HAL open science

Analyse expérimentale de l'effet de couverts de légumineuses associés en relais à un blé d'hiver, conduit en agriculture biologique, sur les performances des cultures, la maîtrise des adventices et la dynamique de l'azote

Camille Amossé

To cite this version:

Camille Amossé. Analyse expérimentale de l'effet de couverts de légumineuses associés en relais à un blé d'hiver, conduit en agriculture biologique, sur les performances des cultures, la maîtrise des adventices et la dynamique de l'azote. Agronomie. AgroParisTech, 2013. Français. ⟨NNT : 2013AGPT0009⟩. ⟨tel-01179727⟩

HAL Id: tel-01179727

https://pastel.hal.science/tel-01179727v1

Submitted on 23 Jul 2015

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.

Autorisation HAL

HAL Authorization

ParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY

AgroParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET INDUSTRIES DU VIVANT ET DE L'ENVIRONNEMENT
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY FOR LIFE, FOOD AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

Ecole Doctorale ABIES
Agriculture Agriculture Alimentation Food Biologie Biology Environnement Environment Santé Health

Doctorat ParisTech

THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)

Spécialité : Agronomie

présentée et soutenue publiquement par

Camille AMOSSÉ

le 15 janvier 2013

Analyse expérimentale de l'effet de couverts de légumineuses associés en relais à un blé d'hiver, conduit en agriculture biologique, sur les performances des cultures, la maîtrise des adventices et la dynamique de l'azote

Directeur de thèse : **Marie-Hélène JEUFFROY**
Co-encadrement de la thèse : **Christophe DAVID**

Jury

M. **Paolo BÀRBERI**, Professeur, Scuola Superiore Sant'Anna, Pise, Italie	**Rapporteur**
Mme **Guénaëlle HELLOU**, Enseignant-Chercheur, ESA LEVA Angers	**Rapporteur**
M. **Christophe DAVID**, Directeur exécutif, ISARA-Lyon	**Encadrant**
M. **Thierry DORÉ**, Professeur, AgroParisTech	**Examinateur**
M. **François GASTAL**, Directeur de Recherche, INRA Lusignan	**Examinateur**
M. **Nicolas LECAT**, Directeur, AGRIBIO UNION, Salvagnac	**Examinateur**

isaralyon
Une école d'ingénieurs au cœur de la vie
UP SCAB
23 rue Jean Baldassini
69364 LYON cedex 07

INRA
UMR INRA AgroParisTech Agronomie
Batiment EGER
78 850 Thiverval-Grignon

Avant-propos

Cette thèse s'est déroulée au sein de l'unité de recherche "Systèmes Céréaliers en Agriculture Biologique" (SCAB) de l'ISARA-Lyon entre 2009 et 2012. Un travail préliminaire de structuration de l'analyse et de collecte de données, réalisé par M. Gaël GOULEVANT entre 2008 et 2009, a servi de base à ce travail. Cette thèse et le travail préliminaire ont été cofinancée par :

- Le schéma européen ERA-NET pour le soutien à la coopération et la coordination des programmes de recherche nationaux ou régionaux, dans le cadre du projet de recherche AGTEC-Org sur les méthodes d'amélioration de la qualité des blés biologiques, porté par le partenariat CORE Organic (www.coreorganic.org) ;
- L'Agence Nationale de la Recherche dans le cadre du projet PEPITES sur les processus écologiques, les processus d'innovation technique et sociale, et leurs interactions en agriculture de conservation, porté par le programme SYSTERRA (www.projet-pepites.org) ;
- La région Rhône-Alpes dans le cadre du "Grand projet 6 : Soutenir la compétitivité des filières agricoles – Soutien au développement de l'agriculture biologique" du contrat de projet État - région (CPER) 2007-2013 (www.rhone.gouv.fr).

Remerciements

Mes remerciements vont en premier lieu à mes deux co-directeurs de thèse : **Marie-Hélène JEUFFROY** et **Christophe DAVID**. Ils ont su trouver le temps pour m'accompagner durant ces trois années. Leur réactivité et leur rigueur m'ont largement aidé à tracer mon sillon.

Je remercie chaleureusement Florian CELETTE pour son soutien, ses suggestions et critiques pertinentes et sa participation dans la rédaction d'un des articles de cette thèse.

Je remercie Stéphane DE TOURDONNET pour m'avoir permis de me lancer dans cette aventure. Merci également aux membres du comité de pilotage de la thèse, pour leur regard critique sur mon travail : Thierry DORÉ, Nicolas MUNIER-JOLAIN et particulièrement Bruno MARY pour son aide précieuse dans la réalisation et la rédaction d'un des articles de la thèse.

Je remercie les membres du jury de thèse : Guénaëlle HELLOU et Paolo BÁRBERI comme rapporteurs, François GASTAL et Nicolas LECAT comme examinateurs et Thierry DORÉ, président de jury. Pour leur évaluation bienveillante de mon travail.

Ce travail n'aurait pas pu avoir lieu sans la participation des six agriculteurs qui ont mis à disposition leurs parcelles pour porter les expérimentations : MM. J.-M. BRUN, M. BREYTON, J.-M. CHANCEL, P. ROBIN, P. VACHER et D. VALENTIN. Je les remercie chaleureusement pour les risques qu'ils ont accepté de prendre et leur coopération dans ce travail. Merci également aux sociétés Frayssinet, particulièrement Olivier DEMARLE, et Jouffray-Drillaud, particulièrement Laurent CIPIÈRE, pour nous avoir fournis le matériel indispensable aux expérimentations (engrais organiques et semences fourragères).

Je remercie Gaël GOULEVANT pour l'année de travail préliminaire qu'il a passé sur cette thèse et qui m'a assuré une base de départ solide. Merci aux stagiaires qui ont travaillé sous sa responsabilité (François B., Chloé P., Rémi C., Marie-Amélie P.).

Des remerciements chaleureux à Thomas LHUILLERY et Mathieu GUÉRIN pour leur résistance physique particulièrement au froid de l'hiver, pour leur bonne humeur et leur amour du travail bien fait.

Je remercie les stagiaires qui ont participé à la collecte et à l'analyse des données dans ce projet de thèse : Martial FAVRE, Camille MADELIN, Rémi PESSET, Marion SOULIÉ, Pauline KAEUFFER, Quentin MARICHY, les élèves ingénieurs du DA Agrecina de l'ISARA-Lyon.

Merci à Vincent PAILLET pour son expertise statistique, M. J.-M. VINATIER pour ses connaissances des sols de la région Rhône-Alpes et Mme A.-S. VOISIN pour ses connaissances des légumineuses.

Merci à Carl HOLLAND de s'être assuré que nous nous exprimions dans un anglais compréhensible.

Merci à mes compagnons de voyage, futurs ou jeunes docteurs : Audrey VINCENT, Jean-Baptiste GRATECAP, Vincent LEFEVRE, Yvan TRITZ, David POBEL, Florent ARTHAUD. Qu'un vent favorable mène les premiers à bon port et porte les derniers vers de nouveaux horizons.

Je remercie l'équipe SCAB de l'ISARA-Lyon qui m'a accueillie : Florian CELETTE, Jean-François VIAN, Joséphine PEIGNÉ et plus récemment Marion CASAGRANDE. Pour leur soutien et leur bonne humeur.

Merci au reste du département AGE de l'ISARA-Lyon ainsi qu'à l'ensemble du personnel administratif, enseignants, chercheurs et plus particulièrement Alexander WEZEL, Arnaud HALLIER, Anthony LETORT, Benoit SARRAZIN., Joël ROBIN.

Merci à Pascal DESAMAIS, directeur général de l'ISARA-Lyon, pour son accueil au sein de cet établissement.

Je remercie l'équipe de l'école doctorale ABIES pour son soutien aussi bien scientifique qu'humain et pour la qualité du suivi assuré.

Je remercie les stagiaires et employés de l'ISARA-Lyon qui ont participé à la bonne ambiance de travail : Marlène, Sabine, Julie, Aliette, Benoit, que ses terres et ses abeilles se portent au mieux.

Une pensée pour mes parents, grands-parents, frère et sœurs qui m'ont particulièrement soutenu durant ces premières années d'apprenti agronome.

Merci du fond du cœur à mes *colocs* et amies Lyonnaises : Sibell, Laura et Sophie, Marjorie, Marion. Une pensée pour les vieux loups de mer Bretons : Gus, Marin, Mat, Gwe, Keg, Ron *et al*. Pour leur soutien et leur fidélité. Pour les amis d'ailleurs qui j'ai croisé : Hubert, Elsa, Geof, Mathilde, Thomas *et al.*

Une dernière pensée pour Anne-Charlotte, première de mes pensées.

Même la petite rosée fait prospérer le champ.

Christian Jacq

Table des matières

INTRODUCTION GÉNÉRALE 1

CHAPITRE 1. Étude bibliographique et problématique 8

1. Les modes d'association de cultures 8
2. Le fonctionnement des associations culturales 9
3. Choix de l'association relais 10
4. L'association relais et l'interaction pour les ressources trophiques 13
   4.1. L'eau 13
   4.2. L'azote minéral 14
   4.3. Le rayonnement lumineux 15
5. L'association relais et les performances des cultures de la rotation 16
   5.1. Performances des cultures associées 16
   5.2. Performances des cultures suivantes 17
6. L'association relais et les adventices dans la succession de cultures 17
7. L'association relais et la dynamique de l'azote dans la succession de cultures 19
   7.1. Enrichissement du système en azote 19
   7.2. Limitation des fuites d'azote du système 19
   7.3. Restitution d'azote au système 20
8. Problématique de thèse 21
   8.1. 1ère hypothèse 21
   8.2. 2ème hypothèse 22
   8.3. 3ème hypothèse 22

CHAPITRE 2. Effets de l'association relais sur les performances des cultures et la disponibilité des ressources trophiques 25

1. Introduction 27
2. Material and methods 30
   2.1. Experimental sites 30
   2.2. Experimental design and treatments 30
   2.3. Data collection 32
   2.4. Site classification 33
   2.5. Biomass and intercrop ratios 34
   2.6. Statistical analysis 34
3. Results 35
   3.1. Site grouping 35
   3.2. Legumes aerial biomass 35
   3.3. Effects of legumes on wheat performance 37
   3.4. Legume growth and wheat performance 39
   3.5. Legume growth and resource availability 41
4. Discussion 44
   4.1. Effects of RIL on wheat performance 44
   4.2. Effects of RIL on resource availability 45
   4.3. Effects of legumes on wheat performance through resource availability 47
   4.4. The establishment of legume cover crops 47
5. Conclusions 49

CHAPITRE 3. Effets des couverts de légumineuses dans le contrôle des adventices durant l'association et l'interculture 51

1. Introduction 53

2. Materials and methods 55
2.1. Experimental sites *55*
2.2. Data collection *58*
2.3. Statistical analysis *59*
3. Results 60
3.1. Weed growth in sole wheat crop *60*
3.2. Growth of relay forage legumes *62*
3.3. Effects of intercropped legumes on weed infestation *63*
3.4. Post-harvest effect of legumes on weed infestation *66*
3.5. Role of wheat cover in weed control *69*
4. Discussion 69
4.1. Relay-intercropped forage legume helps to control weeds during and after wheat crop *69*
4.2. Nature of cover crops and weed control *72*
5. Conclusion 73

CHAPITRE 4. Effets des couverts des légumineuses sur la dynamique de l'azote à l'échelle de la succession culturale 75
1. Introduction 77
2. Materials and methods 78
2.1. Experimental sites *78*
2.2. Experimental design *80*
2.3. Experimental data *81*
2.4. Statistical analysis *83*
3. Results 83
3.1. Biomass and N accumulation in wheat and legumes *83*
3.2. SMN content and nitrate leaching *85*
3.3. Nitrogen use by the subsequent crop *87*
4. Discussion 90
4.1. N enrichment with RIL systems *90*
4.2. Relay-intercropped legume establishment and growth *91*
4.3. N release from legume cover crops *92*
4.4. N lixiviation during winter *93*
5. Conclusion 94

CHAPITRE 5. Discussion générale et conclusions 96
1.1. Rappel des objectifs de la thèse et synthèse des résultats *96*
1.2. Retour sur le choix de l'association relais de légumineuses de service *102*
1.3. Retour sur le protocole expérimental *105*
1.4. Place des associations relais dans les systèmes agricoles *109*

Liste des tableaux

Table 1. Caractéristiques principales des quatre espèces de légumineuses utilisées en association relais avec du blé d'hiver. 24

Table 2. Soil and climatic conditions and crop management of the field experiments..... 31

Table 3. Site grouping according to the final performance of winter wheat sole crop: aerial dry matter (DM, kg ha^{-1}), total N uptake (kg ha^{-1}) and grain yield (dt ha^{-1}) at wheat harvest. 34

Table 4. Aerial dry matter (DM) of relay intercropped legumes (kg ha^{-1}) (a) and ratios of aerial DMs of relay intercropped legumes and wheat (DM_I/DM_W, in %) (b) at wheat harvest for the sites grouped according to winter wheat sole crop final performance. . 36

Table 5. Grain yield of winter wheat at 15% of moisture content (dt ha^{-1}) (a) and wheat grain protein content (GPC, %DM) (b) for the sites grouped according to winter wheat sole crop final performance. 38

Table 6. Soil and climatic conditions and crop management of the field experiments..... 56

Table 7. Average aerial dry matter (DM) of weeds (kg ha^{-1}) in sole wheat crop at wheat harvest time depending on the soil's main textural component (clay, silt or sand; n = 18) and on the type of the preceding crop (cereal or soybean; n = 18 and n = 36, respectively). 61

Table 8. Aerial dry matter (kg ha^{-1}) of legume cover crops and weeds at the beginning of wintertime, 40 weeks after the sowing of legume cover crops. Means of the four sites monitored after wheat harvest. 63

Table 9. Effects of the presence of the four relay-intercropped legumes (RIC) on the relative density variations of weeds between 5 and 16 weeks after the sowing of legume cover crops [$(Dens_{W16}-Dens_{W5})/Dens_{W5}$, uniteless], on average and for each weed germination sub-population (a) and of averaged relative aerial dry matter (DM) variations of weeds during the same period [$(DM_{W16}-DM_{W5})/DM_{W5}$, uniteless] (b) and between 16 and 40 weeks after the sowing of legume cover crops [$(DM_{W40}-DM_{W16})/DM_{W16}$, uniteless] (c). 65

Table 10. Soil conditions and crop management in the six field experiments..... 79

Table 11. Climatic conditions encountered during the field experiments..... 80

Table 12. Aboveground dry matter and nitrogen content of wheat at harvest in control and relay intercropped treatments. Mean of the six field experiments ± *standard error of the mean* (n = 54 for biomass, n=18 for N content)..... 84

Table 13. Aboveground biomass, N accumulated and N derived from atmosphere (Ndfa) in relay intercropped legumes at wheat harvest (W16) and late autumn (W40). Mean of the six field experiments ± *standard error of the mean* (n=54 for biomass and N accumulated, n=18 for proportion and quantity of Ndfa). Means followed by the same letter are not significantly different (P = 0.10). 84

Table 14. Cumulative leached nitrogen (kg N ha^{-1}) below 90 cm calculated by LIXIM model from the beginning of December to the end of winter (W40-W52), from the end of winter to emergence of subsequent spring crop (W52-W64) and from the beginning of December to emergence of subsequent spring crop (W40-W64) as affected by the relay intercropping treatment. Each number is the mean of six sites ± *standard error*. 89

Liste des figures

Fig. 1. Schéma synoptique de la distribution des trois ressources trophiques principales (eau, azote et lumière) dans une association céréale-légumineuse de service. 11

Fig. 2. Ratios of wheat grain yield (a) and grain protein content (b) expressing the values of relay intercropped wheat to wheat sole crop (L/T0) related to ratios of legume/wheat aerial biomass (DM_L/DM_W) at wheat maturity. 40

Fig. 3. Ratios of soil moisture expressing the values of relay intercropped treatments to wheat sole crop treatment (L/T0) related to legume/wheat aerial biomass ratios (DM_L/DM_W) at wheat maturity. 41

Fig. 4. Ratios of wheat N content expressing the values of relay intercropped wheat to wheat sole crop (L/T0) related to legume/wheat aerial biomass ratios (DM_L/DM_W) at wheat maturity. 42

Fig. 5. Ratios of total incident photosynthetically active radiation (PAR) intercepted by whole field cover expressing the values of relay intercropped treatments to wheat sole crop treatment (L/T0) related to legume/wheat aerial biomass ratios (DM_L/DM_W) at wheat maturity. 43

Fig. 6. Average aerial dry matter (DM) of weeds (kg ha^{-1}) on each experimental site in sole wheat crop at wheat harvest time. Error bars represent standard error of the mean (n = 9). Letters indicate significant mean differences between sites according to Tuckey's HSD test. 61

Fig. 7. Dynamics of the aerial dry matter (DM, kg ha^{-1}) of the four legume species from their sowing in winter wheat to its harvest (week 16). Means of the six sites monitored during the relay intercropping of winter wheat and legumes. *** = $P \leq 0.001$. Letters for each date indicate significant mean differences between treatments according to Tuckey's HSD test or Dunn's test ($P = 0.10$). 62

Fig. 8. Dynamics of the density (plant m^{-2}) (a) and aerial dry matter (DM, kg ha^{-1}) of weeds (b) throughout wheat-legumes relay intercropping. Means of the six sites monitored during the relay intercropping period. NS = non significant; ** = $0.001 < P \leq 0.01$; *** = $P \leq 0.001$. Letters for each date indicate significant mean differences between treatments according to Tuckey's HSD test or Dunn's test ($P = 0.10$). 64

Fig. 9. Relative density variations of weeds between 5 and 16 weeks after the sowing of legume cover crops [$(Dens_{W16}-Dens_{W5})/Dens_{W5}$, uniteless, log scale] (a) and relative aerial dry matter (DM) variations of weeds during the same period [$(DM_{W16}-DM_{W5})/DM_{W5}$, uniteless, log scale] (b) related to the aerial DM of legume cover crops (kg ha^{-1}) 16 weeks after being sown, which corresponds to wheat harvest. 67

Fig. 10. Relationship between the relative aerial dry matter (DM) variations of weeds between 16 and 40 weeks after the sowing of legume cover crops [$(DM_{W40}-DM_{W16})/DM_{W16}$, uniteless, log scale] and the aerial DM of legume cover crops (kg ha^{-1}) 40 weeks after these were sown, which corresponds to the beginning of December. 68

Fig. 11. Relationship between the relative aerial dry matter (DM) variations of weeds between 5 and 16 weeks after the sowing of legume cover crops [$(DM_{W16}-DM_{W5})/DM_{W5}$, uniteless, log scale] and the cumulated aerial DM of legume cover crops and wheat (kg ha^{-1}) 16 weeks after being sown, which corresponds to wheat harvest. 69

Fig. 12. Evolution of soil mineral nitrogen content in the 0-90 cm soil layer from the beginning of December (week 40, W40), the end of winter (W52) and the emergence of subsequent crop (W64) in the relay intercropped treatments. Symbols associated with

the same letter at a given date are not significantly different (*P* = 0.10). *** = P < 0.001. The arrow indicates the date of incorporation of relay intercropped legumes residues in soil. Each point is the mean of the 5 monitored sites (D10 excluded)..... 86

Fig. 13. SMN content at the harvest of the subsequent spring crop as affected by the previous relay intercropped legume species. Grey bars associated with the same letter are not significantly different (*P* < 0.001). Error bars indicate standard error of the mean (n = 15). Each bar is the mean of the five sites which were monitored during the subsequent spring crop. 86

Fig. 14. Relationship between the difference of soil mineral nitrogen (SMN) content in the 0-90 cm soil layer between winter wheat harvest (W16) and the beginning of December (W40) and water input (precipitation + irrigation) from W16 to W40 in the control (T0, ×, n=3) and the relay intercropping treatments with legume cover crops (RIL, ●, n=12). 88

Fig. 15. Relationship between measured and simulated (using LIXIM model) soil mineral nitrogen (SMN) content on the 0-90 cm soil layer at the end of winter (W52, ◆) and the emergence of the spring crop (W64, □). 88

Fig. 16. Nitrogen contents in grain and straw at harvest of the subsequent spring crop as affected by the previous relay intercropped legume. Each bar represents the mean of the five sites. Error bars indicate standard error of the mean (n = 15). Bars associated with the same letter are not significantly different (*P* < 0.001). The Nitrogen Harvest Index (NHI) is indicated on the top of the graph. 90

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les systèmes de production issus des révolutions vertes du XXe siècle ont fortement gagné en productivité grâce aux progrès réalisés en agronomie, en génétique et en chimie depuis les années 1960. Ces modes de production fortement artificialisés (Oerke and Dehne, 1997), basés sur une utilisation intensive d'engrais de synthèse et de produits phytosanitaires, ont cependant généré, dans certaines conditions, d'importantes nuisances environnementales (Matson et al., 1997; Tilman et al., 2002).

