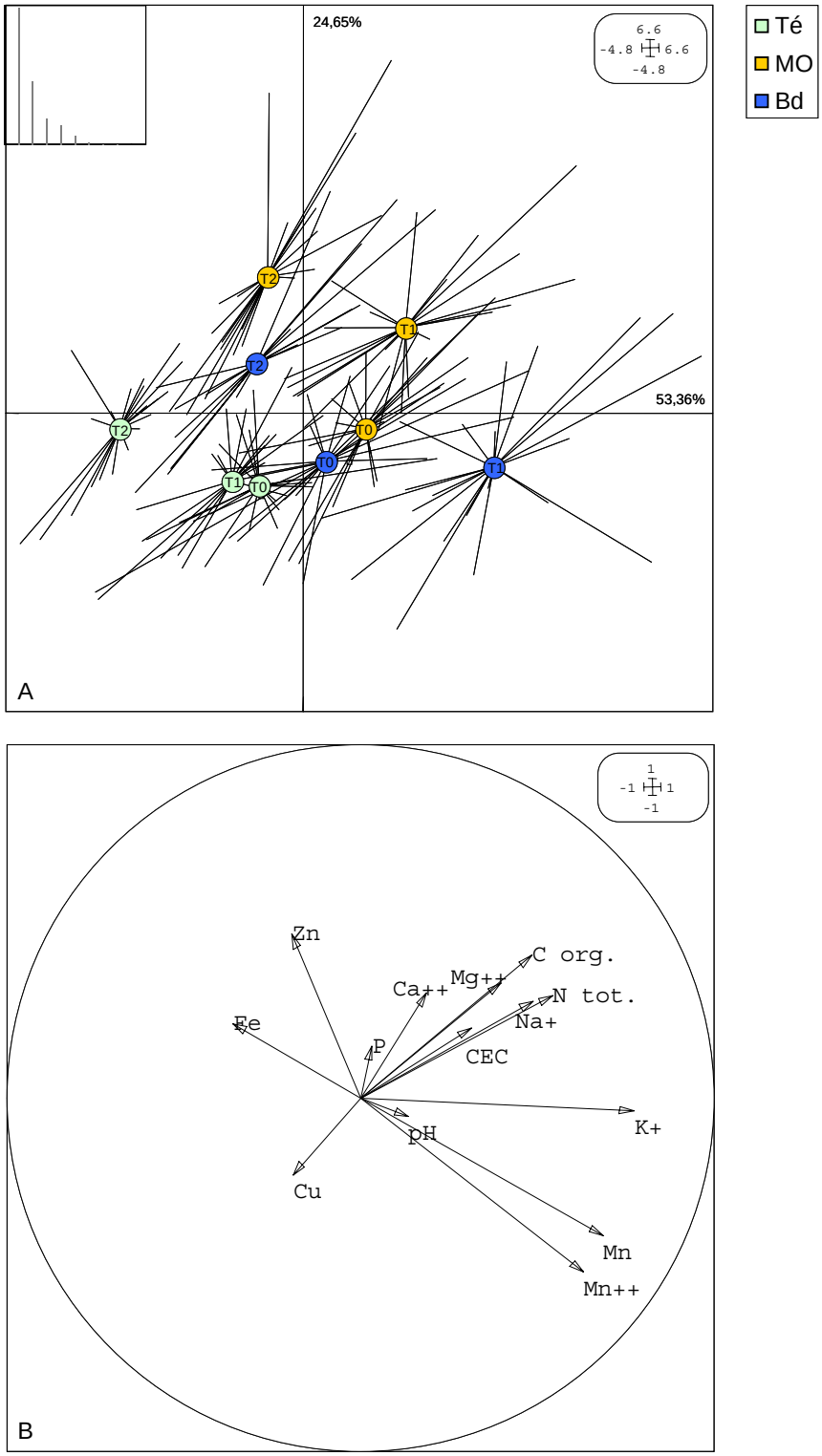


Figure 10
ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des caractéristiques chimiques en 2005.
A-Carte factorielle F1xF2 des échantillons. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Cercle de corrélation des variables (C org. = Carbone organique ; N tot. = Azote total).

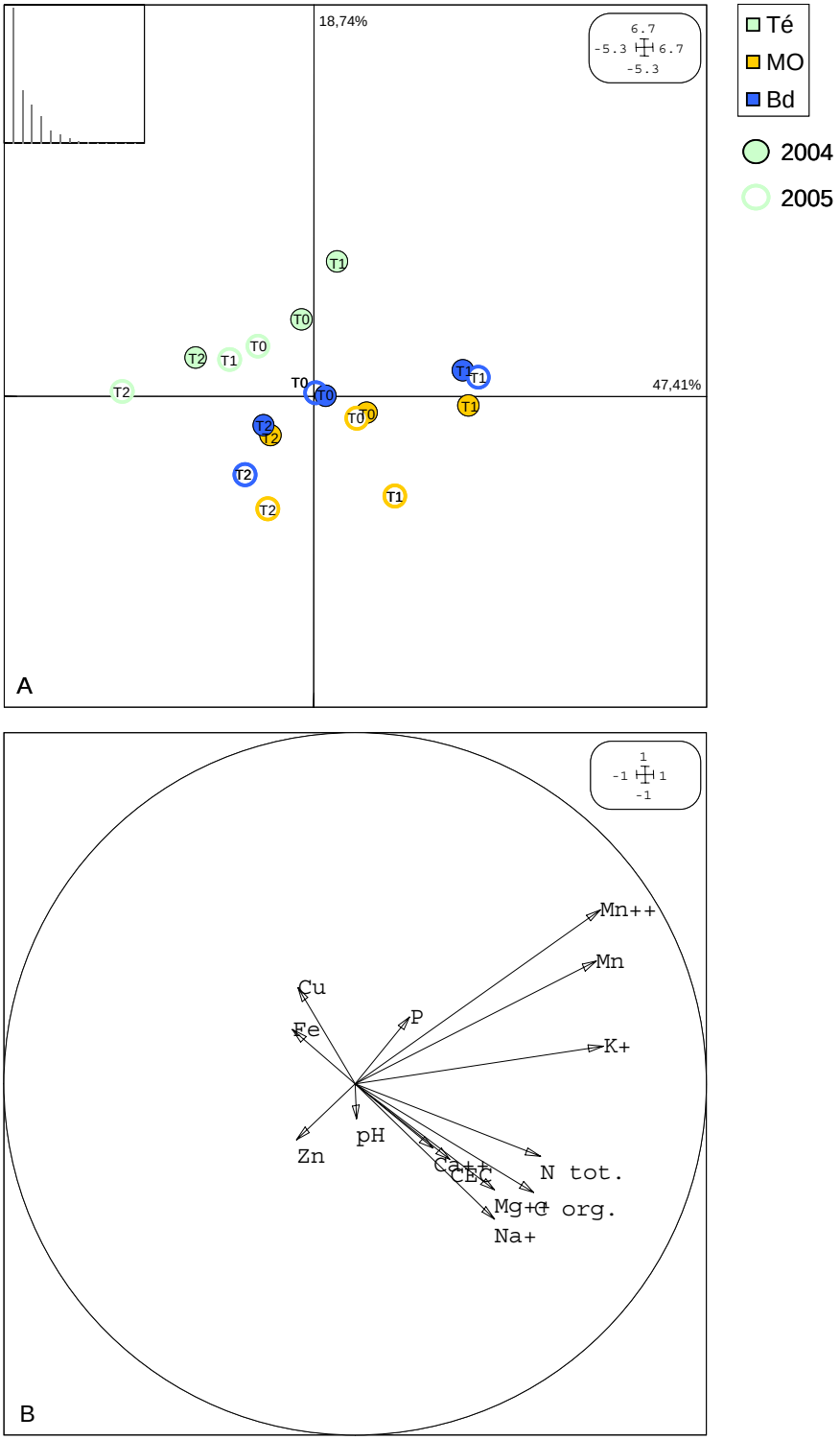


Figure 11
ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement x année) des caractéristiques chimiques en 2004 (cercles pleins) et 2005 (cercles vides).
A-Carte factorielle F1xF2 des centres de gravité des classes. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Cercle de corrélation des variables (C org. = Carbone organique ; N tot. = Azote total).

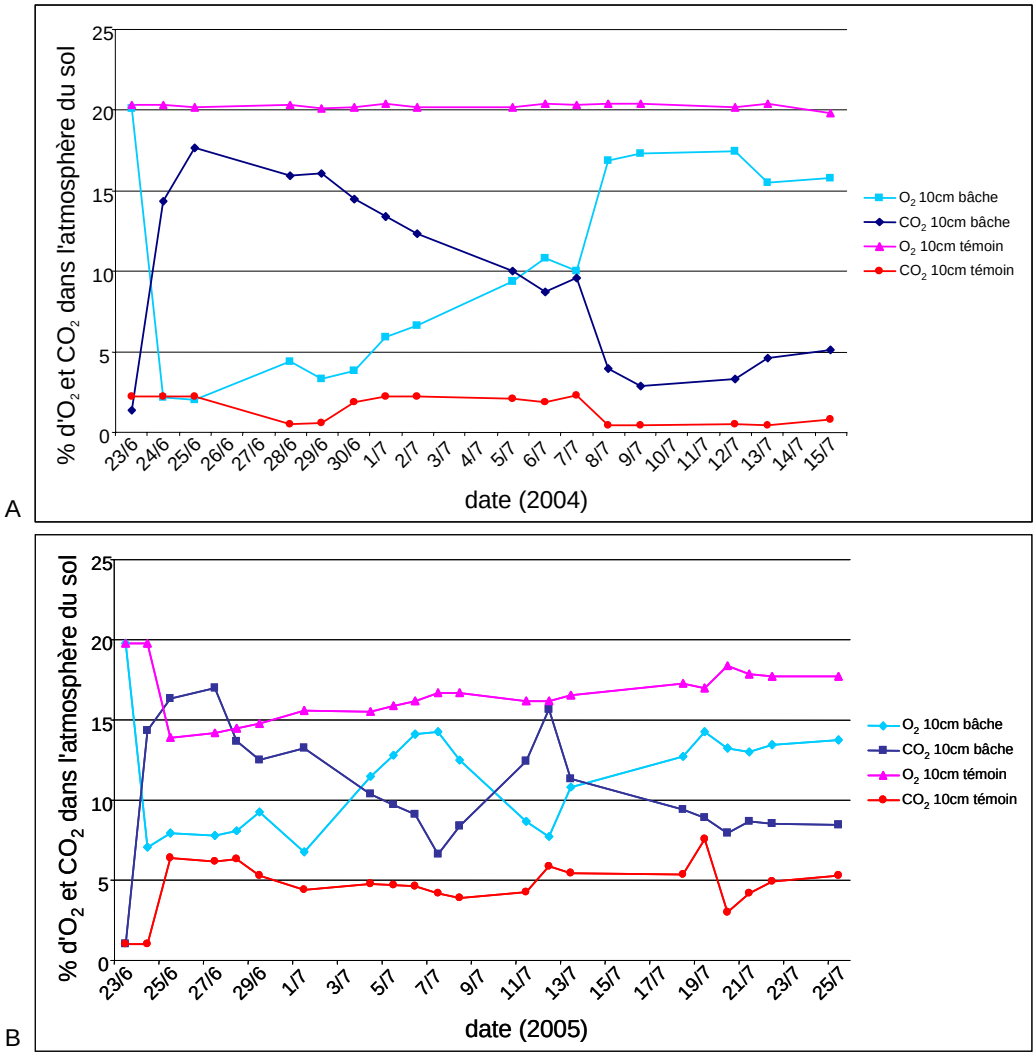


Figure 12
Evolution de la teneur en O_2 et CO_2 de l'atmosphère du sol, à 10 cm de profondeur, sous la bâche pendant la biodésinfection et dans le sol nu, en 2004 (A) et 2005 (B).

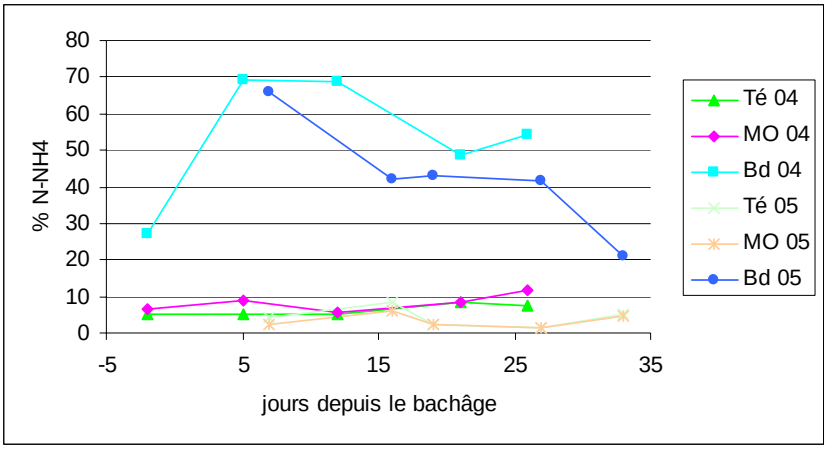
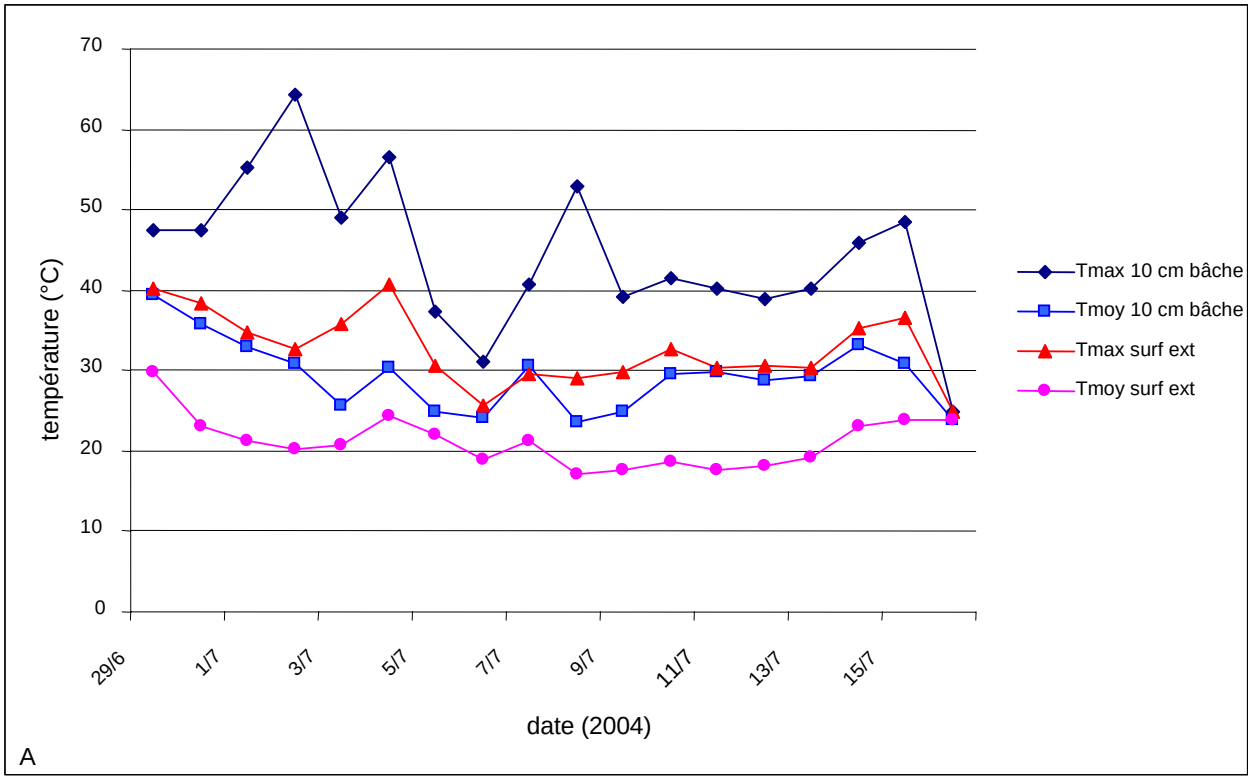


Figure 13
Evolution de la teneur en azote ammoniacal du sol, pendant la période de bâchage, en 2004 et 2005. Analyses réalisées par le laboratoire LCA de Bordeaux.



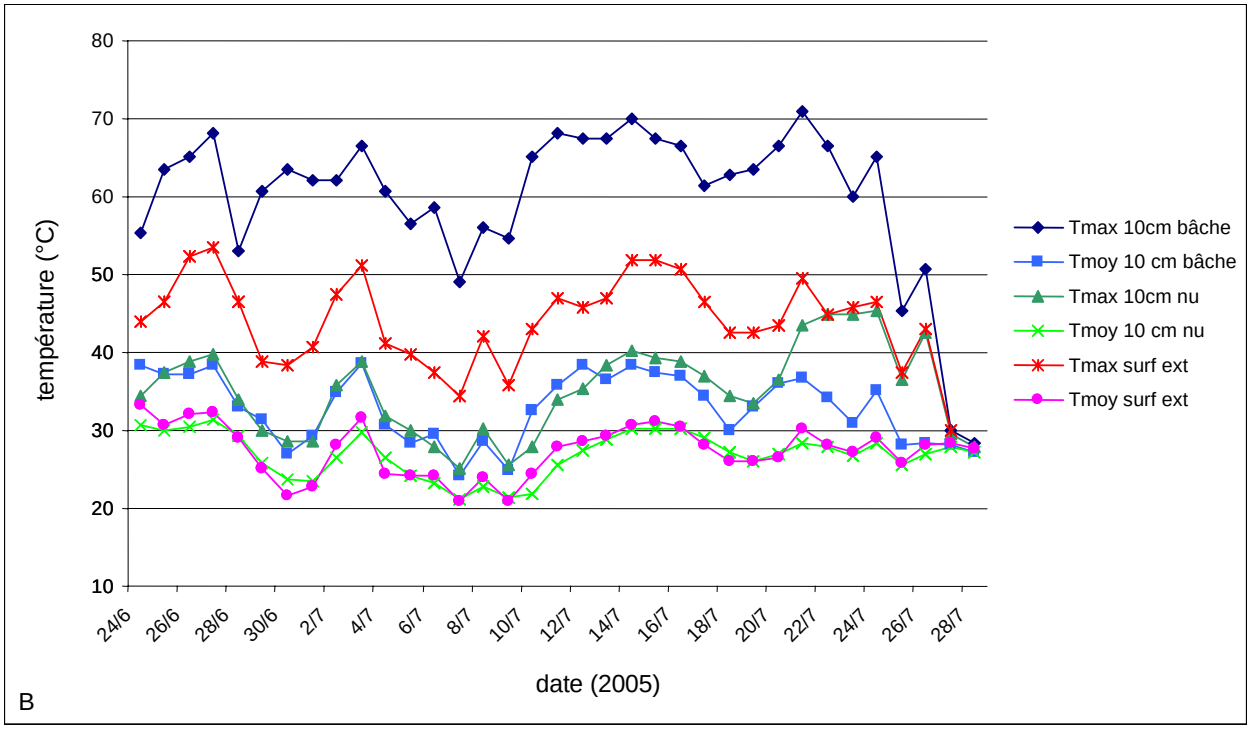


Figure 14
Evolution de la température maximum et de la température moyenne du sol, à 10 cm de profondeur sous la bâche et à la surface du sol en 2004 (A) et à 10 cm de profondeur, sous la bâche ou dans le sol nu, et à la surface du sol en 2005 (B).

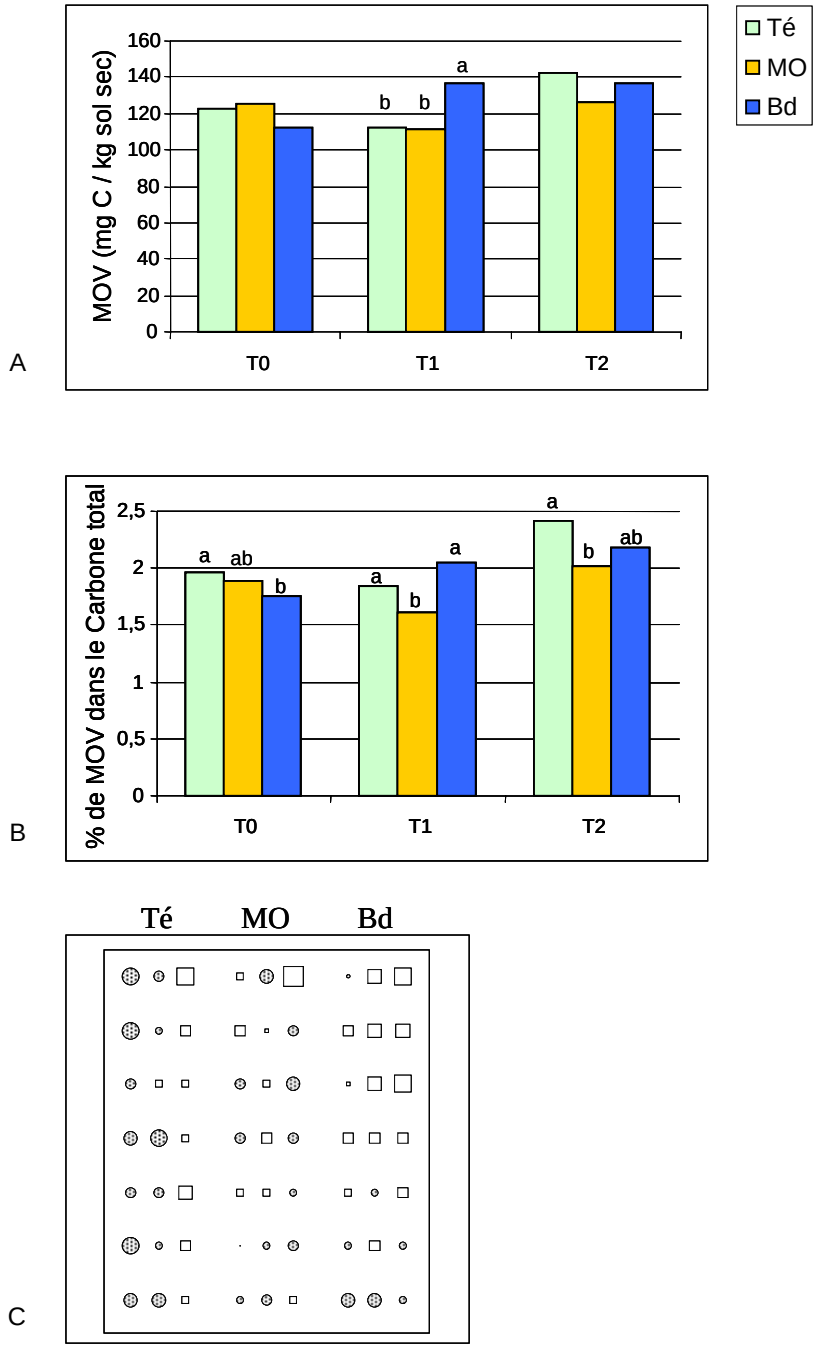


Figure 15
Matière organique vivante (MOV) en 2004 : valeur moyenne de MOV en mg de C / kg de sol sec (A), pourcentage de la MOV dans le Carbone total (B) et représentation des valeurs centrées réduites du pourcentage de la MOV dans le Carbone total à T0 (C), aux trois dates de prélèvement, dans chaque sous-parcelle. Pour un prélèvement donné, si ANOVA significative, les valeurs des colonnes portant une lettre identique ne sont pas significativement différentes (Newman et Keuls, $p<0,05$).

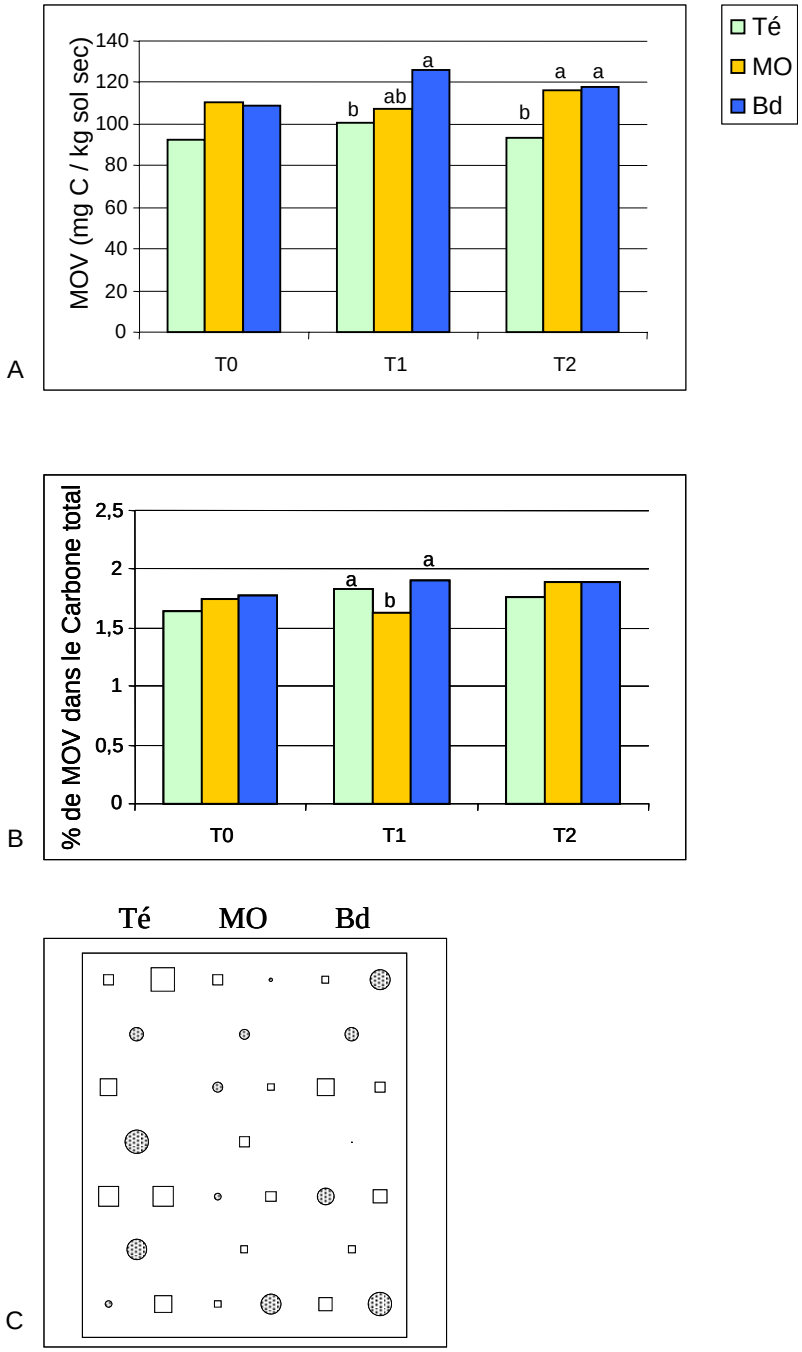


Figure 16
Matière organique vivante (MOV) en 2005 : valeur moyenne de MOV en mg de C / kg de sol sec (A), pourcentage de la MOV dans le Carbone total (B) et représentation des valeurs centrées réduites du pourcentage de la MOV dans le Carbone total à T0 (C), aux trois dates de prélèvement, dans chaque sous-parcelle. Pour un prélèvement donné, si ANOVA significative, les valeurs des colonnes portant une lettre identique ne sont pas significativement différentes (Newman et Keuls, $p<0,05$).

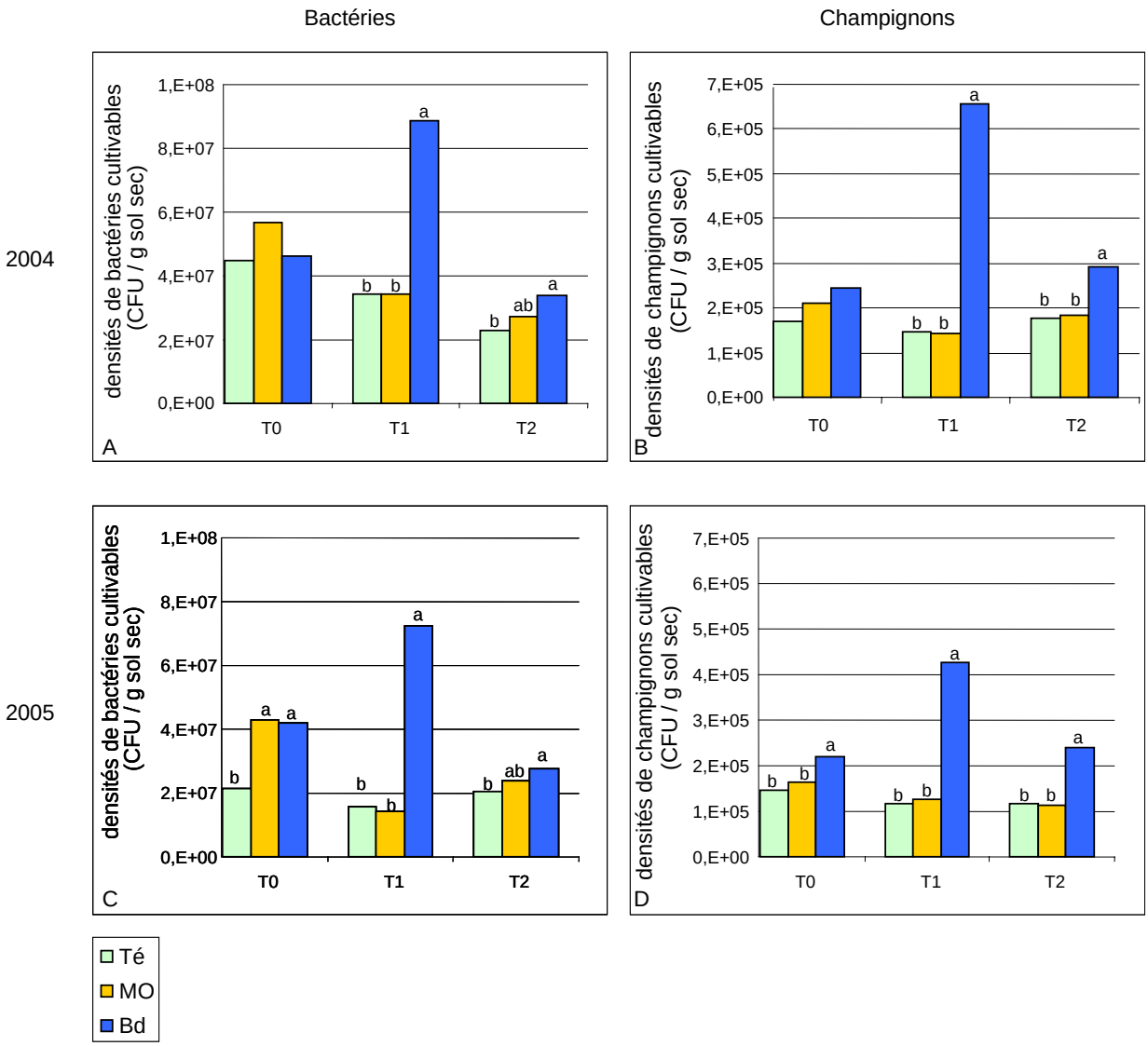


Figure 17
Densités de microorganismes : valeur moyenne de CFU par g de sol sec pour les bactéries (A et C) et les champignons (B et D) en 2004 (A et B) et 2005 (B et C), aux trois dates de prélèvement, dans chaque sous-parcelle. Pour un prélèvement donné, si ANOVA significative, les valeurs des colonnes portant une lettre identique ne sont pas significativement différentes (Newman et Keuls, $p<0,05$; sur les valeurs log (x+1)).