Les systèmes de production agricoles ont eu tendance à se spécialiser vers les productions les plus rentables et ont perdu en diversité (Altieri, 1999). La mécanisation a également contribué à cette simplification en permettant un accroissement important des surfaces exploitables par travailleur.

Le développement de cette agriculture intensive, fortement consommatrice en énergie fossile et en eau, a induit, dans certaines conditions, une détérioration de la qualité agronomique et environnementale des terres agricoles. Tassement, érosion et dégradation de la fertilité sont observés sous l'effet de la mécanisation et en l'absence de restitutions suffisantes de matière organique (MO) et de couverture du sol (Scholberg et al., 2010). Par ailleurs, l'utilisation de produits phytosanitaires ou la mauvaise gestion des engrais et amendements ont entrainé une contamination des sols, des pertes de nutriments dans l'environnement et une pollution des eaux de surface. Une dégradation de la biodiversité est aussi constatée. Les espèces et variétés cultivées sont peu nombreuses (Matson et al., 1997), les habitats pour la faune (couverts végétaux, haies, bosquets) sont détériorés et les organismes auxiliaires sont par conséquent moins présents (Altieri, 1999). Cette dégradation de la biodiversité fonctionnelle favorise le développement de maladies, de ravageurs et d'adventices, devenus de plus en plus souvent résistants aux moyens de lutte chimique (Jutsum et al., 1998).

Le contexte actuel (perte de fertilité des sols, hausse du prix des énergies fossiles, augmentation des besoins d'une population mondiale en croissance) amène à explorer des systèmes agricoles productifs, diversifiés, moins dépendants des énergies fossiles et plus respectueux de l'environnement.

- ***L'agriculture biologique pour gagner en durabilité environnementale au risque de perdre en productivité***

Parmi les alternatives contribuant à une meilleure préservation de l'environnement, l'agriculture biologique (AB) apparaît comme une solution intéressante. L'interdiction d'engrais et de produits phytosanitaires de synthèse, le recours recommandé aux apports organiques réguliers et aux rotations diversifiées (Règlement CE N°834/2007) sont des principes fondateurs assurant la préservation des ressources naturelles et environnementales. Des observations à long terme montrent effectivement une amélioration de la fertilité des sols et de la biodiversité dans ces systèmes biologiques en comparaison avec les systèmes dits conventionnels (Fliessbach et al., 2000).

Le potentiel de l'AB à fournir des productions quantitativement et qualitativement satisfaisantes est toutefois discuté (Badgley et al., 2007). Le développement de l'AB repose encore beaucoup sur les aides financières qu'elle reçoit pour assurer sa viabilité économique (David et al., 2011). Il est donc nécessaire de développer des pratiques permettant d'assurer un niveau de productivité suffisant tout en conservant, voire en améliorant, leur durabilité environnementale.

- ***La spécialisation vers les systèmes biologiques de grande culture***

Depuis la fin des années 90, les exploitations biologiques de grande culture sans élevage se sont multipliées aussi bien au Nord (Cormack, 2006; David, 2009) qu'au Sud de l'Europe (Mazzoncini et al., 2010). Cette évolution a été motivée par le développement de débouchés croissants en direction de l'alimentation humaine mais aussi de la fabrication d'aliments du bétail (David, 2009). Ainsi, plusieurs régions traditionnellement céréalières et peu diversifiées ont vu se développer des filières de grande culture biologiques (Mazzoncini et al., 2004).

Les céréales (blé, orge, triticale, avoine, épeautre) destinées à l'alimentation humaine représentent une forte part des rotations, de durée variable (entre 4 et 8 ans), non irriguées, auxquels se rajoutent des protéagineux (féverole, pois, lentille) et autres cultures (ex. colza). Lorsque l'irrigation est possible, des cultures de printemps, bien valorisées économiquement, peuvent s'insérer dans les rotations (soja, tournesol, maïs). Dans ce cas, une simplification et/ou une intensification des rotations (désherbages répétés, apports d'eau et d'engrais) est généralement observée.

Le développement des systèmes spécialisés en grande culture biologique sans élevage s'est fait malgré les préconisations d'interconnections entre les productions animales et végétales pour un fonctionnement cohérent des exploitations biologiques (Règlement CE N°834/2007). L'absence d'élevage, des amendements organiques (fumiers ou lisiers) qu'il fournit et des surfaces fourragères qu'il valorise, pose l'importante question de l'apport de nutriments minéraux (Cormack, 2006). Les protéagineux permettent d'apporter de l'azote qu'ils sont capables de fixer depuis l'atmosphère mais les graines sont récoltées et l'azote qu'elles contiennent est donc largement exportée du système (Fustec et al., 2010). D'autre part, ces systèmes de grande culture biologiques se rapprochent par certains points de ceux observés en agriculture conventionnelle : spécialisation, simplification et intensification des rotations culturales (Darnhofer et al., 2010).

- ***Les facteurs limitants agronomiques des systèmes biologiques de grande culture***

Les productions de grande culture biologiques font face à plusieurs facteurs limitants qui diminuent leurs rendements et dégradent leur qualité.

Par exemple, la culture de blé biologique est confrontée à de fréquents déficits d'azote assimilable par les plantes. En France, David et al. (2005a) et Casagrande et al. (2009) identifient l'azote comme le premier facteur explicatif de la variabilité des rendements et des teneurs en protéines du blé biologique. Doltra et al. (2011) attribuent la limitation des performances des céréales à des problèmes de disponibilité en azote au sein des rotations biologiques. Berry et al. (2002) mettent en évidence la fréquence trop faible de l'enfouissement de prairies ou de couverts végétaux et les faibles quantités d'azote contenues dans les résidus des cultures biologiques. Au-delà d'une offre en nutriments insuffisante, la question de l'adéquation entre la disponibilité de l'azote d'origine organique et la demande instantanée forte des céréales est également posée. Les restitutions organiques (résidus de cultures, fumiers, composts) présentent des vitesses de minéralisation lentes qui ne correspondent pas forcément aux forts besoins ponctuels des céréales (Berry et al., 2002).

Le second facteur limitant majeur en grande culture biologique est la concurrence des adventices (Bond and Grundy, 2001; Bàrberi, 2002; Cavigelli et al., 2008; Kruidhof et al., 2008). Elles entrent en compétition pour les ressources minérales et hydriques avec les cultures de vente, limitent leur développement et leurs performances finales. Cavigelli et al. (2008) attribuent aux adventices 21 à 25% des diminutions des rendements du maïs en AB par rapport à l'agriculture conventionnelle. En l'absence de produits phytosanitaires, les seules

méthodes curatives en cas d'infestation importante sont les désherbages mécaniques dont l'efficacité est liée à une très bonne maîtrise des techniques (date et conditions d'intervention). De plus, la simplification des rotations dans les exploitations de grande culture biologiques a pour conséquence l'apparition d'espèces d'adventices dominantes adaptées au cycle des cultures présentes (Colbach et al., 2010a; Gunton et al., 2011). Les producteurs sont donc plus enclins aux désherbages mécaniques qui peuvent renforcer la compaction du sol dans des conditions de faible ressuyage , elle-même facteur limitant de la production céréalière (Peigne et al., 2007; Van den Putte et al., 2010; Tolon-Becerra et al., 2011).

Ces facteurs limitants sont à l'origine d'une forte variabilité (David et al., 2005a; Casagrande et al., 2009) et de niveaux moins élevés des rendements et de la qualité des productions qu'en agriculture conventionnelle (Doltra et al., 2011). Par exemple, Hildermann et al. (2009) observent une diminution moyenne de 2.6 t ha^{-1} du rendement de différents cultivars de blés cultivés en conditions d'AB, comparé à des cultures conduites en mode conventionnelle, associé à une diminution du taux protéique des grains de 2.7% de la matière sèche (MS). Carcea et al. (2006) ont analysé les taux protéiques de blés de forces produits en Italie ; ils variaient de 13.9 à 15.3%MS en conditions de production conventionnelle alors qu'il ne dépassaient pas 13.3%MS en conditions biologiques.

L'existence de ces deux principaux facteurs limitants (azote et adventices) conduit à rechercher des solutions techniques permettant d'atteindre des rendements plus élevés et réguliers tout au long de la rotation culturale, avec une qualité nutritionnelle et technologique des productions satisfaisante.

L'apport de fertilisants organiques d'origine externe à l'exploitation est envisagé dans les systèmes sans élevage pour éviter les déficits en azote. Toutefois, cette solution va, pour partie, à l'encontre du Règlement européen CE N°834/2007 qui préconise l'utilisation de ressources organiques issues de l'exploitation. D'autre part, le prix d'achat de ces engrais, souvent très élevé, limite leur rentabilité et donc leur utilisation par les producteurs.

Pour le contrôle des adventices, les techniques curatives listées par Wei et al. (2010), ne sont pas suffisantes et doivent être couplées à des méthodes préventives telles que la diversification et l'allongement des rotations pour éviter l'apparition d'espèces dominantes (Colbach et al., 2010b), l'utilisation de couvertures végétales vivantes (Hiltbrunner et al., 2007a) et d'espèces ou de variétés couvrantes (Olesen et al., 2004; Beres et al., 2010).

Toutefois l'apport d'engrais organiques du commerce et les désherbages répétés remettent en cause la durabilité environnementale des systèmes de grandes culture en AB

suite à une consommation accrue d'énergie fossile, pour la fabrication et le transport des engrais organiques et les passages d'outils de désherbage, et/ou à une détérioration de la structure des sols, lors de passages répétés dans des conditions de ressuyage insuffisant.

- ***L'intérêt des couverts de légumineuses de service***

On regroupe sous l'expression "plantes de service" l'ensemble des plantes ayant pour vocation de rendre plusieurs services agronomiques (protection du sol, entretien de la fertilité du sol) ou écologiques (diversification des espèces cultivées, compétition avec les adventices, support pour la faune auxiliaire) (Hartwig and Ammon, 2002; Sheaffer and Seguin, 2003; Lithourgidis et al., 2011a). Elles n'ont pas pour vocation première d'être récoltées et valorisées à travers la vente ou l'alimentation d'un troupeau. Elles sont donc généralement restituées à la parcelle où elles sont cultivées au terme de leur cycle de croissance. Les engrais verts, les plantes de couverture et les plantes pièges à nitrates sont donc considérées dans leur ensemble comme plantes de service.

L'implantation de légumineuses de service dans les rotations de grande culture est une pratique qui présente potentiellement plusieurs intérêts dont le contrôle des adventices et l'apport d'azote exogène dans le système sol-plante.

L'apport d'azote par la fixation symbiotique des légumineuses présente un réel atout pour réduire les déficits d'azote au sein des systèmes de grande culture biologiques (Cormack et al., 2003; Løes et al., 2007; Antichi et al., 2008).

Utilisées comme plantes de couverture du sol, notamment en interculture, afin d'éviter la présence de sol nu (Scholberg et al., 2010), les légumineuses fourragères peuvent contribuer à maîtriser les infestations par les adventices essentiellement par compétition pour le rayonnement lumineux (Kruidhof et al., 2009).

L'utilisation de couverts de légumineuses de service peut toutefois présenter plusieurs inconvénients. Ainsi, les légumineuses peuvent contribuer à enrichir les sols en azote et donc à augmenter le risque de lixiviation de l'azote minéral vers les aquifères et constituent de moins bons pièges à nitrates que des Brassicacées (Askegaard and Eriksen, 2008; Destain et al., 2010) durant la période automnale. Par ailleurs, dans le cas d'infestation ponctuelle par des adventices endémiques ou vivaces la présence d'un couvert de légumineuses limite les opportunités de désherbage mécanique ou de retournement du sol. Enfin, l'apport d'azote exogène des légumineuses n'est pas garanti si les conditions de culture ne sont pas favorables à la fixation symbiotique et/ou si la légumineuse prélève l'azote présent dans le sol.

Enfin, toutes les espèces de légumineuses fourragères ne présentent pas les mêmes potentiels de fixation d'azote, de couverture du sol ou de croissance aérienne et racinaire. Le choix des espèces de légumineuses dans les rotations est une question essentielle pour l'agriculteur. Il dépend des objectifs qu'il vise à travers ce couvert : enrichissement du système en azote, maîtrise des adventices, amélioration de la qualité des sols, production fourragère.

- ***Les légumineuses de service dans les systèmes sans élevage***

Comme les légumineuses fourragères n'ont pas de valorisation économique directe dans les exploitations sans élevage, la question de leur mode d'insertion dans les rotations culturales comme plantes de service se pose, afin d'assurer la rentabilité de ces systèmes tout en leur apportant une plus grande durabilité environnementale.

Un des moyens de répondre à cette contrainte consiste à associer les légumineuses de service aux cultures de vente dans le temps et l'espace, c'est-à-dire à cultiver ces deux cultures de façon combinée sur une même parcelle. L'association évite la substitution d'une culture de vente par une culture de service et permet la présence d'une plante de service sur la parcelle durant la période d'interculture et ce, dès la récolte de la culture de vente associée.

L'utilisation de légumineuses de service aux caractéristiques morphologiques, physiologiques et phénologiques différentes de celles de la culture de vente, permet par ailleurs d'assurer une complémentarité des plantes associées dans leur utilisation respective de l'environnement commun (Willey, 1979a). Dans cette optique, les associations entre des céréales et des légumineuses font l'objet d'un intérêt croissant dans les systèmes de culture essentiellement du fait de l'utilisation de deux sources d'azote différentes, le sol et l'atmosphère, respectivement, et la possibilité d'enrichissement du sol en azote exogène au système au profit des plantes non-fixatrices de la rotation culturale. Cependant, ces plantes partagent des niches écologiques communes ce qui peut mener à des compétitions pour certaines ressources trophiques du milieu.

Ce travail de doctorat a donc pour objectif d'évaluer les effets de différents couverts de légumineuses fourragères, utilisées comme **plantes de service associées**, dans une succession blé d'hiver-culture de printemps. Cette évaluation s'opèrera sur un réseau de parcelles par comparaison de situations avec et sans présence de légumineuses de service.

Le manuscrit s'organise autour de cinq chapitres. Le premier synthétisera les connaissances actuelles sur le fonctionnement des associations de cultures de vente et de

plantes de service, afin de choisir le mode d'association à étudier et de lister les questions prioritaires liées à la technique d'association choisie. Les trois chapitres suivants décriront successivement l'effet des couverts de légumineuses de service associés à une culture de blé d'hiver (i) sur les performances finales des cultures associées et leurs relations à travers les ressources trophiques principales (eau, azote et rayonnement lumineux), (ii) sur la maîtrise des adventices durant l'association et l'interculture et (iii) sur l'enrichissement, la préservation et la restitution d'azote dans le système sol-plante au sein de la succession blé d'hiver – culture de printemps.

CHAPITRE 1. Étude bibliographique et problématique

1. Les modes d'association de cultures

L'insertion de couverts de légumineuses dans les rotations de grande culture s'envisage selon deux modalités. Soit, le semis des couverts de légumineuses se fait entre deux cultures de vente, après un ou plusieurs faux semis suivant la récolte de la culture précédente (Løes et al., 2011; Mazzoncini et al., 2011), on parle alors d'interculture. Soit, le couvert de légumineuse est cultivé simultanément à une culture céréalière selon une organisation spatiale et pour une durée qui peuvent varier, on parle alors d'associations de cultures (traduction du terme anglais "*intercrop*") (Willey, 1979a).

Les associations de cultures ont été largement étudiées dans les systèmes agricoles tropicaux (Willey, 1979b; Vandermeer, 1989; Connolly et al., 2001; Scholberg et al., 2010). Tout au long du 20ème siècle, la pratique d'association culturale a régressé dans les pays industrialisés où l'agriculture s'est rapidement orientée vers des cultures pures. Le développement dans ces zones géographiques de systèmes de production à bas niveau d'intrant, tels que les systèmes biologiques, provoque un intérêt croissant pour ces associations culturales. Elles reposent en effet sur les caractéristiques naturelles des espèces associées et sur leurs interactions pour gérer les facteurs limitants des systèmes de cultures (Anil et al., 1998; Hartwig and Ammon, 2002; Scholberg et al., 2010; Lithourgidis et al., 2011a).

En termes d'organisation spatiale, on distingue 4 modes d'associations de cultures (Vandermeer, 1989; Lithourgidis et al., 2011a) :

- **Les associations en mélange** *(Mixed intercropping)* : Les espèces sont totalement mélangées dans l'espace disponible. Il n'y a pas d'arrangement en rangs. C'est le cas des prairies temporaires.
- **Les associations en rangs** *(Row intercropping)* : L'association en rangs alternés consiste à cultiver les différentes espèces de l'association sur des rangs séparés qui s'alternent dans l'espace. L'association peut aussi se faire sur le rang et consiste à semer les différentes espèces associées en mélange sur chaque rang.
- **Les associations en bandes** (*Strip intercropping)* : Plusieurs rangs de chaque espèce de l'association s'alternent dans l'espace pour potentiellement permettre la mécanisation des différentes cultures tout en leur permettant d'interagir.

- **La combinaison du semis en rang de la culture de vente avec un semis en plein de la plante de service**. Cette technique permet de semer en cours de culture la plante de service dans la culture commerciale avec du matériel de semis léger (semoir centrifuge, par exemple) contrairement au semoir en ligne qui nécessite un matériel de traction plus important et dont le passage peut entrainer un tassement du sol plus important (Edwards, 1998).

En termes d'organisation temporelle, la présence de la plante de service varie d'une présence uniquement entre deux cultures (interculture) à la présence permanente sur la parcelle. Dans ce dernier cas, on parle alors de semis sous couvert vivant (SCV) lorsque la culture de vente est semée dans le couvert de service semé en plein (Carof et al., 2007b; Hiltbrunner and Liedgens, 2008; Kosinski et al., 2011). Les techniques intermédiaires entre interculture et SCV consistent à semer la plante de service soit en même temps soit quelques temps après le semis de la culture de vente : il s'agit respectivement de l'association simultanée (généralement simplement nommée *intercropping*) (Känkänen and Eriksson, 2007; Blackshaw et al., 2010a; Sjursen et al., 2011) et de l'association en relais lorsque la plante de service est semée au cours de la culture de vente (*relay intercropping*) (Vandermeer, 1989; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011). La fin de la période d'association intervient lorsque l'une des plantes ou les deux sont récoltées ou détruites. La récolte ou la destruction peut intervenir simultanément pour les deux cultures ou en décalé. La plante de service, est généralement laissée sur la parcelle après la récolte de la culture de vente et peut être considérée dès lors comme un couvert d'interculture jusqu'au semis de la culture de vente suivante.

Les combinaisons de ces techniques d'association spatiales et temporelles sont multiples et n'impliquent pas les mêmes interactions entre les plantes en fonction de leurs natures respectives, de l'arrangement des cultures dans l'espace et du temps de présence simultanée sur la parcelle. Les conséquences de l'utilisation de légumineuses de service sur les performances des cultures associées et suivantes dépendront de ces interactions.

2. Le fonctionnement des associations culturales

Pour Vandermeer (1989), l'interaction entre plantes associées se fait au travers de leur environnement selon deux processus :

- **La compétition**, lorsqu'une espèce altère l'environnement de la seconde espèce et gêne son bon développement. C'est le cas, par exemple, de la consommation d'une ressource trophique par la première espèce qui devient limitante pour la seconde.
- **La facilitation,** lorsque qu'une espèce modifie son environnement de manière favorable pour la seconde espèce. C'est le cas, par exemple, de la libération d'une ressource dans le milieu par une espèce qui pourra être assimilée par une autre espèce et lui permettre d'avoir de meilleures performances.

Le comportement des espèces de l'association dépend de leurs capacités à générer et supporter la compétition (Tosti and Guiducci, 2010) mais également à réagir en situation de facilitation. Ces capacités sont liées au temps de présence simultanée sur la parcelle, aux ressources considérées, à la morphologie et à la physiologie des plantes associées. Ces interactions évoluent tout au long du cycle de l'association et même après, selon la dynamique de minéralisation de la MO dans le sol et la mise à disposition des nutriments pour les cultures de la rotation suivant la nature des plantes associées. Ces relations peuvent donc se manifester en même temps ou à des périodes distinctes durant l'association.

L'efficience dans l'utilisation des ressources trophiques par des plantes associées peut être liée à des caractéristiques intrinsèques de chaque composante de l'association (type de développement racinaire, port aérien, capacité à fixer l'azote atmosphérique), mais également à des adaptations morphologiques des différentes espèces en situation de compétition. La compétition pour la lumière joue sur la vitesse de croissance et la taille du couvert de légumineuse (Wu et al., 2011) ; la compétition pour les nutriments et l’eau disponibles dans le sol influe sur le développement du système racinaire de chaque espèce (Li et al., 2006) (Fig. 1).

3. Choix de l'association relais

Dans cette étude, notre choix s'est porté sur l'insertion d'un couvert de légumineuses fourragères de service au début du printemps dans un couvert de blé tendre d'hiver semé à l’automne. Ce choix d’association relais se justifie par les contraintes agronomiques des systèmes de grande culture biologiques identifiées précédemment (infestation par les adventices, déficits chroniques d'azote minéral). Le choix de la culture de blé tendre d'hiver se justifie par l'intérêt économique de cette culture dans les rotations de grande culture biologiques de la région étudiée.

Dans les systèmes céréaliers des zones tempérées, les plantes de services sont semées dans les cultures d'automne, généralement au début du printemps, au moment de la reprise de

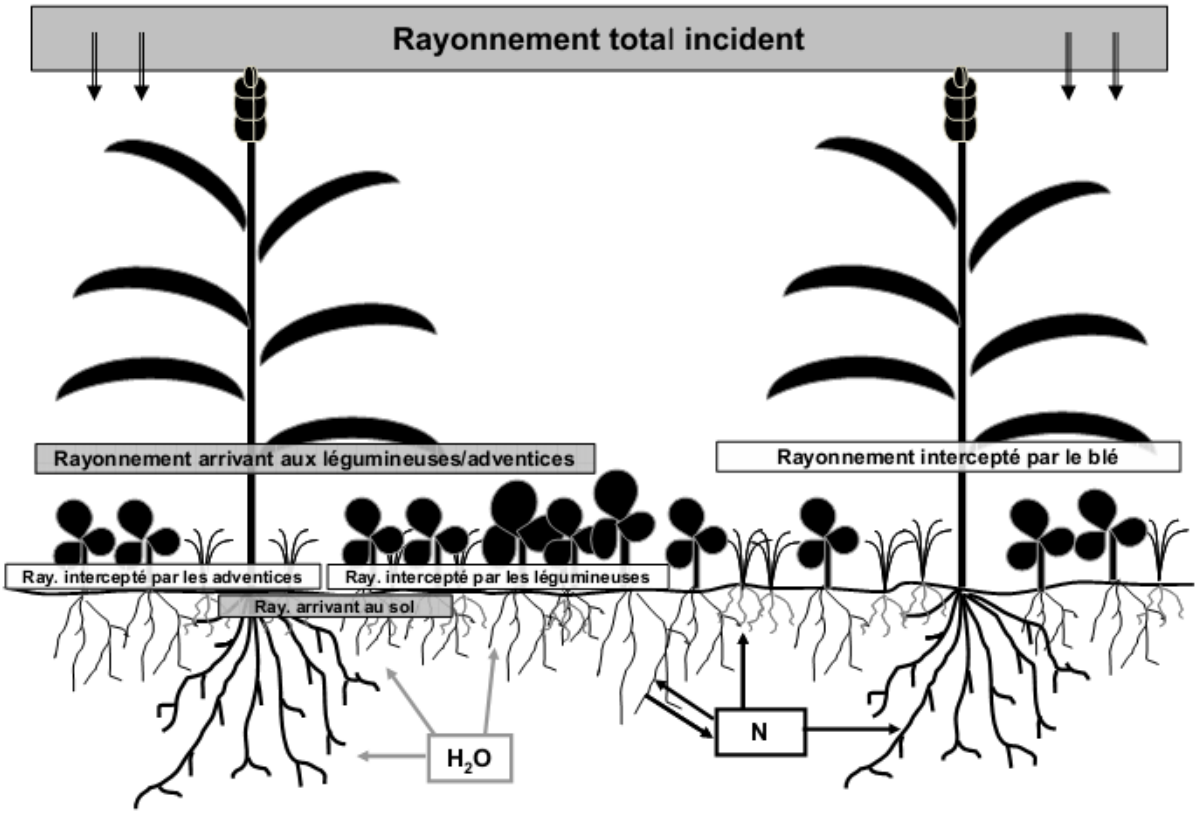

Fig. 1. Schéma synoptique de la distribution des trois ressources trophiques principales (eau, azote et lumière) dans une association céréale-légumineuse de service.

croissance de la culture de vente. Dans ce cas, les parcelles sont suffisamment ressuyées pour être de nouveau praticables par les outils de semis tout en limitant le risque de dégradation structurale du sol. Ensuite, les températures en hausse couplées à une humidité encore importante sont propices à l'implantation d'une nouvelle culture. Enfin, dans les systèmes de grande culture, les interventions culturales sur le reste de l'exploitation sont limitées à cette période de l'année (autour du mois de mars sous nos latitudes) (Mutch et al., 2003).

Le décalage des cycles des cultures associées en relais doit permettre de limiter la compétition interspécifique ainsi que l'ont montré Shili-Touzi et al. (2010). Contrairement au SCV ou à l'association simultanée au cours desquels le couvert de légumineuses peut dominer la culture de vente (Carof et al., 2007b; 2007c), l'association relais assure l'implantation de la céréale avant celle du couvert. Cette pratique suppose que le développement de la céréale soit suffisant pour qu'elle ait un avantage compétitif sur le couvert mais suffisamment limité pour permettre à la légumineuse de s'installer et de se développer au printemps. L’association relais doit également se faire sur une période longue pour permettre tout processus de facilitation par la légumineuse (Vandermeer, 1989).

Le semis des légumineuses au début du printemps laisse également la possibilité à l'agriculteur de désherber mécaniquement sa culture d'automne avant le semis des couverts, si les conditions climatiques le permettent. Aucun désherbage mécanique n'étant possible après semis des couverts, au risque de compromettre leur réussite, le SCV ou l'association simultanée empêchent l'agriculteur biologique d'intervenir sur sa parcelle si une infestation d'adventices se déclare. En association relais, le semis des couverts peut, au contraire, permettre au moins un désherbage au printemps au moment d’enfouir les graines de légumineuses dans le sol.

Ce mode d'association relais laisse également le temps aux espèces de légumineuses fourragères à implantation lente d'être installées à la récolte du blé pour une croissance maximale durant l’interculture, tel que l'ont montré, en situation d'agriculture conventionnelle, Bergkvist et al. (2011) pour le trèfle blanc, ou Blackshaw et al. (2010a) et Blaser et al. (2011) pour la luzerne.

L'association relais nécessite toutefois une intervention supplémentaire sur la parcelle, nécessaire au semis du couvert, contrairement à l'association simultanée où le couvert de légumineuses peut être implanté lors du même passage que le semis de la céréale.

Dans la littérature, l’espèce principalement testée dans le cadre des associations relais céréale-légumineuse de service est le trèfle violet (Hesterman et al., 1992; Thiessen Martens et al., 2001; Mutch et al., 2003; 2005; Blaser et al., 2006; Singer et al., 2006; Blaser et al.,

2007; Singer et al., 2007; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011). D'autres espèces de légumineuses sont envisageables telles que le trèfle blanc (Hartl, 1989; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011), la luzerne (Hesterman et al., 1992; Thiessen Martens et al., 2001; Blackshaw et al., 2010a) ou la minette (Hartl, 1989).

Les associations céréales-légumineuses à graines ont souvent été étudiées en conditions biologiques (e.g. Jensen, 1996; Bulson et al., 1997; Jensen et al., 2006; Hauggaard-Nielsen et al., 2008; Hauggaard-Nielsen et al., 2009; Uchino et al., 2009; Sarunaite et al., 2010; Arlauskiene et al., 2011) contrairement aux associations céréales-légumineuses de service (Hartl, 1989; Germeier, 2000; Hiltbrunner et al., 2007a; Becker and Leithold, 2008; Pridham and Entz, 2008; Olesen et al., 2009). Or l'utilisation des légumineuses de service comme plante de couverture (Bàrberi, 2002; Uchino et al., 2011) ou engrais vert (Berry et al., 2002; Antichi et al., 2008; Briggs, 2008) est largement préconisée en AB notamment dans les situations sans élevage (Løes et al., 2006; Løes et al., 2007; Mazzoncini et al., 2008).

4. L'association relais et l'interaction pour les ressources trophiques

Peu d'informations sont disponibles sur l'effet des couverts de légumineuses de service sur l'interaction pour les ressources trophiques entre plantes associées en relais.

Les trois ressources trophiques principales que sont l'eau, l'azote minéral et la lumière font l'objet de la majorité des études s'intéressant aux interactions interspécifiques.

4.1. L'eau

L'eau du sol intervient en temps que ressource indispensable au bon développement des cultures présentes dans l’association. Le phénomène de nodulation des légumineuses, qui représente l'un des intérêts principaux de leur utilisation dans les associations, en est également dépendant (Mahieu et al., 2009). L'eau du sol est aussi nécessaire à la minéralisation des nutriments (Paul et al., 2003) et à leur transport dans le sol vers les racines.

Comme le résument Bodner et al. (2007), les plantes de couverture peuvent diminuer la disponibilité en eau du sol par leur transpiration tout en limitant parallèlement l'assèchement des sols. L'utilisation de plantes de couverture permet d'améliorer la capacité de rétention en eau et la porosité du sol ainsi que la qualité de l'infiltration de l'eau grâce (i) à l'enrichissement en matière organique du sol (Scholberg et al., 2010) et (ii) au développement racinaire du couvert (Carof et al., 2007a). De plus, la présence de plantes de couverture permet de limiter l'évaporation de l'eau à la surface du sol.

La disponibilité de la ressource en eau a été peu étudiée dans le cas d'association relais céréale-légumineuses de service. Lorsqu'elle le fût, elle n'est pas apparue comme une ressource limitante pour la réussite de la culture principale (Thiessen Martens et al., 2001; Blaser et al., 2006). La disponibilité en eau reste toutefois un facteur essentiel de la réussite de la plante de service. Son implantation et son développement après la récolte de la culture de vente dans le cas d'associations relais blé-trèfle violet ou blé-luzerne (Thiessen Martens et al., 2001; Queen et al., 2009; Blackshaw et al., 2010a) en sont dépendants.

Dans les conditions tempérées, la ressource en eau a été peu problématique jusqu'à ces dix dernières années. Depuis, des déficits temporaires chroniques en précipitations sont apparus. Dans un contexte de changement climatique et de pression croissante sur la ressource en eau douce, il est donc nécessaire de préciser la nature de l'interaction entre les plantes associées pour cette ressource et de s'assurer de l'absence d'effets négatifs pour la production céréalière.

4.2. L'azote minéral

Le choix des légumineuses dans l'association se justifie pour partie par la recherche de complémentarité des sources d'azote : l'azote du sol pour la céréale et l'azote atmosphérique pour la légumineuse. L'intérêt de la fixation symbiotique d'azote par les légumineuses s'illustre dans les transferts d'azote qui peuvent avoir lieu vers les plantes non-fixatrices associées. Les légumineuses sont connues pour libérer une partie de l'azote fixé par exsudation racinaire (Willey, 1979a; Hauggaard-Nielsen and Jensen, 2005; Fustec et al., 2010) et plus généralement par décomposition des tissus végétaux sénescents ou détruits dans le sol. Cette mise à disposition de l'azote doit permettre à la céréale associée de tirer partie d'une source d'azote supplémentaire. Cependant, si les conditions pédo-climatiques ou de compétition avec le blé pour les autres ressources (eau, lumière et autres nutriments) sont défavorables à la nodulation et à la fixation symbiotique, les légumineuses privilégieront l'azote disponible dans le sol pour leur nutrition. De même, si la quantité d'azote dans le sol n'est pas limitante, la légumineuse privilégiera cette source (Liu et al., 2011) et pourra donc entrer en compétition avec la céréale. Toutefois, les céréales sont connues pour être plus compétitives que les légumineuses vis-à-vis de la ressource en azote minéral du sol. Corre-Hellou et al. (2006) ont ainsi montré dans le cas d'associations simultanées de pois et d'orge que l'avance prise par la céréale dans son développement racinaire lui permettait d'exploiter en priorité l'azote minéral du sol et que par conséquent la légumineuse reposait plus fortement sur la fixation symbiotique. En situation d'association relais, le décalage des dates de semis

des deux espèces associées devrait permettre de faciliter ce phénomène en permettant à la céréale d'assurer sa nutrition azotée tout en forçant la légumineuse à reposer sur la fixation symbiotique.

Les études précédentes, portant sur la compétition pour la ressource azotée en situation d'association relais céréale-légumineuse de service, ne se sont intéressées qu'au rendement en azote des grains récoltés et n'ont pas noté d'effet significatif de la présence des couverts (Becker and Leithold, 2008; Blackshaw et al., 2010a; Blaser et al., 2011).

Cependant, il a été montré que dans ce type d'association, la disponibilité en azote assimilable peut avoir une influence sur le développement des couverts. Dans des conditions d'agriculture conventionnelle, Bergkvist et al. (2011), Queen et al. (2009) et Ohlander et al. (1996) ont montré que des trèfles associés en relais se développaient mieux en conditions non fertilisées sous couvert de céréales par rapport à des conditions fertilisées, à l'inverse de la céréale.

La limitation de la disponibilité de l'azote du sol, comme cela peut s'observer en grande culture biologique, serait donc à même de favoriser le développement des légumineuses, potentiellement au détriment de la céréale associée. Cette faible disponibilité en azote du sol combinée au décalage des dates de semis devrait également favoriser la fixation symbiotique d'azote et permettre l'enrichissement du système sol-plante en azote exogène.

4.3. Le rayonnement lumineux

Les interactions pour la lumière dans le cadre d'associations de cultures dépendent des caractéristiques morphologiques et phénologiques des espèces associées (port aérien, surface foliaire, vitesse de développement). L'ajout d'une composante végétale sur la parcelle entraine généralement une meilleure interception du rayonnement total incident et donc une meilleure valorisation potentielle de ce rayonnement comparativement à une culture pure semée en rangs.

Le décalage des dates de semis en association relais permet d'éviter à la plante de service de dépasser la culture commerciale. Le semis de la légumineuse dans une céréale déjà développée fait d'elle l'élément dominé de l'association relais et l'interception lumineuse se fait donc plutôt aux dépens de la légumineuse. Plusieurs études sur les associations relais céréale-légumineuse de service identifient la lumière comme un élément déterminant de la réussite des couverts (Thiessen Martens et al., 2001; Blaser et al., 2006; Blaser et al., 2007; Singer et al., 2007; Queen et al., 2009; Blaser et al., 2011). L'utilisation d'espèces à port élevé,

comme la luzerne, peut toutefois remettre en cause ce décalage (Thiessen Martens et al., 2001).

La fertilité du sol intervient également dans cette compétition pour la lumière. Un meilleur développement du couvert de la céréale en situation fertilisée induira une moindre transmission du rayonnement lumineux vers le couvert de légumineuses et donc un moindre développement de ce couvert (Queen et al., 2009).

5. L'association relais et les performances des cultures de la rotation

5.1. Performances des cultures associées

Les interactions entre les deux cultures associées peuvent limiter les performances de la culture céréalière si l'on observe un phénomène de compétition. Or il est difficilement envisageable de diminuer le revenu des producteurs, largement dépendant de ces cultures de vente. D'autre part, la réussite du couvert de légumineuse est également incertaine mais elle est indispensable pour lever les facteurs limitants principaux des productions de grande culture biologiques.

Dans les conditions d'association relais céréale-légumineuse de service, la majorité des études montre une absence d'effet des couverts sur le rendement ou la qualité des grains en agriculture conventionnelle (Hesterman et al., 1992; Thiessen Martens et al., 2001; Mutch et al., 2003; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011) ou biologique (Becker and Leithold, 2008). Hartl (1989) a toutefois observé une diminution du rendement du blé biologique associé en relais avec la minette et le trèfle de Perse en conditions de plein champ contrairement à ce qu'il avait observé avec ces mêmes espèces associées en cultures en pots.