			2004			2004			2004		
			T0			T1			T2		
			Té	MO	Bd	Té	MO	Bd	Té	MO	Bd
Aphelenchus avenae	Bastian, 1865	Aphel	20-400 (18)	80-2000 (17)	40-1200 (19)	8-56 (19)	4-480 (21)	68-604 (18)	20-260 (14)	12-200 (20)	36-768 (19)
Boleodorus thylactus	Thorne, 1941	Boleo	40-800 (18)	40-320 (14)	40-720 (18)	12-196 (21)	4-208 (21)	12-356 (19)	20-740 (21)	20-484 (19)	68-772 (21)
Coslenchus andrassyi	Brzeski, 1987	Cos and.	40-320 (17)	40-440 (14)	40-600 (13)	4-32 (16)	8-84 (18)	4-68 (18)	20-80 (2)	20-620 (20)	12-952 (19)
Coslenchus rugosus	Andrassy, 1982	Cos rug.	60-2480 (21)	240-2000 (19)	200-1240 (21)	56-312 (21)	16-348 (21)	12-800 (21)	160-1800 (21)	20-1360 (21)	272-1972 (20)
Coslenchus sp.	Siddiqi, 1978	Cos sp.	120 (1)	26-200 (5)	10-80 (4)	8-20 (2)	/	/	/	/	/
Discolaimium sp.	Thorne, 1939	Disco	/	/	/	/	4-20 (5)	4-84 (11)	4-60 (4)	/	12-20 (4)
Ditylenchus longimaticalis	Kazachenko, 1975 ; Brzeski, 1984	Dityl	40_160 (10)	20-320 (13)	20-160 (17)	4-16 (10)	4-48 (16)	4-28 (6)	20-100 (14)	20-44 (4)	12-720 (8)
Filenchus hamuliger	/	/	40 (1)	/	/	/	/	/	/	/	/
Helicotylenchus pseudorobustus	Steiner, 1914	Helico	/	/	/	/	/	4 (2)	20 (1)	/	20-24 (3)
Hemicyclophora similes	Thorne, 1955	Hemicy	80-120 (4)	4-80 (2)	17-120 (6)	4-20 (4)	8 (1)	/	20-60 (2)	/	20-56 (3)
Meloidogyne spp.	Goeldi, 1892		/	/	0,6-12 (2)	/	/	/	/	/	40 (1)
Merlinius brevidens	Allen, 1955	Merli	120-400 (3)	24-300 (4)	35-320 (4)	/	/	/	/	/	/
Pratylenchus penetrans	Cobb, 1917	Praty	40-280 (8)	20-240 (3)	10-120 (3)	4-60 (8)	4-8 (3)	/	20-40 (3)	20 (2)	8 (1)
Psilenchus terextremus	Hagemeyer et Allen, 1952	Psilen	/	/	/	4-28 (9)	4-72 (11)	4-16 (10)	20-80 (9)	20-64 (7)	16-120 (15)
Trichodorus primitivus	De Man, 1880	Tricho	40-160 (6)	29-240 (7)	16-80 (8)	4 (3)	4-12 (2)	4-68 (11)	20-320 (14)	16-1360 (12)	12-468 (13)
Nématodes libres			400-11400 (21)	440-6840 (21)	80-3000 (19)	216-1224 (21)	188-1600 (21)	28-1316 (21)	700-3480 (21)	580-3204 (21)	760-5280 (21)

			2005			2005			2005		
			T0			T1			T2		
			Té	MO	Bd	Té	MO	Bd	Té	MO	Bd
Aphelenchus avenae	Bastian, 1865	Aphel	40-240 (15)	40-480 (15)	40-760 (19)	40-320 (15)	40-160 (7)	40-3280 (15)	20-320 (7)	40 (1)	20 (1)
Boleodorus thylactus	Thorne, 1941	Boleo	40-640 (19)	40-400 (14)	40-320 (15)	40-400 (17)	40-480 (14)	40-80 (3)			
Coslenchus andrassyi	Brzeski, 1987	Cos and.	40-240 (18)	40-320 (13)	40-120 (5)	40-160 (14)	40-240 (8)	/	60-680 (20)	20-180 (13)	40-200 (7)
Coslenchus rugosus	Andrassy, 1982	Cos rug.	40-920 (20)	40-1360 (19)	40-1080 (17)	40-640 (20)	40-440 (12)	40-200 (11)			
Coslenchus sp.	Siddiqi, 1978	Cos sp.	40-240 (17)	40-280 (3)		40-120 (4)	40 (1)	/	40-80 (2)	40 (1)	40-580 (9)
Discolaimium sp.	Thorne, 1939	Disco	/	/	/	/	/	/			
Ditylenchus longimaticalis	Kazachenko, 1975 ; Brzeski, 1984	Dityl	40 (1)	40 (5)	40-160 (9)	40 (1)	40-80 (5)	/	40-1020 (20)	40-820 (17)	20-460 (11)
Filenchus hamuliger	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Helicotylenchus pseudorobustus	Steiner, 1914	Helico	/	/	/	/	80 (2)	/	20-80 (4)	/	/
Hemicyclophora similes	Thorne, 1955	Hemicy	40 (1)	/	/	/	/	/	/	/	/
Meloidogyne spp.	Goeldi, 1892		/	/	/	/	/	/	/	/	/
Merlinius brevidens	Allen, 1955	Merli	/	/	/	/	/	/	20-120 (14)	20-100 (8)	20-220 (8)
Pratylenchus penetrans	Cobb, 1917	Praty	40-80 (2)	/	40 (2)	/	/	/	/	/	/
Psilenchus terextremus	Hagemeyer et Allen, 1952	Psilen	40-200 (11)	40-160 (14)	40-120 (13)	40-120 (11)	40-80 (4)	40 (3)	880 (1)	/	/
Trichodorus primitivus	De Man, 1880	Tricho	40-120 (7)	40-360 (11)	40-520 (10)	40-360 (8)	40-160 (5)	40-200 (5)	20-160 (6)	20-240 (7)	20-640 (11)
Nématodes libres			600-9760 (21)	520-10000 (21)	440-3480 (21)	720-8440 (21)	560-3000 (21)	40-2040 (19)	940-7720 (21)	520-4400 (21)	40-10560 (20)

Table 5

Dénombrement des nématodes phytoparasites et libres. Densités minimum et maximum retrouvées par dm^3 de sol, selon la sous-parcelle, aux trois dates de prélèvement. Entre parenthèses, nombre d'échantillons (/21) dans lesquels chaque espèce a été retrouvée.

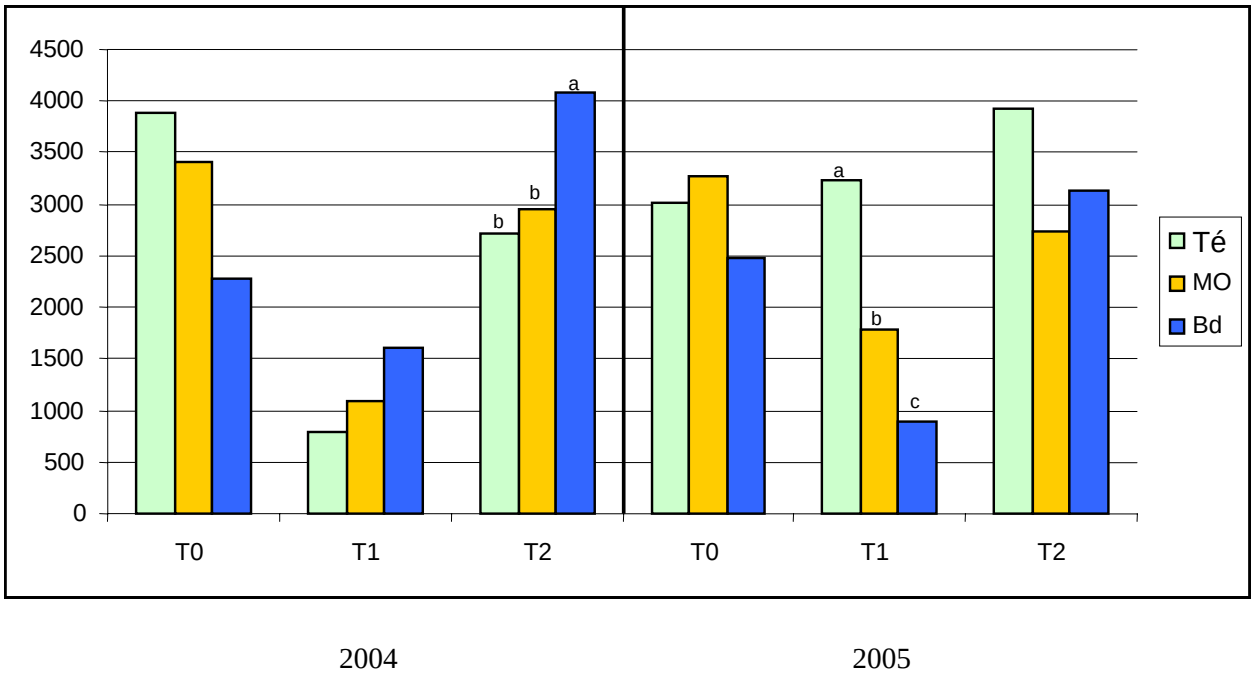


Figure 18
Densités de nématodes : valeur moyenne de densités de nématodes par dm^3 de sol, en fonction du prélèvement, dans chaque sous-parcelle. Pour un prélèvement donné, si ANOVA significative, les valeurs des colonnes portant une lettre identique ne sont pas significativement différentes (Newman et Keuls, $p<0,05$; sur les valeurs log(x+1)).

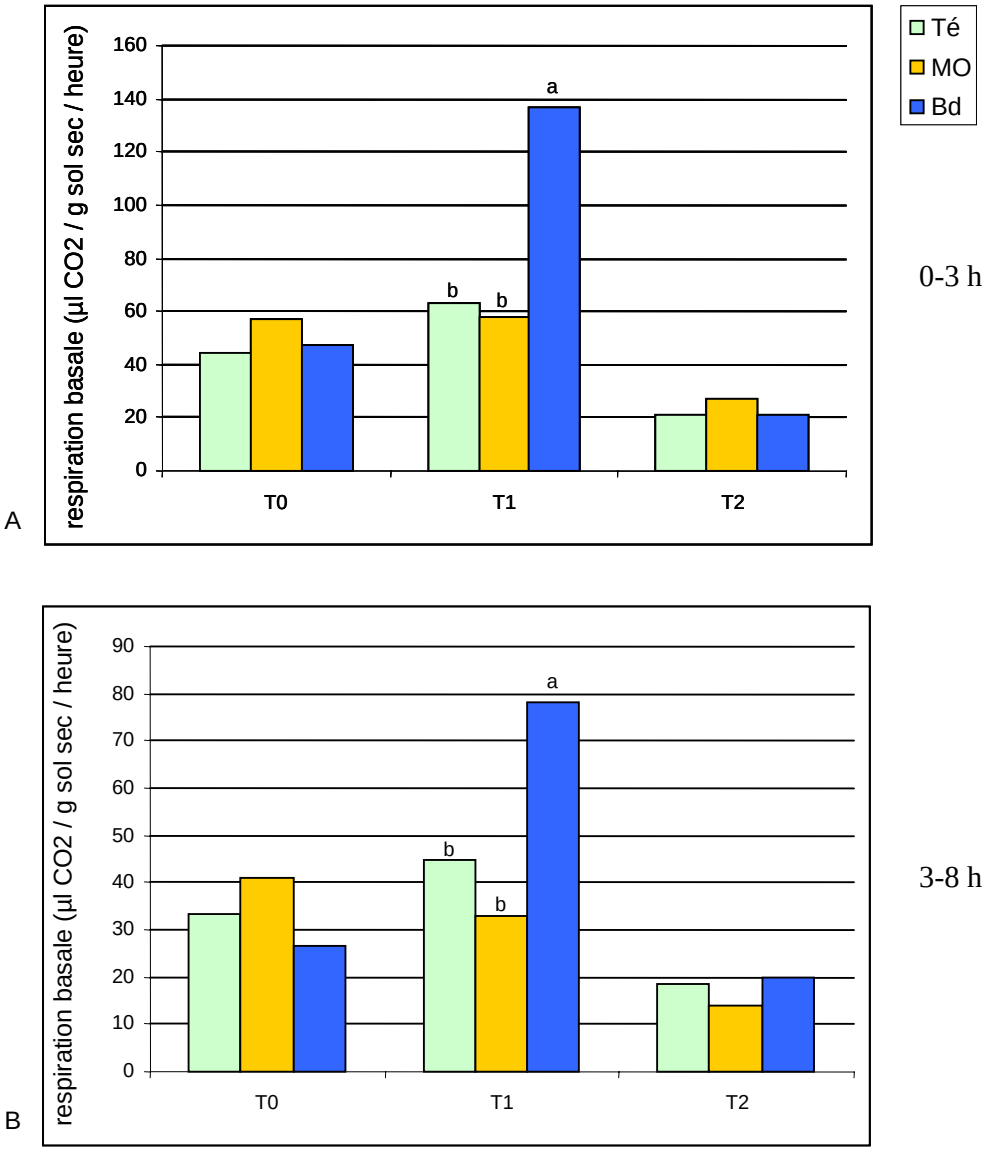


Figure 19
Activité microbienne en 2004 : valeur moyenne de respiration basale en µl de CO2 produit par gramme de sol sec et par heure, pour les différentes périodes d'incubation (A = période 0-3 heures d'incubation, B = période 3-8 heures d'incubation), aux trois dates de prélèvement, dans chaque sous-parcelle. Pour un prélèvement et une période d'incubation donnés, si ANOVA significative, les valeurs des colonnes portant une lettre identique ne sont pas significativement différentes (Newman et Keuls, $p<0,05$).

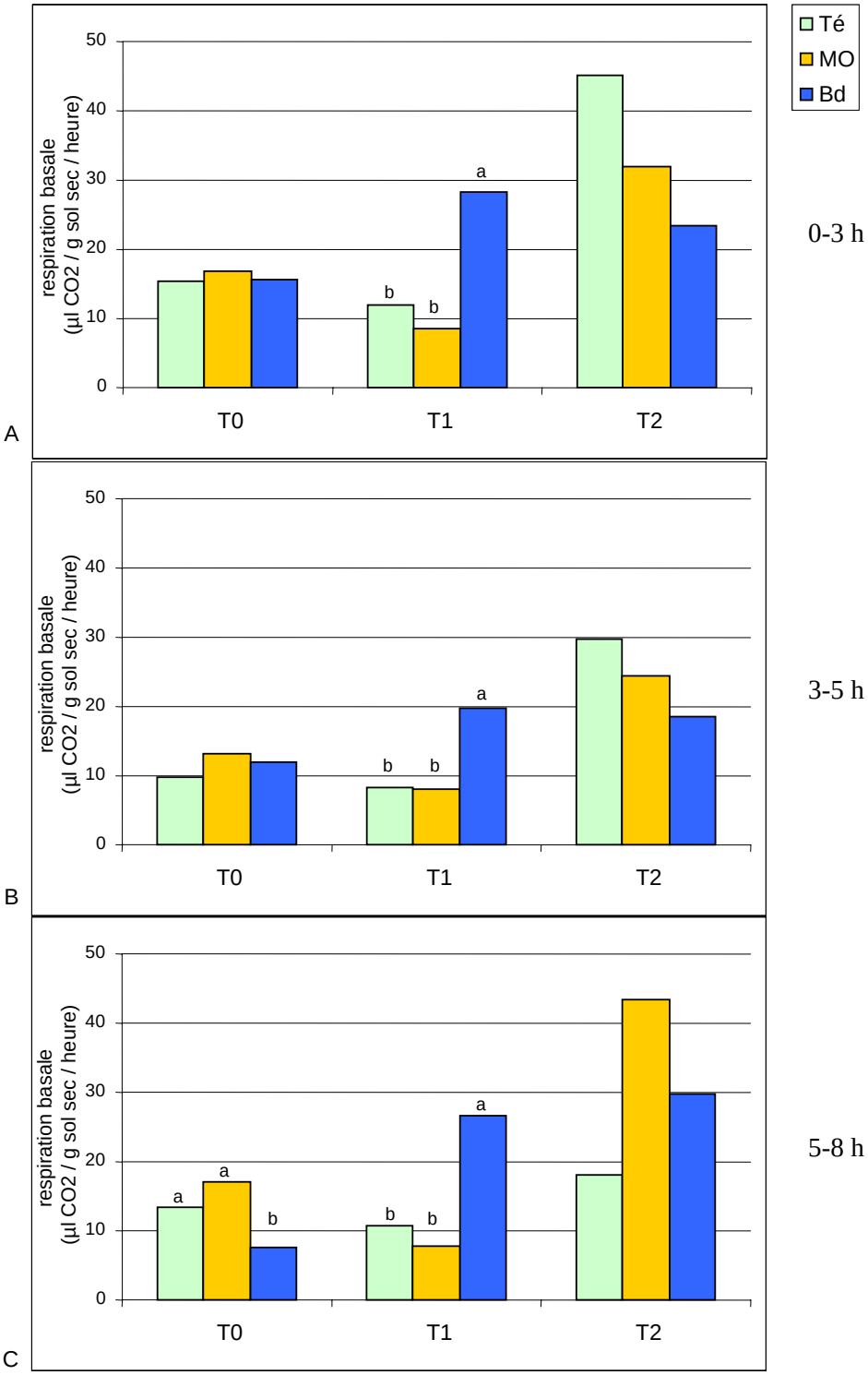


Figure 20
Activité microbienne en 2005 : valeur moyenne de respiration basale en µl de CO2 produit par gramme de sol sec et par heure, pour les différentes périodes d'incubation (A = période 0-3 heures d'incubation, B = période 3-5 heures, C = période 5-8 heures), aux trois dates de prélèvement, dans chaque sous-parcelle. Pour un prélèvement et une période d'incubation donnés, si ANOVA significative, les valeurs des colonnes portant une lettre identique ne sont pas significativement différentes (Newman et Keuls, $p<0,05$).

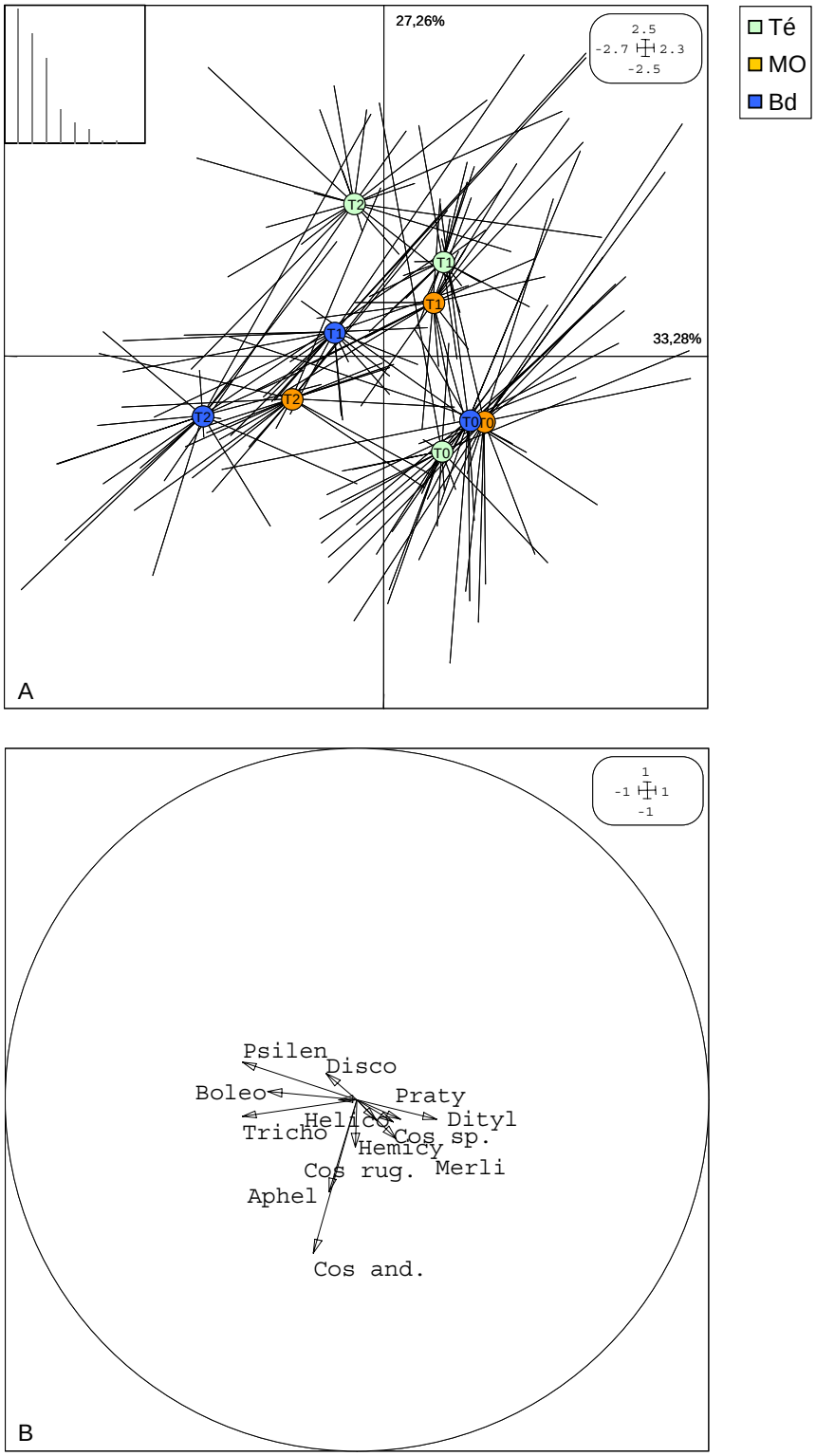


Figure 21
Structure des communautés de nématodes en 2004 : ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des densités de nématodes.
A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré B-Cercle de corrélation des variables. Abréviations cf. table 5.

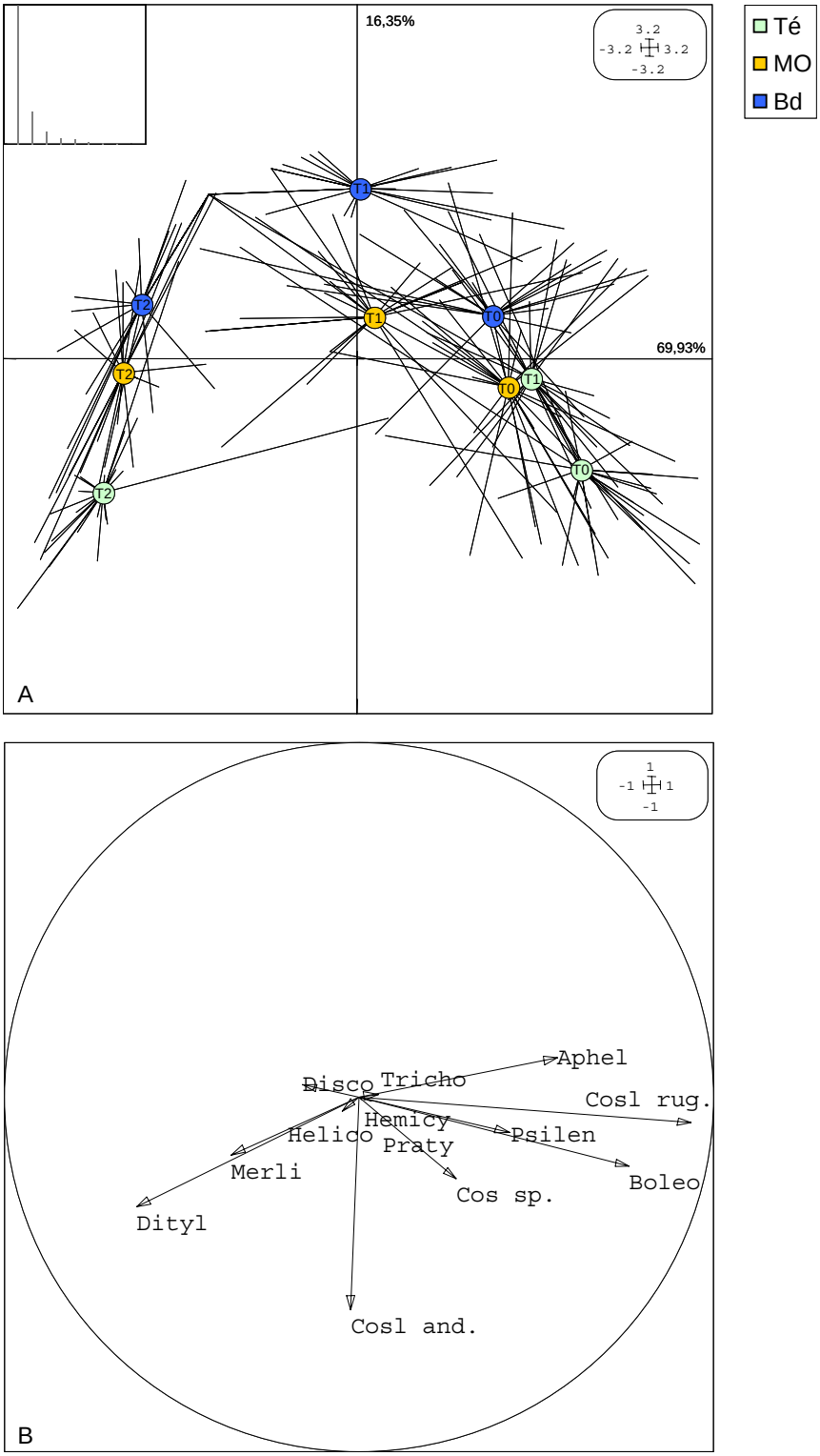


Figure 22
Structure des communautés de nématodes en 2005 : ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des densités de nématodes.
A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré B-Cercle de corrélation des variables. Abréviations cf. table 5.

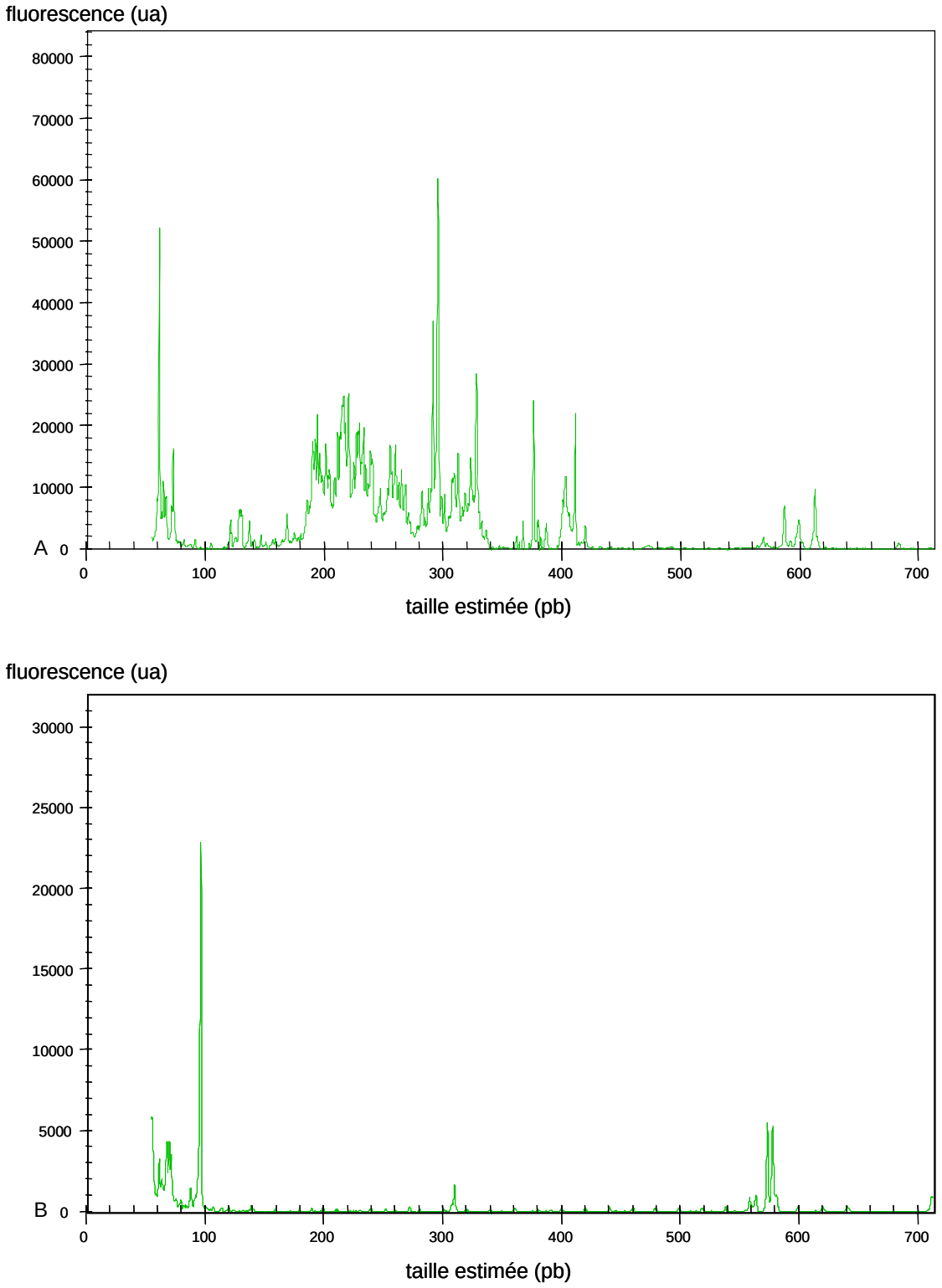


Figure 23
Structure des communautés microbiennes :
A-Profil de T-RFLP 16S de communauté bactérienne d'un échantillon d'ADN de sol.
B-Profil de T-RFLP 18S de communauté fongique d'un échantillon d'ADN de sol.
La taille des fragments est exprimée en paires de bases (pb) et leur fluorescence en unité arbitraire.