Il est généralement montré que plus le semis de la légumineuse est réalisé tôt par rapport au semis de la céréale, meilleur sera le développement final de la légumineuse (Ohlander et al., 1996; Abdin et al., 1997). La situation d'association relais est celle qui présente le risque le plus fort de non-réussite du couvert du fait du développement trop important de la culture de vente au moment du semis de la plante de service. Toutes les situations d'association relais céréale-légumineuses de service étudiées montrent des développements non négligeables des légumineuses à l'issue de la période d'association. Des biomasses aériennes comprises entre 10 et 2000 kg MS ha^{-1} pour le trèfle violet (Thiessen Martens et al., 2001; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011), entre 15 et 1500 kg MS ha^{-1} pour la luzerne (Thiessen Martens et al., 2001; Blackshaw et al.,

2010a; Blaser et al., 2011) et autour de 800 kg MS ha^{-1} pour le trèfle blanc (Bergkvist et al., 2011) sont observées à la récolte du blé associé. Ces développements ont été observés en conditions d'agriculture conventionnelle sous des climats continentaux (sud de la Suède ou du Canada, nord des États-Unis).

Optimiser une association de plantes consiste donc à maximiser la complémentarité entre les espèces tout en minimisant leurs compétitions (Anil et al., 1998), particulièrement dans le cas où le couvert de légumineuses n'a pas de vocation marchande. Cela passe par le choix des espèces associées et de la gestion de l'association.

5.2. Performances des cultures suivantes

Un couvert de légumineuse de service implanté en relais a aussi pour but d'améliorer les performances de la culture suivante.

Bergkvist et al. (2011) montrent que le rendement d'orge suivant des couverts de trèfle blanc ou de trèfle violet associés en relais à du blé est supérieur à une situation sans couvert (+1.9 à +2.4 t MS ha^{-1}), et ce, même lorsque le blé associé avait reçu une fertilisation limitant le développement des couverts (+1 t MS ha^{-1}). L'écart avec le traitement sans couvert se réduit lorsque la dose d'azote apportée au blé augmente. Hesterman et al. (1992) observent de meilleurs rendements de maïs après des couverts de trèfle violet et de luzerne comparativement à l'absence de couvert durant les mois précédents. Vyn et al. (2000) ont observé une amélioration des performances du maïs, sans apport d'azote complémentaire, après un couvert de trèfle violet comparativement à l'absence de couvert, comprise entre +0.9 et +2.7 t MS ha^{-1}. Blackshaw et al. (2010a) n'observent pas d'amélioration du rendement de colza semé en mai après un couvert de trèfle violet, de luzerne ou de pois d'hiver semé en relais dans du blé. Enfin, Henry et al. (2010) observent des résultats variables et non significatifs sur le rendement d'un maïs cultivé après un couvert de trèfle violet associé en relais au blé précédent.

6. L'association relais et les adventices dans la succession de cultures

Plusieurs études préconisent l'utilisation de plantes de couverture pour maîtriser la flore adventices en système conventionnel (Liebman and Dyck, 1993; Hartwig and Ammon, 2002; Sheaffer and Seguin, 2003; Scholberg et al., 2010) ou biologique (Bond and Grundy, 2001; Melander et al., 2005). La couverture du sol est un moyen de lutte préventif qui doit permettre de limiter le développement et la compétitivité des adventices vis-à-vis des céréales

associées, mais aussi la production de graines et l'enrichissement du stock semencier du sol. L'efficacité des couverts dépend de leur nature mais également de la nature (Liebman and Dyck, 1993) et de la densité (Abdin et al., 1997) des adventices présentes dans l'agrosystème.

Les informations concernant la relation entre le développement du couvert de légumineuse durant l'association relais et la maîtrise des adventices sont peu nombreuses. Les données fournies ne concernent généralement que la biomasse ou la densité des adventices au terme de l'association. Dans le cas d'associations relais testées en agriculture biologique, Hartl (1989) souligne une diminution de la biomasse des adventices respectivement de 55 et 70% avec la minette et le trèfle de Perse en cultures en pots par rapport à un blé pur et de 50% en situation de plein champ. En agriculture conventionnelle, Mutch et al. (2003) ont montré l'efficacité du contrôle de l'ambroisie (*Ambrosia artemisiifolia* L.) par le trèfle violet inséré en relais dans une culture de blé d'hiver, sans qu'elle soit jugée suffisante aux yeux des producteurs. D'autres travaux en agriculture conventionnelle ont mis en évidence un contrôle des adventices par les couverts au terme de l'association relais ou peu de temps après (Blaser et al., 2006; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011). Toutefois l'efficacité des différentes espèces de légumineuses fourragères n'est pas toujours significative. Blaser et al (2011) observent un meilleur contrôle des adventices par le trèfle violet que par la luzerne, au contraire de Blackshaw et al. (2010a).

En cas de forte disponibilité d'azote du sol durant l'association, le développement des adventices est facilité par de bonnes conditions de nutrition azotée, les couverts de légumineuses sont généralement moins développés (Bergkvist et al., 2011) et donc moins compétitifs vis-à-vis de la lumière. L'enrichissement naturel du système en azote par les légumineuses, pourtant recherché dans les conditions de faible disponibilité chronique, peut toutefois s'avérer néfaste en facilitant le développement des adventices. C'est la raison invoquée par Sjursen et al. (2011) pour expliquer un renforcement du salissement après plusieurs années de pratiques d'associations annuelles céréales-trèfle blanc en conditions biologiques.

La plupart des études antérieures se placent dans des conditions d'agriculture conventionnelle. Le problème des adventices apparait alors rarement comme prioritaire étant donné l'utilisation possible d'herbicides pour maîtriser le salissement par les adventices avant ou durant la période d'association. Or il s'agit d'une problématique majeure de l'AB, peu abordée dans le cas des associations relais céréale-légumineuse de service.

7. L'association relais et la dynamique de l'azote dans la succession de cultures

Les enjeux liés à l'azote à travers l'utilisation de légumineuses de service dans les systèmes céréaliers sont de trois ordres : l'enrichissement du système sol-plante, la limitation des fuites d'azote et la restitution de l'azote accumulé.

7.1. Enrichissement du système en azote

L'enrichissement du système en azote repose sur la fixation symbiotique des légumineuses associées. Il est extrêmement variable selon l'espèce et les conditions de culture (Carlsson and Huss-Danell, 2003; Peoples et al., 2009; Liu et al., 2011).

Les études portant sur l'association relais céréale-légumineuse de service ne se sont pas intéressées jusque-là à la part d'azote fixé, elles se contentent d'évaluer la richesse en azote des parties aériennes des couverts. Vyn et al. (2000) ont, par exemple, observé des accumulations d'azote variables comprises entre 44 et 134 kg N ha^{-1} à la destruction d'un trèfle violet semé en relais dans un blé d'hiver et détruit chimiquement 6 mois ou 10 jours avant le semis du maïs suivant. Bergkvist et al. (2011) rapportent des accumulations d'azote dans le trèfle blanc et le trèfle violet associés en relais à un blé d'hiver, comparables entre elles (*ca.* 75 kg N ha^{-1}) au moment de leur destruction en novembre, huit mois après leur semis sous couvert de blé d'hiver.

7.2. Limitation des fuites d'azote du système

L'intérêt d'un couvert végétal entre deux cultures de vente est de limiter les fuites de nitrates pouvant se produire durant une période de sol nu.

Les légumineuses sont adaptées pour assurer leur nutrition azotée sans dépendre du sol. D'autre part, la quantité d'azote minéral qu'elles pourraient prélever dans le sol durant la période hivernale est limitée par leurs faibles développements durant cette période (Vyn et al., 2000). Elles ne sont donc pas réputées pour être les plantes les plus efficaces pour répondre à cet enjeu de piégeage contrairement aux Brassicacées.

Bergkvist et al. (2011) notent toutefois une efficacité du trèfle violet à limiter la quantité d'azote minéral disponible dans le sol entre 0 et 90 cm de profondeur comparativement au traitement sans couvert au moment de leur destruction par labour au mois de novembre. Ce n'est pas le cas du trèfle blanc qui ne présentait aucune efficacité dans la préservation de l'azote du sol par rapport au traitement sans couvert dans cette même étude. Dans le même sens, Vyn et al. (2000) notent qu'un trèfle violet semé en relais dans un blé et

présentant un bon développement est aussi efficace pour limiter la quantité d'azote minéral du sol durant l'interculture que des Graminées ou des Brassicacées semées après la récolte du blé.

7.3. Restitution d'azote au système

La restitution de l'azote par les couverts de légumineuses enfouis dans le sol doit permettre d'augmenter les performances des cultures suivantes tout en limitant les apports d'engrais. L'efficacité de la restitution dépend de la nature du couvert d'interculture, de la quantité d'azote absorbée durant sa croissance et de la période de destruction en rapport avec la ou les période(s) de besoin de la culture suivante (Crews and Peoples, 2005). Une manière indirecte d'évaluer l'efficacité de cette restitution est de s'intéresser aux performances de la culture semée après la plante de service (cf. §5.2).

Vyn et al. (2000) ont montré que la période de destruction d'un couvert de trèfle violet à l'automne ou au printemps n'avait pas les mêmes effets sur la quantité d'azote disponible au semis du maïs suivant, bien que les quantités d'azote contenues dans les couverts soient proches (cf. §7.1). L'apport d'un couvert de trèfle violet, associé en relais avec un blé d'hiver et détruit en octobre (25 semaines avant semis du maïs), augmentait la quantité de nitrates dans le sol de 23 à 58% de celle du traitement sans couvert 30 jours après semis du maïs, alors que cette augmentation atteignait au maximum 24% de la valeur du traitement sans couvert, pour un trèfle détruit 10 jours avant semis du maïs. Blackshaw et al. (2010a) n'observent qu'une faible augmentation de la quantité d'azote minéral du sol disponible, sept mois après la destruction d'un couvert de luzerne et de pois d'hiver semés au printemps dans un blé d'hiver (+5 à +8 kg N ha^{-1}). Pour ces mêmes couverts semés simultanément au blé et détruits à la même période que les couverts relais, la quantité d'azote minéral dans le sol est supérieure à la valeur du traitement sans couvert de 18 à 20 kg N ha^{-1} pour la luzerne et de 7 à 10 kg N ha^{-1} pour le pois d'hiver. La concentration en azote du colza suivant, sélectionné comme culture de contrôle, est améliorée dans les situations avec couverts semés simultanément au blé. Hesterman et al. (1992) ont rapporté des restitutions d'azote par les légumineuses de service équivalentes à des apports d'azote allant de 55 à 65 kg N ha^{-1} pour la luzerne et de 120 à 135 kg N ha^{-1} pour le trèfle violet associés en relais à du blé d'hiver. Ces valeurs sont du même ordre que celles observées par Thiessen Martens et al. (2005) pour la luzerne associée en relais au blé mais ne sont que de 24 à 26 kg N ha^{-1} pour le trèfle violet. A l'inverse, Henry et al. (2010) n'observent aucun effet de la présence préalable d'un couvert de trèfle violet semé sous couvert de blé ou après sa récolte, sur l'apport d'azote durant une culture suivante de maïs, du fait probablement de conditions de minéralisation défavorables.

Crews & Peoples (2005) indiquent qu'entre 10 et 30% de l'azote apporté par les résidus des couverts de légumineuses sont effectivement utilisés par la culture suivante. L'intérêt des couverts de légumineuses réside donc également dans le réservoir de matière organique qu'ils composent (Scholberg et al., 2010). L'azote organique qui y est contenu pourra être libéré durant une partie de la rotation des cultures selon la qualité des résidus et les conditions de minéralisation.

Les études qui se sont intéressées au devenir de l'azote dans les systèmes d'association relais entre une céréale et une légumineuse de service ont montré les intérêts qu'elles pouvaient représenter pour l'enrichissement, la préservation et la restitution d'azote. Cependant, les informations disponibles sont peu nombreuses pour ces systèmes d'association. Par ailleurs, la diversité des conditions pédo-climatiques et agronomiques rencontrées est peu représentée.

8. Problématique de thèse

Les associations relais à base de légumineuses de service semblent pouvoir répondre de manière durable à plusieurs limites agronomiques auxquelles font face les systèmes de grande culture biologiques. Cependant, de nombreuses questions restent en suspend quant aux conséquences de ces associations relais sur la distribution des ressources trophiques, le contrôle des adventices et la dynamique de l'azote dans le système sol-plante conduit en AB.

8.1. 1ère hypothèse

Les conditions de fertilité limitée des sols des systèmes céréaliers biologiques donnent un avantage compétitif aux légumineuses vis-à-vis du blé grâce à la fixation symbiotique. Le développement des couverts associés en relais avec une céréale en conditions d'AB pourra être varié et avoir des conséquences différentes sur la disponibilité des ressources et les performances finales du blé associé conduit en AB. Des espèces de légumineuses ayant des caractéristiques de développement différentes sont supposées produire des effets différents sur la relation entre le couvert et la céréale et au final sur les performances de cette céréale.

Pour vérifier ces hypothèses, nous répondrons aux questions suivantes :

- ***Quel est le développement de différents couverts de légumineuses de service, semés au printemps, sous couvert de blé d'hiver dans les conditions de fourniture en azote du sol parfois limitée qui caractérisent les systèmes céréaliers en AB ?***

- ***Quel est l'effet de ces différentes espèces de légumineuse de service sur les performances finales de la céréale biologique associée ? Quel est en particulier l'effet sur le taux protéique des grains qui intervient directement sur la détermination du prix de vente du blé biologique ?***
- ***Dans le cas où les performances de la céréale seraient impactées par la présence des couverts associés en relais, peut-on expliquer cet effet par une modification de la disponibilité des ressources trophiques principales que sont l'eau du sol, l'azote et le rayonnement lumineux par les couverts ?***

8.2. 2ème hypothèse

Le salissement par les adventices potentiellement important en conditions d'AB est susceptible d'éprouver l'efficacité des légumineuses de service semées sous couvert de blé d'hiver, et donc soumises à forte concurrence, dans la maîtrise des adventices durant l'association et l'interculture. Par ailleurs, on peut supposer que des espèces de légumineuses ayant des caractéristiques morphologiques et phénologiques différentes produiront des effets différents sur la maîtrise des adventices durant ces deux périodes.

Pour vérifier ces hypothèses, nous répondrons aux questions suivantes :

- ***Quel est l'effet de la présence et du développement des couverts de légumineuses sur l'abondance et le développement des adventices tout au long de la phase de présence des légumineuses sous couvert de blé ?***
- ***Comment les différentes populations d'adventices réagissent-elles à la présence des différents couverts de légumineuses durant l'association avec le blé ?***
- ***Quel est l'effet de la présence et du développement des couverts sur le développement des adventices durant l'interculture ?***

8.3. 3ème hypothèse

La réussite de légumineuses fourragères insérées en relais sous couvert de blé d'hiver devrait leur permettre d'assurer l'enrichissement du système sol-plante en azote grâce à la fixation symbiotique, sa préservation dans le sol et sa restitution au bénéfice de la culture céréalière suivante. On peut supposer que des espèces de légumineuses ayant des caractéristiques morphologiques et physiologiques différentes produiront des effets différents sur l'enrichissement, la préservation et la restitution d'azote dans le système sol-plante durant la succession des deux cultures céréalières.

Pour vérifier ces hypothèses, nous répondrons aux questions suivantes :

- ***Quel est l'effet de l'association relais de légumineuses de service et de blé d'hiver sur l'accumulation d'azote par la céréale associée ?***
- ***Quelle est l'accumulation d'azote par les légumineuses au terme de la phase d'association relais et de leur phase de développement ? Quelle part de cet azote provient de l'atmosphère et vient enrichir le système sol-plante en azote exogène ?***
- ***Quel est l'effet d'un couvert de légumineuse sur la quantité d'azote résiduel dans le sol durant la période hivernale et sur la quantité d'azote lixivié durant cette période ?***
- ***Quel est l'effet des couverts de légumineuses sur la restitution d'azote à la culture suivante et sur son rendement en grain ?***

A travers ces questions de recherche, cette thèse vise à analyser et comprendre le fonctionnement d'associations relais à base de légumineuses de service, favorisant l'autonomie azotée et la maîtrise des adventices, dans le cadre de la production de grande culture biologique. Ces questions permettront de donner des éléments de réponse à la question générale suivante : "Quels sont les effets de couverts de légumineuses de service insérés dans les rotations de grande culture biologiques par association relais avec un blé d'hiver sur les performances des cultures, la maitrise des adventices et la fourniture en azote dans ces systèmes ?"

Pour répondre à l'ensemble de ces questions, le dispositif expérimental mis en place a consisté à semer, au printemps, en association relais avec du blé tendre d'hiver, quatre espèces de légumineuses aux caractéristiques morphologiques, phénologiques et physiologiques variées (*Medicago lupulina*, *M. sativa*, *Trifolium pratense* et *T. repens*, Table 1) dans huit parcelles localisées dans des exploitations biologiques de grande culture. Ces exploitations couvrent des conditions pédo-climatiques diversifiées de la région Rhône-Alpes. Les modalités avec association blé-légumineuse de service ont été comparées à une modalité témoin sans couvert, ayant subi les mêmes interventions que les modalités avec couvert, en dehors de la gestion du salissement par les adventices durant l'interculture. Des observations destructives (biomasses aériennes et contenu en azote des plantes, humidité et azote minéral du sol) et non-destructives (densités de plantes, hauteur des couverts, rayonnement lumineux) ont été réalisés à des dates clés de l'association, de l'interculture et de la culture suivante pour permettre de répondre à ces questions.

Les chapitres suivants traiteront de chacune des thématiques évoquées : performances des cultures et partage des ressources trophiques, maîtrise des adventices et flux d'azote dans le système sol-plante. Enfin, un dernier chapitre de discussion générale permettra de faire une synthèse des résultats présentés, un retour sur la méthodologie utilisée, une mise en perspective scientifique de l'étude de cette pratique d'association et de proposer certaines recommandations.

Table 1. Caractéristiques principales des quatre espèces de légumineuses utilisées en association relais avec du blé d'hiver.

Inflorescence				
Nom français	Minette / Luzerne lupuline	Luzerne cultivée	Trèfle violet	Trèfle blanc
Nom anglais	Black medic	Alfalfa / Lucerne	Red clover	White clover
Nom binomial	*Medicago lupulina* L.	*Medicago sativa* L.	*Trifolium pratense* L.	*Trifolium repens* L.
Variété	Virgo Pajberg	Timbale (Flamande)	Formica	Aberdaï
Cycle	Annuel à bisannuel	Pérenne	Pluriannuel	Pluriannuel à pérenne
MS annuelle	0.6-20 t ha^{-1}	14.5-19 t ha^{-1}	14.5-16.5 t ha^{-1}	9-12 t ha^{-1}
Port (taille)	Ras à élevé (10 - 60cm)	Elevé (30 - 90cm)	Elevé (60 - 80cm)	Ras (20 - 30cm)
Capacité fixation en culture pure	15 - 460 kg ha^{-1} an^{-1}	85 - 360 kg ha^{-1} an^{-1}	100 - 250 kg ha^{-1} an^{-1}	100 - 400 kg ha^{-1} an^{-1}
Date de semis	Automne ou printemps	Tôt au printemps ou tôt à l'automne	Sortie hiver jusqu'à tôt à l'automne	Printemps plutôt qu'automne
Résistance au stress hydrique	Moyen	Très résistant	Résistant	Moyen à faible
Résistance au gel	Très résistant	Très résistant	Résistant	Résistant
pH optimum	à partir de 5, optimum >7	6-6,5	à partir de 5, optimum à 6 – 6.5	5,5 - 6
Profondeur racinaire	Moyenne à profonde	Profonde	Profonde	Moyenne

D'après Barnes et al. (2003; 2007), Benett (2003), Benett et al. (2006), Foulds (1978) et Frame (2005).

CHAPITRE 2. Effets de l'association relais sur les performances des cultures et la disponibilité des ressources trophiques

Ce chapitre correspond un article soumis à la revue *Field Crops Research*. Cet article a été accepté pour publication après demande de correction par la revue (cf. Amossé et al., 2013b). Les trois objectifs de cet article sont d'évaluer (i) la réussite de l'implantation, au printemps, des quatre espèces de légumineuses de service, sous couvert de blé d'hiver, (ii) l'impact de la présence des couverts associés sur les performances finales du blé (rendement et taux protéique des grains) et (iii) la relation entre le développement des couverts et la disponibilité des ressources trophiques pour expliquer les performances finales du blé.

Relay intercropping of legume cover crops in organic winter wheat: effects on performance and resource availability

Camille AMOSSÉ [a], Marie-Hélène JEUFFROY [bc], Christophe DAVID [a,*]

[a] *ISARA-Lyon, UP SCAB, 23 Rue Jean Baldassini, 69364 Lyon 07, France*

[b] *INRA, UMR211 Agronomie, BP01, 78850 Thiverval-Grignon, France*

[c] *AgroParisTech, UMR211 Agronomie, BP01, 78850 Thiverval-Grignon, France*

* Corresponding author. Tel: +33 427 858 526; fax: +33 427 858 636.

E-mail addresses: camosse@isara.fr (C. AMOSSÉ), Marie-Helene.Jeuffroy@grignon.inra.fr (M.-H. JEUFFROY), cdavid@isara.fr (C. DAVID).

Abstract

Wheat yields and grain protein content are lower and more variable in organic conditions than in conventional agriculture, mainly due to nitrogen (N) deficiency and weed competition. The undersowing of legume cover crops in growing winter wheat, also known as relay intercropping, is assumed to be a proficient way of enriching the soil-crop system with N and improving weed control. However, competition for resources may impair wheat performance. Relay intercropping in springtime in growing winter wheat is expected to limit competition for resources from the legume. The aim of our study was to analyze wheat performance and resource competition in relay intercropping systems with legume cover crops under various environmental conditions.

Eight field experiments were conducted on organic grain-oriented farms located in southeast France. Black medic (*Medicago lupulina*), alfalfa (*Medicago sativa*), red clover (*Trifolium pratense*) and white clover (*Trifolium repens*), undersown at wheat tillering stage, were compared with a sole crop of winter wheat (*Triticum aestivum* cv. Lona). The aerial biomass of wheat and legumes and total N content of wheat were determined at both the flowering stage and harvest time of the wheat. The main trophic resources (water, N and light) were monitored at similar stages. Wheat grain yield and grain protein content were also measured. Sites were classified according to wheat sole crop performance at harvest to evaluate the effect of relay intercropping in the various conditions tested.

In all but one of the thirty-two treatments, wheat grain yield was not significantly disturbed by relay intercropping whatever the aerial development of legumes. Abundant aerial development of legumes after flowering (> 20% of the aerial biomass of wheat at harvest) was associated with a mean significant decrease in wheat grain protein content of 8.5% of the control treatment value, this occurring in one third of the situations. These ratios of aerial biomasses of legumes compared to wheat were also associated with reductions in soil moisture and wheat N uptake. The effect on the availability of trophic resources for wheat may have led to a decrease in grain protein content without having any effect on grain yield. Sites which registered a low performance for wheat sole crops were less negatively impacted by the presence and aerial development of legumes.

The performance of the four legume species and the mechanisms of induced disturbance of resource availability are then discussed. Finally, we try to define ranges of legumes' development and resource availability in which wheat performance was maintained or limited.

Keywords

Intercropping; grain protein content; grain yield; soil water content; nitrogen uptake; intercepted radiation; organic farming

1. Introduction

Many studies on organic grain production identify legume crops as a proficient way of providing nitrogen (N) to high N-demanding grain crops (Goewie, 2002; Robson et al., 2002; Mazzoncini et al.; Casagrande et al., 2009). Their capacity to fix atmospheric N and make it available to non-fixing plants (Askegaard and Eriksen, 2007; Fustec et al., 2010) has made them of increasing interest in organic grain systems subject to N deficiency (David et al., 2005a).

Furthermore weeds are often recognized as the most serious threat to organic crop production (Bàrberi, 2002). The use of legume crops as cover crops between crop plants (Hiltbrunner et al., 2007b) or grown in the period between two cash crops (Kruidhof et al., 2008) has been shown to be efficient on weed control. As living plants or plant residues, they decrease light intercepted by weeds and limit their emergence (Teasdale et al., 2007). The use of legume crops can also provide other long-term agro-ecological services such as

biodiversity enhancement or soil protection (Hartwig and Ammon, 2002; Sheaffer and Seguin, 2003).

N availability for the subsequent and/or associated cash crops largely depends on the N accumulation provided by the legume crops, either as cover crops or cash crops, mostly linked to their production of biomass (Olesen et al., 2009; Bergkvist et al., 2011). Forage legumes cropped as green manure potentially provide higher N amounts to the cropping system than legumes cropped for grains (Ma et al., 2003; Sheaffer and Seguin, 2003), since harvested seeds can concentrate more than 75% of N accumulated in the plant (Mahieu et al., 2007).

In organic stockless systems, medium-term legume leys are shown to be less economically viable than grain crops (Robson et al., 2002; David, 2009). Intercropping legume cover crops with a cash crop could be an interesting option for improving N fertility while maintaining a cash crop every year (Thiessen Martens et al., 2001). Moreover, cereal-legume cover crop intercrops may improve radiation use, thanks to different aerial architectures and the life cycle timing of both crops (Shili-Touzi et al., 2010). The intercropping system can also improve N availability through complementarity in nutrient sources from soil and N fixation (Tosti et al., 2010). Finally, the modification of the root architecture due to competition for soil resources could improve water and nutrient uptake by the cash crop (Li et al., 2011).

Resource competition by the legume cover is expected to limit weed development (Teasdale et al., 2007). In intercropping situations with legume living mulches, competition for resources had also negative consequences on cash crops (Carof et al., 2007b; Hiltbrunner et al., 2007b). Competition, here, may take the form of light interception due to shading of the cash crop by the cover crop especially in the early stages of cash crop growth as shown by Carof et al. (2007b; 2007c) for wheat sown in legume living mulches. Using a similar wheat species and living white clover intercrop, Thorsted et al. (2006a) observed competition on soil water availability, while nutrient resources were the main source of competition between wheat and legume cover crops.

In intercropping systems combining cereals and legume cover crops, the dominance of cereals over legumes is essential to avoid resource limitation to the cash crop, thereby inducing limited performance (Andersen et al., 2007; Carof et al., 2007c; Shili-Touzi et al., 2010). Establishing cereal growth prior to the development of the legume cover crop, by delaying the legume sowing date or by using species with different growing cycles, can ensure that the cereal enjoys better access to trophic resources. Relay intercropping of legume

cover crops (RIL), by delaying the sowing of the legume until springtime, is expected (i) to ensure that the winter cash crop is sufficiently established and dominant to limit the opportunity of competition with the cover crop thereby inducing limited cereal performance but (ii) without inhibiting their emergence and growth, as proposed by Shili-Touzi et al. (2010) after modelling of winter wheat-red fescue intercropping in conventional agriculture over 35 climatic years.

Several studies undertaken in conventional agriculture on RIL in wheat, aimed at optimizing cover crop development by testing crop density (Mutch et al., 2003; Blaser et al., 2006; 2007; Queen et al., 2009), legume cultivars (Mutch et al., 2003; Singer et al., 2006), fertilization rates (Queen et al., 2009) or sowing techniques, by comparing broadcast and drill seeding for instance (Edwards, 1998). The previous research that was interested in the final performance of the relay intercropped cereal crop has demonstrated that RIL in winter wheat has no negative effect on conventional (Thiessen Martens et al., 2001; Mutch et al., 2003; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011) or organic wheat grain yield (Hartl, 1989; Becker and Leithold, 2008). However, few studies have evaluated the impact of RIL on wheat grain protein content. Becker and Leithold (2008) concluded that a mixture of legumes cover crops undersown in early spring in 50 cm wheat inter-rows had no effect and Blackshaw et al. (2010a) observed the same result with red clover or alfalfa spring-planted in winter wheat. The literature is even less abundant about RIL when we consider organic conditions (Hartl, 1989; Becker and Leithold, 2008; Olesen et al., 2009) in which nutrient resources are frequently limited.

Most studies on RIL have focused on hardy winter legume species like red or white clovers tested in conventional agriculture and developed under cold climate conditions (northern or eastern Europe, northern United-States and southern Canada) (Peel et al., 2007). In temperate conditions, other legume cover crop species could be suitable.

While it is assumed that the performance of the cash crop can be linked to resource competition between the two crops, little attention has been paid to this relation in RIL systems. Thus, resource monitoring is expected to help understand possible perturbations of the performance of relay intercropped winter wheat.

The general aims of our study were (i) to evaluate the establishment of various relay intercropped legumes cover crops in organic winter wheat, (ii) to evaluate their incidence on wheat grain yield and grain protein content, and (iii) to analyze the effect of relay intercropped legumes on resource availability (water, N and light), in diverse conditions of cash crop development, soil and weather.

2. Material and methods

2.1. Experimental sites

Eight field experiments (named hereafter as sites) were carried out, four in crop season 2008-2009 (A09, B09, C09 and D09) and four in 2009-2010 (E10, F10, G10 and H10) (Table 2). The field experiments were set up on organic farms located in southeast France over a large area, around 6,000 km² (44° 6' to 45 7' N and 4° 8' to 5° 6' E) representing various climatic conditions from continental to Mediterranean influences. Mean temperatures during the wheat crop cycle (from sowing to harvest time) ranged from 8.7 to 10.9°C (Table 2).

Rainfall regimes were variable over years and sites. Cumulative precipitation during the wheat crop cycle ranged between 401 and 784 mm (Table 2). Additional irrigation was applied once or twice from the beginning of April (wheat growth stage, GS 23) (Zadoks et al., 1974) to the end of May (GS 69). The water balance of the crop cycle, calculated as the difference between precipitation plus irrigation (in mm) and potential evapotranspiration (in mm) ranged from -183 to +291 mm.

The field experiments were characterized by various soil types (Jahn et al., 2006) (Table 2): three silt loam soils (D09, F10 and H10), two sandy loam (C09 and E10) and three with a higher rate of clay over 25% (A09, B09 and G10). Soil total N largely ranged from 0.9 to 2.5 g kg^{-1}. Maximum available soil water content of the 0-90 cm layer, calculated using the Soil-Plant-Air-Water (SPAW) model developed by Saxton et al. (2006) and based on simple textural soil characteristics, ranged from 130 to 240 mm.

Sites were also characterized by various weed infestations during the crop cycle. For instance, the ratio of weed/wheat aerial dry matter, expressed at wheat harvest time on wheat sole crop treatment, ranged from 0.2% to 6.6% (Table 2). High weed infestations exceeding 5% occurred on stony calcareous soils. All mechanical weed control was carried out with a tined weeder before cover crop sowing. All weed controls were performed before the legumes were sown, even on the wheat sole crop treatment. The last weed control on all the fields was also used to bury legume seeds the same day or one to two days after their sowing.

In all fields, winter wheat (cv. Lona) was sown at a rate of 200 kg ha^{-1}. The dates of sowing and the nature of the preceding crops are given in Table 2.

2.2. Experimental design and treatments

Four species of undersown legumes were compared. Black medic (*Medicago lupulina* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.), red clover (*Trifolium pratense* L.) and white clover

Table 2. Soil and climatic conditions and crop management of the field experiments.

Site codes	A09	B09	C09	D09	E10	F10	G10	H10
Location	44°37'N, 5°26'E	44°46'N, 5°21'E	44°45'N, 4°56'E	45°38'N, 4°54'E	44°45'N, 4°57'E	45°39'N, 4°53'E	45°41'N, 5°32'E	45°13'N, 4°49'E
Climate from sowing of wheat to harvest								
Cumulative rainfall and irrigation (mm)	544	611	544 (70) [d]	401	646 (70) [d]	591 (40) [d]	784	506
Mean temperature (°C)	8.7	9.3	10.9	10.2	10.7	10.3	9.7	10.2
Water balance (mm) [a]	-47	53	-93	-183	-2	-51	291	-113
Soil								
Texture [b]	CL (C 27% S 21%)	SiCL (C 37% S 10%)	SL (C 15% S 63%)	SiL (C 17% S 25%)	SL (C 16% S 60%)	SiL (C 15% S 14%)	SiC (C 43% S 8%)	SiL (C 20% S 27%)
Available soil water content on 90 cm depth (mm)(Saxton et al., 2006) [c]	200	180	130	230	140	240	160	215
Total nitrogen (g kg^{-1})	2.0	2.1	1.0	0.9	1.1	0.9	2.5	1.0
Weed infestation at harvest on control treatment								
Weed/Wheat aerial DM ratio (in %)	6.1	6.6	0.8	0.2	1.9	3.6	2.0	0.3
Preceding crop and principal dates								
Preceding crop	Winter wheat	Winter wheat	Soybean	Vetch	Soybean	Corn	Soybean	Soybean
Wheat sowing	2/11/08	26/10/08	26/11/08	20/11/08	13/11/09	27/10/09	30/10/09	26/10/09
Wheat harvesting	9/7/09	10/7/09	9/7/09	6/7/09	13/7/10	12/7/10	16/7/10	13/7/10
Legumes sowing	25/3/09	25/3/09	26/3/09	26/3/09	18/3/09	15/3/10	15/3/10	17/3/10

[a] Water balance = (Rainfall + Irrigation) - Potential evapotranspiration
[b] Soil classification from FAO (2006): CL = Clay Loam; SL = Sandy Loam; SiC = Silty Clay; SiCL = Silty Clay Loam; SiL = Silty Loam; C = Clay; S = Sand.
[c] Method defined by Saxton et al. (2006)
[d] Including irrigation in brackets (in mm)

(*Trifolium repens* L.) were broadcast sown (800 seeds.m^{-2}) with a manual centrifugal seed spreader at the end of wheat tillering (GS 22) (Table 2). An additional control treatment with wheat grown as sole crop referred to as T0 was implemented to evaluate the effect of undersown legumes. Legume covers were maintained after wheat grain harvest and then ploughed-in at the end of winter. Each treatment was repeated in three randomized blocks per site. The size of each treatment was approximately 200 m².

No additional fertilization was performed at springtime so as not to interfere with the sole effect of legumes on wheat N nutrition and crop performance.

2.3. Data collection

2.3.1. Plant development and wheat performance

Wheat, legume and weed aerial dry matter (DM, kg ha^{-1}) were measured at the wheat flowering stage (GS 69) and just before wheat harvest by the farmers, close to wheat maturity stage (GS 92). Three samples of 0.25 m² per treatment were hand harvested at each sampling date. The three components, wheat, legumes and weeds, were separated and weighed after oven-drying (48 h, 60°C in air oven). At harvest, ears and straw were weighed separately. Then the ears were threshed and the grains were weighed after oven-drying (48 h, 60°C in air oven). Grain yield data was adjusted to 15% moisture content. Total grain protein content (GPC in % DM) was determined using Size-Exclusion High-Performance Liquid Chromatography (Morel et al., 2000).

2.3.2. Soil moisture

Three soil samples corresponding to the soil layers 0 to 30 cm, 30 to 60 cm and 60 to 90 cm were taken on each treatment at wheat harvest. Each sample was obtained by mixing three sub-samples per treatment. The water content of each sample (in %) was calculated as the ratio between water mass in soil samples and dry soil sample mass after oven-drying (48h, 105°C in air oven). Soil moisture on the whole soil profile was calculated as the mean mass humidity of the three layers per treatment.

2.3.3. Wheat nitrogen content

The three wheat samples of 0.25 m² per treatment were gathered at the wheat flowering stage (GS 69) and ground using a 1 mm mesh grid to determine the wheat N content of each treatment. A sub-sample of 5.0 to 7.5 mg of homogenous material was analyzed for total N concentration using mass spectrometry (Delta Plus Avantage, Thermo-Electron, Bremen, Germany). Wheat N uptake (kg N ha^{-1}) was calculated at wheat flowering

multiplying total dry biomass by total N concentration. Wheat N accumulation at wheat harvest was calculated using the measured N content in grains and assuming a constant N harvest index (Austin and Jones, 1975) fixed at 0.76 (Barbottin et al., 2005). N uptake in the aerial parts was multiplied by 1.25 to estimate the total N quantity accumulated by wheat, including roots, at both dates (Coïc, 1956).

2.3.4. Radiation interception

Photosynthetically active radiation (PAR in µmol m^{-2} s^{-1}) intercepted by the whole canopy was determined at wheat flowering (GS 69) and harvest using an AccuPAR LP-80 ceptometer (Decagon Devices, Pullman, WA, USA). Measurements were obtained when incident radiation greater than 600 µmol m^{-2} s^{-1} was observed above the wheat, measured 3 hours before and after the zenith.

The data were obtained by placing the ceptometer across 6 wheat rows with 6 measurements at ground level in each treatment. An additional sensor was placed above the wheat canopy to measure total incident radiation simultaneously with each ground measurement. The proportion of incident radiation intercepted by the total vegetation from above the wheat canopy to ground level, including legumes, weeds and wheat was calculated using the following equation:

$$PARi = \frac{PAR_A - PAR_B}{PAR_A} \times 100$$

where *PARi* (%) is the proportion of total incident PAR intercepted, PAR_A (in µmol m^{-2} s^{-1}) the total incident radiation above wheat and PAR_B (in µmol m^{-2} s^{-1}), the radiation at ground level.

2.4. Site classification

To take advantage of site diversity in this paper, we have classified the field experiments according to wheat sole crop performance as observed on control treatments without a cover crop. This classification relies on three indicators of wheat performance at harvest: aerial DM (kg ha^{-1}), total N content (kg ha^{-1}) and grain yield (dt ha^{-1}). We considered that the values of these indicators were the result of the environmental conditions observed on the eight experimental sites. Three groups of sites were determined according to the values of aerial DM, total N content and grain yield (Table 3).

Table 3. Site grouping according to the final performance of winter wheat sole crop: aerial dry matter (DM, kg ha^{-1}), total N uptake (kg ha^{-1}) and grain yield (dt ha^{-1}) at wheat harvest.

Wheat sole crop performance groups	Aerial DM (kg ha^{-1})	Total N uptake (kg ha^{-1})	Grain yield (dt ha^{-1})	Site codes
				A09
				C09
Low	< 5500	< 65	< 25	F10
				E10
Intermediate	5500 < X < 7500	65 < X < 90	25 < X < 35	G10
				B09
				D09
High	> 7500	> 90	> 35	H10

2.5. Biomass and intercrop ratios

The aerial DM ratio of legume and wheat (DML/DMW) was chosen to describe legume growth compared to wheat at both wheat flowering stage and harvest time. An intercrop ratio, representing the value of relay intercropped treatment compared to the sole crop treatment, was also calculated to evaluate the effect of the RIL system compared to wheat sole crop. This intercrop ratio will be referred to as "L/T0" and placed after the name of the chosen indicator (grain yield, grain protein content [GPC], soil moisture, PARi or wheat total N content) in the following sections. These ratios allow data with a high inter-site variability to be compared on the same basis.