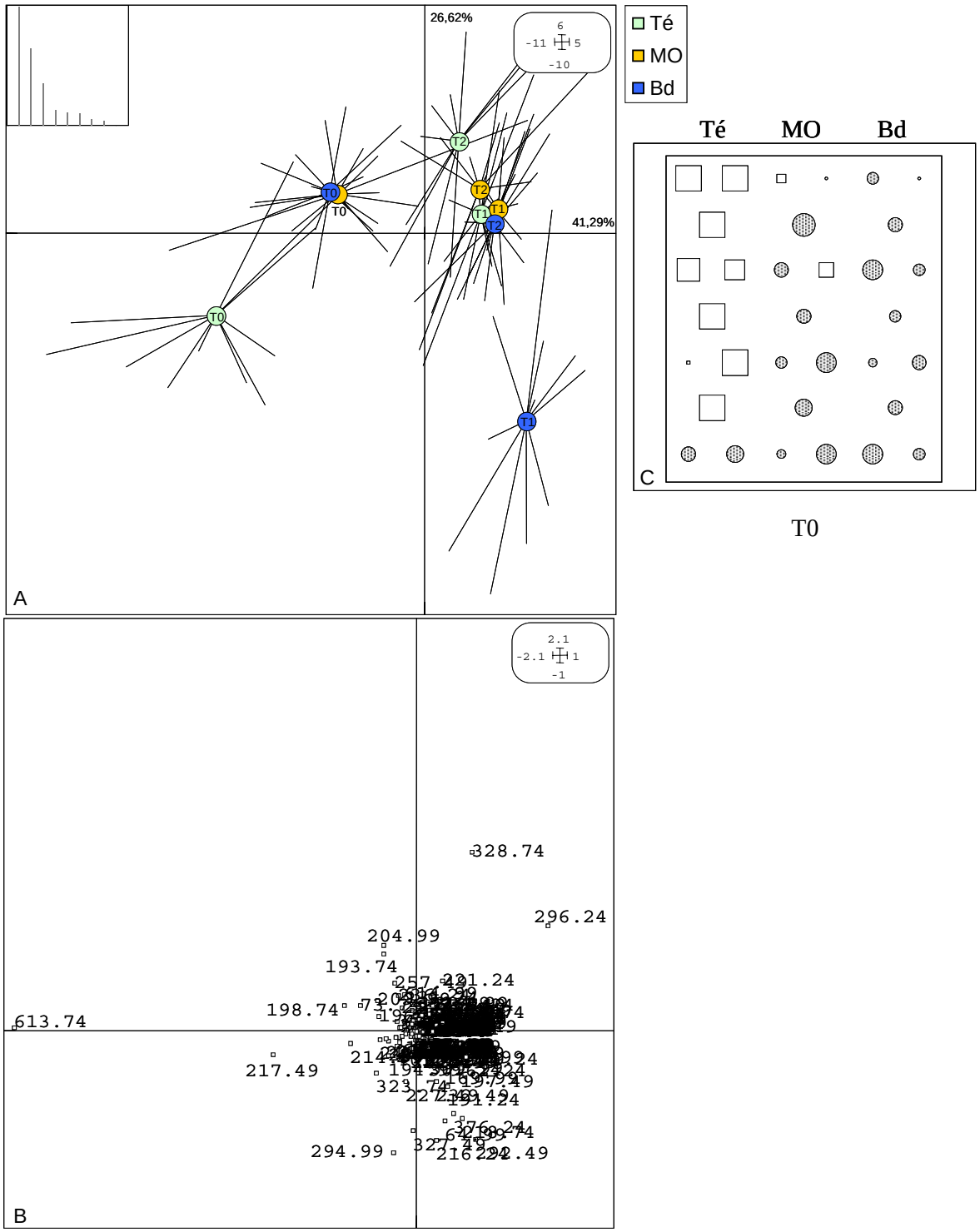


Figure 24
Structure des communautés bactériennes :
ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des données de T-RFLP 16S en 2004. A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Carte factorielle des variables.
C-ACP des données de T-RFLP 16S de T0 2004, valeur des projections sur F1 de chaque échantillon, représentation sur le plan de la parcelle.

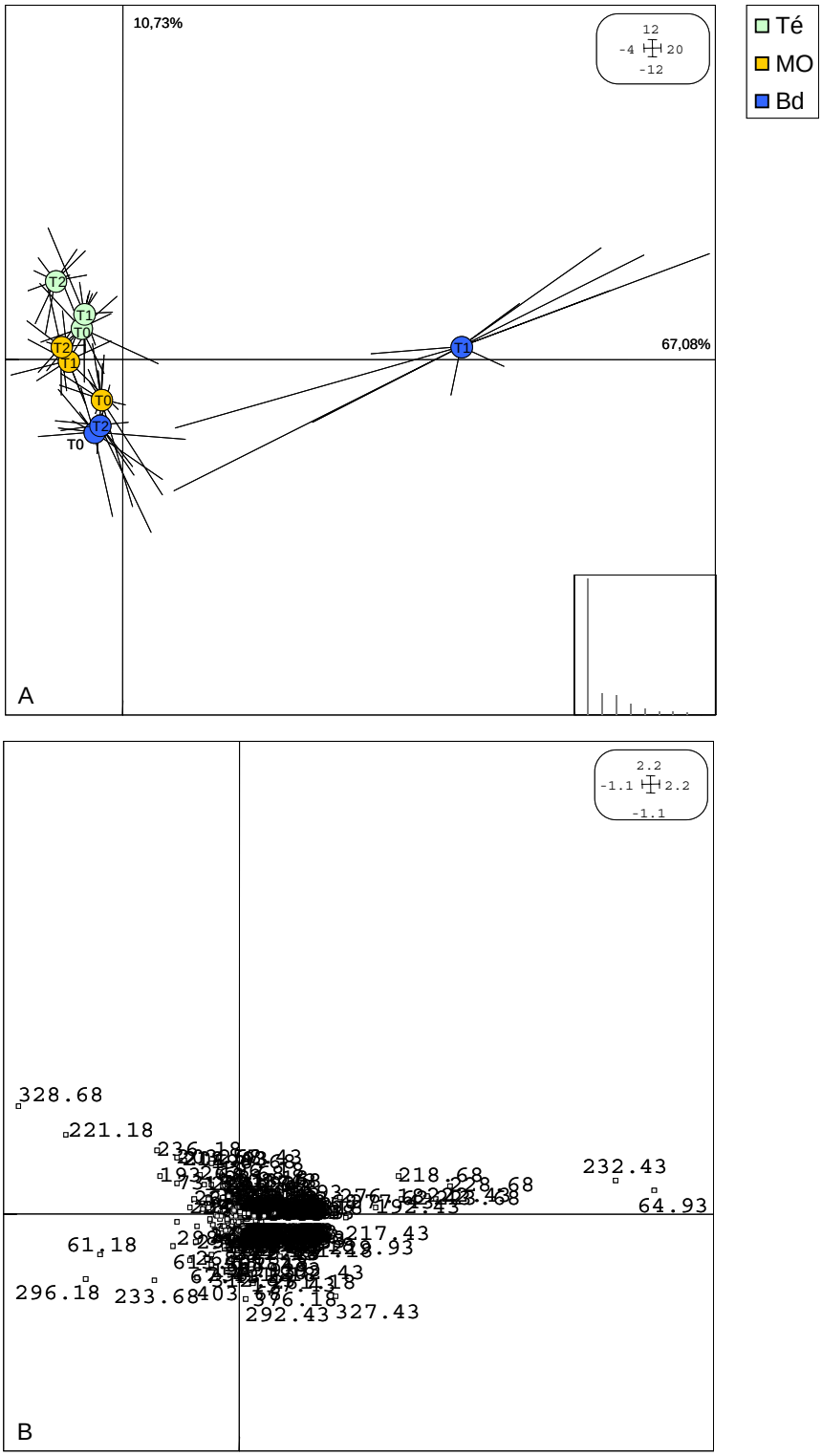


Figure 25
Structure des communautés bactériennes : ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des données de T-RFLP 16S en 2005.
A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Carte factorielle des variables.

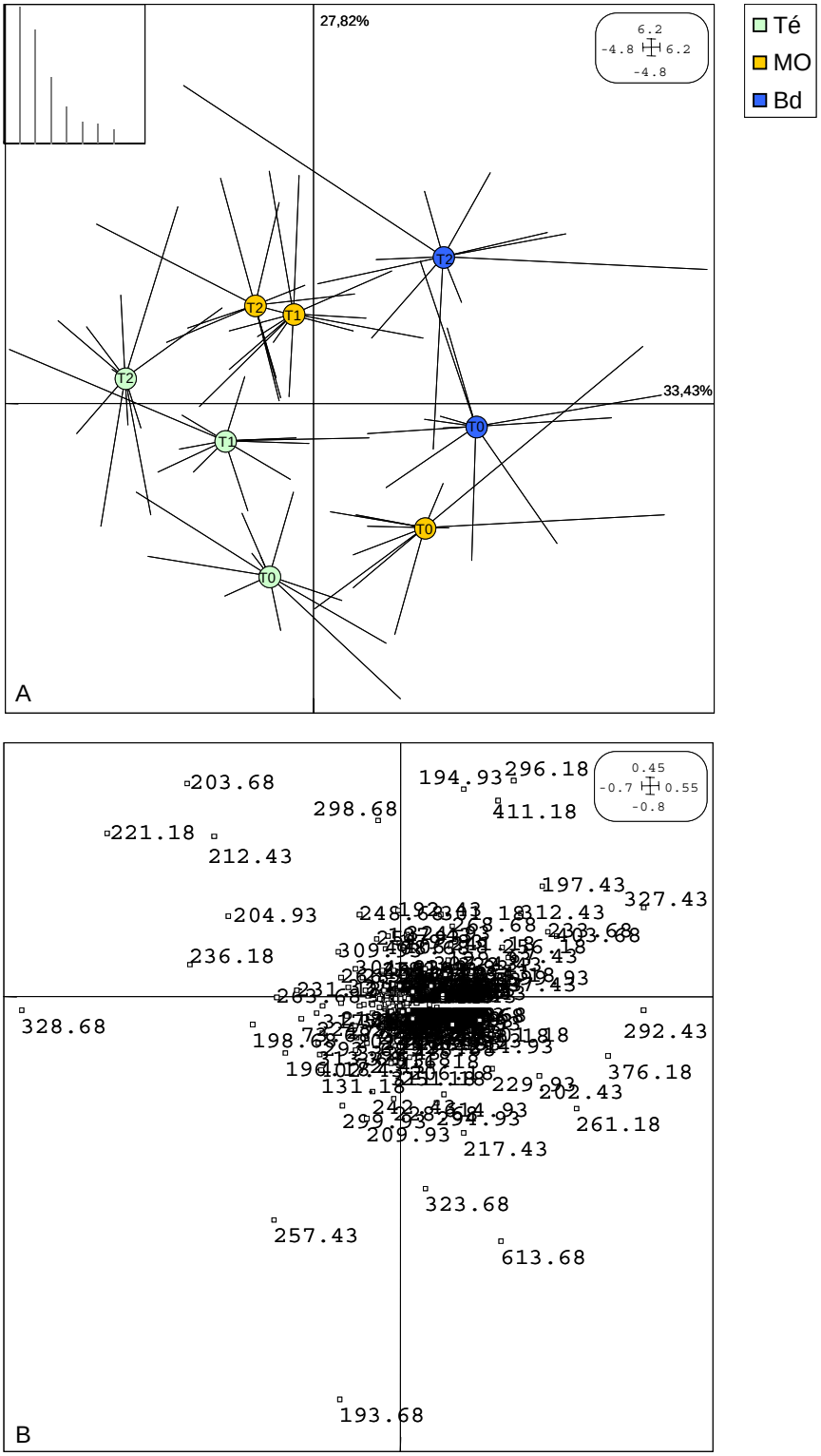


Figure 26
Structure des communautés bactériennes : ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des données de T-RFLP 16S en 2005, sans les échantillons de la parcelle Bd du prélèvement T1.
A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Carte factorielle F1xF2 des variables.

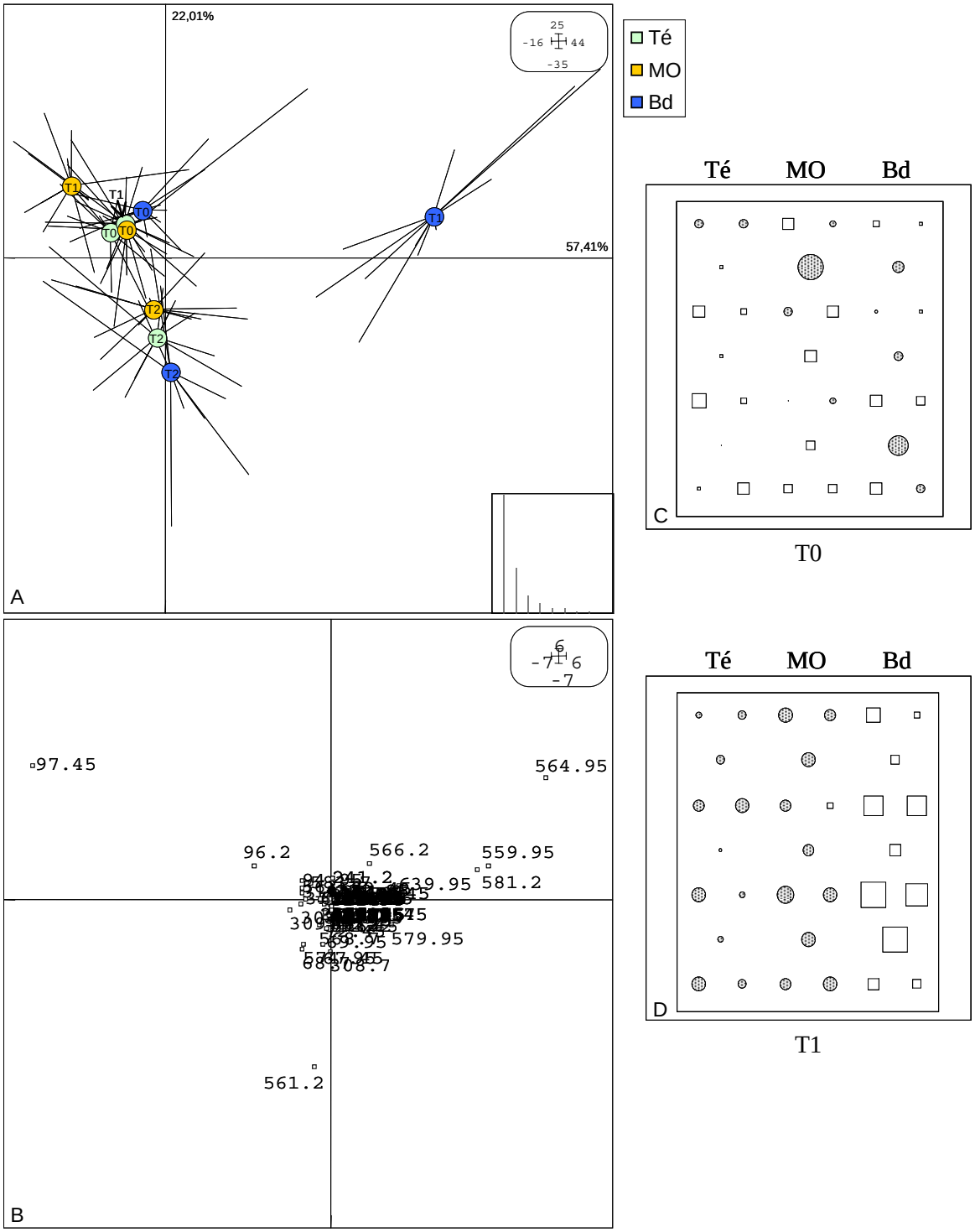


Figure 27
Structure des communautés fongiques :
ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des données de T-RFLP 18S en 2004. A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Carte factorielle des variables.
ACP des données de T-RFLP 18S de T0 (C) et T1 (D) 2004, valeur des projections sur F1 de chaque échantillon, représentation sur le plan de la parcelle.

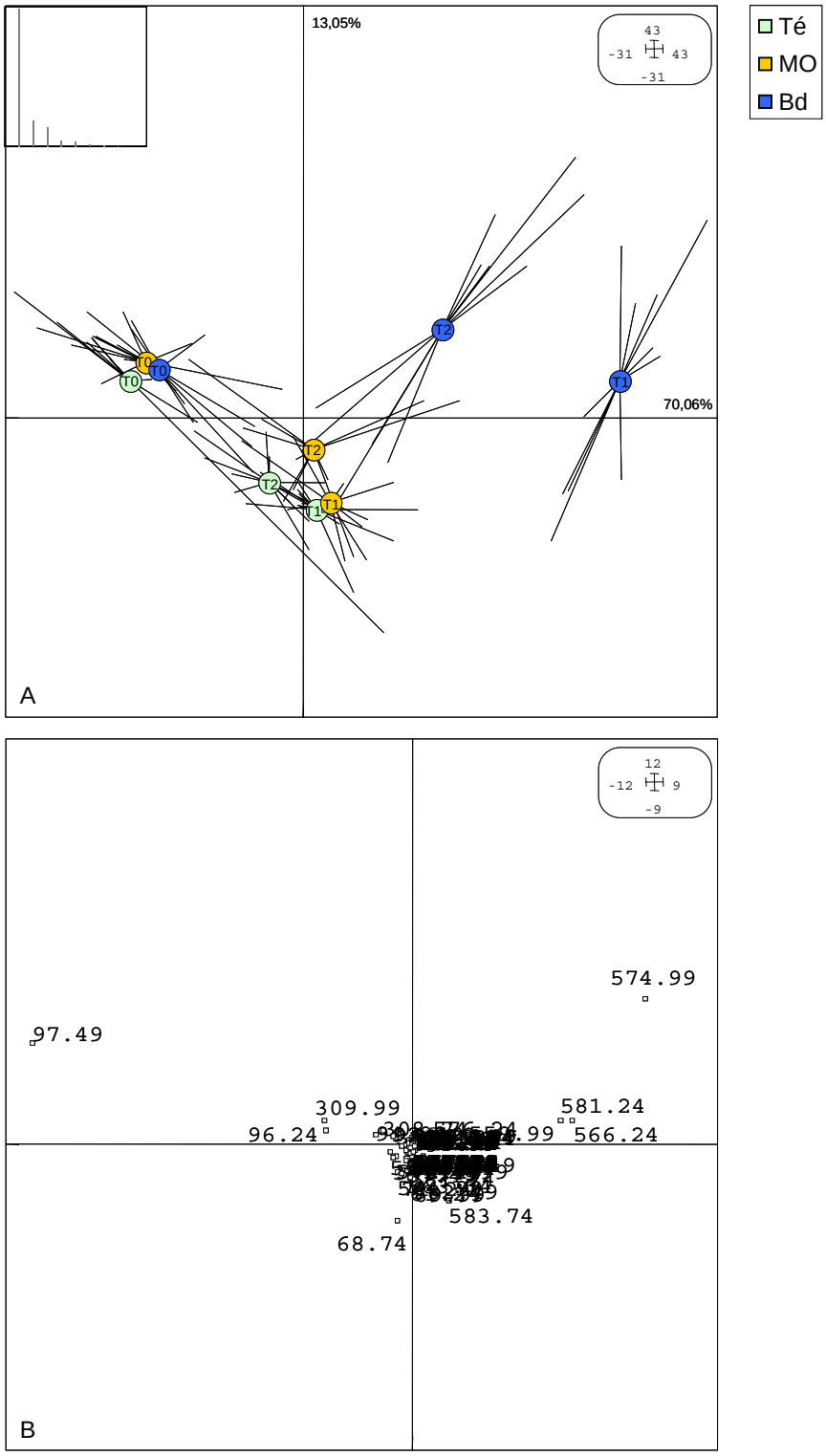


Figure 28
Structure des communautés fongiques : ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des données de T-RFLP 18S en 2005.
A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Carte factorielle F1xF2 des variables.

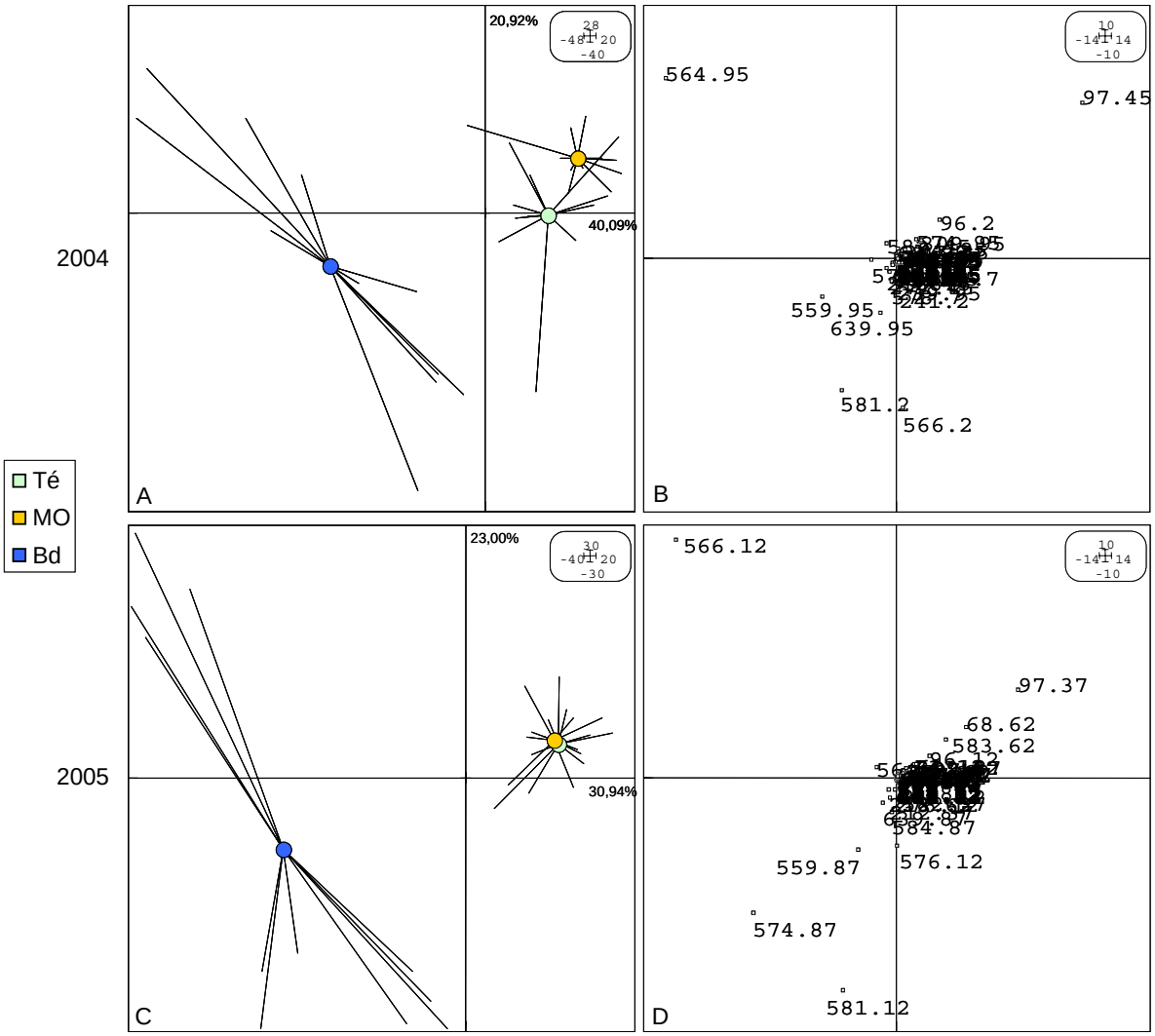


Figure 29
Structure des communautés fongiques : ACP des données de T-RFLP 18S à T1 en 2004 (A et B) et 2005 (C et D).
Cartes factorielles F1xF2 des points (A et C) et des variables (B et D).

Taille estimée du fragment (pb)	moyenne du % de fluorescence du pic / fluorescence totale du profil					
	2004			2005		
	Té	MO	Bd	Té	MO	Bd
97,45	21,38	28,17	1,71			
97,37				15,79	15,49	0,18
559,95	1,39	2,38	12,64			
559,87				1,9	2,21	8,63
564,95	5,16	6,15	21,19			
566,2	5,77	0,92	5,32			
566,12				4,04	4,44	20,34
574,87				1,54	3,1	17,07
581,2	3,08	2	12,35			
581,12				6,24	4,78	21,47

Table 6
Importance relative moyenne de fragments discriminants dans les profils T-RFLP des communautés fongiques des échantillons de sol prélevés à T1 en 2004 et 2005, dans les 3 sous-parcelles.

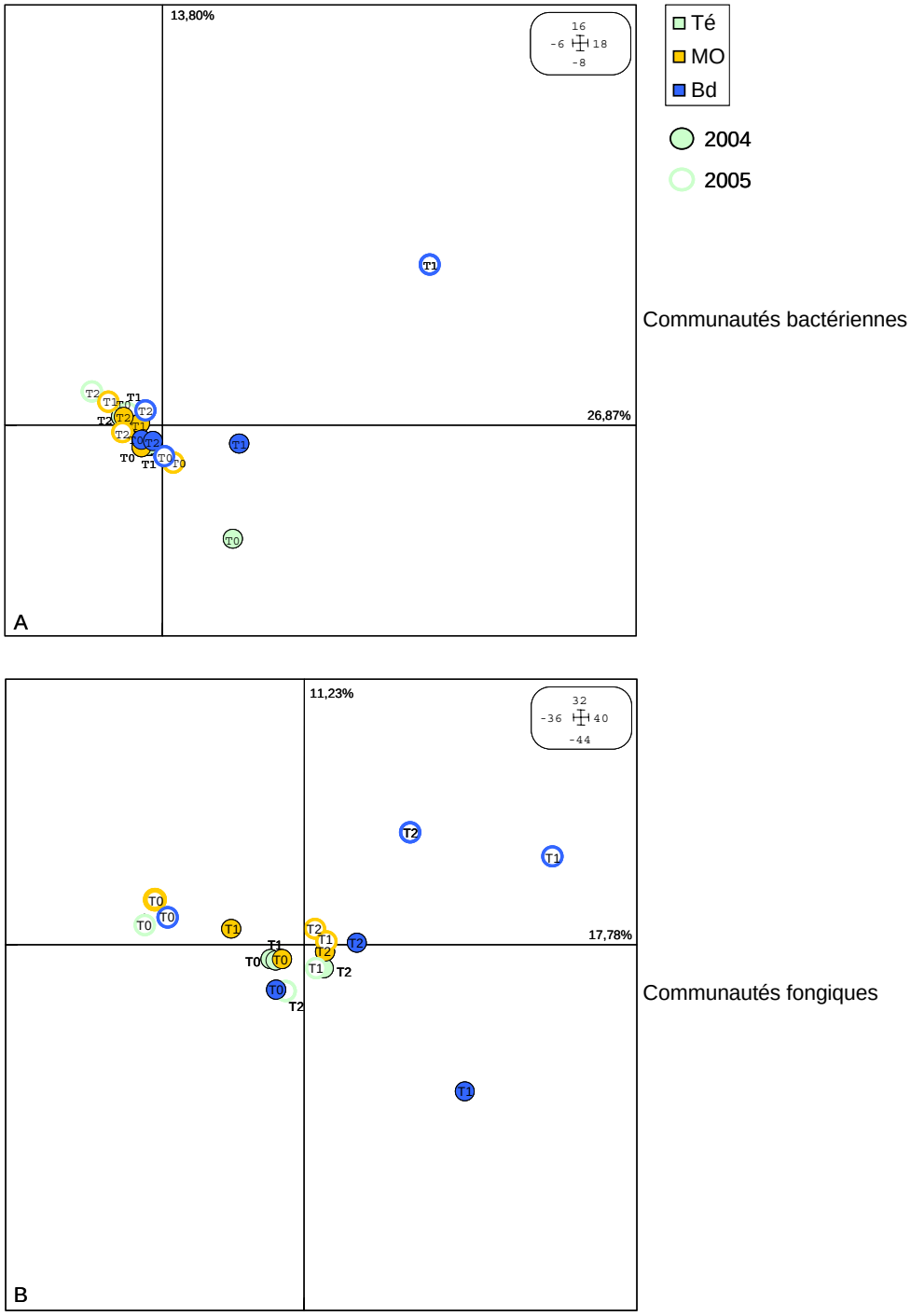


Figure 30
Communautés microbiennes : ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement x année) des données de T-RFLP 16S (A) et 18S (B) en 2004 et 2005. Cartes factorielles F1xF2 des points.

Parcelle	Année	Densité (carottes / mètre linéaire)	Poids moyen (g / carotte)	% carottes éclatées	% carottes courtes ou en bouchons	% carottes fourchues	% carottes tachées	Indice pathologique
Té	2004	33,3	82,6	6,0	16,9	4,4	14,6	7,5
MO		29,8	88,3	5,7	15,6	8,0	17,7	8,3
Bd		31,9	80,6	5,8	20,1	5,9	10,5	5,1
Té	2005	23,2	80,9	7,5	1,2	2,7	26,3	7,1
MO		50,8	102,6	9,3	0,2	4,3	38,5	13,6
Bd		37,1	97,3	6,2	0,0	5,3	21,8	7,9

Table 7
Récoltes de carottes : notations quantitatives et qualitatives. Moyenne des notations sur 2 mètres linéaires autour de 11 points par sous-parcelle.

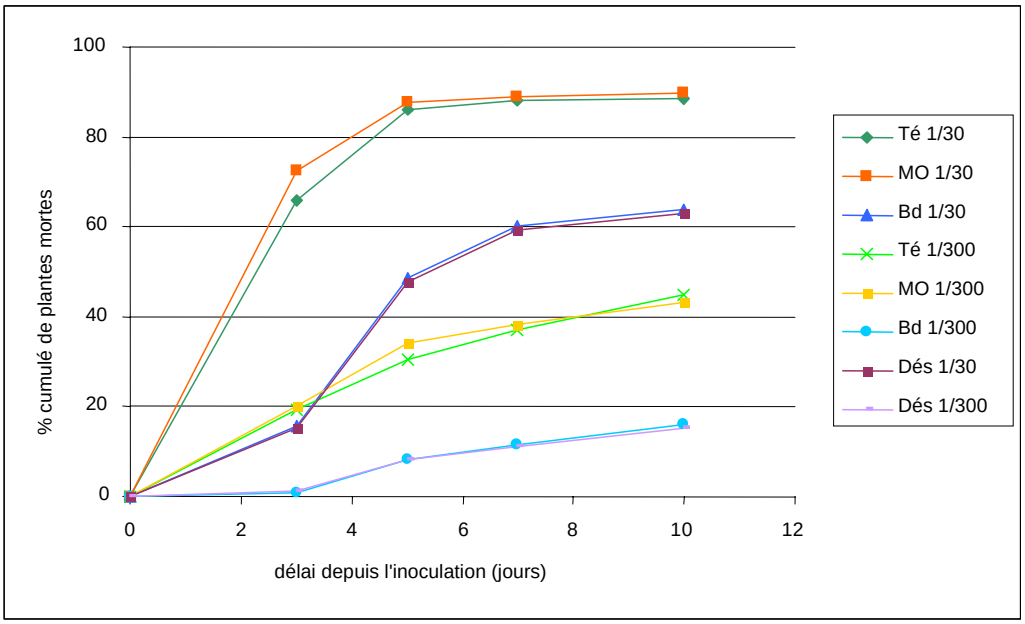


Figure 31
Essais biologiques de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R. solani* : évolution de la mortalité au cours du temps dans les différentes modalités de l'essai réalisé avec les échantillons T1 2005.

		Dose 1/30			Dose 1/300		
		Té	MO	Bd	Té	MO	Bd
2004							
	T1	76,88 (7,61) a	77,27 (5,68) a	55,11 (11,74) b	35,63 (7,16) a	38,93 (9,40) a	23,7 (3,49) b
	T2	95,24 (2,42)	95,63 (2,10)	94,96 (2,38)	72,46 (8,83)	70,47 (5,88)	65,33 (8,31)
2005							
	T0	90,95 (3,81)	90,58 (5,76)	93,52 (4,14)	54,53 (10,60)b	68,22 (7,79) a	57,87 (8,58) b
	T1	88,42 (4,28) a	89,53 (4,84) a	63,90 (14,26)b	44,71 (11,31)a	43,40 (11,20)a	15,00 (6,96)b
	T2	72,15 (10,70)b	79,21 (6,71) a	69,27 (7,72) b	18,00 (6,87) b	29,29 (10,04)a	12,69 (4,56) b

Table 8
Essais biologiques de réceptivité des sols aux fontes de semis dues à *R.solani* : résultats des essais. Pourcentage de mortalité cumulée 9-10 jours après inoculation, moyenne de 11 échantillons par sous-parcelle et écart-type (entre parenthèses). Pour une même date de prélèvement et une même dose, si ANOVA significative, les valeurs suivies d'une lettre identique ne sont pas significativement différentes (Newman et Keuls, $p<0,05$)

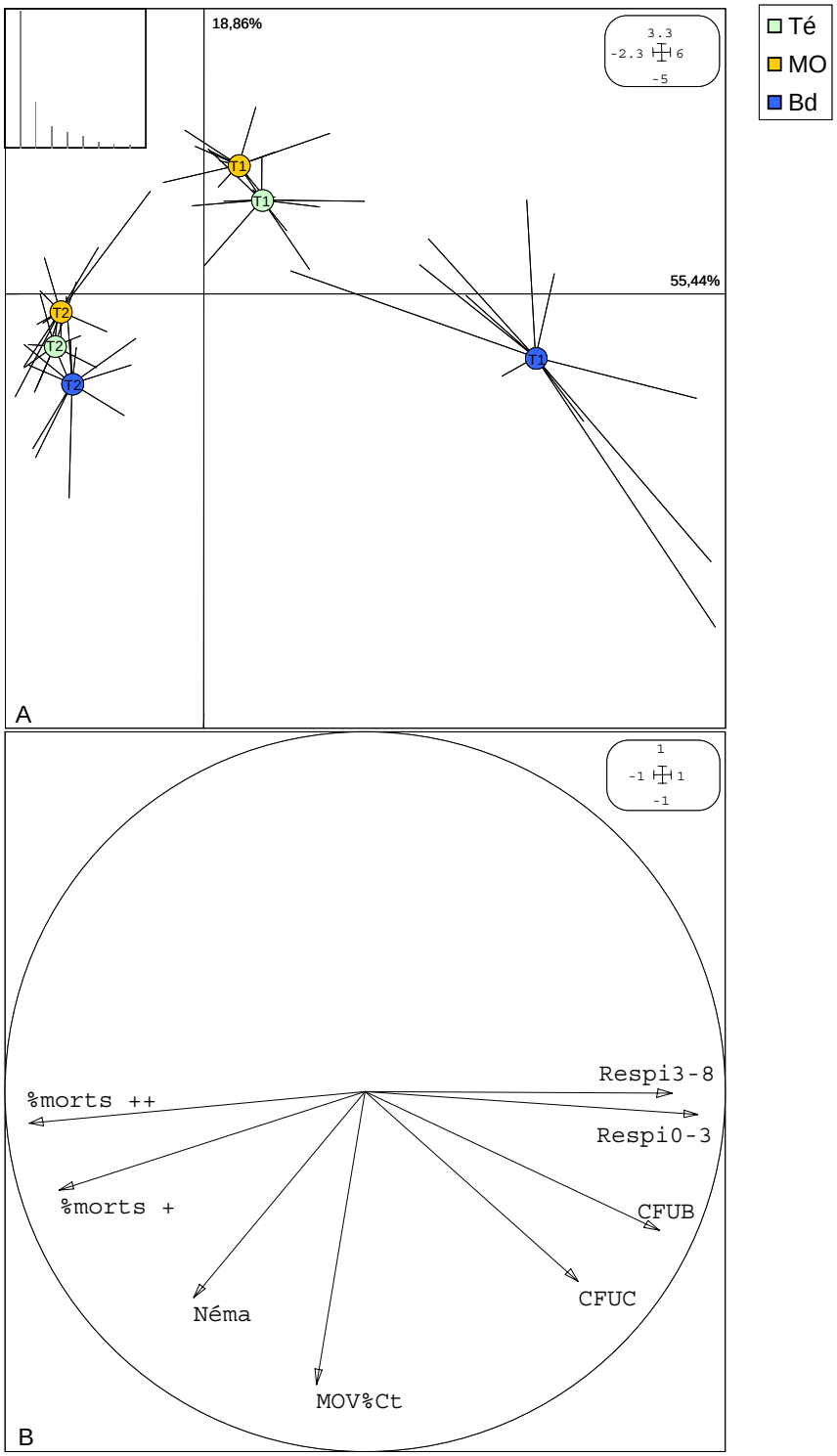


Figure 32
Caractéristiques biologiques : ACP des données biologiques de T1 et T2 en 2004.
A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Cercle de corrélations F1xF2 des variables.
CFUB et CFUC = CFU bactéries et champignons, MOV%Ct = matière organique vivante en pourcentage du carbone total, Respi = taux de respiration basale, selon la période d'incubation, Néma = densité totale de nématodes, % morts + et ++ = pourcentage de mortalité cumulée 9-10 jours après inoculation avec R. solani à la dose 1/300 (+) ou 1/30 (++).

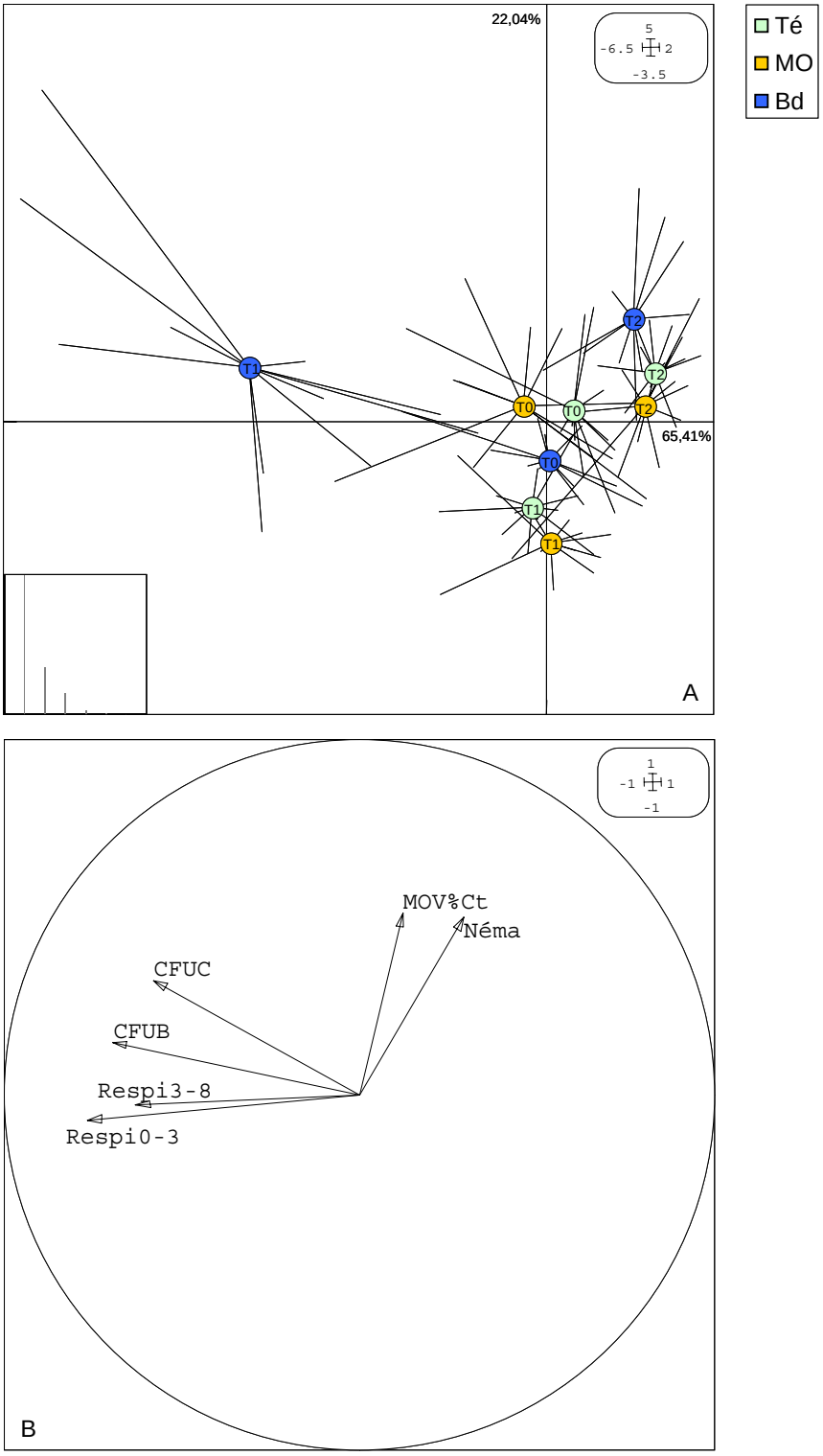


Figure 33
Caractéristiques biologiques : ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des données biologiques de 2004, sans les résultats des essais biologiques.
A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Cercle de corrélations F1xF2 des variables. Abréviations cf. figure 32.

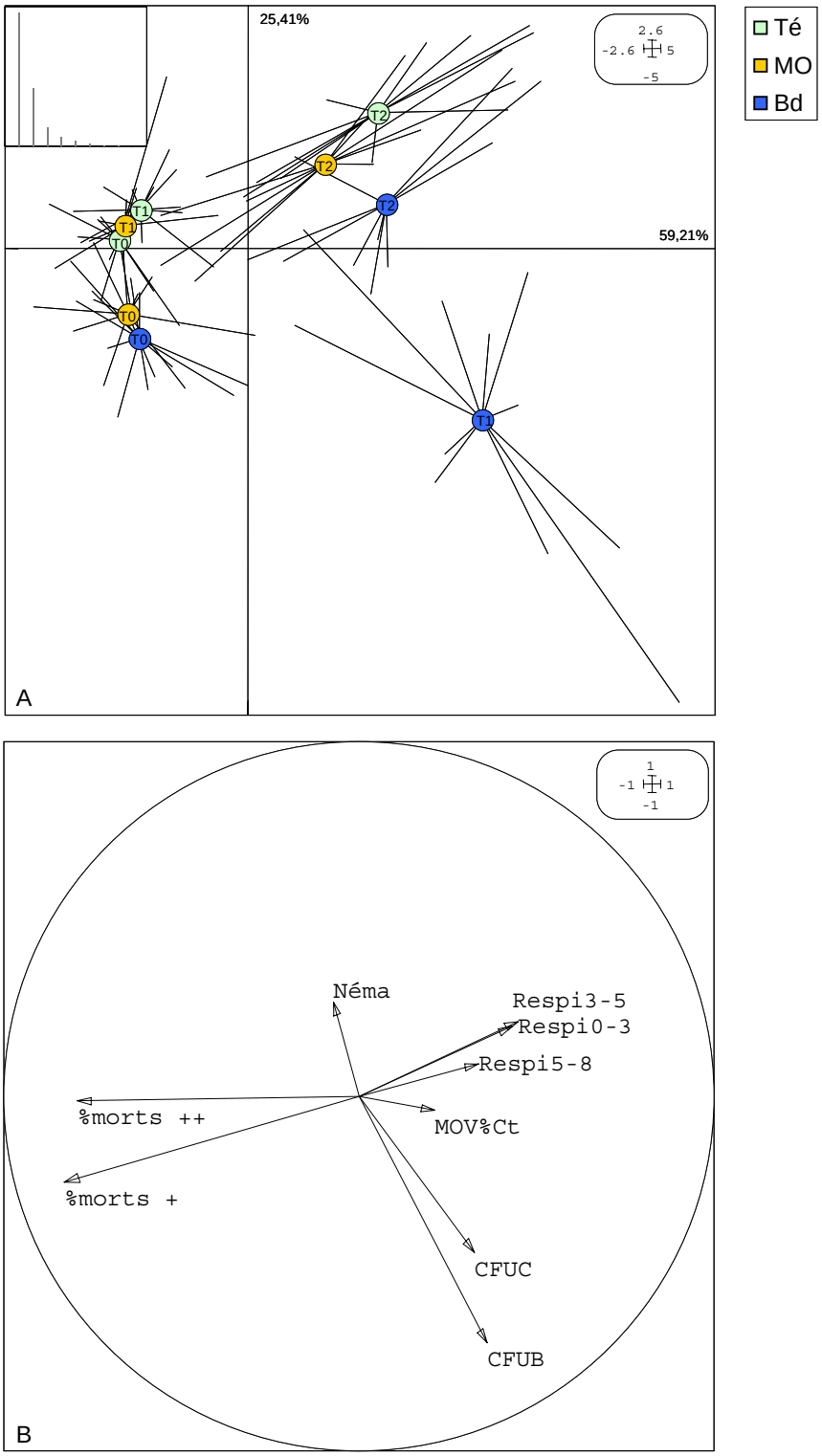


Figure 34
Caractéristiques biologiques : ACP inter-classes (parcelle x date de prélèvement) des données biologiques de 2005.
A-Carte factorielle F1xF2 des points. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré. B-Cercle de corrélations F1xF2 des variables. Abréviations cf. figure 32.

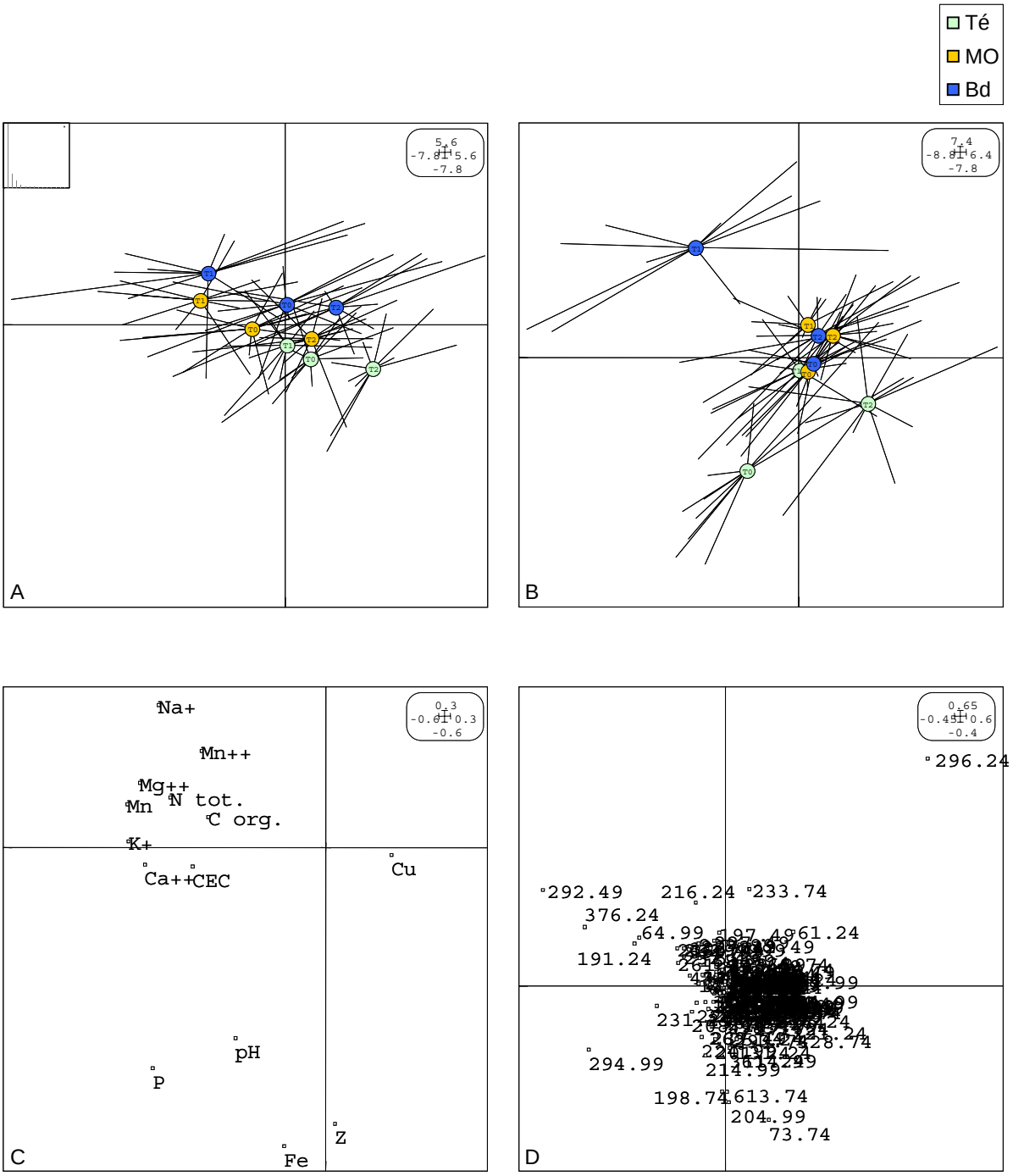


Figure 35
Analyse de co-inertie des données chimiques et des données de structure des communautés bactériennes en 2004.
A-Carte factorielle F1xF2 des données chimiques des échantillons. B-Carte factorielle F1xF2 des données de T-RFLP 16S des échantillons. C-Carte factorielle des variables chimiques. D-Carte factorielle des variables de T-RFLP 16S. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré.

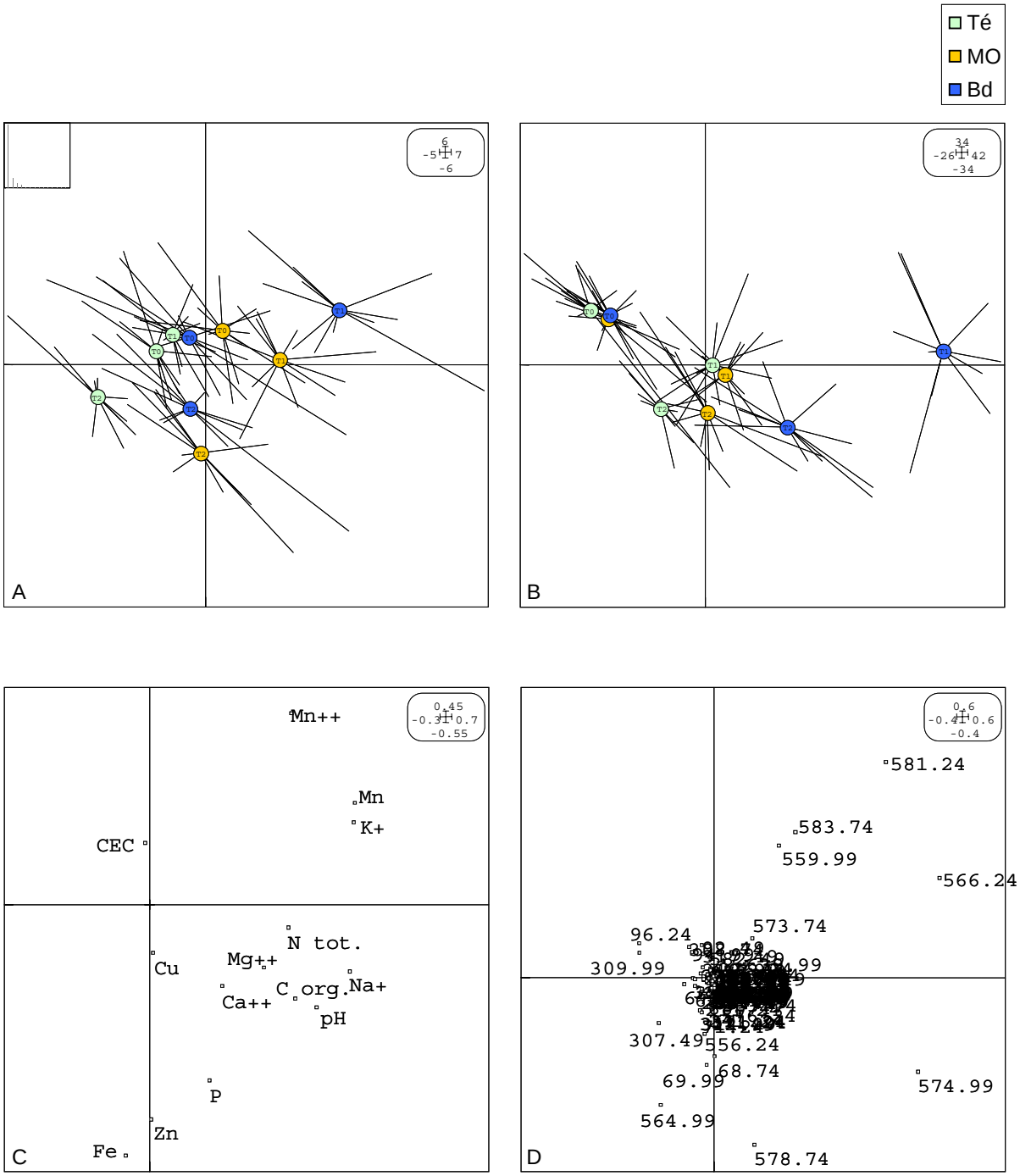


Figure 36
Analyse de co-inertie des données chimiques et des données de structure des communautés fongiques en 2005.
A-Carte factorielle F1xF2 des données chimiques des échantillons. B-Carte factorielle F1xF2 des données de T-RFLP 18S des échantillons. C-Carte factorielle des variables chimiques. D-Carte factorielle des variables de T-RFLP 16S. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré.

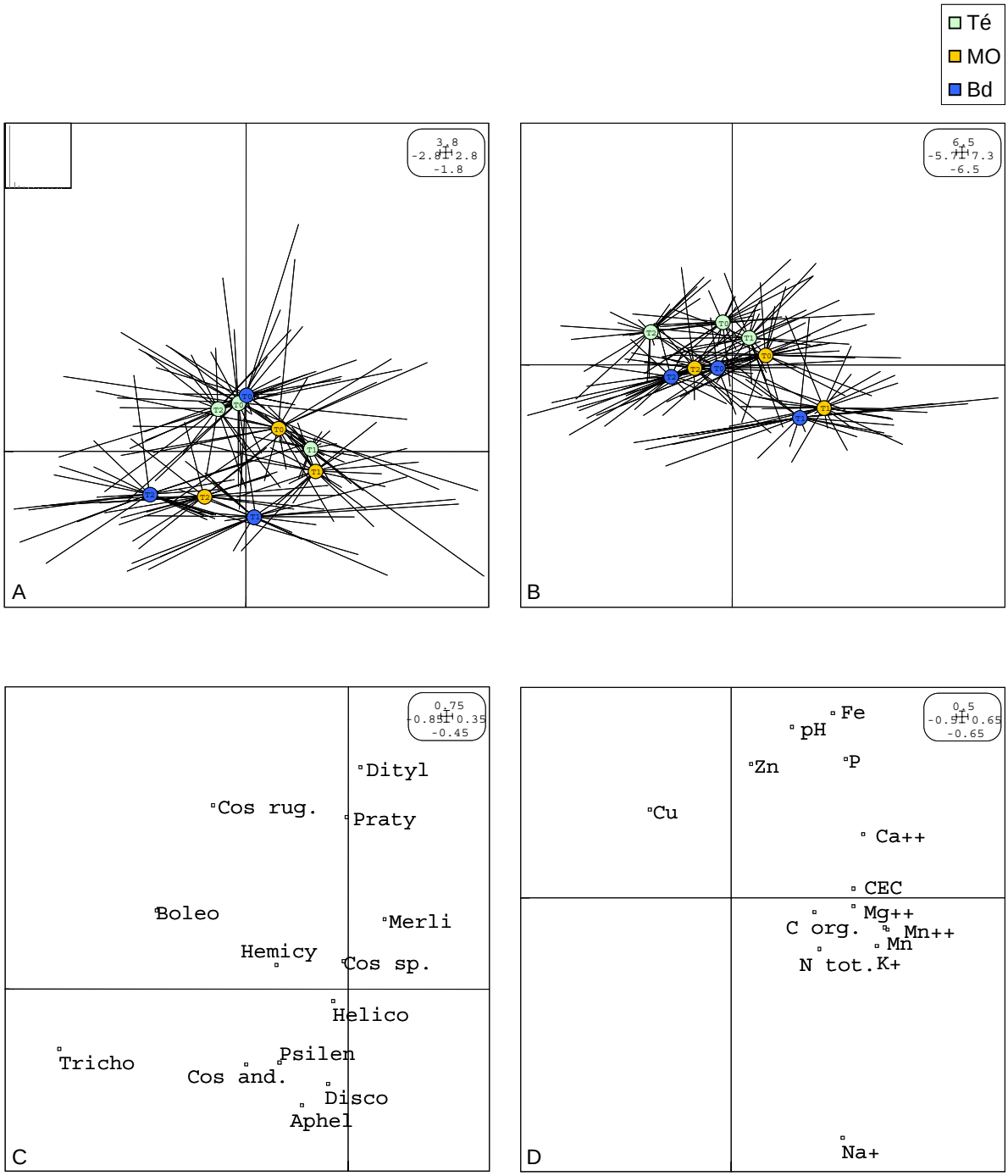


Figure 37
Analyse de co-inertie des données de structure des communautés de nématodes et des données chimiques en 2004.
A-Carte factorielle F1xF2 des données de structure des communautés de nématodes des échantillons. B-Carte factorielle F1xF2 des données chimiques des échantillons. C-Carte factorielle des variables densités de nématodes. Abréviations cf. table 5. D-Carte factorielle des variables chimiques. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré.

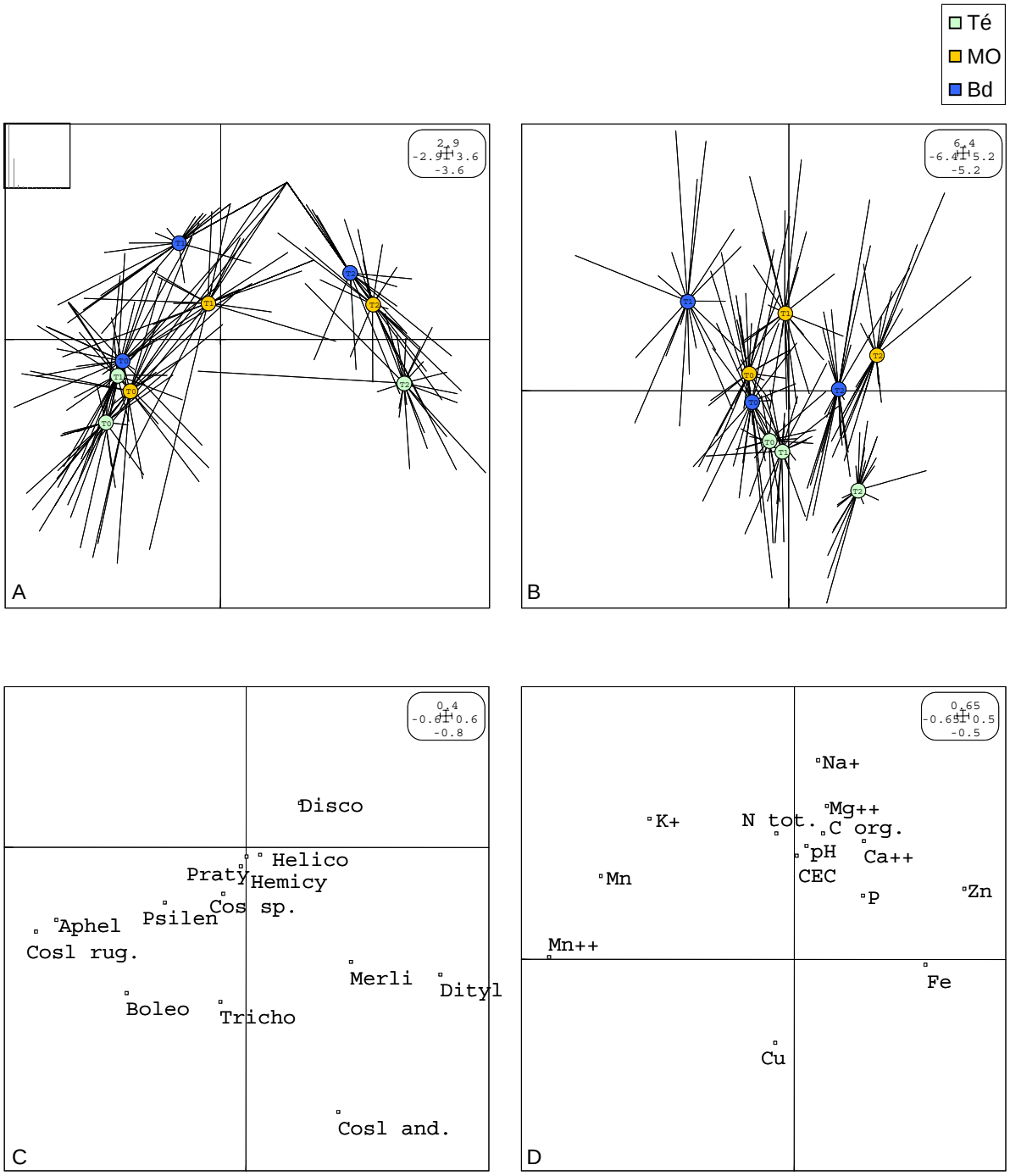


Figure 38
Analyse de co-inertie des données de structure des communautés de nématodes et des données chimiques en 2005.
A-Carte factorielle F1xF2 des données de structure des communautés de nématodes des échantillons. B-Carte factorielle F1xF2 des données chimiques des échantillons. C-Carte factorielle des variables densités de nématodes. Abréviations cf. table 5. D-Carte factorielle des variables chimiques. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré.