2.6. Statistical analysis

Square root or log transformation were used on data when Levene's homogeneity of variance test ($P = 0.05$) was not significant. Two-factor ANOVAs were performed using XLStat software (Addinsoft SARL, Paris, France), with repeated measures in randomized complete blocks, to detect the effects and interactions of site, block and treatment. If a significant F test ($P \leq 0.10$) was obtained from ANOVAs, Tukey's HSD test was then used to determine treatment differences at $P = 0.10$. If the homogeneity of variance was not respected after data transformation, a non-parametrical test of Kruskal-Wallis (K-W, $P = 0.10$) was performed. Means were compared using a Dunn test when the K-W test was significant.

3. Results

3.1. Site grouping

On the basis of sole crop performance, three groups were defined, with low, intermediate and high wheat performance (see 2.4). The different thresholds for each wheat performance indicator are given in Table 3. A09, C09 and F10 were characterized by a combination of low wheat performance, E10 and G10 by intermediate wheat performance and B09, D09 and H10 by high wheat performance.

3.2. Legumes aerial biomass

At the wheat flowering stage, relay intercropped legumes showed variable aerial biomass ranging from 0 to 532 kg DM ha^{-1} (data not shown). This corresponded to a range of legumes/wheat aerial biomass ratios between less than 1% and 12%, with a mean of less than 4%. The growth of cover crops at the wheat flowering stage was limited and not linked to wheat performance and resource availability (data not shown). We have chosen in this paper to put the emphasis on data obtained at wheat harvest when the total effect of RIL system could be analyzed.

The four relay intercropped legume species presented highly variable aerial dry matter at wheat harvest ranging from 2 to 2 880 kg DM ha^{-1} (Table 4a). The ranking order of the four species was very similar whatever the site. On average, *M. lupulina* and *T. pratense* exhibited the highest aerial dry matter (1371 and 1294 kg DM ha^{-1}, respectively), followed by *M. sativa* with 898 kg DM ha^{-1} and finally *T. repens* with 677 kg DM ha^{-1}. The site had a highly significant effect on results ($P < 0.001$).

At harvest, the ratio of legume/wheat aerial dry matter averaged 18% with a range varying from less than 1% to 59% (Table 4b). On average, the ranking of treatments according to biomass ratios was the same as for respective values of raw legume aerial dry matter : *M. lupulina* and *T. pratense* represented the highest part of wheat aerial DM (22%), while *M. sativa* and *T. repens* represented respectively 16 and 11% of wheat aerial DM on average.

Legume growth was different in the three groups of fields determined from wheat sole crop performance (Table 4). Legume growth was significantly lower on sites where wheat sole crop performance was high than in the two other wheat performance groups ($P < 0.001$; data not shown). Inversely, legume growth was significantly higher for the intermediate wheat sole crop performance group than in the two other wheat performance groups. Finally, legume growth was highly variable depending on the site in the low wheat sole crop performance

Table 4. Aerial dry matter (DM) of relay intercropped legumes (kg ha^{-1}) (a) and ratios of aerial DMs of relay intercropped legumes and wheat (DM_I/DM_W, in %) (b) at wheat harvest for the sites grouped according to winter wheat sole crop final performance.

Groups of sites [a]	Low				Intermediate			High				
Treatment	A09	C09	F10	Group mean	E10	G10	Group mean	B09	D09	H10	Group mean	Mean
a) Aerial DM of legumes												
Medicago lupulina	386 **a**	1627 **a**	2566	1526 **a**	2493 **a**	2072 **a**	2283 **a**	287 **a**	157	1376 **a**	607 **a**	1371 **a**
M. sativa	159 **a**	766 **ab**	2555	1160 **ab**	1410 **bc**	1238 **b**	1324 **b**	29 **b**	100	920 **b**	350 **bc**	898 **bc**
Trifolium pratense	28 **b**	1365 **a**	2880	1424 **ab**	2302 **ab**	2203 **a**	2253 **a**	137 **a**	121	1318 **a**	525 **ab**	1294 **ab**
T. repens	2 **c**	301 **b**	2250	851 **b**	1248 **c**	1163 **b**	1205 **b**	4 **c**	48	266 **c**	106 **c**	677 **c**
Treatment *P*-value	< 0.001	< 0.001	0.17	0.036	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.16	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Site effect (P < 0.001)	**c**	**b**	**a**		**ab**	**ab**		**c**	**c**	**b**		
b) DM_I/DM_W												
Medicago lupulina	10 **a**	31 **a**	45 **ab**	29 **a**	40 **a**	32 **a**	36 **a**	6 **a**	2	13 **a**	23 **a**	22 **a**
M. sativa	4 **ab**	15 **b**	54 **ab**	24 **ab**	23 **b**	18 **b**	20 **b**	<1 **bc**	2	9 **a**	14 **b**	16 **bc**
Trifolium pratense	1 **bc**	26 **ab**	59 **a**	29 **ab**	40 **a**	33 **a**	36 **a**	2 **ab**	2	13 **a**	19 **a**	22 **ab**
T. repens	<1 **c**	6 **c**	38 **b**	15 **b**	22 **b**	20 **b**	21 **b**	<1 **c**	1	3 **b**	7 **c**	11 **c**
Treatment *P*-value	< 0.001	< 0.001	0.03	0.024	< 0.001	0.01	< 0.001	< 0.001	0.45	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Site effect (P < 0.001)	**d**	**bc**	**a**		**ab**	**ab**		**d**	**d**	**c**		

[a] According to final performance of wheat sole crop (see Table 3).
Letters in column indicate significant mean differences between treatments for each site and on average, according to Tuckey's HSD test or Dunn's test (P = 0.10). Letters in the last line of each sub-table indicate significant differences between sites, according to the same statistical tests. Framed cells indicate the relay intercropped treatments where grain yield was significantly reduced compared to the control treatment. Dark cells indicate the relay intercropped treatments where GPC was significantly reduced.

group but, on average, the mean aerial growth of the four relay intercropped legume species in this group was intermediate and significantly different from the two other groups. Concerning the year, in the two extreme (high and low) wheat sole crop performance groups, legume growth was higher in 2010 than in 2009 ($P < 0.001$; data not shown).

The ranking of the four relay intercropped legume species in each group of wheat sole crop performance was more or less the same and similar to the global ranking of the legume species with *M. lupulina* and *T. pratense* showing the best aerial growth followed by *M. sativa* and finally *T. repens*.

3.3. Effects of legumes on wheat performance

3.3.1. Grain yield

Sole crop winter wheat (T0) yielded from 21.6 to 44.7 dt ha^{-1} according to the sites, with a mean of 31.4 dt ha^{-1} (Table 5a). On relay intercropped treatments, grain yields ranged from 20.8 to 47.1 dt ha^{-1}, with an average of 30.3 to 31.2 dt ha^{-1} depending on legume species. The presence of legumes had, in general, no significant effect on wheat grain yield. A significant reduction of wheat grain yield on relay intercropped treatments was only observed on one out of thirty-two treatments with *T. repens* at E10 (-22% compared with T0). No difference amongst the type of legumes was observed on six out of eight sites. On site E10, wheat relay intercropped with *T. repens* obtained a significantly lower yield compared to *M. lupulina* and *M. sativa* treatments. On site F10, *T. pratense* obtained a significantly lower yield compared to *M. lupulina* and *T. repens*. The effect of the site on wheat grain yield was highly significant ($P < 0.001$; Table 5a). The ranking of the sites was similar to wheat sole crop performance groups' one (Table 3) with B09, D09 and H10 of the high wheat sole crop performance group showing the best average wheat grain yields compared to the other sites and A09, C09 and F10 of the low wheat sole crop performance group showing the lowest average wheat grain yields.

3.3.2. Wheat grain protein content

On the control treatment (T0), wheat GPC ranged from 9.3 to 10.5 % DM with a mean of 10.0 % DM (Table 5b). When relay intercropped, wheat GPC varied from 8.4 to 10.8 % DM with a mean ranging from 9.6 to 9.9 % DM depending on the legume species. The total GPC of relay intercropped wheat was significantly reduced by relay intercropped legumes in nine out of thirty-two treatments. The degree of reduction varied from 5% to 11% of the sole crop treatment value. The effect of the site was highly significant ($P <0.001$;

Table 5. Grain yield of winter wheat at 15% of moisture content (dt ha^{-1}) (a) and wheat grain protein content (GPC, %DM) (b) for the sites grouped according to winter wheat sole crop final performance.

Groups of sites [a]	Low				Intermediate			High				
Treatment	A09	C09	F10	Group mean	E10	G10	Group mean	B09	D09	H10	Group mean	Mean
a) Grain yield												
Control	21.6	23.4	23.7 **ab**	22.9	31.1 **a**	29.6	30.4 **a**	36.0	41.3	44.7	40.7	31.4
Medicago lupulina	21.9	25.3	25.3 **a**	24.2	29.5 **a**	26.5	28.0 **ab**	28.3	39.4	45.9	37.9	30.3
M. sativa	23.1	25.8	22.4 **ab**	23.8	29.5 **a**	28.9	29.2 **a**	33.0	41.0	44.5	39.5	31.0
Trifolium pratense	25.4	25.9	21.1 **b**	24.1	29.4 **ab**	27.8	28.6 **a**	32.5	43.1	44.4	40	31.2
T. repens	20.8	27.1	25.4 **a**	24.4	24.2 **b**	25.8	25 **b**	33.6	40.2	47.1	40.3	30.5
Treatment *P*-value	0.37	0.43	0.06	0.76	0.008	0.11	0.003	0.14	0.86	0.88	0.62	0.92
Site effect ($P < 0.001$)	**d**	**cd**	**d**		**bc**	**bc**		**b**	**a**	**a**		
b) GPC												
Control	9.3	10.1 **a**	10.3 **a**	9.9 **a**	10.5 **a**	10.5 **ab**	10.5 **a**	10.1	9.4	10.2	9.9	10.0
Medicago lupulina	9.7	9.5 **b**	9.2 **b**	9.5 **b**	9.3 **c**	10.2 **bc**	9.8 **c**	10.3	9.2	10.4	10.0	9.7
M. sativa	9.2	10.1 **a**	9.6 **ab**	9.6 **ab**	9.7 **bc**	10.4 **ab**	10.1 **b**	9.8	8.4	9.8	9.3	9.6
Trifolium pratense	9.4	9.8 **ab**	9.2 **b**	9.5 **b**	9.4 **bc**	10.0 **c**	9.7 **c**	10.1	9.8	10.6	10.2	9.7
T. repens	9.3	10.2 **a**	9.5 **b**	9.7 **ab**	9.8 **b**	10.7 **a**	10.3 **ab**	10.8	8.6	10.0	9.8	9.9
Treatment *P*-value	0.12	0.022	0.006	0.007	0.001	0.005	< 0.001	0.23	0.39	0.75	0.21	0.28
Site effect ($P < 0.001$)	**cd**	**abc**	**bcd**		**abcd**	**a**		**ab**	**d**	**ab**		

[a] According to final performance of wheat sole crop (see Table 3).
Letters in column indicate significant mean differences between treatments for each site and on average, according to Tuckey's HSD test or Dunn's test (P = 0.10). Letters indicate significant differences between sites, according to the same statistical tests. Framed cell indicates the relay intercropped treatments where grain yield was significantly reduced compared to the control treatment. Dark cells indicate the relay intercropped treatments where GPC was significantly reduced.

Table 5b) but the differences between sites were not statistically marked and were not particularly associated with the grouping of sites based on the three indicators of the Table 3.

Treatments relay intercropped with *M. lupulina* and *T. pratense* were especially characterized by low wheat GPC. These two species of legume make up two thirds of the depleted treatments. Six out of the nine depleted treatments were relay intercropped with these two species. On the remaining treatments (23 out of 32), no significant effect of the presence of relay intercropped legumes was observed.

3.4. Legume growth and wheat performance

The nine treatments where grain yield and/or GPC were limited by RIL (*M. lupulina*: C09, E10 and F10; *T. pratense*: E10, F10 and G10; *T. repens*: E10 and F10; *M. sativa*: E10; Table 5) were also the treatments where these legumes had the highest growth compared to wheat. At wheat harvest, we observed that nine out of twelve treatments showing DML/DMW ratios higher than 20% were associated with significant wheat grain yield and/or GPC reduction (framed and darkened cells in Table 4b). Then we considered this ratio of aerial biomasses as a threshold upon which the rest of our analysis concerning the links between legumes growth and wheat performance on the one hand and resource availability on the other hand was developed.

This threshold ratio appeared to be adapted when considering wheat GPC. Below the DML/DMW ratio threshold of 20%, the intercrop ratio (L/T0) for GPC has exhibited high variability around one without any significant limitation of GPC (Fig. 2b). Above this ratio, all GPCs of relay intercropped treatments were below GPCs of sole crop treatments, indicating depletion of the GPC on corresponding relay intercropped treatments. In nine out of the twelve cases below one, the GPC was significantly decreased.

Concerning wheat grain yield, intercrop ratios showed great variability, from 0.78 to 1.18. (Fig. 2a). Approximately one third of relay intercropped treatments exhibited wheat grain yield equal to or higher than what was obtained in the control treatment indicating an advantage of the RIL situation compared to wheat sole crop. Almost all treatments with equal or higher performance values with relay intercropped treatments came from the low wheat sole crop performance group (nine out of twelve treatments).The remaining two-thirds were beneath control treatment values and only the lowest value - see framed symbol - showed significant yield penalty. All relay intercropped treatments coming from the intermediate wheat sole crop performance group obtained lower values than sole crop.

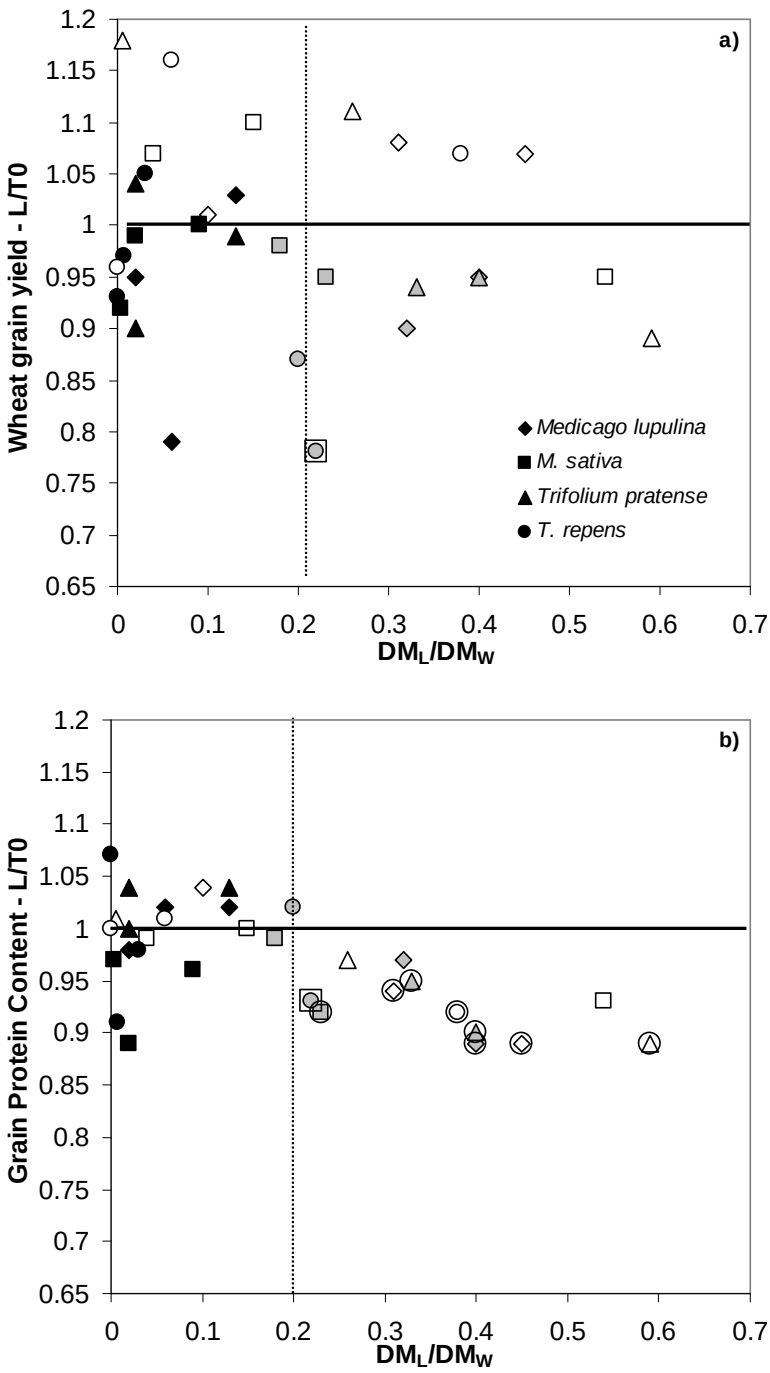

Fig. 2. Ratios of wheat grain yield (a) and grain protein content (b) expressing the values of relay intercropped wheat to wheat sole crop (L/T0) related to ratios of legume/wheat aerial biomass (DM_L/DM_W) at wheat maturity.

The symbols correspond to the four relay intercropping treatments: *Medicago lupulina* (◆), *M. sativa* (■), *Trifolium pratense* (▲) and *T. repens* (●). The color of the symbol indicates the level of final performance of wheat sole crop. Black points correspond to sites where final performance of winter wheat were high, grey points to intermediate and white points to low (see Table 3). The vertical dotted line represents the 20% threshold of DM_L/DM_W. The framed symbol (□) corresponds to the treatment where a significant decrease in wheat grain yield and protein content were observed. Circled symbols (○) correspond to treatments where significant decreases in wheat grain protein content were observed.

3.5. Legume growth and resource availability

The growth of legumes depleted soil moisture in almost all situations (thirty out of thirty-two treatments) compared to control treatments (Fig. 3). On the sites registering high wheat sole crop performance, legume growth was low compared to wheat. Consequently, soil moisture depletion was limited and generally did not exceed by more than 10% the sole crop treatment value (nine out of twelve treatments). For the two remaining wheat sole crop performance groups, soil moisture variation of relay intercropped treatments compared to sole crop were highly variable (Fig. 3) and the majority of the treatments exhibited soil moisture depletion more than 10% higher than the sole crop treatment values. Treatments where wheat GPC or grain yield were significantly limited obtained levels of soil moisture depletion equal to or higher than 10% compared to sole crop treatments, reaching a maximum of 33% less soil moisture than in sole crop treatment.