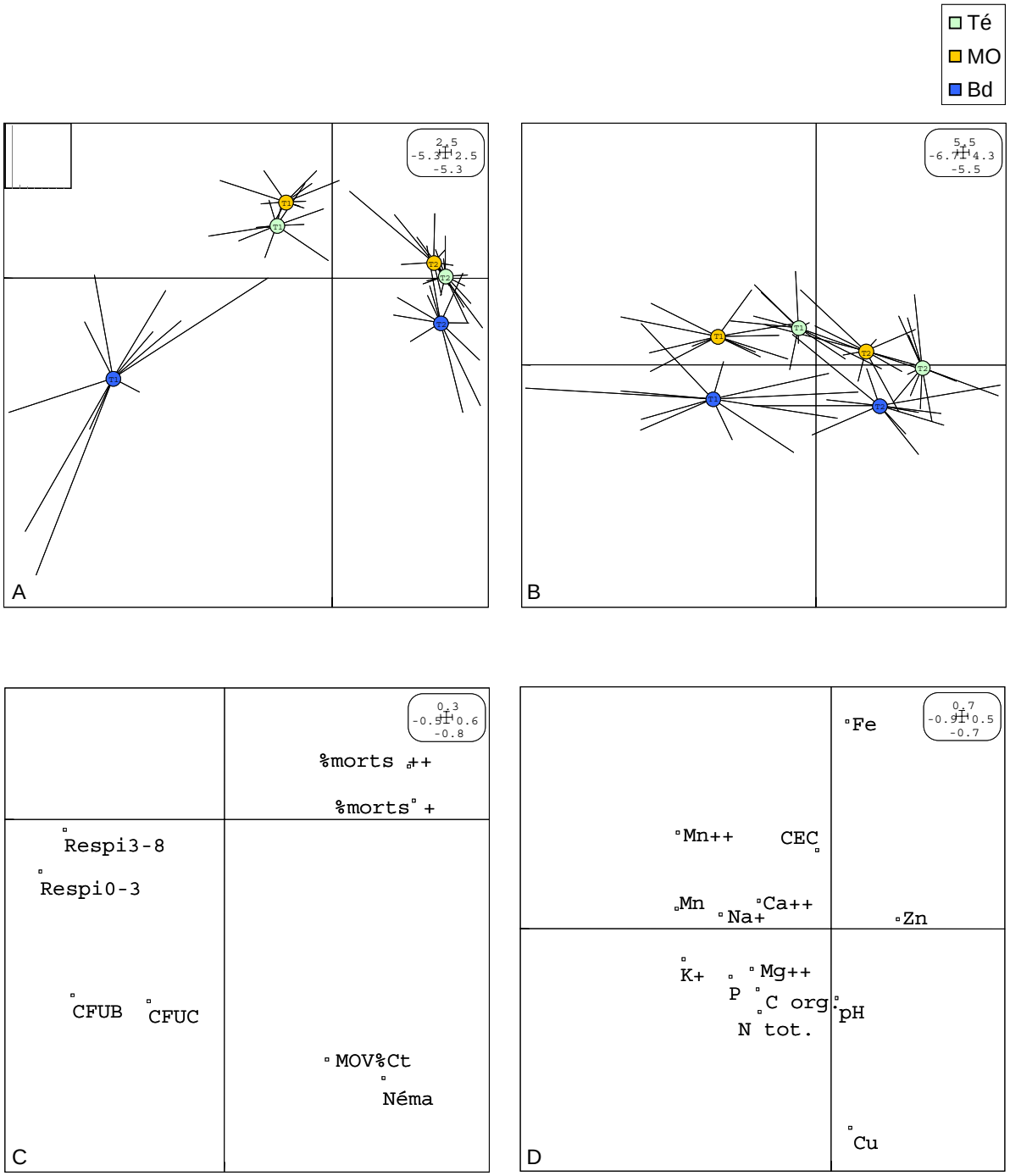


Figure 39
Analyse de co-inertie des données biologiques et des données chimiques aux dates de prélèvement T1 et T2 de 2004.
A-Carte factorielle F1xF2 des données biologiques des échantillons. B-Carte factorielle F1xF2 des données chimiques des échantillons. C-Carte factorielle des variables biologiques. Abréviations cf. figure 32. D-Carte factorielle des variables chimiques. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré.

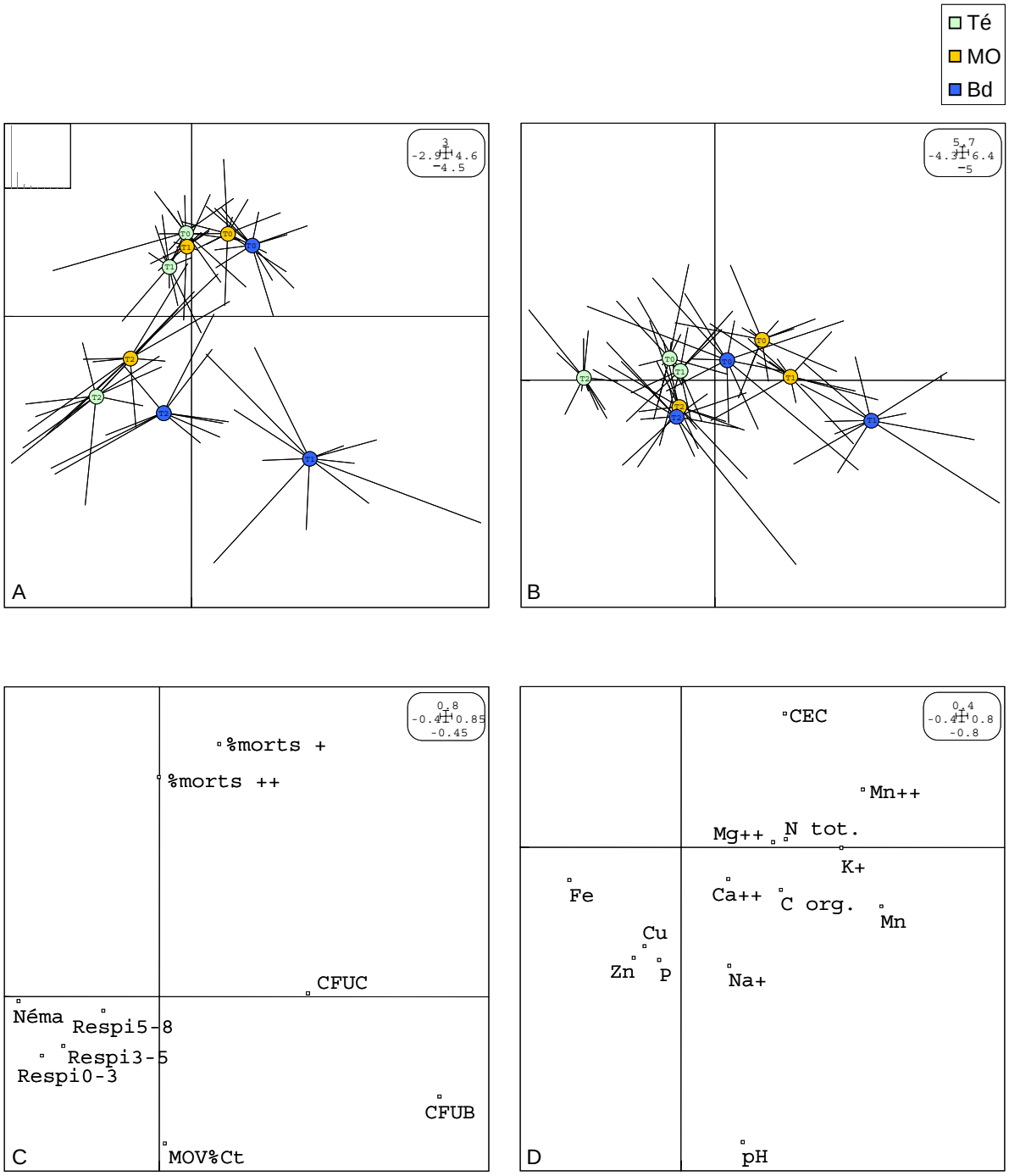


Figure 40
Analyse de co-inertie des données biologiques et des données chimiques en 2005.
A-Carte factorielle F1xF2 des données biologiques des échantillons. B-Carte factorielle F1xF2 des données chimiques des échantillons. C-Carte factorielle des variables biologiques. Abréviations cf. figure 32. D-Carte factorielle des variables chimiques. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré.

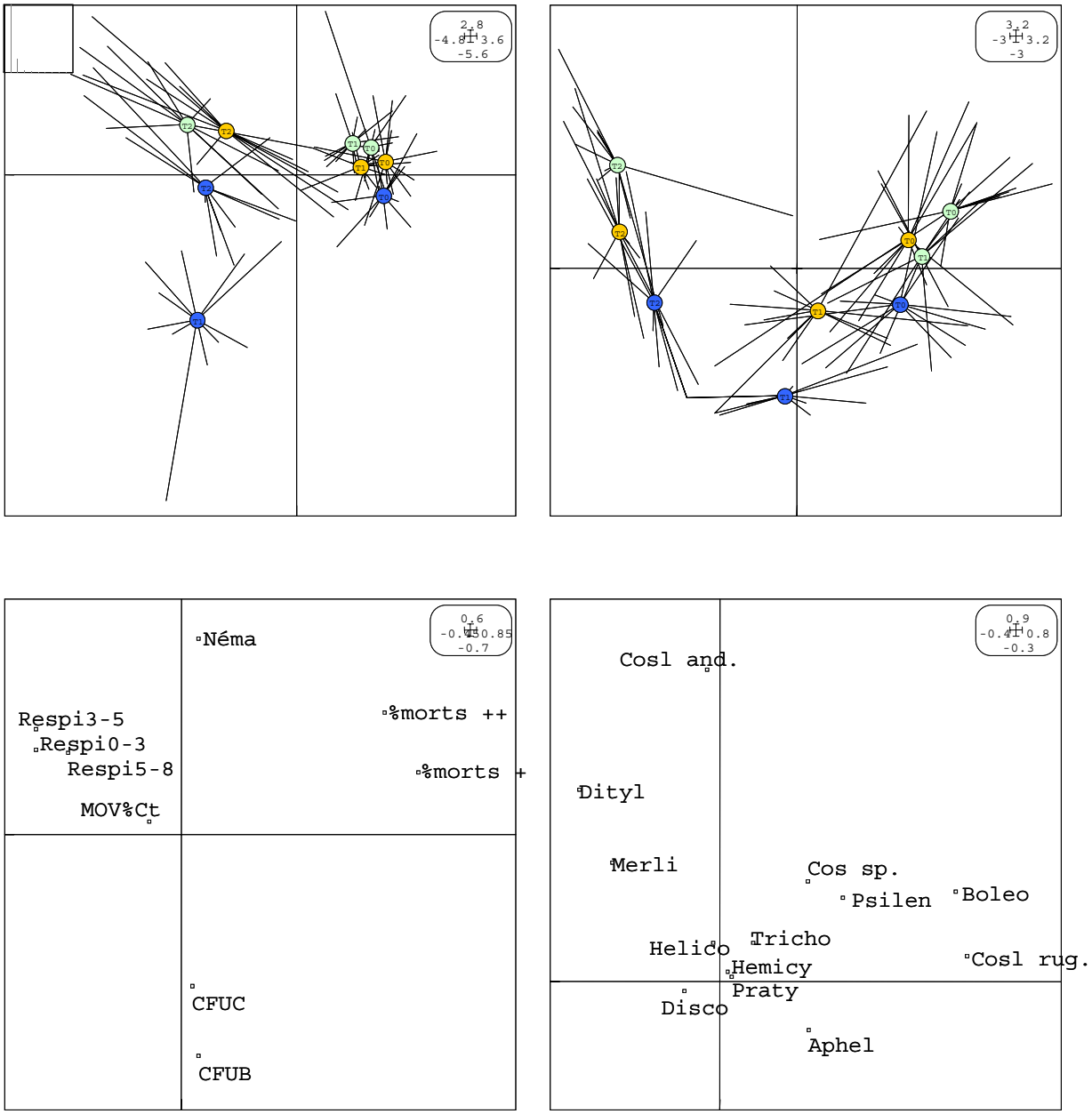


Figure 41
Analyse de co-inertie des données biologiques et des données de structure des communautés de nématodes en 2005.
A-Carte factorielle F1xF2 des données biologiques des échantillons. B-Carte factorielle F1xF2 des structures de communautés de nématodes des échantillons. C-Carte factorielle des variables biologiques. Abréviations cf. figure 32. D-Carte factorielle des variables densités des nématodes. Abréviations cf. table 5. La décroissance des valeurs propres est présentée dans l'insert encadré.

Echantillon	*Aspergillus*	*Penicillium*	*Trichoderma*	*Phytophthora*	Autres
Té11 T1 04	1 (*A. niger*)	6		2	1
Té14 T1 04	1 (*A. niger*)	7	1		1
MO4 T1 04		8	2		
MO15 T1 04		8			2
Bd8 T1 04	1 (*A. niger*)	4	1		4
Bd1 T1 04	9	1			
Bd13 T1 04	10				
Bd14 T1 04	8	1			1
Bd16 T1 04	7				2
Té4 T1 05	1 (*A. niger*)	5	1		2
Té20 T1 05		4		1	5
MO3 T1 05		8			1
MO21 T1 05		3	4		
Bd6 T1 05	10				
Bd9 T1 05	10				
Bd11 T1 05		10			
Bd17 T1 05	4	4			2
Bd21 T1 05	3				7

Table 9
Répartition des isolats récupérés après suspension-dilution des échantillons de sol et étalement sur milieu gélosé, entre différents genres fongiques. *A. niger* identifié morphologiquement.

Sol d'origine	N° souche	Identification morphologique	Identification moléculaire (séquençage ITS)		Caractérisation par T-RFLP 18S
			Espèce la plus probable	% similarité	Taille TRF (pb)
Té11 T1 04	1	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	ND
Té11 T1 04	2	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	ND
Té14 T1 04	56	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	559,55
MO4 T1 04	57	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	559,45
MO4 T1 04	8	*Trichoderma*	*Trichoderma sp.*	99	580,51
Bd1 T1 04	19	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	ND
Bd1 T1 04	78	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	ND
Bd1 T1 04	60	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	ND
Bd13 T1 04	81	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	ND
Bd13 T1 04	85	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	ND
Bd13 T1 04	20	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	559,47
Bd13 T1 04	61	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	98	ND
Bd13 T1 04	21	*Aspergillus*	ND	/	553,29
Bd13 T1 04	22	*Aspergillus*	ND	/	559,13
Bd14 T1 04	24	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	558,94
Bd16 T1 04	63	*Aspergillus*	ND	/	ND
MO21 T1 05	64	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	559,33
MO21 T1 05	39	*Trichoderma*	*T. atroviride / T.harzianum*	99	580,45
Bd6 T1 05	41	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	ND
Bd6 T1 05	65	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	559,14
Bd6 T1 05	66	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	559,71
Bd6 T1 05	40	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	ND
Bd6 T1 05	104	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	98	ND
Bd9 T1 05	67	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	559,1
Bd9 T1 05	42	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	ND
Bd9 T1 05	106	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	ND
Bd11 T1 05	44	*Penicillium*	*P. expansum*	100	558,39
Bd11 T1 05	46	*Penicillium*	*P. chrysogenum / P. aethiopicum / P. viridicatum / P. dipodomyis*	100	558,27
Bd11 T1 05	45	*Penicillium*	*P. chrysogenum / P. camemberti*	99	558,48
Bd11 T1 05	47	*Penicillium*	*Penicillium sp.*	99	558,43
Bd11 T1 05	48	*Penicillium*	*Penicillium sp.*	99	558,35
Bd17 T1 05	50	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	100	ND
Bd17 T1 05	51	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	559,3
Bd17 T1 05	70	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	98	ND
Bd17 T1 05	72	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	97	559,16
Bd21 T1 05	54	*Aspergillus*	*A. fumigatus*	99	ND

Table 10
Identification des espèces fongiques isolées des sols aux dates de prélèvement T1 en 2004 et 2005. ND = non déterminé.

ANNEXES

Annexe 1 : Itinéraire technique suivi dans la parcelle expérimentale

Date	Sous-parcelle Té	Sous-parcelle MO	Sous-parcelle Bd
2004			
8 avril 2004	**prélèvement T0 04**		
13 avril 2004			semis radis fourrager, variété Commodore, 20kg/ha
14 avril 2004		épandage compost, 33t/ha, enfoui sur 15cm	
20 avril 2004			traitement anti-limaces
21 avril 2004			levée des radis
3 mai 2004			dégats d'altises, traitement insecticide, Karaté (pyréthrinoïde), 5g/ha
4 mai 2004	traitement herbicide, Norumil (linuron)		
12 mai 2004			traitement insecticide, Karaté (pyréthrinoïde), 5g/ha
12 mai 2004	traitement herbicide, BASTA (glufosinate-ammonium)		
18 mai 2004			apport de 30 U d'azote
23 juin 2004			broyage et enfouissement radis + cover-crop + roulage + bâchage
16 juillet 2004	cover-crop pour désherbage + irrigation		débâchage + irrigation
	prélèvement T1 04		
19 juillet 2004	irrigation jusqu'à la capacité au champ		
26 juillet 2004	préparation du sol		
27 juillet 2004	semis carotte, variété Puma, 100 graines/mètre linéaire + irrigation		
28 juillet 2004	traitement herbicide, Ouragan (sulfosate)		
29 juillet 2004	traitement herbicide, Dosanex (metoxuron)		
3 août 2004	levée des carottes		
6 août 2004	traitement herbicide, Dosanex (metoxuron)		
16 août 2004	traitement herbicide, Dosanex (metoxuron)+Norumil (linuron)		
26 octobre 2004	**prélèvement T2 04**		
2005			
30 mars 2005	**prélèvement T0 05**		
11 avril 2005		épandage compost, 33t/ha, enfoui sur 15cm	
11 avril 2005	disquage		
12 avril 2005			semis radis fourrager, variété Commodore, 20kg/ha
3 mai 2005			traitement insecticide, Karaté (pyréthrinoïde), 100g/ha
2 juin 2005	traitement herbicide, Tulsa (glyphosate), 6l/ha		
24 juin 2005			broyage et enfouissement radis + disquage + roulage + bâchage
26 juillet 2005			débâchage
	prélèvement T1 05		
8 août 2005	préparation du sol		
8 et 11 août 2005	semis carotte, variété Nanco, 100 graines/mètre linéaire + irrigation		
12 août 2005	traitement herbicide, Dosanex (metoxuron)		
1er septembre 2005	traitement herbicide, Dosanex (metoxuron), 2kg/ha + Norumil (linuron), 100g/ha		
21 septembre 2005	apport 30 U d'azote (ammonitre)		
22 novembre 2006	**prélèvement T2 05**		
2006			
6 avril 2006	**prélèvement T0 06**		
22 mai 2006	semis carotte, variété Nanco, 100 graines/mètre linéaire + irrigation (?)		
23 mai 2006	traitement herbicide, Norumil (linuron)		
27 juin 2006	traitement herbicide, Dosanex (metoxuron)+Norumil (linuron)		
30 juin 2006	traitement herbicide, Pilot (quizalofop éthyl D)		
11 juillet 2006	traitement herbicide, Pilot (quizalofop éthyl D)		
18 juillet 2006	apport d'ammonitre		
29 août 2006	traitement fongicide, Ortiva (azoxystrobine)		
5 septembre 2006	traitement fongicide, Calidan (iprodione+carbendazime)		
11 septembre 2006	traitement fongicide, Scala (pyriméthanyl)		

Annexe 2 : Composition des milieux utilisés

Malt gélosé
Pour 1 litre de milieu :
- Malt : 10 g
- Gélose : 15 g
- Eau permutée : 1000 ml

Autoclavage 20 minutes à 120°C.
Pour le milieu malt acide, ajouter 250 mg d'acide citrique par litre de milieu, après autoclavage.

LPGA ½ (Levure Peptone Glucose Agar) :
Pour 1 litre de milieu :
- Glucose : 5 g
- Peptone : 2,5 g
- Extrait de levure : 2,5 g
- Agar : 15 g
- Eau permutée : 1000 ml

Autoclavage 20 minutes à 120°C.

PDA (Potato Dextrose Agar) :
Pour 1 litre de milieu:
- PDA (Potato Dextrose Agar) : 39 mg
- Eau permutée : 1000 ml

Autoclavage 20 minutes à 120°C.

LB (Luria Broth):
Pour 1 litre de milieu:
- Bacto Tryptone : 10 g
- Extrait de levure : 5 g
- NaCl : 5 g
- Gélose (uniquement si milieu solide): 15g
- Eau permutée : 1000 ml

Autoclavage 20 minutes à 120°C.

Milieu CZ (Czapek Agar) :
Pour 1 litre de milieu :
- $NaNO_3$: 3 g
- K_2HPO_4 : 1,0 g
- KCl : 0,5 g
- $MgSO_4 – 7H_2O$: 0,5 g
- $FeSO_4 – 7H_2O$: 0,01 g
- Sucrose : 30 g
- Gélose : 15 g
- Eau permutée : 1000 ml
- Solution de métaux traces : 1 ml

Autoclavage 45 minutes à 110°C.

Milieu CYA (Czapek Yeast Autolysate Agar) :
Pour 1 litre de milieu :

- $NaNO_3$: 3 g
- K_2HPO_4 : 1 g
- KCl : 0,5 g
- $MgSO_4 – 7H_2O$: 0,5 g
- $FeSO_4 – 7H_2O$: 0,01 g
- Extrait de levure : 5 g
- Sucrose : 30 g
- Gélose : 15 g
- Eau permutée : 1000 ml
- Solution de métaux traces : 1 ml

Autoclavage 45 minutes à 110°C.

Solution de métaux traces :

- $ZnSO_4 – 7H_2O$: 1 g
- $CuSO_4 – 5H_2O$: 0,5 g

Annexe 3 : Analyses physico-chimiques des échantillons de sol

Prélèvement T0 de 2004

C org, N tot et P en g/kg ; CEC, Ca++, Mg++, K+ et Na+ en cmol+/kg ; Mn++, Cu, Fe, Mn et Zn en mg/kg

	C org.	N tot.	pH	P	CEC	Ca++	Mg++	K+	Na+	Mn++	Cu	Fe	Mn	Zn
Té1	5,63	0,607	6,80	0,170	5,71	5,20	0,740	0,623	0,0487	23,1	9,1	205	70,1	2,76
Té2	5,52	0,590	6,72	0,159	5,97	5,06	0,779	0,570	0,0483	24,3	8,5	198	68,8	2,77
Té3	5,56	0,592	6,55	0,164	6,04	4,79	0,816	0,658	0,0516	21,8	9,3	183	68,3	2,21
Té4	5,59	0,603	6,71	0,176	5,22	4,73	0,667	0,642	0,0436	23,7	10,5	222	73,2	3,08
Té5	5,70	0,618	6,66	0,185	5,62	4,66	0,698	0,738	0,0533	21,2	11,5	239	72,9	2,82
Té6	5,81	0,620	6,50	0,175	5,51	4,62	0,727	0,592	0,0425	27,2	11,5	184	70,8	3,09
Té7	6,54	0,685	6,75	0,196	5,76	5,11	0,728	0,679	0,0466	28,1	12,1	235	83,6	3,14
Té8	6,13	0,671	6,70	0,180	5,67	4,86	0,703	0,686	0,0503	27,3	13,0	265	79,5	3,16
Té9	6,46	0,700	6,46	0,181	5,89	4,53	0,707	0,652	0,0481	22,4	13,9	204	69,7	2,75
Té10	6,70	0,719	6,78	0,196	5,53	5,31	0,759	0,656	0,0414	26,3	14,4	200	77,2	3,78
Té11	6,29	0,694	6,60	0,187	5,50	4,51	0,720	0,657	0,0426	24,3	15,1	178	67,1	3,45
Té12	6,09	0,642	6,70	0,172	6,60	6,21	1,200	0,975	0,0461	32,3	15,6	198	86,1	2,96
Té13	6,40	0,636	6,73	0,184	5,05	4,59	0,665	0,599	0,0370	22,2	14,2	190	69,9	2,91
Té14	6,85	0,695	6,67	0,177	5,08	4,76	0,756	0,655	0,0369	27,3	15,4	171	70,8	3,85
Té15	6,61	0,666	6,45	0,160	5,18	4,09	0,729	0,653	0,0378	22,3	15,2	183	62,9	2,70
Té16	6,20	0,643	6,68	0,163	4,53	4,11	0,611	0,547	0,0313	25,9	12,6	161	65,0	3,07
Té17	6,11	0,641	6,63	0,171	4,89	4,03	0,627	0,570	0,0356	20,2	13,8	169	60,4	2,99
Té18	5,89	0,613	6,41	0,148	5,29	3,83	0,693	0,562	0,0341	25,0	14,1	182	64,3	2,54
Té19	5,79	0,608	6,73	0,151	4,67	4,02	0,631	0,539	0,0288	20,5	13,1	155	58,7	2,46
Té20	5,92	0,611	6,70	0,155	4,75	3,98	0,615	0,609	0,0309	20,0	14,1	162	56,5	3,31
Té21	6,13	0,629	6,55	0,153	4,89	3,83	0,686	0,650	0,0342	25,5	14,2	185	67,2	2,32
MO1	8,35	0,774	6,80	0,174	6,62	5,71	1,010	0,757	0,0635	28,5	9,2	191	84,8	3,07
MO2	6,20	0,650	6,65	0,146	7,04	5,46	0,819	0,649	0,0646	22,5	7,5	167	66,3	3,12
MO3	7,08	0,742	6,61	0,162	7,07	5,71	0,946	0,731	0,0621	26,8	8,4	168	75,5	3,17
MO4	7,13	0,728	6,76	0,163	6,94	5,55	0,918	0,708	0,0652	27,1	9,7	196	80,0	3,23
MO5	5,88	0,656	6,53	0,144	6,80	5,29	0,816	0,569	0,0586	23,7	8,6	168	64,2	2,27
MO6	6,82	0,717	6,70	0,170	6,71	5,51	0,915	0,795	0,0576	25,8	9,3	177	73,9	3,72
MO7	7,52	0,753	6,77	0,180	6,37	5,27	0,909	0,698	0,0509	24,0	10,8	218	77,4	2,75
MO8	6,16	0,651	6,66	0,158	6,82	5,02	0,745	0,637	0,0501	22,0	10,1	175	64,1	2,69
MO9	7,56	0,757	6,77	0,175	6,60	5,39	0,913	0,814	0,0937	25,8	10,8	170	70,9	3,70
MO10	6,85	0,674	6,74	0,166	6,03	4,69	0,790	0,641	0,0482	23,9	11,1	202	75,3	3,91
MO11	5,91	0,608	6,67	0,152	5,64	4,29	0,720	0,589	0,0477	18,1	11,9	184	63,8	2,75
MO12	6,50	0,685	6,73	0,162	5,79	4,61	0,771	0,656	0,0429	22,0	11,6	163	66,4	4,02
MO13	7,00	0,713	6,70	0,165	5,65	4,49	0,831	0,719	0,0502	22,9	12,7	217	73,2	2,67
MO14	5,84	0,620	6,62	0,148	5,57	3,99	0,665	0,529	0,0452	20,9	12,0	187	66,7	2,87
MO15	6,27	0,657	6,55	0,155	5,65	4,37	0,768	0,562	0,0445	29,2	12,2	180	75,8	2,83
MO16	7,16	0,726	6,72	0,164	6,00	4,68	0,883	0,585	0,0440	23,8	13,7	253	75,5	3,09
MO17	5,62	0,605	6,48	0,145	5,43	3,96	0,664	0,546	0,0474	24,6	11,2	193	68,1	1,98
MO18	6,54	0,667	6,62	0,152	5,64	4,28	0,760	0,560	0,0463	27,0	12,3	168	73,5	3,26
MO19	7,06	0,725	6,84	0,161	5,07	5,21	0,745	0,533	0,0465	24,4	13,9	242	72,2	2,79
MO20	6,13	0,647	6,66	0,161	5,10	4,07	0,678	0,583	0,0397	22,6	12,5	220	68,3	2,53
MO21	6,56	0,662	6,52	0,134	5,55	4,20	0,751	0,528	0,0436	25,6	11,7	161	66,4	2,90
Bd1	6,75	0,770	6,59	0,155	7,51	5,95	0,970	0,767	0,0555	27,0	8,9	161	74,4	2,65
Bd2	7,10	0,800	6,65	0,170	7,08	6,03	0,932	0,674	0,0535	26,5	11,2	171	76,2	3,10
Bd3	6,68	0,743	6,81	0,176	7,12	6,98	1,050	0,641	0,0625	20,1	11,4	188	77,8	2,97
Bd4	6,35	0,732	6,53	0,152	6,61	5,23	0,895	0,534	0,0560	24,9	10,2	160	70,2	3,21
Bd5	6,72	0,743	6,64	0,167	6,73	5,69	0,907	0,630	0,0537	23,8	12,3	167	72,1	2,67
Bd6	6,38	0,716	6,80	0,166	6,51	5,82	1,010	0,542	0,0580	24,2	14,6	188	80,5	2,85
Bd7	6,53	0,699	6,47	0,152	6,32	4,92	0,836	0,561	0,0483	26,8	10,8	153	69,2	2,45
Bd8	6,80	0,716	6,67	0,161	6,51	5,12	0,839	0,695	0,0572	25,8	13,3	167	74,4	3,83
Bd9	6,89	0,719	6,77	0,171	6,90	5,58	0,970	0,531	0,0565	24,3	14,1	186	81,2	2,49
Bd10	6,02	0,652	6,46	0,139	5,85	4,25	0,708	0,488	0,0430	24,3	11,7	154	66,6	2,25
Bd11	6,73	0,665	6,54	0,168	5,98	4,51	0,774	0,636	0,0410	26,0	12,5	160	70,8	2,91
Bd12	6,66	0,627	6,75	0,168	5,96	5,17	0,841	0,501	0,0395	20,7	14,2	158	61,8	2,61
Bd13	6,46	0,602	6,44	0,142	5,43	4,06	0,744	0,457	0,0450	22,5	12,4	152	62,6	2,21
Bd14	5,49	0,552	6,56	0,142	5,07	3,90	0,638	0,440	0,0374	19,5	12,9	136	54,1	2,26
Bd15	6,09	0,574	6,82	0,161	5,03	4,34	0,783	0,465	0,0409	18,0	13,6	158	57,8	2,30
Bd16	5,93	0,560	6,51	0,124	5,39	3,67	0,638	0,433	0,0379	24,8	12,8	136	60,8	2,21
Bd17	5,45	0,554	6,50	0,129	4,96	3,67	0,624	0,402	0,0403	20,7	12,9	150	59,3	2,05
Bd18	6,19	0,584	6,73	0,159	5,15	4,14	0,751	0,454	0,0413	19,2	13,9	166	62,6	2,49
Bd19	5,97	0,597	6,57	0,135	5,48	4,05	0,673	0,475	0,0379	23,1	12,7	134	59,8	1,98
Bd20	6,22	0,613	6,65	0,141	5,15	4,03	0,665	0,547	0,0190	21,5	12,5	152	64,8	2,16
Bd21	7,18	0,690	6,81	0,174	5,33	4,66	0,869	0,608	0,0413	24,7	13,0	176	74,2	3,48

Prélèvement T1 de 2004

	C org.	N tot.	pH	P	CEC	Ca++	Mg++	K+	Na+	Mn++	Cu	Fe	Mn	Zn
Té1	5,62	0,613	6,76	0,155	5,75	5,08	0,693	0,616	0,0595	32,9	8,7	200	76,5	2,16
Té2	5,51	0,601	6,65	0,162	5,85	4,82	0,688	0,610	0,0589	31,4	9,4	203	75,2	1,93
Té3	5,75	0,591	6,62	0,165	5,72	4,77	0,770	0,680	0,0857	30,1	9,5	195	78,9	2,15
Té4	5,67	0,624	6,80	0,180	5,53	4,91	0,678	0,726	0,0526	34,6	10,9	221	84,1	2,44
Té5	5,78	0,631	6,67	0,180	5,46	4,67	0,685	0,702	0,0597	34,9	11,8	229	83,9	2,42
Té6	5,88	0,640	6,52	0,171	5,90	4,70	0,729	0,647	0,0578	33,2	12,3	200	82,6	2,34
Té7	6,44	0,651	6,72	0,199	5,67	4,88	0,724	0,697	0,0447	31,8	12,9	243	88,2	2,85
Té8	6,13	0,650	6,65	0,182	5,45	5,04	0,707	0,703	0,0483	37,4	13,1	248	88,2	2,48
Té9	6,56	0,682	6,53	0,185	5,62	5,12	0,749	0,701	0,0543	36,8	13,3	223	84,7	2,61
Té10	6,57	0,666	6,81	0,194	5,56	5,26	0,699	0,605	0,0487	34,6	14,0	233	91,1	3,22
Té11	6,30	0,660	6,59	0,186	5,38	4,67	0,706	0,718	0,0448	30,3	14,2	197	76,9	3,38
Té12	5,92	0,613	6,58	0,173	5,99	5,26	0,977	0,910	0,0488	41,8	14,3	215	94,8	2,62
Té13	6,10	0,622	6,73	0,177	5,08	4,64	0,651	0,607	0,0497	36,2	13,8	207	83,2	3,12
Té14	6,38	0,621	6,66	0,183	5,20	4,38	0,701	0,617	0,0369	26,2	15,2	214	74,4	3,46
Té15	5,87	0,610	6,37	0,168	5,22	4,09	0,723	0,666	0,0512	32,6	14,0	208	74,9	2,49
Té16	5,44	0,550	6,67	0,160	4,70	4,19	0,587	0,541	0,0369	28,1	12,2	180	65,6	2,32
Té17	5,98	0,588	6,57	0,168	4,76	4,00	0,657	0,631	0,0393	31,1	13,3	182	70,7	2,63
Té18	5,47	0,565	6,42	0,155	4,94	3,89	0,684	0,583	0,0428	33,2	13,8	223	79,0	2,19
Té19	5,43	0,550	6,71	0,167	4,39	4,09	0,563	0,581	0,0366	30,2	12,7	163	69,3	2,79
Té20	5,86	0,572	6,71	0,174	4,60	3,95	0,624	0,693	0,0332	27,2	14,3	172	66,2	2,94
Té21	5,73	0,570	6,53	0,157	4,78	3,85	0,646	0,625	0,0365	29,7	13,8	185	71,0	2,45
MO1	7,20	0,746	6,74	0,171	6,84	5,66	1,040	0,851	0,0787	37,8	8,7	188	91,7	2,50
MO2	6,56	0,697	6,58	0,158	7,07	5,58	0,931	0,797	0,0812	27,5	7,6	175	72,3	2,32
MO3	6,99	0,744	6,64	0,166	7,17	5,78	0,961	0,830	0,0906	32,4	7,9	177	81,0	2,75
MO4	7,66	0,773	6,62	0,165	6,56	5,37	0,958	0,803	0,0807	31,8	9,5	209	83,6	2,61
MO5	6,43	0,676	6,56	0,138	6,51	5,28	0,828	0,652	0,0759	32,0	8,4	170	73,4	2,12
MO6	7,27	0,755	6,70	0,158	6,61	5,35	0,877	0,790	0,0802	30,9	9,3	166	76,7	2,77
MO7	7,51	0,752	6,72	0,182	6,52	5,31	0,969	0,842	0,0762	32,2	10,9	199	86,1	2,74
MO8	6,99	0,718	6,64	0,163	6,33	5,18	0,840	0,798	0,0756	29,4	9,7	173	73,6	2,38
MO9	7,60	0,776	6,67	0,171	6,62	5,33	0,921	0,867	0,0697	36,5	10,5	163	86,1	3,03
MO10	7,38	0,742	6,75	0,176	5,98	5,12	0,905	0,859	0,1020	31,4	10,8	197	83,8	2,99
MO11	6,30	0,662	6,58	0,168	5,73	4,70	0,810	0,787	0,0694	27,6	11,2	173	74,1	2,89
MO12	6,85	0,699	6,66	0,163	5,77	5,02	0,820	0,816	0,0689	33,3	11,0	164	79,3	2,62
MO13	7,48	0,734	6,67	0,173	5,61	4,86	0,883	0,749	0,0687	35,4	11,6	210	86,9	2,89
MO14	6,01	0,641	6,58	0,160	5,49	4,28	0,729	0,738	0,0681	29,6	11,0	172	73,6	2,18
MO15	6,57	0,670	6,56	0,161	5,32	4,52	0,808	0,654	0,0589	34,2	11,7	169	80,3	2,47
MO16	7,56	0,751	6,66	0,176	5,36	4,82	0,908	0,697	0,0659	35,8	13,4	240	88,2	2,86
MO17	6,12	0,630	6,50	0,149	5,25	4,12	0,733	0,651	0,0704	31,2	11,9	190	74,6	2,52
MO18	6,43	0,647	6,60	0,150	5,49	4,36	0,792	0,639	0,0662	29,0	12,5	179	75,5	2,57
MO19	7,24	0,715	6,70	0,165	5,19	4,74	0,745	0,571	0,0564	31,9	14,1	250	80,3	2,85
MO20	6,34	0,637	6,65	0,154	4,95	4,23	0,755	0,713	0,0615	35,8	12,1	218	81,0	2,43
MO21	7,08	0,694	6,59	0,145	5,31	4,36	0,811	0,631	0,0608	32,3	12,0	180	76,2	3,19
Bd1	7,23	0,784	6,58	0,159	6,71	6,06	0,978	0,773	0,0649	31,6	8,7	176	102,0	2,08
Bd2	7,48	0,804	6,74	0,186	7,06	6,60	0,972	0,817	0,0824	36,4	10,3	178	111,0	2,56
Bd3	7,53	0,813	6,83	0,199	6,74	6,54	1,050	0,909	0,0925	37,7	11,9	182	112,0	2,37
Bd4	6,85	0,758	6,66	0,154	5,93	5,18	0,934	0,715	0,0717	40,3	10,6	187	120,0	2,21
Bd5	7,07	0,774	6,63	0,182	6,51	5,69	0,954	0,868	0,0792	32,5	12,2	163	95,4	2,36
Bd6	7,33	0,768	6,76	0,185	6,51	5,77	1,020	0,727	0,0751	29,1	15,0	182	107,0	2,25
Bd7	6,53	0,701	6,52	0,156	5,87	5,12	0,882	0,677	0,0605	32,4	10,6	144	88,9	2,08
Bd8	6,96	0,774	6,73	0,175	6,17	5,18	0,877	0,837	0,0751	47,4	11,9	178	127,0	2,96
Bd9	7,02	0,739	6,77	0,186	6,24	5,63	1,020	0,745	0,0690	32,9	14,6	174	102,0	2,21
Bd10	6,12	0,638	6,45	0,151	5,49	4,34	0,760	0,579	0,0548	23,8	12,4	140	66,4	2,04
Bd11	6,93	0,761	6,68	0,178	5,59	5,00	0,883	0,998	0,0826	33,2	12,7	147	83,0	2,56
Bd12	6,93	0,712	6,80	0,177	5,46	4,90	0,899	0,671	0,1050	23,7	15,0	152	79,2	2,24
Bd13	6,13	0,645	6,36	0,144	5,15	4,10	0,750	0,545	0,0468	26,4	12,6	129	59,5	2,07
Bd14	6,01	0,688	6,52	0,166	5,15	4,29	0,736	0,840	0,0804	30,3	13,5	147	77,8	2,34
Bd15	6,21	0,651	6,78	0,185	4,95	4,59	0,802	0,665	0,0579	21,6	14,5	151	67,8	2,19
Bd16	5,66	0,608	6,45	0,140	4,66	4,19	0,688	0,536	0,0536	27,4	13,1	128	62,8	2,19
Bd17	5,30	0,560	6,48	0,141	4,67	4,65	0,710	0,598	0,0773	25,8	13,6	143	71,7	1,86
Bd18	6,46	0,675	6,69	0,181	5,00	4,48	0,804	0,758	0,0541	25,7	12,5	152	68,5	2,24
Bd19	6,23	0,637	6,48	0,150	4,84	4,23	0,711	0,658	0,0501	23,7	13,1	129	61,1	1,87
Bd20	5,86	0,619	6,49	0,152	4,77	4,21	0,717	0,678	0,0562	26,5	12,7	136	66,9	1,80
Bd21	7,62	0,730	6,69	0,194	5,22	4,62	0,849	0,794	0,0480	28,9	13,8	168	82,0	3,88

Prélèvement T2 de 2004

	C org.	N tot.	pH	P	CEC	Ca++	Mg++	K+	Na+	Mn++	Cu	Fe	Mn	Zn
Té1	5,11	0,579	6,83	0,151	5,46	5,24	0,665	0,704	0,0523	14,2	9,08	203	56,7	4,71
Té2	5,17	0,586	6,60	0,140	5,61	4,89	0,710	0,479	0,0466	14,4	8,76	182	51,7	2,08
Té3	5,50	0,589	6,65	0,145	6,12	4,92	0,811	0,603	0,0588	13,2	8,34	156	50,6	4,14
Té4	5,35	0,581	6,62	0,158	5,31	4,48	0,637	0,503	0,0439	16,3	11,10	202	57,7	2,60
Té5	5,89	0,626	6,63	0,167	5,59	4,44	0,648	0,535	0,0400	14,1	12,10	209	56,8	2,91
Té6	5,40	0,588	6,54	0,160	5,48	4,44	0,661	0,561	0,0520	15,5	11,50	175	52,3	2,36
Té7	5,94	0,612	6,71	0,169	5,49	4,49	0,677	0,549	0,0473	15,5	12,10	231	64,5	3,76
Té8	5,96	0,636	6,60	0,162	5,56	4,67	0,653	0,549	0,0440	18,4	13,80	250	65,7	2,82
Té9	5,97	0,625	6,57	0,158	5,63	4,52	0,704	0,579	0,0410	13,3	12,80	175	50,7	2,81
Té10	6,03	0,637	6,73	0,175	5,44	4,93	0,659	0,497	0,0463	16,1	13,60	209	63,4	3,10
Té11	6,17	0,636	6,64	0,169	5,45	4,42	0,663	0,581	0,0405	15,7	15,20	187	59,4	3,25
Té12	5,67	0,595	6,73	0,156	6,41	5,62	1,120	0,854	0,0542	17,3	15,70	205	66,8	2,92
Té13	6,05	0,614	6,70	0,164	5,16	4,30	0,618	0,457	0,0509	14,4	15,40	182	55,3	2,91
Té14	5,72	0,607	6,61	0,162	5,14	4,09	0,660	0,566	0,0468	15,3	16,20	171	52,5	2,90
Té15	5,96	0,605	6,48	0,150	5,38	3,96	0,702	0,593	0,0395	16,0	15,50	177	55,5	2,51
Té16	5,28	0,538	6,65	0,151	4,39	3,94	0,569	0,417	0,0381	15,7	14,10	167	52,4	2,35
Té17	5,86	0,591	6,70	0,166	4,96	3,94	0,637	0,516	0,0438	13,6	14,90	167	49,7	2,78
Té18	5,24	0,546	6,40	0,138	4,68	3,50	0,601	0,517	0,0475	16,4	14,20	187	53,5	2,12
Té19	5,32	0,544	6,72	0,144	4,53	3,73	0,592	0,407	0,0327	12,4	13,40	159	49,8	2,71
Té20	5,71	0,571	6,69	0,159	4,67	3,94	0,590	0,533	0,0366	15,7	14,40	170	55,1	3,12
Té21	5,70	0,595	6,51	0,141	4,84	3,54	0,619	0,523	0,0367	14,7	13,70	172	49,8	2,42
MO1	6,98	0,707	6,79	0,158	6,81	5,56	1,080	0,674	0,0573	17,3	9,09	207	71,7	2,84
MO2	5,88	0,619	6,54	0,141	6,75	5,21	0,841	0,633	0,0592	17,4	7,98	175	58,7	2,85
MO3	6,26	0,654	6,51	0,142	6,91	5,69	0,902	0,645	0,0698	20,1	7,85	167	61,4	2,79
MO4	6,55	0,667	6,62	0,160	6,38	5,23	0,843	0,655	0,0563	17,5	9,73	173	60,1	2,97
MO5	5,93	0,680	6,64	0,145	6,44	4,97	0,753	0,535	0,0557	15,7	8,84	152	49,1	2,60
MO6	6,54	0,726	6,53	0,152	6,67	5,26	0,812	0,627	0,0625	18,2	8,70	157	56,1	3,33
MO7	6,66	0,707	6,80	0,157	6,05	5,03	0,860	0,582	0,0517	10,8	10,80	181	55,0	3,08
MO8	6,05	0,664	6,57	0,149	5,99	4,63	0,689	0,527	0,0529	16,7	10,60	166	56,2	3,57
MO9	6,64	0,718	6,63	0,157	6,34	5,04	0,826	0,609	0,0581	18,9	9,54	193	63,8	3,00
MO10	5,98	0,651	6,63	0,164	5,59	4,41	0,691	0,535	0,0492	16,2	11,00	197	58,3	2,57
MO11	6,05	0,645	6,57	0,152	5,51	4,31	0,666	0,508	0,0458	14,0	11,10	157	51,3	3,32
MO12	5,92	0,639	6,54	0,146	5,61	4,44	0,691	0,535	0,0467	17,0	10,80	163	54,8	2,52
MO13	6,75	0,699	6,72	0,174	5,65	4,64	0,770	0,580	0,0495	14,4	12,20	226	62,1	2,81
MO14	5,62	0,612	6,46	0,141	5,50	4,19	0,622	0,491	0,0478	15,6	12,20	185	53,3	2,38
MO15	6,00	0,638	6,59	0,144	5,65	4,52	0,711	0,500	0,0515	14,9	12,50	167	55,4	2,57
MO16	6,26	0,655	6,60	0,146	5,26	4,27	0,743	0,425	0,0462	15,5	13,70	235	57,1	2,47
MO17	5,73	0,610	6,44	0,147	5,10	3,83	0,598	0,524	0,0530	16,2	12,20	195	54,6	2,14
MO18	5,94	0,630	6,54	0,135	5,07	4,09	0,660	0,485	0,0497	16,0	12,10	171	56,6	2,48
MO19	6,81	0,712	6,70	0,155	5,33	4,68	0,686	0,446	0,0391	13,3	14,20	232	55,2	3,82
MO20	6,19	0,645	6,53	0,138	4,87	4,01	0,642	0,425	0,0390	17,7	13,40	201	61,7	2,47
MO21	6,88	0,688	6,59	0,142	5,43	4,23	0,751	0,515	0,0416	15,8	13,50	162	59,3	3,38
Bd1	6,55	0,721	6,63	0,140	7,12	5,58	0,919	0,617	0,0612	19,9	9,88	168	69,8	2,80
Bd2	7,07	0,766	6,67	0,161	6,93	6,15	0,857	0,591	0,0615	21,2	11,30	182	77,0	3,81
Bd3	7,41	0,754	6,94	0,176	7,09	5,91	0,988	0,588	0,0551	16,8	12,40	184	79,4	3,04
Bd4	6,09	0,690	6,61	0,139	6,49	5,13	0,807	0,509	0,0571	20,7	10,40	166	68,9	2,50
Bd5	6,49	0,713	6,73	0,156	6,48	5,40	0,860	0,581	0,0539	16,3	12,60	160	62,1	2,85
Bd6	6,97	0,744	6,76	0,159	6,24	5,27	0,916	0,524	0,0577	18,0	14,70	176	71,2	2,91
Bd7	6,00	0,672	6,55	0,147	6,11	4,82	0,797	0,525	0,0500	18,4	11,50	151	59,9	2,72
Bd8	6,43	0,715	6,64	0,150	6,26	4,92	0,809	0,576	0,0616	18,9	13,10	167	66,4	3,53
Bd9	6,90	0,721	6,81	0,167	6,26	5,16	0,909	0,509	0,0531	16,3	15,40	180	71,0	2,61
Bd10	6,10	0,653	6,53	0,136	5,41	4,33	0,725	0,469	0,0493	16,8	11,60	142	52,7	2,67
Bd11	6,01	0,654	6,62	0,138	5,49	4,16	0,697	0,520	0,0472	14,8	13,60	146	55,0	2,91
Bd12	6,52	0,686	6,73	0,164	5,29	4,53	0,747	0,492	0,0584	16,1	15,30	159	60,7	2,71
Bd13	6,07	0,636	6,47	0,130	5,08	3,97	0,680	0,439	0,0441	15,8	13,80	136	49,1	2,28
Bd14	5,22	0,557	6,54	0,135	4,85	3,74	0,588	0,407	0,0462	13,7	13,70	137	48,5	2,18
Bd15	6,25	0,630	6,75	0,156	5,06	4,21	0,786	0,420	0,0491	12,4	15,40	152	52,7	2,69
Bd16	5,80	0,612	6,49	0,115	4,89	3,84	0,604	0,407	0,0494	17,7	14,20	140	55,5	2,09
Bd17	5,05	0,546	6,52	0,121	4,57	3,54	0,577	0,382	0,0431	14,2	13,30	138	49,2	2,04
Bd18	5,76	0,596	6,73	0,145	4,63	3,94	0,685	0,401	0,0503	12,4	13,90	144	48,3	2,49
Bd19	6,14	0,633	6,55	0,126	5,08	3,65	0,587	0,544	0,0387	14,1	14,00	136	50,6	2,10
Bd20	6,00	0,634	6,48	0,127	4,73	3,80	0,620	0,476	0,0679	17,4	12,90	140	50,0	3,67
Bd21	6,67	0,670	6,83	0,149	5,11	4,06	0,720	0,529	0,0433	14,0	13,90	168	55,7	3,00

Prélèvement T0 de 2005

	C org.	N tot.	pH	P	CEC	Ca++	Mg++	K+	Na+	Mn++	Cu	Fe	Mn	Zn
Té1	5,31	0,639	6,85	0,158	5,62	5,52	0,738	0,576	0,0518	13,6	8,87	205	58,2	2,18
Té2	5,01	0,538	6,92	0,144	5,48	5,19	0,698	0,510	0,0627	22,1	8,26	176	63,1	1,88
Té3	4,19	0,529	6,70	0,132	6,32	4,84	0,746	0,575	0,0720	15,9	5,59	137	44,9	1,44
Té4	5,23	0,616	6,71	0,166	5,40	4,54	0,662	0,510	0,0528	28,8	9,78	182	70,9	2,34
Té5	5,60	0,643	6,73	0,169	5,50	4,67	0,674	0,604	0,0543	28,6	10,90	204	75,9	2,32
Té6	5,41	0,566	6,58	0,157	5,65	4,43	0,707	0,580	0,0597	24,3	9,82	160	61,4	1,94
Té7	5,92	0,654	6,67	0,168	5,58	4,42	0,732	0,527	0,0478	16,7	11,80	228	65,1	2,33
Té8	5,89	0,611	6,70	0,167	5,46	4,62	0,683	0,547	0,0489	25,7	12,60	219	71,3	2,15
Té9	5,81	0,642	6,59	0,168	5,50	4,42	0,730	0,620	0,0524	15,8	12,70	182	55,2	2,28
Té10	5,89	0,605	6,85	0,178	5,34	5,14	0,678	0,545	0,0562	28,0	12,00	187	76,2	2,45
Té11	6,03	0,607	6,65	0,177	5,39	4,52	0,711	0,629	0,0456	21,7	14,10	187	64,9	2,82
Té12	5,58	0,600	6,75	0,159	6,51	5,70	1,110	0,840	0,0541	30,9	14,60	200	88,0	2,25
Té13	6,05	0,639	6,78	0,166	5,12	4,39	0,659	0,461	0,0580	15,0	14,20	190	59,4	2,35
Té14	6,22	0,654	6,72	0,169	4,96	4,49	0,699	0,576	0,0517	24,5	14,50	166	67,2	2,63
Té15	5,94	0,578	6,54	0,155	5,49	3,99	0,711	0,633	0,0672	20,0	14,20	169	58,2	2,26
Té16	5,36	0,568	6,84	0,149	4,62	4,05	0,556	0,487	0,0471	23,1	11,30	149	57,5	2,15
Té17	5,58	0,591	6,80	0,164	4,80	3,98	0,640	0,618	0,0453	16,1	13,40	163	56,6	2,29
Té18	5,37	0,576	6,60	0,145	4,85	3,76	0,623	0,614	0,0928	25,3	13,00	170	63,8	2,25
Té19	5,52	0,595	6,76	0,148	4,57	3,96	0,622	0,413	0,0477	17,3	11,80	149	51,9	2,14
Té20	5,73	0,603	6,87	0,162	4,65	4,42	0,640	0,631	0,0400	23,0	14,00	160	63,4	2,62
Té21	5,59	0,554	6,57	0,134	4,65	3,65	0,613	0,483	0,0408	17,4	12,40	163	50,9	2,25
MO1	6,64	0,656	6,79	0,171	7,12	5,60	1,110	0,688	0,0706	24,7	8,45	197	79,9	2,23
MO2	5,66	0,631	6,61	0,143	6,06	5,43	0,816	0,634	0,0704	26,2	6,91	155	66,8	2,07
MO3	6,03	0,680	6,74	0,149	7,19	5,38	0,889	0,644	0,0815	16,4	7,49	167	66,7	1,97
MO4	7,06	0,691	6,66	0,166	6,63	5,37	0,917	0,636	0,0700	28,6	9,49	172	78,0	2,30
MO5	6,04	0,614	6,71	0,157	6,74	5,22	0,850	0,589	0,0678	18,1	9,22	162	60,8	1,96
MO6	6,33	0,691	6,60	0,150	6,77	5,31	0,868	0,651	0,0686	24,5	7,87	138	63,0	2,47
MO7	7,07	0,713	6,67	0,160	5,38	4,90	0,867	0,578	0,0605	19,5	10,50	189	68,2	2,35
MO8	5,89	0,598	6,68	0,154	6,44	4,98	0,753	0,649	0,0688	19,8	9,53	157	59,2	1,97
MO9	6,47	0,657	6,64	0,159	6,74	5,26	0,861	0,715	0,0694	26,3	9,37	147	69,4	2,33
MO10	6,50	0,692	6,79	0,160	5,81	4,79	0,794	0,702	0,0770	22,6	10,90	183	70,1	2,23
MO11	5,69	0,596	6,65	0,145	5,71	4,33	0,705	0,553	0,0565	14,4	11,10	157	53,9	2,21
MO12	6,20	0,618	6,61	0,153	5,99	4,75	0,777	0,564	0,0553	27,6	10,30	134	65,7	2,47
MO13	6,33	0,631	6,74	0,169	5,69	4,71	0,781	0,610	0,0628	29,0	11,00	173	74,8	2,35
MO14	5,64	0,551	6,55	0,143	5,66	4,15	0,664	0,512	0,0560	31,3	10,70	151	71,4	2,11
MO15	6,37	0,629	6,63	0,154	5,61	4,41	0,753	0,590	0,0602	24,4	10,70	150	63,8	2,21
MO16	6,26	0,614	6,71	0,147	5,72	4,46	0,823	0,497	0,0694	25,9	12,10	207	67,9	2,07
MO17	5,59	0,555	6,55	0,138	5,86	4,10	0,645	0,560	0,0599	31,2	9,94	158	68,9	1,74
MO18	6,41	0,654	6,58	0,142	5,71	4,92	0,748	0,530	0,0572	32,6	10,50	147	71,7	2,07
MO19	7,30	0,694	6,78	0,154	5,56	4,80	0,760	0,477	0,0508	27,5	12,40	222	72,3	2,58
MO20	6,55	0,688	6,64	0,139	5,03	4,07	0,711	0,526	0,0479	30,6	11,40	174	74,0	2,22
MO21	6,50	0,683	6,65	0,137	5,72	4,28	0,736	0,560	0,0639	28,7	11,40	142	70,2	2,20
Bd1	6,49	0,666	6,72	0,150	7,51	5,47	0,938	0,613	0,0658	26,0	9,15	158	82,3	2,29
Bd2	6,86	0,703	6,76	0,163	7,49	6,08	0,885	0,628	0,0725	33,7	10,30	165	93,6	2,68
Bd3	6,90	0,682	6,98	0,183	7,22	6,35	1,100	0,633	0,0646	23,3	11,90	190	91,5	2,86
Bd4	6,41	0,717	6,66	0,150	6,85	5,33	0,874	0,583	0,0679	25,4	9,96	159	80,4	2,38
Bd5	6,43	0,646	6,77	0,157	6,85	5,52	0,936	0,615	0,0634	19,8	12,00	165	69,5	2,40
Bd6	6,88	0,685	6,87	0,173	6,66	5,77	1,000	0,672	0,0655	34,3	13,90	164	90,8	2,35
Bd7	6,13	0,622	6,69	0,142	6,57	4,73	0,801	0,509	0,0548	17,9	11,10	151	64,9	2,37
Bd8	6,20	0,683	6,74	0,153	6,44	5,16	0,824	0,615	0,0616	31,3	12,10	152	79,1	2,37
Bd9	6,48	0,682	6,88	0,159	6,23	5,20	0,962	0,525	0,0537	17,2	14,50	178	72,9	2,64
Bd10	6,03	0,646	6,51	0,136	5,77	4,17	0,730	0,433	0,0499	24,6	11,80	137	63,5	2,18
Bd11	5,74	0,573	6,73	0,147	5,70	4,43	0,761	0,544	0,0523	18,4	12,80	155	60,5	2,52
Bd12	6,11	0,594	6,78	0,155	5,64	4,77	0,820	0,497	0,0503	23,8	14,40	160	68,7	2,10
Bd13	5,55	0,539	6,51	0,130	5,51	3,98	0,716	0,479	0,0509	17,3	13,30	140	54,3	2,27
Bd14	5,22	0,521	6,67	0,258	5,09	4,13	0,643	0,479	0,0523	26,4	12,30	127	61,1	1,86
Bd15	5,85	0,595	6,82	0,131	5,21	4,33	0,824	0,450	0,0490	14,4	14,90	158	55,6	2,58
Bd16	5,87	0,563	6,57	0,138	5,06	4,05	0,650	0,451	0,0515	29,6	12,00	128	64,1	1,83
Bd17	4,86	0,486	6,61	0,150	4,86	3,52	0,588	0,380	0,0405	13,3	12,60	133	49,0	1,75
Bd18	5,74	0,596	6,81	0,119	5,02	4,40	0,739	0,512	0,0509	21,9	13,00	153	61,5	2,18
Bd19	5,88	0,564	6,64	0,125	5,41	4,07	0,654	0,490	0,0476	20,8	12,00	131	54,6	2,02
Bd20	5,68	0,556	6,62	0,154	5,26	4,18	0,646	0,583	0,0561	30,7	12,10	137	71,9	1,95
Bd21	6,69	0,663	6,83	0,136	5,18	4,48	0,831	0,623	0,0449	19,8	13,10	184	72,3	3,92

Prélèvement T1 de 2005

	C org.	N tot.	pH	P	CEC	Ca++	Mg++	K+	Na+	Mn++	Cu	Fe	Mn	Zn
Té1	4,87	0,545	6,91	0,152	4,99	4,68	0,666	0,689	0,0812	20,0	8,57	201	70,2	1,94
Té2	5,09	0,571	6,60	0,146	5,21	4,60	0,745	0,670	0,0857	13,7	8,53	184	56,7	1,71
Té3	5,80	0,620	6,63	0,146	5,87	4,80	0,853	0,542	0,0651	21,2	8,74	160	62,8	2,27
Té4	5,03	0,560	6,70	0,164	4,85	4,61	0,674	0,599	0,0711	14,5	10,60	216	65,2	2,28
Té5	5,45	0,573	6,69	0,160	5,17	4,49	0,713	0,639	0,0694	20,2	11,00	201	62,0	2,25
Té6	5,27	0,563	6,43	0,154	5,19	4,40	0,713	0,573	0,0684	15,7	9,94	180	53,5	1,86
Té7	5,96	0,601	6,84	0,165	5,35	4,53	0,711	0,590	0,0677	17,9	11,40	206	66,0	2,24
Té8	6,02	0,605	6,69	0,171	4,83	4,91	0,752	0,750	0,0935	14,5	12,50	241	62,8	2,28
Té9	5,99	0,615	6,56	0,160	5,42	4,43	0,743	0,559	0,0554	21,0	12,80	176	60,6	2,16
Té10	5,63	0,589	6,81	0,185	4,86	5,20	0,700	0,580	0,0622	14,1	12,70	212	63,3	2,62
Té11	5,74	0,615	6,64	0,160	4,95	4,45	0,683	0,610	0,0692	22,2	13,20	181	66,4	0,00
Té12	5,49	0,577	6,60	0,154	5,47	5,06	0,925	0,747	0,0490	14,9	14,60	192	60,8	2,03
Té13	5,58	0,558	6,88	0,156	4,65	4,36	0,621	0,525	0,0677	17,6	13,00	182	64,0	2,35
Té14	6,43	0,690	6,60	0,163	4,77	4,00	0,660	0,579	0,0632	12,4	13,70	161	49,6	2,56
Té15	6,37	0,723	6,54	0,150	4,88	4,04	0,708	0,652	0,0605	22,2	13,20	173	64,0	2,10
Té16	4,66	0,464	6,93	0,140	3,69	3,52	0,451	0,483	0,0618	11,3	9,86	172	55,3	1,79
Té17	4,82	0,537	6,76	0,148	4,09	3,85	0,619	0,572	0,0669	16,2	12,50	149	52,5	2,13
Té18	5,04	0,515	6,42	0,142	4,60	3,82	0,645	0,538	0,0603	15,8	12,60	181	51,4	1,72
Té19	5,23	0,510	6,91	0,138	3,90	4,15	0,565	0,533	0,0568	14,4	11,50	158	54,8	2,05
Té20	5,34	0,540	6,69	0,154	4,17	3,96	0,618	0,530	0,0540	11,9	13,80	155	47,8	2,56
Té21	5,45	0,542	6,53	0,134	4,27	3,85	0,656	0,528	0,0498	19,8	12,40	161	57,3	1,80
MO1	6,93	0,726	6,79	0,170	6,76	5,91	1,160	0,771	0,0794	21,4	8,89	180	72,6	2,39
MO2	7,42	0,706	6,57	0,160	6,39	5,28	0,878	0,773	0,0825	12,9	7,97	177	56,7	3,28
MO3	5,90	0,718	6,74	0,157	6,58	5,79	1,010	0,898	0,1350	22,9	7,57	160	74,7	2,39
MO4	7,86	0,766	6,63	0,183	6,48	5,43	0,976	1,140	0,1140	14,5	9,70	187	64,3	2,95
MO5	7,14	0,685	6,63	0,151	6,61	5,33	0,890	0,823	0,0942	22,0	8,47	159	64,4	2,13
MO6	7,30	0,731	6,76	0,162	6,38	5,43	0,908	0,853	0,0946	12,8	8,80	173	61,9	2,60
MO7	7,13	0,717	6,74	0,173	6,16	5,24	0,958	0,815	0,0787	16,9	10,70	181	62,4	2,53
MO8	6,24	0,768	6,59	0,163	5,72	5,06	0,798	0,665	0,0810	13,2	9,63	162	52,7	2,22
MO9	7,25	0,727	6,93	0,164	6,12	5,32	0,944	0,894	0,0791	21,3	9,84	158	69,0	2,75
MO10	6,02	0,628	6,59	0,166	5,22	4,66	0,797	0,655	0,0719	13,6	10,40	188	55,6	2,14
MO11	5,70	0,608	6,55	0,153	5,44	4,48	0,757	0,695	0,0713	18,6	10,50	151	57,9	2,63
MO12	5,82	0,641	6,57	0,152	5,26	4,45	0,748	0,673	0,0712	13,9	10,40	149	53,6	2,95
MO13	6,68	0,703	6,61	0,165	5,72	4,71	0,879	0,754	0,0701	20,5	11,50	199	66,5	2,52
MO14	6,35	0,614	6,50	0,156	5,15	4,40	0,748	0,658	0,0782	14,0	10,50	164	52,8	2,07
MO15	6,15	0,633	6,62	0,149	5,41	4,54	0,817	0,807	0,0966	20,7	11,10	149	63,7	2,30
MO16	7,23	0,690	6,58	0,160	5,22	4,57	0,886	0,630	0,0933	14,1	12,90	229	57,8	2,65
MO17	6,05	0,641	6,56	0,144	5,10	4,17	0,741	0,862	0,0984	19,9	10,70	157	57,6	2,04
MO18	6,30	0,641	6,48	0,148	5,13	4,36	0,761	0,600	0,0823	15,5	11,60	165	57,3	2,37
MO19	7,62	0,711	6,71	0,161	5,24	4,86	0,753	0,604	0,0680	17,2	14,00	213	59,1	2,65
MO20	6,73	0,713	6,63	0,157	4,97	4,21	0,781	1,020	0,1050	16,4	11,60	185	58,8	2,60
MO21	6,76	0,650	6,67	0,139	5,45	4,32	0,803	0,793	0,0915	19,6	10,50	143	60,3	2,30
Bd1	7,36	0,770	6,76	0,152	6,87	5,94	0,986	0,866	0,0969	30,7	8,13	158	92,6	2,20
Bd2	6,54	0,729	6,77	0,178	6,51	5,86	0,913	0,855	0,0853	23,2	10,10	180	94,1	2,28
Bd3	7,66	0,765	7,03	0,187	6,85	6,16	1,090	0,942	0,0844	37,9	12,00	195	117,0	2,28
Bd4	5,15	0,603	6,67	0,144	4,48	3,92	0,630	0,737	0,0896	28,7	11,40	149	75,8	1,84
Bd5	6,91	0,701	6,81	0,162	6,10	5,38	0,908	0,861	0,0837	34,7	11,50	175	99,8	2,02
Bd6	7,87	0,782	6,88	0,197	6,63	5,97	1,070	0,969	0,0938	33,4	13,80	198	107,0	2,45
Bd7	6,61	0,675	6,75	0,145	6,11	5,05	0,880	0,780	0,0803	26,3	9,94	136	80,3	1,92
Bd8	6,67	0,693	6,80	0,171	5,68	5,04	0,843	0,905	0,1100	20,8	11,80	182	85,8	2,37
Bd9	6,90	0,697	6,91	0,158	5,85	5,14	0,920	0,648	0,0684	25,4	12,50	172	88,1	1,99
Bd10	6,98	0,642	6,72	0,155	5,10	4,44	0,731	0,791	0,0774	19,3	10,40	150	69,8	2,24
Bd11	6,85	0,672	6,85	0,168	5,43	4,58	0,825	1,100	0,0846	56,8	12,10	165	109,0	2,65
Bd12	6,81	0,667	6,94	0,193	5,26	4,77	0,881	0,921	0,0752	41,3	13,10	174	96,1	2,08
Bd13	6,31	0,636	6,79	0,154	5,07	4,17	0,749	0,824	0,0662	27,4	11,10	135	73,6	2,10
Bd14	5,67	0,602	6,76	0,158	4,93	4,28	0,730	0,903	0,1430	27,1	11,90	152	83,2	1,85
Bd15	6,52	0,642	6,95	0,170	5,01	4,37	0,825	0,810	0,0767	34,2	13,20	161	87,2	2,19
Bd16	5,96	0,623	6,80	0,161	4,83	4,10	0,720	0,975	0,0788	39,3	11,60	148	81,5	1,98
Bd17	5,44	0,575	6,74	0,139	4,82	3,94	0,676	0,775	0,0699	39,4	11,70	137	84,8	2,26
Bd18	5,82	0,597	6,86	0,161	4,66	4,25	0,757	0,717	0,0587	20,0	12,20	154	72,8	2,04
Bd19	6,28	0,632	6,94	0,147	5,06	4,12	0,697	0,923	0,0735	24,8	11,20	128	78,2	1,70
Bd20	6,39	0,659	6,84	0,176	5,06	4,14	0,689	1,020	0,0683	22,6	12,40	155	77,5	2,02
Bd21	6,11	0,666	6,95	0,170	4,97	4,29	0,778	0,807	0,0647	27,2	12,60	160	78,1	2,53