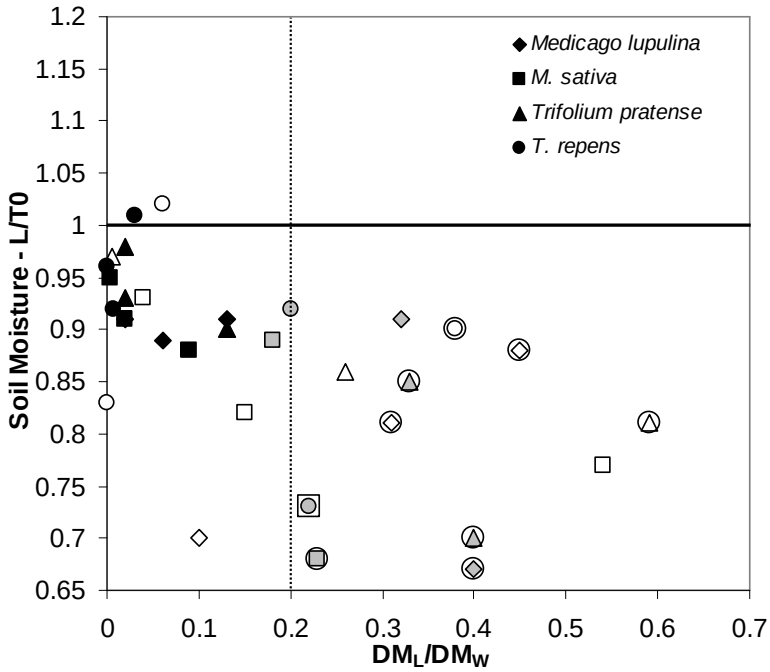

Fig. 3. Ratios of soil moisture expressing the values of relay intercropped treatments to wheat sole crop treatment (L/T0) related to legume/wheat aerial biomass ratios (DM_L/DM_W) at wheat maturity.

The symbols correspond to the four relay intercropping treatments: *Medicago lupulina* (◆), *M. sativa* (■), *Trifolium pratense* (▲) and *T. repens* (●). The color of the symbol indicates the level of final performance of wheat sole crop. Black points correspond to sites where final performance of winter wheat were high, grey points to intermediate and white points to low (see Table 3). The vertical dotted line represents the 20% threshold of DM_L/DM_W. The framed symbol (□) corresponds to the treatment where a significant decrease in wheat grain yield and protein content were observed. Circled symbols (○) correspond to treatments where significant decreases in wheat grain protein content were observed.

Concerning relay intercropped wheat N uptake, the responses to the RIL situation was clearly different from one performance group to another (Fig. 4). We first observed that, in general, DML/DMW ratios over 20% were associated with lower wheat N uptake than those observed for low biomass ratios (Fig. 4). Then, total N content of relay intercropped wheat at harvest was systematically limited on sites with intermediate wheat sole crop performance. On the contrary, total N content of relay intercropped wheat at harvest was improved on sites with low wheat sole crop performance in seven out of twelve treatments. Total N content of relay intercropped wheat had decreased in eight out of twelve treatments on sites with high wheat sole crop performance. Decreases in N uptake of relay intercropped wheat compared to wheat sole crop were linked to significant decreases in GPC on eight out of nine treatments.

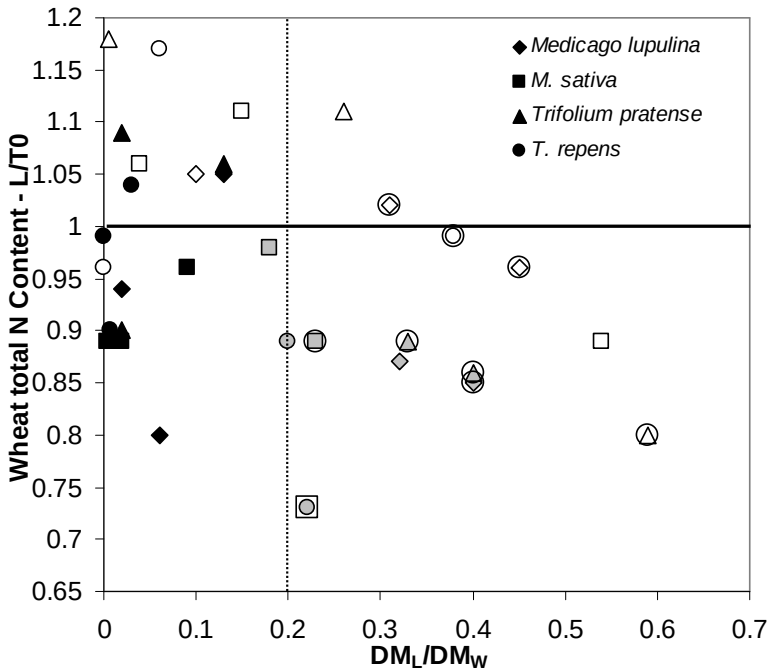

Fig. 4. Ratios of wheat N content expressing the values of relay intercropped wheat to wheat sole crop (L/T0) related to legume/wheat aerial biomass ratios (DM_L/DM_W) at wheat maturity.

The symbols correspond to the four relay intercropping treatments: *Medicago lupulina* (◆), *M. sativa* (■), *Trifolium pratense* (▲) and *T. repens* (●). The color of the symbol indicates the level of final performance of wheat sole crop. Black points correspond to sites where final performance of winter wheat were high, grey points to intermediate and white points to low (see Table 3). The vertical dotted line represents the 20% threshold of DM_L/DM_W. The framed symbol (□) corresponds to the treatment where a significant decrease in wheat grain yield and protein content were observed. Circled symbols (○) correspond to treatments where significant decreases in wheat grain protein content were observed.

The proportion of intercepted PAR was higher when wheat was relay intercropped with legumes than for wheat sole crop in almost all situations, and increased with legumes relative growth (Fig. 5). The relationship between the two variables was clearly significant ($P < 0.001$, $R^2=0.82$). On sites where wheat sole crop obtained high performance levels, the limited growth of legumes induced limited increases in intercepted light. The proportion of intercepted PAR for the two other performance groups were less distinct. High DML/DMW ratios over 20% were associated with proportions of intercepted PAR by the whole cover at wheat harvest more than 30% higher than the wheat sole crop values (Fig. 5). The nine treatments where wheat grain yield and/or GPCs were decreased by RIL showed PAR interception gains ranging from 32 to 112% of the sole crop treatment values.

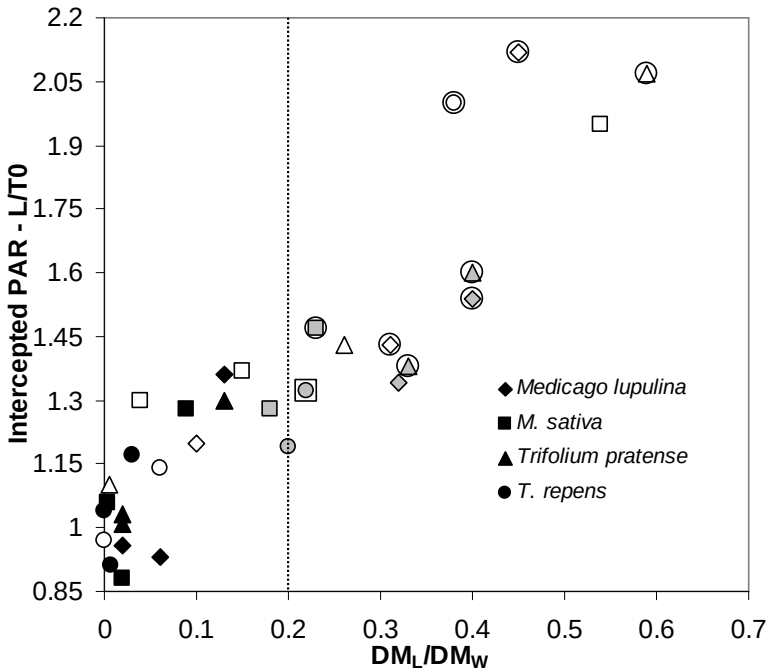

Fig. 5. Ratios of total incident photosynthetically active radiation (PAR) intercepted by whole field cover expressing the values of relay intercropped treatments to wheat sole crop treatment (L/T0) related to legume/wheat aerial biomass ratios (DM_L/DM_W) at wheat maturity.

The symbols correspond to the four relay intercropping treatments: *Medicago lupulina* (◆), *M. sativa* (■), *Trifolium pratense* (▲) and *T. repens* (●). The color of the symbol indicates the level of final performance of wheat sole crop. Black points correspond to sites where final performance of winter wheat were high, grey points to intermediate and white points to low (see Table 3). The vertical dotted line represents the 20% threshold of DM_L/DM_W. The framed symbol (□) corresponds to the treatment where a significant decrease in wheat grain yield and protein content were observed. Circled symbols (○) correspond to treatments where significant decreases in wheat grain protein content were observed.

4. Discussion

4.1. Effects of RIL on wheat performance

4.1.1. Wheat grain yield

The range of sole crop grain yield was similar to grain yields previously observed in organic unfertilized conditions in south-east France (David et al., 2005a; 2005b).

Under organic conditions with no additional fertilization, RIL did not induce a significant reduction in grain yield, except on one out of thirty-two treatments. These results were obtained under variable soil and weather conditions, and clearly demonstrate that organic wheat grain yield is not affected even though the four legumes species showed various degrees of aerial growth (Table 4). This result is consistent with previous studies on RIL with the same species in conventional (Thiessen Martens et al., 2001; Mutch et al., 2003; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011) and organic agriculture (Hartl, 1989; Becker and Leithold, 2008; Olesen et al., 2009).

4.1.2. Grain protein content

Low values of GPC of around 10% DM observed on control treatments are consistent with previous data obtained under similar organic conditions (David et al., 2005a; Casagrande et al., 2009).

In this study, wheat GPC of relay intercropped treatments decreased in 28% of cases tested, even in those cases where the values were already low in sole crop treatments. This was especially true for wheat relay intercropped with *M. lupulina* and *T. pratense* which developed the highest aerial DMs after flowering.

The few studies interested in the effect of RIL on wheat GPC found results contrary to ours with no effect of relay intercropped red clover or alfalfa (Blackshaw et al., 2010a) or a mixture of legumes cover crops (Becker and Leithold, 2008) on winter wheat quality.

We hypothesised that the delay between the sowing dates of the relay intercropped species was supposed to avoid too intense competitive relationship between them leading to decreased wheat performance. The final performance of relay intercropped wheat that we observed show that the implementation of the RIL technique in organic winter wheat can lead to decreased wheat performance, and especially wheat grain quality when the conditions are favourable to relay intercropped legumes.

4.2. Effects of RIL on resource availability

4.2.1. Soil water content

Our experiments showed that the relay intercropped legumes directly affect water availability in the first 90 cm of soil during the crop cycle. Adding a second crop to wheat led logically to greater soil water use through increased canopy transpiration from cover and cash crops (Thorsted et al., 2006a). Field experiments characterized by high wheat sole crop performance were less impacted by limited water availability due to the low growth of legumes. Furthermore, our results have shown variability in the effect the four species have had on water availability. For instance, *M. sativa*, which has a strong tap root system (Frame, 2005) depleted soil moisture more than *T. pratense* despite lower aerial DM.

Concerning the rooting behaviour of the relay intercropped species we can assume that, in the RIL system, the time between the two sowing dates allowed wheat roots to reach deeper water reserves before the legumes were sown. Moreover, topsoil water competition from growing legumes may have led wheat roots to grow to a greater depth (Hauggaard-Nielsen and Jensen, 2005; Li et al., 2011). Therefore, the drying up of the topsoil, aggravated by undersown legumes, may not have disturbed wheat water nutrition if the rooting system were not limited by soil compaction. For instance, Shili-Touzi et al. (2010) and Carof et al. (2007c), analyzing the rooting system of intercrops, showed that the intercropping technique did not affect soil water availability to the cash crop.

Beyond the fact that water is a trophic resource for plants per se, its availability could directly affect N mineralization from soil leading to a potential influence on post-flowering N nutrition during the grain filling period (Paul et al., 2003).

4.2.2. Wheat N uptake

Under limited N availability conditions, legumes are supposed to rely on symbiotic fixation for their N nutrition, limiting interspecific competition with wheat for soil mineral N through complementary N resource use (Corre-Hellou et al., 2006). Nevertheless, in this study, high legume DM biomass was associated with limited total N uptake and wheat GPC at harvest time, indicating that GPC decline at the expense of legume growth.

In organic grain systems, N availability for winter wheat may be limited in cases where no additional fertilization was added. N availability depends exclusively on crop residues and mineralization of soil organic matter to ensure wheat’s N demand. The reduction in soil water availability observed in relay intercropped treatments may have led to limitations in biological activity and soil organic matter mineralization (Paul et al., 2003; Celette et al.,

2009). The colonization of the topsoil layer by both wheat and emerging legume roots may lead to competition for water and mineral resources. The topsoil layer is the predominant soil N reserve as crop residues and amendments are incorporated in this layer. As a consequence of the top soil drying up, it is likely that residual mineral N or mineralized organic N becomes immobilized and unavailable to wheat.

4.2.3. Intercepted radiation

Our results showed a positive relationship between light interception by the whole canopy and the DML/DMW ratio at wheat harvest. Potential competition for light should occur if legumes are sufficiently developed at an early growing stage of wheat and their canopy reaches that of the wheat leaf (Carof et al., 2007c). However, in the early stages of RIL, the dominance of wheat over legumes implies that light competition was not to the detriment of wheat but to the detriment of legumes (Queen et al., 2009; Shili-Touzi et al., 2010). During grain filling, the senescence of older wheat leaves may have permitted an increase in light transmittance to the cover crops (Blaser et al., 2006). Legume development between wheat flowering and wheat harvest increased rapidly due to this rise in light transmittance. Thus, the shading effect of legumes over wheat will probably only have occurred in the highest legume species, i.e. *M. sativa* and to a lesser extent *T. pratense*, for a few days before wheat harvest.

Due to its erect growth (Frame, 2005), *M. sativa* should have been wheat's strongest light competitor. However, this species did not intercept more light than other species at wheat harvest time due to lower aerial DMs in our experiment (Table 4b) (Thiessen Martens et al., 2001).

Lower, but denser canopies of *M. lupulina* and *T. pratense* did not present this drawback and stayed far below the level of the spikes. The prostrate growth pattern of *T. repens*, in addition to poor aerial development, offered little threat to wheat for light sharing.

The increase in radiation interception of relay intercropped treatments with a higher legume biomass in the whole canopy, indicates better use of solar radiation while limiting the amount of light that reached the ground. The poor development of legume cover crops on fields with high wheat sole crop performance limited the radiation use and its potential benefits.

A reduction in the amount of light reaching the ground, courtesy of the cover crops, is expected to be beneficial to weed control (Kruidhof et al., 2008). Thus, the denser legume

canopies, represented by *M. lupulina* and *T. pratense* can be expected to provide better weed control after harvest than other species.

4.3. Effects of legumes on wheat performance through resource availability

The relation between resource availability in a RIL system and its effect on cash crop performance has not been addressed in previous papers. The monitoring of legumes' growth and resources availability has enabled us to define ranges of values above which limitations in wheat GPC and yield may appear.

Under the conditions explored in our field experiments, there was a significant decrease in the final outcomes for wheat and especially in GPC on relay intercropped treatments for ratios of legume/wheat biomass higher than 20% at wheat harvest (Table 4b). Such a ratio, equal to or higher than 20%, which corresponds to the lowest DM ratio above which final wheat performance were significantly depleted, was obtained equally as well with a high growth of legumes in a wheat crop showing intermediate performance (site E10 and G10) as with a high legume development in poorly developed wheat (site C09 and F10).

The decline in performance was related to combined disturbances to the availability of two main trophic resources, which are soil water and soil N. In fact, relay intercropped treatments in which wheat performance was penalized showed significantly lower soil water content ($P < 0.001$) ranging from -10 to -33% of the control treatment value with an average of -22%. Similarly, wheat N uptake was also significantly lower in these penalized treatments ($P = 0.034$) with variations ranging from +2 to -27% of the control treatment value with an average of -11%.

4.4. The establishment of legume cover crops

We expected that, despite the delay in the sowing dates of wheat and legume cover crops, the environmental conditions surrounding legumes (pedo-climatic conditions and wheat competition) would be favourable in early spring to allow their establishment and growth in wheat. Our results show that it is dependent both on legume species and on the wheat final performance potential of each field.

M. lupulina and *T. pratense* withstand the competition of wheat the best during their establishment in spring and early summer. In conventional RIL conditions, *T. pratense* was also found to develop higher aerial biomass than *T. repens* (Bergkvist et al., 2011) and *M. sativa* (Thiessen Martens et al., 2001; Blaser et al., 2011). Our results also showed that *M. sativa*, despite having an erect growth pattern, did not benefit from this characteristic when

relay intercropped with wheat, since its aerial development represented, on average, only 65% of *M. lupulina*'s which grows prostrate. *T. repens* is the legume that showed the least development in the RIL system, whatever the year and the site. Its naturally slow growth (Frame, 2005) was confirmed here and aggravated by competition with wheat.

Our experiment showed that on sites where wheat performed well (Table 3), legume development was low relative to wheat. This situation was associated with limited or no variations in wheat performance or resource availability compared to wheat sole crop. The poor establishment of legumes on the field, as shown in conventional conditions by Blaser et al. (2011) after highly competitive wheat cultivars, may lead to limited agronomic efficiency in facing soil N deficiencies (Bergkvist et al., 2011) and weed infestation after wheat harvest.

On the contrary, on sites where wheat performed poorly (Table 3), legume development relative to wheat was highly variable. Even though the aerial development of wheat was potentially low in this group of sites, thereby reducing its competitiveness, the establishment of legumes under wheat may still be limited when environmental conditions are unfavourable (e.g. stony soil and low temperatures on site A09). On the other hand, if the conditions for the cover crop are good, it may develop very strongly due to the low competitiveness of the cereal (e.g. deep loamy soil, wet and hot weather conditions on site F10). In terms of interactions for trophic resources, it appeared that even with low or intermediate development of cover crops, when wheat performance were low, relay intercropped wheat grain yield and N content at harvest were higher than values for wheat sole crop (Fig. 2a and Fig. 4).

When sites were characterized by intermediate wheat performance (Table 3), the aerial development of legumes was also intermediate in the range of values observed in our experiment. These aerial developments were almost systematically associated with lower performance of relay intercropped wheat, soil water content or wheat N content compared to wheat sole crop. The competitiveness of wheat in these environmental conditions was not sufficient to overcome the capture of trophic resources by legumes, which led to significant decreases in performance of relay intercropped wheat.

Climatic conditions in 2010 were wetter than in 2009 (604 vs. 508 mm, respectively, on average from wheat sowing to harvest for all sites) but still hot (10.2 vs. 9.8°C, respectively, on average from wheat sowing to harvest for all sites) (Table 2). Despite the fact that wheat also benefited from these hotter and more humid conditions (7116 vs. 8764 kg ha^{-1} of aerial DM in 2009 and 2010, on average, respectively) and should have competed stronger with legumes for light, these climatic conditions also benefited legume growth during the

second year (345 vs. 1766 kg ha^{-1} of aerial DM in 2009 and 2010, respectively, on average for all species at wheat harvest time) leading to competition for trophic resources and cash crop performance penalties in some cases.

Legume species that exhibit good aerial development at wheat harvest time, especially *M. lupulina* and *T. pratense*, are assumed to play an important role in the agro-ecological improvement of the system through the (i) production of primary biomass, carbon sequestration and improvement of soil organic matter content ; (ii) recycling of nutrient elements, especially N made available to the subsequent crop and (iii) interception of radiation that might otherwise reach weeds, and the limitation of soil erosion and crusting, all associated with ground covering (Sheaffer and Seguin, 2003; Shili-Touzi et al., 2010).

This study took place within an exploration of organic farming in which weeds are an important issue. As the ratios of weed aerial DMs compared to wheat on control treatments were considered as weak (2.7% on average), we decided not to integrate them in the analysis. Their role in the RIL system and the control played by cover crops should be considered in another study.