Prélèvement T2 de 2005

	C org.	N tot.	pH	P	CEC	Ca++	Mg++	K+	Na+	Mn++	Cu	Fe	Mn	Zn
Té1	5,03	0,564	6,88	0,158	5,47	4,97	0,691	0,379	0,0553	9,33	9,21	193	47,1	2,92
Té2	6,02	0,531	6,80	0,152	5,38	4,72	0,729	0,437	0,0724	8,03	8,31	199	43,1	2,13
Té3	5,08	0,550	6,82	0,154	5,58	4,80	0,749	0,431	0,0641	8,77	8,84	196	47,1	2,31
Té4	4,98	0,530	6,72	0,165	5,13	4,63	0,647	0,340	0,0489	11,30	11,10	212	51,8	5,11
Té5	5,45	0,534	6,64	0,159	5,28	4,34	0,679	0,390	0,0551	10,20	10,30	191	42,1	2,25
Té6	4,94	0,550	6,58	0,166	5,41	4,73	0,708	0,410	0,0630	12,20	11,40	210	49,9	3,18
Té7	5,56	0,584	6,80	0,178	5,07	4,79	0,692	0,410	0,0529	10,80	11,30	200	49,4	2,51
Té8	6,00	0,555	6,52	0,161	5,20	4,33	0,679	0,360	0,0482	12,00	12,00	235	49,2	2,23
Té9	5,79	0,590	6,66	0,169	5,25	4,60	0,718	0,418	0,0594	10,20	13,30	226	47,7	2,54
Té10	5,82	0,571	6,69	0,175	5,04	4,67	0,665	0,323	0,0652	12,50	13,60	205	53,2	2,69
Té11	5,45	0,607	6,72	0,177	5,00	4,44	0,664	0,436	0,0577	10,20	13,50	184	45,2	2,63
Té12	6,31	0,629	6,64	0,182	5,38	4,56	0,741	0,454	0,0524	10,50	14,10	187	44,2	3,26
Té13	5,54	0,553	6,69	0,165	4,71	4,31	0,633	0,302	0,0497	12,20	13,50	186	49,8	3,79
Té14	5,64	0,563	6,67	0,169	4,70	4,13	0,634	0,420	0,0556	11,30	14,00	171	44,8	2,72
Té15	5,86	0,609	6,49	0,154	4,85	4,01	0,658	0,410	0,0578	11,70	13,80	185	44,8	2,58
Té16	4,94	0,501	6,73	0,141	4,21	3,92	0,565	0,290	0,0412	8,91	12,10	150	38,3	2,10
Té17	5,03	0,525	6,67	0,152	4,51	3,96	0,592	0,356	0,0455	9,43	13,00	158	40,6	2,18
Té18	4,76	0,534	6,63	0,147	4,69	4,07	0,675	0,419	0,0546	10,20	12,70	184	42,6	2,25
Té19	5,07	0,484	6,60	0,132	4,05	3,87	0,533	0,245	0,0380	9,99	11,30	151	39,6	2,30
Té20	5,70	0,560	6,68	0,148	4,28	4,14	0,620	0,340	0,0487	9,64	13,50	153	39,0	2,29
Té21	5,01	0,555	6,75	0,146	4,57	4,03	0,665	0,467	0,0558	9,49	13,30	177	43,5	2,64
MO1	7,16	0,712	6,83	0,177	6,57	6,09	1,140	0,614	0,0833	10,40	8,76	200	54,5	5,34
MO2	5,92	0,641	6,73	0,161	6,70	5,87	0,942	0,590	0,0858	9,60	8,38	197	48,8	3,45
MO3	6,62	0,677	6,73	0,177	6,92	6,04	0,973	0,620	0,0807	10,40	8,36	201	54,6	4,51
MO4	6,29	0,650	6,73	0,174	6,08	5,44	0,899	0,638	0,0697	11,10	9,25	196	52,4	2,83
MO5	5,79	0,571	6,67	0,159	6,13	5,59	0,853	0,501	0,0660	10,10	9,18	182	46,0	2,24
MO6	6,24	0,652	6,71	0,164	6,50	5,89	0,914	0,542	0,0713	10,90	8,68	174	46,3	7,11
MO7	7,35	0,690	6,75	0,185	5,83	5,21	0,893	0,585	0,0540	11,20	10,50	200	52,1	3,77
MO8	5,91	0,585	6,71	0,170	5,69	5,09	0,795	0,492	0,0649	10,90	10,90	184	48,3	2,81
MO9	6,86	0,695	6,81	0,174	6,37	5,56	0,899	0,621	0,0939	10,70	9,46	172	49,0	2,93
MO10	6,73	0,652	6,81	0,180	5,76	5,14	0,889	0,597	0,0640	10,40	11,00	197	51,1	2,87
MO11	5,72	0,579	6,88	0,172	5,24	4,76	0,754	0,587	0,0719	9,42	11,50	179	44,6	3,63
MO12	6,46	0,662	6,85	0,177	5,73	5,11	0,816	0,580	0,0799	10,50	10,60	173	47,1	4,63
MO13	7,41	0,727	6,77	0,185	5,46	5,01	0,842	0,637	0,0633	11,50	11,50	209	50,7	3,42
MO14	5,81	0,585	6,69	0,162	5,20	4,64	0,716	0,555	0,0473	9,85	11,20	182	45,6	2,16
MO15	6,35	0,637	6,66	0,157	5,38	4,77	0,776	0,471	0,0619	9,95	11,30	169	46,9	2,50
MO16	6,95	0,709	6,75	0,173	5,02	5,00	0,847	0,477	0,0504	10,80	12,60	226	48,4	2,55
MO17	5,79	0,577	6,64	0,157	5,03	4,40	0,702	0,482	0,0619	10,40	11,80	211	51,5	2,26
MO18	5,88	0,584	6,65	0,155	5,37	4,63	0,749	0,472	0,0636	10,10	11,50	168	48,0	2,31
MO19	7,31	0,672	6,71	0,164	5,24	4,96	0,734	0,436	0,0542	10,80	13,10	224	50,4	2,85
MO20	7,12	0,671	6,77	0,164	4,80	4,61	0,733	0,536	0,0542	10,60	12,10	206	51,1	2,41
MO21	6,77	0,631	6,51	0,151	5,43	4,78	0,786	0,409	0,0529	11,80	12,00	168	49,4	2,86
Bd1	6,73	0,674	6,74	0,155	6,45	5,71	0,904	0,536	0,0755	12,40	8,70	186	67,6	3,49
Bd2	7,22	0,705	6,86	0,170	6,90	6,34	0,949	0,549	0,0774	10,70	10,60	197	65,6	3,07
Bd3	7,03	0,717	7,10	0,193	6,37	6,20	1,040	0,596	0,0764	11,90	12,10	208	84,5	3,71
Bd4	6,48	0,671	6,76	0,152	6,12	5,46	0,876	0,526	0,0801	11,40	9,44	183	71,9	2,65
Bd5	6,38	0,663	6,80	0,166	6,24	5,51	0,891	0,569	0,0802	11,40	11,80	192	69,9	2,62
Bd6	7,06	0,665	6,89	0,170	6,20	5,51	1,010	0,505	0,0826	10,50	14,30	204	65,3	4,74
Bd7	6,33	0,636	6,78	0,151	5,92	5,02	0,813	0,498	0,0715	11,70	10,50	175	62,1	2,74
Bd8	6,82	0,668	6,86	0,160	6,28	5,29	0,859	0,608	0,0640	11,30	12,90	186	66,0	2,60
Bd9	6,31	0,635	6,85	0,163	6,00	5,16	0,929	0,441	0,0827	9,49	14,60	197	62,9	2,47
Bd10	6,13	0,581	6,78	0,145	5,50	4,48	0,754	0,462	0,0776	9,87	11,60	162	49,5	2,23
Bd11	7,51	0,599	6,72	0,146	5,17	4,29	0,723	0,458	0,0676	10,10	12,10	168	51,0	2,28
Bd12	6,29	0,613	6,95	0,169	5,28	4,68	0,816	0,446	0,0604	9,65	14,60	178	56,3	2,56
Bd13	5,99	0,589	6,56	0,132	5,01	4,18	0,715	0,358	0,0671	10,30	12,70	151	42,5	3,45
Bd14	5,39	0,552	6,80	0,148	5,10	4,11	0,659	0,474	0,0807	10,00	12,70	160	48,5	2,47
Bd15	5,68	0,572	6,91	0,168	4,82	4,38	0,769	0,438	0,0619	9,28	14,70	176	50,1	2,37
Bd16	5,52	0,564	6,66	0,127	4,73	3,74	0,619	0,382	0,0618	9,67	12,20	149	43,9	2,17
Bd17	5,18	0,509	6,72	0,130	4,69	3,86	0,632	0,411	0,0677	9,71	12,80	157	47,6	2,40
Bd18	6,47	0,565	6,82	0,154	4,73	4,13	0,748	0,395	0,0603	9,68	13,40	172	48,9	2,75
Bd19	5,71	0,569	6,72	0,134	4,95	3,92	0,647	0,424	0,0681	10,20	12,60	157	46,1	2,07
Bd20	5,67	0,609	6,73	0,137	4,71	3,80	0,640	0,437	0,0652	9,95	12,80	166	49,3	2,25
Bd21	6,44	0,629	6,75	0,160	5,07	4,16	0,741	0,466	0,0564	10,90	14,10	192	56,6	2,90

Analyse granulométrique des échantillons de sol prélevés à T0 en 2005 (g/kg de sol sec)

	argile	limons fins	limons grossiers	limons totaux	sables fins	sables grossiers	sables totaux
Té1	152	171	98	269	246	333	579
Té2	154	173	97	270	262	314	576
Té3	198	176	99	275	242	285	527
Té4	140	164	110	274	262	324	586
Té5	142	172	112	284	245	329	574
Té6	155	182	104	286	261	298	559
Té7	138	159	100	259	241	362	603
Té8	139	167	101	268	239	354	593
Té9	142	152	92	244	240	374	614
Té10	141	147	96	243	251	365	616
Té11	133	150	95	245	251	371	622
Té12	130	151	98	249	256	365	621
Té13	117	124	105	229	283	371	654
Té14	124	139	96	235	286	355	641
Té15	125	149	93	242	288	345	633
Té16	121	91	89	180	317	382	699
Té17	113	113	91	204	307	376	683
Té18	138	138	101	239	249	374	623
Té19	105	102	84	186	304	405	709
Té20	115	101	86	187	321	377	698
Té21	116	113	80	193	289	402	691
MO1	185	185	84	269	233	313	546
MO2	192	179	85	264	232	312	544
MO3	199	182	90	272	243	286	529
MO4	173	189	97	286	249	292	541
MO5	187	186	99	285	251	277	528
MO6	190	196	103	299	219	292	511
MO7	145	173	90	263	234	358	592
MO8	150	179	114	293	246	311	557
MO9	153	187	107	294	258	295	553
MO10	139	174	99	273	249	339	588
MO11	127	156	101	257	258	358	616
MO12	140	169	100	269	250	341	591
MO13	124	164	94	258	277	341	618
MO14	126	156	97	253	267	354	621
MO15	123	155	102	257	267	353	620
MO16	113	146	90	236	285	366	651
MO17	123	140	96	236	297	344	641
MO18	129	146	95	241	278	352	630
MO19	104	128	87	215	299	382	681
MO20	110	124	93	217	308	365	673
MO21	120	124	94	218	301	361	662
Bd1	176	200	106	306	245	273	518
Bd2	185	196	107	303	257	255	512
Bd3	179	199	102	301	250	270	520
Bd4	166	193	110	303	256	275	531
Bd5	160	183	108	291	250	299	549
Bd6	160	188	119	307	247	286	533
Bd7	143	167	99	266	242	349	591
Bd8	151	172	110	282	276	291	567
Bd9	146	158	118	276	264	314	578
Bd10	128	148	110	258	267	347	614
Bd11	129	144	108	252	256	363	619
Bd12	139	138	117	255	285	321	606
Bd13	119	137	101	238	285	358	643
Bd14	116	131	104	235	292	357	649
Bd15	108	114	102	216	281	395	676
Bd16	120	123	104	227	308	345	653
Bd17	111	116	103	219	303	367	670
Bd18	124	106	111	217	327	332	659
Bd19	110	109	101	210	300	380	680
Bd20	118	121	110	231	296	355	651
Bd21	118	102	99	201	325	356	681

Annexe 4 : Matière organique vivante (MOV, en mg C/kg sol sec)

2004 : une mesure par échantillon, 2005 : moyenne de 3 mesures par échantillon

	2004		
	T0	T1	T2
Té1	128,2	104,4	142,3
Té2	111,0	96,8	142,4
Té3	76,1	111,4	144,2
Té4	124,9	116,1	166,6
Té5	111,3	130,3	129,0
Té6	97,4	120,1	129,7
Té7	134,2	114,0	127,2
Té8	110,6	134,6	173,1
Té9	116,4	115,6	128,7
Té10	142,0	90,8	124,4
Té11	146,0	121,8	170,9
Té12	182,5	175,1	229,9
Té13	132,7	94,2	159,9
Té14	142,1	92,0	125,4
Té15	104,5	108,3	157,9
Té16	143,5	89,8	137,4
Té17	120,1	118,2	151,9
Té18	97,0	89,4	43,1
Té19	121,8	117,1	120,0
Té20	129,5	118,3	138,1
Té21	107,6	95,0	135,3
MO1	149,7	130,8	137,6
MO2	133,7	99,9	115,7
MO3	82,5	117,4	63,8
MO4	119,0	94,0	73,2
MO5	108,9	87,2	115,5
MO6	139,3	116,0	70,5
MO7	156,5	101,0	161,9
MO8	107,0	125,0	145,1
MO9	166,0	136,9	152,8
MO10	141,5	111,5	127,8
MO11	100,1	91,3	127,4
MO12	130,5	119,4	60,1
MO13	124,1	111,8	148,3
MO14	102,2	82,2	139,4
MO15	122,2	98,9	118,8
MO16	134,5	146,3	126,5
MO17	109,1	83,7	127,1
MO18	136,6	107,7	156,9
MO19	138,6	113,1	162,8
MO20	122,5	141,9	162,4
MO21	117,0	126,7	161,7
Bd1	127,0	104,5	142,1
Bd2	107,8	118,7	150,4
Bd3	96,8	163,4	147,0
Bd4	109,9	108,6	136,9
Bd5	104,1	146,5	148,1
Bd6	97,8	129,5	162,8
Bd7	119,6	96,3	119,7
Bd8	108,2	111,4	123,0
Bd9	101,5	168,4	175,4
Bd10	100,4	118,7	150,4
Bd11	116,7	201,1	114,4
Bd12	113,0	114,0	131,7
Bd13	113,5	119,9	164,3
Bd14	107,0	160,9	117,5
Bd15	101,1	157,1	119,0
Bd16	114,6	96,9	115,4
Bd17	93,6	78,1	114,2
Bd18	123,3	206,2	158,7
Bd19	125,5	101,8	111,6
Bd20	134,5	132,9	68,7
Bd21	142,4	225,9	189,6

	2005		
	T0	T1	T2
Té1	84,8	109,0	132,9
Té3	53,7	82,7	93,6
Té5	104,3	96,3	108,1
Té7	85,6	138,7	88,3
Té9	99,8	117,1	93,6
Té11	135,0	88,3	91,4
Té13	81,4	98,1	87,1
Té15	80,3	79,5	67,6
Té17	115,3	102,8	98,3
Té19	97,7	105,5	74,9
Té21	80,6	91,9	93,6
MO1	107,8	120,3	111,6
MO3	104,7	114,4	127,0
MO5	109,4	91,7	142,1
MO7	128,5	110,8	89,7
MO9	108,2	110,1	160,3
MO11	92,9	96,7	87,6
MO13	113,5	97,1	166,2
MO15	102,1	94,6	43,6
MO17	93,3	110,9	96,5
MO19	123,0	114,4	119,1
MO21	135,3	121,4	138,9
Bd1	109,5	170,5	103,4
Bd3	145,4	116,2	139,2
Bd5	123,4	167,0	141,3
Bd7	92,3	138,1	114,6
Bd9	105,7	120,7	123,1
Bd11	98,9	76,9	103,3
Bd13	108,9	131,1	103,9
Bd15	92,4	97,0	130,3
Bd17	80,8	74,2	110,9
Bd19	91,8	157,4	93,2
Bd21	148,9	140,0	133,1

Annexe 5 : Densités microbiennes, CFU/g sol sec, moyenne de 3 répétitions par échantillon

	Densités bactériennes					
	2004			2005		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
Té1	5,41E+07	3,96E+07	2,79E+07	1,59E+07	1,22E+07	2,13E+07
Té3	3,92E+07	4,51E+07	1,60E+07	3,14E+07	1,10E+07	1,80E+07
Té5	4,19E+07	3,19E+07	2,66E+07	3,07E+07	1,32E+07	1,63E+07
Té7	3,10E+07	2,77E+07	2,56E+07	1,70E+07	3,98E+07	1,58E+07
Té9	4,78E+07	3,07E+07	3,32E+07	1,24E+07	8,28E+06	2,08E+07
Té11	5,56E+07	3,17E+07	1,62E+07	3,15E+07	9,95E+06	2,44E+07
Té13	5,12E+07	3,52E+07	2,46E+07	1,42E+07	1,64E+07	1,63E+07
Té15	4,50E+07	2,78E+07	2,09E+07	1,39E+07	1,37E+07	1,78E+07
Té17	3,30E+07	3,57E+07	2,75E+07	3,96E+07	1,33E+07	1,76E+07
Té19	4,69E+07	4,43E+07	1,55E+07	1,11E+07	1,72E+07	2,61E+07
Té21	4,45E+07	2,64E+07	1,51E+07	1,66E+07	1,97E+07	2,91E+07
MO1	9,73E+07	3,17E+07	2,77E+07	6,42E+07	1,45E+07	3,86E+07
MO3	1,12E+08	2,75E+07	3,77E+07	3,75E+07	1,70E+07	2,18E+07
MO5	5,93E+07	2,32E+07	1,78E+07	5,41E+07	1,26E+07	1,58E+07
MO7	5,79E+07	2,55E+07	2,39E+07	5,83E+07	1,28E+07	1,72E+07
MO9	6,33E+07	4,33E+07	5,21E+07	1,97E+07	1,63E+07	1,67E+07
MO11	2,85E+07	2,81E+07	2,16E+07	2,36E+07	1,43E+07	2,53E+07
MO13	4,01E+07	2,28E+07	2,54E+07	1,79E+07	7,71E+06	2,29E+07
MO15	3,17E+07	1,91E+07	2,32E+07	3,32E+07	1,31E+07	2,49E+07
MO17	4,31E+07	2,44E+07	2,42E+07	3,18E+07	1,66E+07	2,26E+07
MO19	5,15E+07	2,44E+07	2,16E+07	6,73E+07	1,72E+07	3,18E+07
MO21	3,79E+07	1,06E+08	2,22E+07	6,51E+07	1,55E+07	2,56E+07
Bd1	9,10E+07	6,04E+07	3,29E+07	3,76E+07	7,71E+07	2,05E+07
Bd3	6,00E+07	1,02E+08	2,26E+07	7,07E+07	1,01E+08	3,58E+07
Bd5	4,15E+07	9,48E+07	4,14E+07	5,41E+07	1,14E+08	4,41E+07
Bd7	4,74E+07	7,57E+07	4,13E+07	5,38E+07	6,95E+07	2,33E+07
Bd9	4,07E+07	1,25E+08	4,47E+07	2,41E+07	5,29E+07	2,58E+07
Bd11	5,48E+07	1,21E+08	2,40E+07	1,74E+07	3,00E+07	2,37E+07
Bd13	3,27E+07	4,42E+07	2,67E+07	3,26E+07	8,37E+07	2,31E+07
Bd15	3,23E+07	1,14E+08	4,68E+07	1,66E+07	7,92E+07	2,58E+07
Bd17	2,44E+07	5,25E+07	2,52E+07	6,54E+07	6,35E+07	2,02E+07
Bd19	4,37E+07	5,76E+07	2,64E+07	6,70E+07	6,70E+07	3,08E+07
Bd21	3,91E+07	1,26E+08	3,73E+07	2,35E+07	5,92E+07	3,12E+07

	Densités fongiques					
	2004			2005		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
Té1	1,75E+05	1,05E+05	1,54E+05	1,26E+05	1,18E+05	1,11E+05
Té3	1,14E+05	1,32E+05	2,50E+05	1,17E+05	1,10E+05	9,05E+04
Té5	2,66E+05	1,38E+05	2,84E+05	2,19E+05	1,47E+05	1,48E+05
Té7	1,15E+05	1,51E+05	1,39E+05	1,25E+05	9,63E+04	1,05E+05
Té9	2,24E+05	2,37E+05	2,12E+05	1,76E+05	1,37E+05	1,36E+05
Té11	1,32E+05	1,42E+05	1,40E+05	1,48E+05	8,57E+04	1,22E+05
Té13	1,18E+05	1,24E+05	1,72E+05	1,47E+05	1,10E+05	1,36E+05
Té15	1,73E+05	2,06E+05	1,23E+05	1,44E+05	1,14E+05	1,16E+05
Té17	1,89E+05	2,01E+05	1,83E+05	1,91E+05	1,33E+05	1,13E+05
Té19	1,76E+05	9,95E+04	1,60E+05	9,06E+04	1,02E+05	1,03E+05
Té21	1,86E+05	8,66E+04	1,24E+05	1,43E+05	1,32E+05	1,11E+05
MO1	2,88E+05	1,46E+05	2,00E+05	1,59E+05	1,45E+05	1,16E+05
MO3	3,04E+05	1,51E+05	1,83E+05	1,32E+05	1,03E+05	1,18E+05
MO5	2,31E+05	1,93E+05	1,85E+05	1,64E+05	1,27E+05	1,08E+05
MO7	4,29E+05	1,54E+05	2,12E+05	2,23E+05	1,49E+05	1,32E+05
MO9	2,33E+05	1,67E+05	2,46E+05	2,42E+05	1,57E+05	9,64E+04
MO11	1,08E+05	1,48E+05	1,57E+05	1,37E+05	1,14E+05	1,22E+05
MO13	1,44E+05	1,96E+05	1,42E+05	1,73E+05	1,14E+05	1,30E+05
MO15	1,96E+05	1,25E+05	1,44E+05	1,30E+05	1,21E+05	1,05E+05
MO17	1,56E+05	1,14E+05	2,00E+05	1,23E+05	9,69E+04	1,14E+05
MO19	1,31E+05	9,77E+04	1,40E+05	1,71E+05	1,78E+05	1,13E+05
MO21	1,15E+05	6,38E+04	1,98E+05	1,55E+05	1,06E+05	9,45E+04
Bd1	3,54E+05	3,06E+05	2,14E+05	2,14E+05	4,72E+05	2,77E+05
Bd3	2,65E+05	8,82E+04	3,33E+05	2,19E+05	1,38E+05	1,66E+05
Bd5	1,84E+05	1,15E+06	1,96E+05	1,83E+05	6,25E+05	2,30E+05
Bd7	3,73E+05	5,89E+05	3,51E+05	2,41E+05	1,09E+06	3,06E+05
Bd9	3,02E+05	4,03E+05	4,50E+05	2,35E+05	1,88E+05	2,15E+05
Bd11	1,81E+05	1,62E+06	2,97E+05	2,83E+05	4,78E+04	3,00E+05
Bd13	2,88E+05	4,18E+05	3,31E+05	2,13E+05	1,35E+06	2,85E+05
Bd15	1,58E+05	1,08E+05	3,13E+05	1,72E+05	9,82E+04	1,30E+05
Bd17	1,29E+05	9,94E+05	2,40E+05	1,74E+05	1,91E+05	2,42E+05
Bd19	1,83E+05	5,95E+05	2,37E+05	2,52E+05	3,21E+05	2,64E+05
Bd21	2,90E+05	9,40E+05	2,47E+05	2,47E+05	1,69E+05	2,37E+05

Annexe 6 : densités de nématodes (/dm3) dans les échantillons de sol

Aphel = *Aphelenchus avenae*, Boleo = *Boleodorus thylactus*, Cos and. = *Coslenchus andrassyi*, Cos rug. = *Coslenchus rugosus*, Cos sp. = *Coslenchus* sp., Disco = *Discolaimium* sp., Dityl = *Ditylenchus longimatricalis*, Helico = *Helicotylenchus pseudorobustus*, Hemicy = *Hemicycliophora similes*, Merli = *Merlinius brevidens*, Praty = *Pratylenchus penetrans*, Psilen = *Psilenchus terextremus*, Tricho = *Trichodorus primitivus*, Non phyto = nématodes libres.

Prélèvement T0 de 2004

	Aphel	Boleo	Cos and	Cos rug	Cos sp.	Disco	Dityl	Helico	Hemicy	Merli	Pratyl	Psilen	Tricho	Non phyto
Té1	160	520	120	800	0	0	40	0	0	0	0	0	0	3560
Té2	160	400	40	360	0	0	0	0	0	0	200	0	0	1120
Té3	400	120	320	240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1640
Té4	160	240	120	480	0	0	80	0	0	0	0	0	0	640
Té5	320	44	320	360	0	0	80	0	80	0	0	0	40	520
Té6	120	280	160	560	0	0	0	0	0	0	0	0	0	680
Té7	0	360	120	320	0	0	0	0	0	0	160	0	0	1080
Té8	40	200	280	600	0	0	40	0	0	0	0	0	0	440
Té9	120	0	0	60	0	0	0	0	0	400	0	0	0	2400
Té10	280	400	120	640	0	0	120	0	0	0	40	0	40	1600
Té11	200	0	0	1000	0	0	60	0	0	120	0	0	0	3600
Té12	20	0	0	1380	0	0	0	0	0	300	0	0	0	11400
Té13	120	480	120	1800	120	0	80	0	0	0	120	0	0	3760
Té14	240	800	120	2480	0	0	160	0	0	0	0	0	0	3680
Té15	280	120	160	560	0	0	160	0	0	0	280	0	160	1000
Té16	0	200	120	960	0	0	0	0	80	0	200	0	0	8000
Té17	280	200	80	600	0	0	0	0	0	0	120	0	0	1040
Té18	0	40	0	160	0	0	0	0	0	0	0	0	40	680
Té19	160	280	40	760	0	0	0	0	120	0	200	0	40	400
Té20	80	400	240	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	520
Té21	160	440	40	2320	0	0	80	0	120	0	0	0	160	1520
MO1	338	94	112	607	26	0	69	0	4	24	20	0	29	2087
MO2	2000	200	200	400	0	0	320	0	0	0	0	0	0	3600
MO3	360	80	40	560	160	0	0	0	0	0	0	0	40	4760
MO4	360	160	280	480	0	0	0	0	0	0	240	0	0	1560
MO5	0	0	0	240	0	0	80	0	0	0	0	0	0	1200
MO6	800	80	40	280	0	0	40	0	0	0	0	0	0	3640
MO7	120	80	0	800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2960
MO8	320	320	320	1200	0	0	160	0	80	0	0	0	40	440
MO9	440	0	0	0	0	0	0	0	0	300	0	0	0	3600
MO10	200	120	240	400	0	0	160	0	0	0	0	0	120	560
MO11	0	0	0	460	0	0	20	0	0	60	0	0	100	1300
MO12	680	160	280	280	0	0	80	0	0	0	0	0	40	2120
MO13	360	0	0	2000	0	0	80	0	0	120	0	0	0	2000
MO14	80	0	0	0	0	0	160	0	0	0	0	0	0	760
MO15	80	40	40	720	80	0	0	0	0	0	0	0	0	720
MO16	0	0	40	800	0	0	40	0	0	0	0	0	0	1600
MO17	280	0	200	600	200	0	0	0	0	0	0	0	0	800
MO18	200	200	40	320	80	0	0	0	0	0	0	0	0	840
MO19	120	160	0	1200	0	0	120	0	0	0	160	0	0	6840
MO20	360	40	440	680	0	0	120	0	0	0	0	0	0	760
MO21	0	240	80	720	0	0	0	0	0	0	0	0	240	1680
Bd1	200	280	0	800	0	0	80	0	120	0	0	0	40	520
Bd2	0	720	0	520	0	0	80	0	0	0	120	0	0	0
Bd3	0	80	40	600	0	0	160	0	0	0	0	0	0	1920
Bd4	80	200	80	400	0	0	40	0	0	0	0	0	0	600
Bd5	280	160	0	480	0	0	0	0	40	0	0	0	80	800
Bd6	40	40	80	1240	80	0	40	0	0	0	80	0	0	2480
Bd7	40	360	360	520	0	0	40	0	0	0	0	0	0	560
Bd8	40	120	0	600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	680
Bd9	100	0	0	980	0	0	20	0	0	200	0	0	60	3000
Bd10	80	200	280	440	0	0	40	0	0	0	0	0	0	640
Bd11	80	0	0	560	0	0	60	0	0	320	0	0	16	1200
Bd12	120	0	0	860	0	0	40	0	20	180	0	0	60	2200
Bd13	80	280	120	600	0	0	0	0	0	0	0	0	80	0
Bd14	200	160	0	200	0	0	160	0	0	0	0	0	0	1120
Bd15	171	180	114	602	10	0	58	0	17	35	10	0	19	1070
Bd16	400	80	200	320	0	0	0	0	40	0	0	0	0	80
Bd17	40	80	80	240	80	0	40	0	0	0	0	0	0	1000
Bd18	1200	400	600	800	0	0	160	0	120	0	0	0	0	2000
Bd19	160	120	200	600	0	0	120	0	0	0	0	0	0	480
Bd20	200	200	200	800	0	0	40	0	0	0	0	0	40	400
Bd21	80	120	40	480	40	0	40	0	0	0	0	0	0	1720

Prélèvement T1 de 2004

	Aphel	Boleo	Cos and.	Cos rug.	Cos sp.	Disco	Dityl	Helico	Hemicy	Merli	Praty	Psilen	Tricho	Non phyto
Té1	44	40	0	92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	572
Té2	28	60	8	96	0	0	0	0	0	0	8	0	0	448
Té3	32	32	0	56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400
Té4	16	52	0	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	708
Té5	40	80	16	280	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1224
Té6	32	12	12	56	0	0	16	0	0	0	0	0	0	308
Té7	12	16	24	232	0	0	0	0	0	0	0	0	0	440
Té8	0	68	16	220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	752
Té9	32	160	32	156	0	0	16	0	0	0	0	0	0	312
Té10	20	56	32	104	0	0	4	0	0	0	0	8	0	280
Té11	8	48	12	176	0	0	8	0	0	0	0	4	0	312
Té12	8	60	4	172	0	0	4	0	0	0	0	0	0	728
Té13	32	60	8	312	0	0	4	0	0	0	4	8	4	532
Té14	56	104	24	124	0	0	4	0	0	0	16	28	0	820
Té15	12	84	24	192	0	0	4	0	0	0	0	4	0	744
Té16	20	196	4	172	0	0	0	0	20	0	60	8	0	344
Té17	28	32	8	108	0	0	8	0	0	0	12	4	4	392
Té18	8	28	0	172	0	0	0	0	0	0	8	20	0	216
Té19	12	76	8	100	0	0	4	0	4	0	32	8	4	704
Té20	16	124	0	76	8	0	0	0	8	0	4	0	0	452
Té21	0	80	32	176	20	0	0	0	8	0	0	0	0	228
MO1	32	8	0	36	0	0	48	0	0	0	4	20	0	448
MO2	12	4	0	16	0	0	12	0	0	0	0	0	0	200
MO3	4	8	0	24	0	0	8	0	0	0	0	0	0	188
MO4	8	24	12	44	0	0	4	0	0	0	4	4	0	324
MO5	16	4	8	36	0	0	4	0	0	0	0	0	0	488
MO6	4	4	8	16	0	0	0	0	8	0	0	4	0	240
MO7	24	4	8	48	0	0	8	0	0	0	0	0	0	452
MO8	4	4	8	72	0	0	0	0	0	0	0	8	0	536
MO9	12	28	8	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	476
MO10	60	108	52	216	0	0	12	0	0	0	8	32	12	1400
MO11	20	100	48	168	0	0	0	0	0	0	0	16	0	1600
MO12	120	208	48	200	0	4	48	0	0	0	0	72	0	1600
MO13	28	140	28	140	0	0	20	0	0	0	0	0	0	800
MO14	80	160	60	212	0	0	28	0	0	0	0	0	0	1200
MO15	120	68	48	348	0	20	4	0	0	0	0	0	4	1280
MO16	76	188	84	240	0	0	8	0	0	0	0	0	0	1000
MO17	100	64	60	280	0	0	20	0	0	0	0	0	0	600
MO18	80	68	20	80	0	8	8	0	0	0	0	16	0	200
MO19	60	72	48	60	0	4	28	0	0	0	0	24	0	600
MO20	48	72	48	68	0	0	40	0	0	0	0	4	0	1400
MO21	480	156	48	320	0	20	0	0	0	0	0	16	0	872
Bd1	68	112	68	124	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1200
Bd2	0	12	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	80
Bd3	120	12	4	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	140
Bd4	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	48
Bd5	0	0	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28
Bd6	600	60	12	136	0	0	0	4	0	0	0	4	0	628
Bd7	280	44	16	84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	668
Bd8	300	204	28	200	0	4	16	0	0	0	0	0	12	1200
Bd9	600	208	16	280	0	4	12	0	0	0	0	4	20	1200
Bd10	200	272	40	800	0	16	24	0	0	0	0	16	4	1316
Bd11	480	52	16	48	0	4	24	0	0	0	0	16	16	1000
Bd12	200	56	12	60	0	4	28	0	0	0	0	4	0	1200
Bd13	280	64	28	84	0	4	0	0	0	0	0	0	0	1000
Bd14	604	340	56	368	0	80	0	0	0	0	0	8	16	1200
Bd15	524	284	48	320	0	60	0	4	0	0	0	4	0	796
Bd16	480	356	12	336	0	48	0	0	0	0	0	16	48	1240
Bd17	280	220	12	280	0	60	0	0	0	0	0	4	36	1000
Bd18	340	240	28	360	0	84	0	0	0	0	0	12	60	1004
Bd19	600	240	16	300	0	0	0	0	0	0	0	0	12	1200
Bd20	360	300	28	340	0	0	0	0	0	0	0	0	68	800
Bd21	440	140	16	288	0	0	4	0	0	0	0	0	12	840

Prélèvement T2 de 2004

	Aphel	Boleo	Cos and.	Cos rug.	Cos sp.	Disco	Dityl	Helico	Hemicy	Merli	Praty	Psilen	Tricho	Non phyto
Té1	20	100	0	176	0	4	0	0	0	0	0	0	20	1680
Té2	0	600	0	600	0	20	80	20	0	0	0	0	0	1300
Té3	0	80	0	160	0	0	20	0	0	0	0	20	40	700
Té4	40	360	0	800	0	0	100	0	0	0	0	0	40	2080
Té5	0	520	0	200	0	0	0	0	0	0	0	20	60	940
Té6	160	480	0	280	0	0	0	0	0	0	0	0	20	940
Té7	0	40	0	240	0	0	0	0	0	0	0	0	60	1480
Té8	200	740	0	1800	0	0	20	0	0	0	0	0	0	2340
Té9	260	600	0	880	0	0	60	0	0	0	0	20	140	3480
Té10	120	200	0	360	0	0	60	0	0	0	0	0	0	2760
Té11	160	280	0	240	0	0	0	0	0	0	0	20	0	1180
Té12	0	40	0	300	0	0	20	0	0	0	0	0	0	1320
Té13	0	100	0	300	0	0	80	0	0	0	0	20	140	1300
Té14	40	400	0	320	0	0	20	0	0	0	0	0	40	1640
Té15	0	380	0	340	0	0	40	0	0	0	0	0	40	1640
Té16	20	460	0	280	0	60	40	0	0	0	0	20	220	2180
Té17	40	180	0	580	0	20	20	0	0	0	20	20	0	2500
Té18	40	480	20	420	0	0	0	0	0	0	0	0	320	980
Té19	40	20	0	160	0	0	100	0	20	0	0	0	0	1440
Té20	40	260	0	740	0	0	40	0	0	0	40	80	100	2120
Té21	120	440	80	920	0	0	0	0	60	0	20	20	120	2140
MO1	0	20	20	120	0	0	0	0	0	0	0	20	0	780
MO2	40	0	620	260	0	0	0	0	0	0	20	20	0	2580
MO3	40	180	60	120	0	0	20	0	0	0	20	20	20	2380
MO4	140	60	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2040
MO5	100	140	40	220	0	0	20	0	0	0	0	0	0	1140
MO6	200	200	120	180	0	0	20	0	0	0	0	0	0	2100
MO7	100	240	20	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2240
MO8	20	0	20	20	0	0	0	0	0	0	0	40	0	1380
MO9	80	140	40	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	580
MO10	200	120	140	200	0	0	0	0	0	0	0	0	160	2840
MO11	100	240	120	520	0	0	0	0	0	0	0	0	220	2840
MO12	100	380	40	560	0	0	0	0	0	0	0	0	140	1960
MO13	148	68	44	668	0	0	0	0	0	0	0	0	124	3204
MO14	44	148	84	268	0	0	0	0	0	0	0	0	288	1944
MO15	64	440	84	468	0	0	0	0	0	0	0	0	224	1932
MO16	24	152	48	364	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1364
MO17	80	240	160	1360	0	0	0	0	0	0	0	0	1360	1480
MO18	12	484	124	188	0	0	0	0	0	0	0	64	64	2840
MO19	24	200	200	584	0	0	44	0	0	0	0	40	44	1408
MO20	120	200	100	220	0	0	0	0	0	0	0	60	40	2120
MO21	124	280	56	288	0	0	0	0	0	0	0	0	16	4704
Bd1	204	512	52	236	0	0	0	0	0	0	8	92	0	2016
Bd2	208	212	36	276	0	0	16	0	0	0	0	36	0	760
Bd3	164	156	0	0	0	12	12	0	0	0	0	16	0	1832
Bd4	96	472	80	344	0	0	0	0	0	0	0	120	0	1556
Bd5	116	608	164	396	0	0	0	0	0	0	0	88	0	1460
Bd6	372	272	100	768	0	0	0	24	0	0	0	64	0	1808
Bd7	104	692	252	1128	0	0	0	0	0	0	0	104	52	1324
Bd8	364	420	76	452	0	0	0	0	0	0	0	48	0	1852
Bd9	368	464	36	1564	0	20	720	0	0	0	0	0	36	3400
Bd10	36	556	124	792	0	0	12	0	0	0	0	72	252	2604
Bd11	768	504	172	456	0	0	12	0	20	0	0	84	468	3912
Bd12	436	336	112	332	0	12	272	0	0	0	0	0	268	2752
Bd13	280	344	112	632	0	0	36	0	0	0	0	76	368	3032
Bd14	280	344	108	316	0	0	12	0	0	0	0	36	116	4020
Bd15	328	348	952	1972	0	0	0	0	0	0	0	36	364	5280
Bd16	172	68	12	260	0	0	0	20	0	0	0	0	20	1680
Bd17	60	160	292	448	0	12	0	0	20	0	0	48	324	2208
Bd18	0	544	176	1316	0	0	0	24	0	0	0	40	76	1872
Bd19	164	772	400	564	0	0	0	0	56	0	0	0	364	3780
Bd20	148	212	0	272	0	0	0	0	0	0	0	0	12	2192
Bd21	0	88	36	276	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2616

Prélèvement T0 de 2005

	Aphel	Boleo	Cos and.	Cos rug.	Cos sp.	Disco	Dityl	Helico	Hemicy	Merli	Praty	Psilen	Tricho	Non phyto
Té1	120	360	80	400	240	0	0	0	0	0	0	0	0	9760
Té2	0	120	0	40	120	0	0	0	0	0	0	160	0	2160
Té3	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	600
Té4	0	400	120	360	40	0	0	0	0	0	0	80	0	2480
Té5	0	0	80	200	40	0	0	0	0	0	0	0	0	600
Té6	40	40	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	680
Té7	200	240	80	240	40	0	0	0	0	0	0	40	0	2560
Té8	80	640	200	480	160	0	0	0	0	0	0	40	0	1000
Té9	120	240	80	400	40	0	0	0	0	0	0	40	0	1320
Té10	160	320	240	440	40	0	0	0	0	0	0	200	120	2040
Té11	40	160	160	240	40	0	0	0	0	0	0	0	40	1240
Té12	0	40	80	400	120	0	0	0	0	0	0	0	0	1400
Té13	80	160	40	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	880
Té14	240	520	120	920	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1400
Té15	240	360	40	480	80	0	0	0	0	0	0	40	120	1600
Té16	160	560	80	200	40	0	40	0	0	0	80	40	0	2760
Té17	40	400	40	80	160	0	0	0	0	0	0	0	0	680
Té18	120	200	160	160	40	0	0	0	0	0	0	80	120	3400
Té19	240	360	200	240	200	0	0	0	40	0	40	0	120	2600
Té20	120	520	160	400	0	0	0	0	0	0	0	40	120	2800
Té21	0	80	160	160	240	0	0	0	0	0	0	120	120	1720
MO1	40	40	0	0	80	0	0	0	0	0	0	40	0	10000
MO2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0	1240
MO3	0	0	0	40	40	0	0	0	0	0	0	40	0	920
MO4	0	0	40	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1280
MO5	0	160	40	40	0	0	0	0	0	0	0	40	0	1000
MO6	80	400	280	560	280	0	0	0	0	0	0	80	0	2480
MO7	200	160	160	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	840
MO8	0	360	320	200	0	0	0	0	0	0	0	40	0	3800
MO9	0	120	120	240	0	0	40	0	0	0	0	160	40	1560
MO10	80	0	40	120	0	0	0	0	0	0	0	0	80	1280
MO11	40	80	40	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	520
MO12	160	160	0	320	0	0	0	0	0	0	0	40	40	1680
MO13	240	0	80	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3600
MO14	320	160	160	920	0	0	0	0	0	0	0	80	160	3000
MO15	120	320	320	480	0	0	40	0	0	0	0	40	280	1040
MO16	80	0	0	480	0	0	0	0	0	0	0	40	240	920
MO17	80	280	0	440	0	0	40	0	0	0	0	0	80	5160
MO18	120	0	0	200	0	0	0	0	0	0	0	0	360	880
MO19	80	120	0	1360	0	0	0	0	0	0	0	40	40	3320
MO20	480	200	320	600	0	0	40	0	0	0	0	120	80	3920
MO21	320	240	160	480	0	0	40	0	0	0	0	80	120	3000
Bd1	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	40	0	440
Bd2	80	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	80	0	440
Bd3	120	280	80	360	0	0	160	0	0	0	0	80	0	1640
Bd4	240	160	120	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	680
Bd5	400	160	0	80	0	0	0	0	0	0	40	40	0	1200
Bd6	40	40	0	400	0	0	0	0	0	0	0	40	0	2240
Bd7	80	320	0	160	0	0	0	0	0	0	0	80	0	1040
Bd8	40	0	0	160	0	0	120	0	0	0	0	0	0	2120
Bd9	760	0	0	160	0	0	80	0	0	0	0	40	80	1120
Bd10	80	0	0	0	0	0	80	0	0	0	0	0	0	2200
Bd11	200	0	0	560	0	0	40	0	0	0	0	80	320	1920
Bd12	440	80	0	480	0	0	40	0	0	0	0	80	0	1280
Bd13	240	160	0	320	0	0	0	0	0	0	0	80	520	2680
Bd14	0	240	0	200	0	0	0	0	0	0	0	80	400	3480
Bd15	200	80	80	120	0	0	0	0	0	0	0	40	80	1800
Bd16	200	200	0	600	0	0	0	0	0	0	0	0	120	1520
Bd17	160	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	160	800
Bd18	560	320	40	1080	0	0	160	0	0	0	40	120	120	2680
Bd19	40	40	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	880
Bd20	680	0	80	200	0	0	160	0	0	0	0	0	40	3000
Bd21	120	80	0	560	0	0	0	0	0	0	0	0	40	2040

Prélèvement T1 de 2005

	Aphel	Boleo	Cos and.	Cos rug.	Cos sp.	Disco	Dityl	Helico	Hemicy	Merli	Praty	Psilen	Tricho	Non phyto
Té1	40	160	80	600	40	0	0	0	0	0	0	120	80	5800
Té2	40	40	80	200	0	0	0	0	0	0	0	0	40	960
Té3	80	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	120	0	760
Té4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1520
Té5	40	240	120	280	120	0	0	0	0	0	0	0	0	3880
Té6	40	120	40	120	0	0	0	0	0	0	0	40	0	720
Té7	0	80	0	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2960
Té8	80	40	0	160	0	0	0	0	0	0	0	80	0	1200
Té9	0	0	120	280	40	0	0	0	0	0	0	80	40	2520
Té10	160	400	120	240	40	0	0	0	0	0	0	0	40	1880
Té11	40	80	160	240	0	0	0	0	0	0	0	120	0	2200
Té12	280	40	80	400	0	0	0	0	0	0	0	80	0	5520
Té13	200	120	0	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2360
Té14	320	120	40	120	0	0	0	0	0	0	0	40	0	1800
Té15	40	0	40	280	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2720
Té16	80	200	80	320	0	0	0	0	0	0	0	120	40	8440
Té17	40	320	80	160	0	0	0	0	0	0	0	40	40	2440
Té18	0	160	80	440	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2120
Té19	0	120	0	200	0	0	0	0	0	0	0	80	40	1280
Té20	240	360	0	640	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2040
Té21	0	120	40	480	0	0	40	0	0	0	0	0	360	1640
MO1	80	0	0	120	0	0	80	80	0	0	0	0	0	640
MO2	0	0	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1160
MO3	0	0	40	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1440
MO4	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1000
MO5	40	120	0	200	0	0	0	0	0	0	0	40	40	2360
MO6	80	120	0	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2600
MO7	0	80	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	3000
MO8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2080
MO9	0	40	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	1080
MO10	0	40	40	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	560
MO11	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1120
MO12	0	40	0	80	0	0	0	0	0	0	0	40	0	3440
MO13	0	280	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1200
MO14	80	40	80	160	0	0	0	0	0	0	0	40	40	1280
MO15	0	80	0	120	0	0	0	0	0	0	0	0	120	1360
MO16	0	80	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	40	1080
MO17	0	80	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	800
MO18	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	760
MO19	0	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1000
MO20	80	400	40	360	0	0	80	0	0	0	0	80	0	1200
MO21	160	480	240	440	0	0	80	80	0	0	0	0	160	2200
Bd1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1280
Bd2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	200	960
Bd3	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	480
Bd4	560	0	0	80	0	0	0	0	0	0	0	40	40	400
Bd5	40	0	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	240
Bd6	40	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120
Bd7	160	40	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	80	760
Bd8	0	0	0	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200
Bd9	40	80	0	40	0	0	0	0	0	0	0	40	0	280
Bd10	560	80	0	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	640
Bd11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	160
Bd12	240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	240
Bd13	0	0	0	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bd14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40
Bd15	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bd16	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	160
Bd17	520	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400
Bd18	1160	0	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	600
Bd19	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	80
Bd20	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	160
Bd21	3280	0	0	160	0	0	0	0	0	0	0	0	120	2040

Prélèvement T2 de 2005

	Aphel	Boleo	Cos and.	Cos rug.	Cos sp.	Disco	Dityl	Helico	Hemicy	Merli	Praty	Psilen	Tricho	Non phyto
Té1	60	0	60	0	0	0	200	0	0	140	0	0	0	1740
Té2	0	0	60	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	2480
Té3	20	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	20	940
Té4	0	0	60	0	0	0	120	20	0	20	0	0	0	1400
Té5	0	0	340	0	0	0	500	0	0	40	0	0	0	1680
Té6	0	0	100	0	0	0	80	0	0	60	0	0	0	1200
Té7	0	0	120	0	0	80	360	0	0	0	0	0	0	2620
Té8	40	0	300	0	0	0	1020	80	0	40	0	0	20	3300
Té9	0	0	680	0	0	40	640	40	0	120	0	0	80	4840
Té10	0	0	200	0	0	0	640	0	0	40	0	0	0	3880
Té11	320	0	400	0	0	0	0	0	0	0	0	880	0	2240
Té12	0	0	140	0	0	0	120	0	0	0	0	0	0	2460
Té13	60	0	160	0	0	0	940	0	0	40	0	0	0	2400
Té14	0	0	120	0	0	0	220	0	0	0	0	0	0	3020
Té15	0	0	60	0	0	0	80	0	0	0	0	0	0	1300
Té16	20	0	140	0	0	0	480	0	0	60	0	0	0	5840
Té17	0	0	140	0	0	0	120	0	0	80	0	0	100	4520
Té18	0	0	240	0	0	0	140	0	0	60	0	0	160	4220
Té19	0	0	80	0	0	0	500	0	0	40	0	0	0	4380
Té20	0	0	160	0	0	0	420	0	0	80	0	0	40	7720
Té21	40	0	140	0	0	0	560	20	0	40	0	0	0	6320
MO1	0	0	20	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	2100
MO2	0	0	20	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	1040
MO3	0	0	0	0	0	0	160	0	0	40	0	0	0	1100
MO4	0	0	40	0	0	0	120	0	0	0	0	0	0	2340
MO5	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	520
MO6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	620
MO7	40	0	80	0	0	0	160	0	0	40	0	0	0	1940
MO8	0	0	40	0	0	0	420	0	0	20	0	0	100	3360
MO9	0	0	120	0	0	0	740	0	0	80	0	0	0	4400
MO10	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	3800
MO11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60	1400
MO12	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2400
MO13	0	0	0	0	0	40	80	0	0	0	0	0	40	3200
MO14	0	0	40	0	0	0	20	0	0	0	0	0	200	3980
MO15	0	0	120	0	0	0	400	0	0	0	0	0	20	2060
MO16	0	0	0	0	0	0	480	0	0	0	0	0	0	3840
MO17	0	0	60	0	0	0	140	0	0	20	0	0	0	1500
MO18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	20	1440
MO19	0	0	20	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	2500
MO20	0	0	40	0	0	0	60	0	0	20	0	0	0	2840
MO21	0	0	180	0	0	0	820	0	0	100	0	0	240	5140
Bd1	20	0	60	0	0	40	140	0	0	0	0	0	40	1160
Bd2	0	0	100	0	0	60	260	0	0	20	0	0	60	1800
Bd3	0	0	0	0	0	580	0	0	0	0	0	0	40	2840
Bd4	0	0	0	0	0	0	20	0	0	20	0	0	40	1300
Bd5	0	0	0	0	0	0	380	0	0	80	0	0	60	1800
Bd6	0	0	20	0	0	240	160	0	0	0	0	0	0	3760
Bd7	0	0	80	0	0	0	340	0	0	0	0	0	120	1420
Bd8	0	0	120	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0	2420
Bd9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5200
Bd10	0	0	0	0	0	460	460	0	0	0	0	0	180	3100
Bd11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	10560
Bd12	0	0	0	0	0	40	40	0	0	220	0	0	60	3400
Bd13	0	0	40	0	0	40	40	0	0	220	0	0	20	2360
Bd14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	500
Bd15	0	0	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	3400
Bd16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	2700
Bd17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bd18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2500
Bd19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4620
Bd20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4380
Bd21	0	0	0	0	0	180	20	0	0	0	0	0	640	40

Annexe 7 : Mesure de respiration basale des échantillons de sol (ml CO_2 / g sol sec / heure)

	2004					
	T0		T1		T2	
	0-3h	3-8h	0-3h	3-8h	0-3h	3-8h
Té1	37,56	29,38	66,81	36,63	33,26	15,73
Té3	22,59	20,62	367,99	100,95	21,28	11,96
Té5	33,37	20,93	53,35	37,17	19,25	15,43
Té7	36,11	23,94	91,22	49,46	28,38	16,48
Té9	45,30	26,43	42,28	33,00	25,71	19,20
Té11	44,18	33,50	74,16	51,51	18,77	9,85
Té13	123,08	118,85	68,35	41,91	14,22	12,62
Té15	31,52	24,99	45,55	26,80	21,20	70,88
Té17	35,55	19,23	79,17	49,58	18,93	8,80
Té19	43,77	23,64	69,49	33,07	15,83	8,61
Té21	32,92	26,98	37,02	31,86	16,37	13,04
MO1	42,78	39,27	47,57	29,93	27,04	13,95
MO3	45,34	31,62	44,50	28,08	60,48	56,48
MO5	116,43	112,66	87,61	91,72	17,20	9,40
MO7	39,65	28,52	63,13	28,81	18,94	6,29
MO9	43,75	22,12	57,97	32,94	19,39	14,27
MO11	19,97	11,84	46,07	30,83	28,91	6,80
MO13	30,73	12,68	84,93	26,08	69,83	13,95
MO15	23,59	21,23	50,22	19,94	14,16	6,40
MO17	120,16	40,95	43,67	25,72	13,54	12,32
MO19	106,85	98,60	54,03	15,33	13,53	4,33
MO21	41,17	31,54	57,97	32,94	14,45	9,21
Bd1	90,55	34,15	177,42	102,20	9,76	8,40
Bd3	36,22	23,47	152,48	97,13	7,98	15,05
Bd5	31,57	20,73	180,82	106,29	15,15	6,73
Bd7	32,12	24,48	78,18	45,45	14,25	8,32
Bd9	33,50	25,44	167,78	106,38	15,79	6,74
Bd11	47,12	40,12	132,83	93,85	13,68	3,88
Bd13	31,34	25,49	66,54	43,93	7,88	6,08
Bd15	28,20	18,35	141,65	76,36	23,30	6,03
Bd17	19,20	15,73	90,54	57,58	57,62	66,91
Bd19	115,52	26,81	62,97	39,60	35,67	65,97
Bd21	53,00	40,14	248,67	91,65	31,58	24,55

2005								
T0			T1			T2		
0-3h	3-5h	5-8h	0-3h	3-5h	5-8h	0-3h	3-5h	5-8h
29,05	16,97	11,05	3,87	10,25	6,11	58,88	42,05	22,35
15,46	9,68	13,37	8,16	7,76	9,62	36,11	22,01	8,41
15,46	9,68	13,37	18,05	7,01	11,36	20,10	8,53	6,80
17,23	8,06	19,60	20,23	15,39	9,52	51,08	41,42	4,99
18,24	8,85	11,89	10,02	10,88	15,36	61,04	42,09	15,22
15,46	9,68	13,37	12,14	10,42	9,87	78,94	54,14	42,21
10,46	4,74	11,99	10,82	8,94	17,19	6,92	7,09	7,21
9,18	7,65	11,23	9,93	5,26	11,46	13,24	4,58	18,38
16,09	8,05	17,97	8,53	4,50	7,58	9,45	1,83	7,82
11,40	12,72	12,93	15,15	7,12	8,81	80,12	54,92	28,83
12,03	10,41	10,27	14,61	4,39	10,96	80,13	47,37	37,17
16,85	13,13	17,08	5,79	8,11	9,55	10,92	5,85	2,61
15,31	8,72	14,54	11,94	7,49	6,40	67,32	48,82	25,35
16,85	13,13	17,08	5,98	3,80	6,24	40,10	30,85	4,59
16,85	13,13	17,08	6,07	4,59	5,75	9,97	1,91	4,73
10,64	6,03	19,97	7,67	6,92	4,49	54,51	41,87	10,15
8,53	8,20	6,71	4,45	3,99	4,00	9,85	3,10	3,39
11,14	9,43	11,61	7,80	19,92	15,50	21,33	8,98	5,94
23,43	9,36	20,96	11,91	8,54	8,68	60,42	34,02	117,82
14,52	21,59	10,37	11,44	11,24	10,38	33,72	31,29	136,39
16,85	13,13	17,08	14,43	5,31	8,09	13,17	14,07	34,93
34,40	28,60	35,39	6,71	9,94	7,04	29,68	47,06	131,36
19,76	12,77	5,95	16,66	10,64	11,10	1,91	6,84	27,86
25,72	29,16	9,90	22,23	18,54	21,41	5,88	6,95	25,47
16,23	13,12	3,22	59,25	41,10	56,53	7,35	20,20	30,09
15,58	12,05	7,57	39,21	24,95	31,36	6,94	6,28	27,34
6,95	13,53	6,09	23,54	13,78	21,46	71,58	32,47	60,03
4,98	3,32	5,29	15,68	6,24	14,78	7,02	3,83	10,67
16,43	11,54	11,50	22,84	22,70	24,75	33,48	17,91	11,84
6,44	4,33	3,69	43,76	18,33	36,51	55,39	49,21	64,45
15,58	12,05	7,57	31,11	30,17	36,94	7,15	8,93	10,90
29,23	13,95	12,85	19,31	18,73	20,12	49,25	35,41	48,94
14,48	6,74	9,67	17,37	10,85	17,44	12,84	16,86	10,29

Recherche d'indicateurs de la santé des sols

Résumé

Le sol est une ressource vivante, finie et dynamique. La santé d'un sol résulte d'interactions multiples entre des composantes physico-chimiques et biologiques, notamment les communautés microbiennes, primordiales pour le fonctionnement du sol. Les pratiques culturales ont une influence forte sur la santé des sols, au travers de modifications des caractéristiques physico-chimiques et de leur influence sur les communautés microbiennes des sols. Elles sont donc de plus en plus utilisées en protection des cultures. Afin de mesurer la santé des sols et de proposer des pratiques améliorantes, il est nécessaire de définir des indicateurs de la santé des sols. L'objectif de ce travail est la recherche d'indicateurs de la santé des sols, mis en évidence par l'appréciation de l'impact de deux pratiques culturales (apport de fumier composté et biodésinfection) sur des caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol, en relation avec l'aspect phytosanitaire d'une culture de carotte. Des analyses multivariées, associées à des analyses de co-inertie, ont révélé que certaines variables constituent des indicateurs potentiels de la santé du sol. En particulier, des modifications de ces descripteurs sont associées à la biodésinfection, qui a amélioré la résistance du sol aux maladies dues à *Rhizoctonia solani*. Une population *d'Aspergillus fumigatus*, préférentiellement associée au sol biodésinfecté, a aussi été mise en évidence. Au terme de ce travail, il est possible de proposer des descripteurs qui pourraient faire partie d'un bouquet d'indicateurs de la santé des sols. Cette étude devrait se poursuivre par la confirmation de l'intérêt des descripteurs proposés, la construction des indicateurs, et leur validation.

Mots clés

amendement organique, analyse de données, biodésinfection, caractéristiques biotiques et abiotiques, co-inertie, communautés microbiennes, nématodes, qualité phytosanitaire

Laboratoire

Unité Mixte de Recherche INRA/Université de Bourgogne
Microbiologie du Sol et de l'Environnement
17 rue Sully - BP 86510 - 21065 Dijon cedex