5. Conclusions

Although the aerial development of relay intercropped legumes did not lead to wheat grain yield penalties, whatever the conditions of climate, soil or wheat growth, wheat grain protein content was depleted in about one third of the cases. These penalized treatments exhibited high aerial development in the four legume species. *M. lupulina* and *T. pratense*, were the species which posed the greatest risk to wheat quality. *M. sativa* and *T. repens* suffered from wheat dominance and represented a lower risk to wheat performance.

The choice of legume cover crops for relay intercropping should take into account the potential of wheat performance in the field where RIL is planned to be implemented. The high competitiveness of a wheat crop with high performance potential led to limited cover crop establishment and limited competition. But poor cover crop development may limit their contribution to long-term agro-ecological interests.

Our experiments showed that establishing legume cover crops in organic winter wheat at the beginning of stem elongation permits to reach high levels of biomass by harvest time, when the growing conditions are favourable. The agro-ecological interests associated with it are multiple and need further interest. This is true for light transformation and biomass production and also potential weed control as we showed that much more light was intercepted in the presence of legume cover crops compared to the pure wheat crop and light

reaching the ground was thus highly diminished. The issue of weeds is particularly questioned in organic grain production. N accumulation in cover crop biomass, that is of great importance for the enrichment and preservation of N in the soil-plant system and the success of the subsequent crop, is also an important issue in organic grain production. As for the improvement of soil N content and weed control, *M. lupulina* and *T. pratense*, which developed the highest biomasses under wheat, are thought to be of greatest interest.

CHAPITRE 3. Effets des couverts de légumineuses dans le contrôle des adventices durant l'association et l'interculture

Ce chapitre correspond à un article soumis à la revue *European Journal of Agronomy*. Cet article a été accepté pour publication après demande de correction par la revue (cf. Amossé et al., 2013a). L'objectif de cet article est d'évaluer le contrôle des adventices (densité et biomasse aérienne) par les quatre espèces de couverts de légumineuses tout au long de la phase d'association ainsi qu'à la fin de l'automne. Nous avons également pris en compte la diversité des conditions climatiques rencontrées pour juger de l'efficacité du contrôle

Relay-intercropped forage legumes help to control weeds in organic grain production

Camille AMOSSÉ [a], **Marie-Hélène JEUFFROY** [bc], **Florian CELETTE** [a], **Christophe DAVID** [a, *]

[a] *ISARA-Lyon, UP SCAB, 23 rue Jean Baldassini, 69364 Lyon 07, France*

[b] *INRA, UMR211 Agronomie, BP01, 78850 Thiverval-Grignon, France*

[c] *AgroParisTech, UMR211 Agronomie, BP01, 78850 Thiverval-Grignon, France*

* Corresponding author: Tel: +33 427 858 526; fax: +33 427 858 636.

E-mail addresses: camosse@isara.fr (C. AMOSSÉ), Marie-Helene.Jeuffroy@grignon.inra.fr (M.-H. JEUFFROY), fcelette@isara.fr (F. CELETTE), davidc@isara.fr (C. DAVID).

Abstract

In organic grain production, weeds are one of the major limiting factors along with crop nitrogen deficiency. Relay intercropping of forage legume cover crops in an established winter cereal crop might be a viable option for soil nitrogen enrichment and weed control in the crop sequence. A soil covered by a cover crop might reduce weed emergence and growth depending on the development of the legume cover crop. However, the effect of this relay intercropping technique on weed control is not well documented, especially under organic conditions.

We tested four species of forage legumes (*Medicago lupulina*, *M. sativa*, *Trifolium pratense* and *T. repens*) in relay intercropping under winter wheat in six organic fields located in south-eastern France during two crop seasons. The density and aerial dry matter of wheat, relay-intercropped legumes and weeds were monitored during wheat-legume relay intercropping and after wheat harvest until late autumn, before the ploughing of cover crops.

Our results showed a large diversity of weed infestations depending on soil, climate and wheat development. During the relay intercropping period, forage legume cover crops were efficient in controlling weed density but insufficiently so as regards the control of weed aerial biomass. The biomass of wheat, associated with that of the legumes, appeared to play an important role in the control of the aerial dry matter of weeds at the end of the relay intercropping period. Weed biomass was largely reduced by the cover crops in late autumn.

The best control of weed density and biomass was ensured by the most developed cover crops at both wheat harvest and in late autumn. The presence of a cover crop also exhibited another positive effect by decreasing the density of spring-germinating annual weeds during the relay intercropping period. The dynamics of the legume cover crops were highly different between species and cropping periods (during relay intercropping and after wheat harvest). For instance, *T. repens* was two times less developed than the other species during relay intercropping while obtaining the highest aerial dry matter in late autumn.

We then go on to discuss the role of the forage legume cover crops and their respective main morphological characteristics on the efficiency of weed control in the diverse environmental conditions of our experimental design.

Keywords

Weed, winter wheat, intercropping, cover crop, *Medicago*, *Trifolium*

1. Introduction

In organic grain production, weeds are one of the main limiting factors (Bàrberi, 2002; Kruidhof et al., 2008) along with crop nitrogen deficiency (Casagrande et al., 2009). Weed density, biomass or ground cover are generally higher than in conventional systems (Cavigelli et al., 2008; Ryan et al., 2009; Teasdale and Cavigelli, 2010). Consequently, yields can suffer from competition for trophic resources i.e. light, nutrients, and water (Cavigelli et al., 2009; Ryan et al., 2009; Gherekhloo et al., 2010). Weeds may compete with the cash crop for light interception (Corre-Hellou et al., 2011). Competition for soil nitrogen may also appear with some high nitrogen-competitive weed species (e.g. *Amaranthus retroflexus*) (Blackshaw and Brandt, 2008). Moreover, weeds are often more competitive than cereals for nitrogen nutrition coming from the soil (Bàrberi, 2002). In some cases, the allelopathic effect of weeds can be harmful to cereal crops e.g. wild barley to wheat (Hamidi and Ghadiri, 2011).

In organic conditions, direct weed control (e.g. harrowing, hoeing, brush weeding, flame weeding or steam weeding) has to be combined with indirect and preventive methods (e.g. diversification of the crop sequence, use of competitive varieties, high seed rate, use of cover crop [CC] or soil tillage management) (Bond and Grundy, 2001; Bàrberi, 2002; Wei et al., 2010). These techniques aim at tackling weed issues on a long-term strategy basis (Melander et al., 2005) by limiting weed infestation during the crop cycle and thereby reducing the weed seedbank over the following years.

The use of forage legume CCs could be an interesting option for limiting weed infestations. Previous research studied different options with CCs being grown between two cash crops (Liebman and Davis, 2000; Teasdale et al., 2007; Kruidhof et al., 2008) or CCs as living (Hiltbrunner et al., 2007b) or dead mulches (Campiglia et al., 2010). CCs interfere with weed emergence and growth through numerous mechanisms. They disturb seedling emergence insofar as they constitute a physical barrier (Teasdale and Mohler, 2000) and compete for light (Carof et al., 2007c; Teasdale et al., 2007; Kruidhof et al., 2008). Some forage legume species, like alfalfa, emit allelochemicals that are detrimental for weeds (Bhowmik and Inderjit, 2003; Xuan et al., 2003; Weston and Inderjit, 2007). The presence of a perennial CC also enhances seed predation by fauna (Meiss et al., 2010). Finally, forage legume CCs may contribute to the sustainability of the cropping system beyond natural weed control by enabling biological nitrogen fixation and improving soil quality and biodiversity (Sheaffer and Seguin, 2003; Scholberg et al., 2010)

The relay intercropping (RIC) technique, which consists in undersowing the CC at springtime in an already established cash crop, might allow substantial gains in weed control by CC in grain production. The RIC of a forage legume in a winter cereal is expected to guarantee the presence of the CC on the field by the time the cash crop is harvested and simultaneously enables mechanical weed control before undersowing, as suggested by Sjursen et al. (2011). Moreover, the undersown CC is expected to be established on the field and be effective against weeds immediately after the cash crop has been harvested. This avoids the bare soil period, favourable to weed emergence, between the cash crop harvest and the full establishment of the CC when it is sown between two cash crops.

The efficiency of RIC forage legumes to control weeds has been given little attention in scientific literature. Red clover is the most frequently studied species in RIC systems. It has been shown that relay-intercropped red clover reduced weed development or density significantly after winter wheat harvest under conventional conditions (Mutch et al., 2003; Blaser et al., 2006; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011). Other species, like white clover (Hartl, 1989; Bergkvist et al., 2011), alfalfa (Blackshaw et al., 2010a; Blaser et al., 2011) or black medic (Hartl, 1989), were less frequently studied, but also appeared to potentially mitigate weed infestation in RIC conditions.

The different species of forage legumes do not demonstrate the same efficiency at controlling weeds depending on their morphological, phenological and physiological characteristics (Ross et al., 2001; Bilalis et al., 2009; Uchino et al., 2011). Moreover, the efficiency of the different species at controlling weeds in RIC varied according to the tested

conditions, as Blackshaw et al. (2010a) and Blaser et al. (2011) have shown in the case of red clover and alfalfa in RIC situations.

Previous results in RIC have shown that the CCs reduced weed biomass or weed density not only at wheat harvest, but also from 2 to 12 weeks after the end of the cereal-legume RIC period (Mutch et al., 2003; Blaser et al., 2006; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011). Nevertheless, these studies mainly focused on a static evaluation of weeds at wheat harvest or just after, and did not study them all along the whole cycle of the undersown CC.

According to Teasdale (1996), the successful control of weeds also depends on the composition of the weed population. Sub-populations of weeds can react differently in the presence of a legume CC, as shown by Hiltbrunner et al. (2007b) in their study of permanent living mulches. This subject has not been tackled in studies concerning RIC of forage legumes in winter wheat.

Finally, few of the previous experiments were performed in organic conditions (Hartl, 1989; Olesen et al., 2009) where weed infestation is more variable, due to the absence of herbicides. Temporary nitrogen deficiencies in organic cropping systems may also interfere in the interaction between CCs and weeds (Liebman and Davis, 2000) compared to systems where synthetic fertilizers are fulfilling the cash crop requirements.

In the absence of synthetic herbicides, the success of CCs is also potentially compromised in a temperate climate (Hartl, 1989; Olesen et al., 2009) where forage legumes may establish slowly (Frame, 2005; Teasdale et al., 2007) especially when competing with wheat (Singer et al., 2006; Queen et al., 2009).

The aim of this paper was to evaluate the effect of various relay-intercropped legume CCs (black medic, alfalfa, red clover and white clover) in organic winter wheat on weed population. Weed density and biomass were monitored throughout the RIC period and after wheat harvest until wintertime, both with and without the presence of the CCs. We tested the nature of the CCs to control weeds efficiently in different climatic conditions as expressed by our experimental design.

2. Materials and methods

2.1. Experimental sites

Six field experiments (named as sites in the following sections) were carried out over two crop seasons, two fields in 2008-09 (A09 and B09) and four fields in 2009-10 (C10, D10, E10 and F10) (Table 6). The field experiments were set up on organic farms without livestock

Table 6. Soil and climatic conditions and crop management of the field experiments

Sites	A09	B09	C10	D10	E10	F10
Soil texture (Jahn et al., 2006) [a]	CL	SL	SL	SiL	SiC	SiL
Cumulative rainfall (mm)						
Wheat cycle [b]	544	543 (70) [g]	646 (70) [g]	591 (40) [g]	785	505
Post-harvest [c]	325	281 (40) [g]	399	246	413	357
Mean temperature (°C)						
Wheat cycle [b]	8.6	10.9	10.6	10.2	9.6	10.2
Post-harvest [c]	15.7	17.1	15.5	15.2	13.2	14.8
Water balance (mm) [d]						
Wheat cycle [b]	-47	-93	-2	-51	291	-113
Post-harvest [c]	-150	-329 (40) [g]	-98	-225	73	-87
Previous crop	Winter wheat	Soybean	Soybean	Maize	Soybean	Soybean
Wheat sowing date	02/11/08	26/11/08	13/11/09	27/10/09	30/10/09	26/10/09
Legumes sowing time (sum of temperatures in °C) [e]	508	594	623	779	655	784
Wheat growth stage [f]	22	22	23	23	23	23
Wheat harvesting time (sum of temperatures, in °C) [e]	2196	2475	2625	2713	2589	2705

[a] CL = Clay Loam ; SL = Sandy Loam ; SiC = Silty Clay ; SiL = Silty Loam.
[b] From sowing to harvest
[c] From wheat harvest to the sampling date at the beginning of December, 24 weeks later.
[d] (Precipitations + Irrigation) – Potential evapotranspiration
[e] From wheat sowing. 0°C basis.
[f] Zadoks' scale (Zadoks et al., 1974).
[g] Including irrigation in brackets (in mm)

located in south-eastern France over a large area of approximately 6,000 km² (44°37' to 45°41' N and 4°49' to 5°32' E) representing various climatic conditions. Rainfall regimes were variable over years and sites. Cumulative precipitations over the wheat cycle ranged from 473 to 785 mm (Table 6). Additional irrigation was carried out on sites B09 (70 mm), C10 (70 mm) and D10 (40 mm), according to the farmers' appraisal, with one or two applications from the beginning of April (wheat growth stage, WGS 23) (Zadoks et al., 1974) to the end of May (WGS 69). Additional irrigation was also performed after wheat harvest, at the beginning of August on site B09 (40 mm). The water balance of the crop cycle, calculated as the difference between water input (precipitation and irrigation, in mm) and potential evapotranspiration (in mm) largely ranged from -113 to +291 mm. The mean temperatures during the wheat cycle ranged from 8.6 to 10.9°C (Table 6).

During the twenty-four weeks following wheat harvest until late autumn (beginning of December), our last sampling date before the CC was ploughed, cumulative rainfalls ranged from 246 to 413 mm, mean temperatures from 13.2 to 17.1°C and water balance from -329 to +73 mm.

The field experiments were characterized by various soil types (Jahn et al., 2006) (Table 6): two silt loam soils (D09 and F10), two sandy loam (B09 and C10), one clay loam soil with a stony-calcareous top soil layer (A09) and one silty clay soil (E10). In accordance with this grouping, we considered the main textural component of soil further in the study as silt for sites D09 and F10, sand for sites B09 and C10 and clay for sites A09 and E10.

Experimental design and treatments

Winter wheat (cv. Lona) was sown at a rate of 200 kg ha^{-1} on fields previously cropped with winter wheat (A09), maize (D10) or soybean (B09, C10, E10 and F10). The dates of wheat sowing and sums of temperatures from the sowing of wheat to, respectively, the undersowing of legumes and wheat harvest are given in Table 6.

Four different species of undersown legumes were compared. Black medic (*Medicago lupulina* L), alfalfa (*Medicago sativa* L), red clover (*Trifolium pratense* L) and white clover (*Trifolium repens* L) were broadcast sown (800 seeds m^{-2}) with a manual centrifugal seed drill late in March at the end of wheat tillering, 508 to 784°C (0°C basis) from wheat sowing (Table 6). These legume species were chosen to ensure a diversity in terms of growth rates, shading ability, crop height, leaf area, upright or prostrate growth or seed weight (Ross et al., 2001; Frame, 2005; Uchino et al., 2011).

An additional control treatment with wheat grown as the sole crop, referred to as T0, was added to evaluate the incidence of undersown legumes. Each treatment was repeated in three randomized blocks per site. The size of each treatment was approximately 200 m².

Legume covers were maintained after wheat grain harvest until being ploughed at the end of winter, in January or February. Wheat grains were harvested with an experimental combine adjusted to cut wheat straw above legume cover canopy. Straw was chopped and left on the field on all the sites except on site E10 where it was removed.

No additional fertilization was applied to winter wheat at springtime. Weed control was performed once when burying legume seeds one or two days after being sown on five sites, except on site B09 where weeds were controlled twice before legumes were sown and once when the legume seeds were buried. The control treatment was weeded in the same fashion as the relay-intercropped treatments. All weed controls were done with a tine weeder. After wheat harvest, mechanical weed controls on treatment T0 differed according to the farmers' appraisal. Stubble ploughing was performed on sites A09 and B09 the 5th and 6th of August, 2009, respectively. Weeds were shredded in mid-September on sites C10 and E10 (13th and 17th of September, 2010, respectively), whereas treatments T0 were left undisturbed until the CCs were destroyed on sites D10 and F10. Due to stubble cultivation on the T0 control treatments of A09 and B09 sites, no weed DM sampling was performed at the beginning of December (week 40 after the legumes had been sown) on these sites. As a result, those two sites were excluded from analyses concerning this date.

2.2. Data collection

2.2.1. Plant biomass

Weed and wheat aerial dry matter (DM, kg ha^{-1}) were measured separately at the beginning of stem elongation (WGS 32 or 33), wheat flowering (WGS 69 or 70) and grain harvest, respectively five, ten and sixteen weeks after legumes were undersown. These stages will be referred to as W5, W10 and W16 in the following sections. In addition to these measurements, at the beginning of December, the total weed DM was also determined, forty weeks after legumes had been undersown (referred to as W40 in the following sections). CCs were still in place at this date. The aerial DM and height of legumes were sampled at W10, W16 and W40, but not at W5 because of very limited growth (< 0.4 kg DM ha^{-1}). Three samples of the whole vegetation in 0.25 m² quadrats per treatment were hand harvested at ground level at each sampling date. The three components of the RIC, wheat, weeds and legumes, were separated and weighed after oven-drying (48 h, 60°C in air oven). These

samplings, then, produced a total of 54 samples for each component of the RIC at each sampling date on the six sites monitored during RIC (W5, W10 and W16) and a total of 36 samples at each sampling date on the four sites (C10, D10, E10 and F10) monitored after wheat harvest (W16 and W40).

2.2.2. Weed identification and density

At each sampling date during wheat-legumes RIC (W5, W10 and W16), weeds were counted by species on each 0.25 m² quadrat. Annual weed species were classified according to their germination habit (spring-germinating, autumn-germinating or undetermined germination). The densities of each weed species (annuals + perennials) were then added to determine the total weed density (plant m^{-2}). Weed density determination was not performed after wheat harvest.

2.3. Statistical analysis

To evaluate the incidence of the presence and the nature of the legume CCs, the six sites (during RIC) or four sites (after wheat harvest) were considered as replicates for statistical analysis.

In the analysis, the discrimination between the RIC phase and the post-harvest phase is justified by the presence or absence of the wheat crop that plays an important role in legume CCs growth (Blaser et al., 2011) and consequently in their efficiency at controlling weeds.

At each sampling date, the mean treatment effect on weed density or biomass was determined using three-factor ANOVAs with repeated measurements in randomized complete blocks, to detect site, block and treatment effects and two-factor interactions. Square root or log transformations were used on data when Levene's homogeneity of variance test ($P = 0.05$) was not significant. If a significant F test ($P \leq 0.10$) was obtained from ANOVAs, Tukey's HSD test was used to determine the significant differences of factors and interactions at $P = 0.10$. If the homogeneity of variances was not respected after data transformation, a non-parametrical Kruskal-Wallis test (K-W, $P = 0.10$) was performed. Means were compared using a Dunn test when the K-W test was significant.

To evaluate the role of legume CCs on the variations of aerial DM and the density of weeds during the two phases of our experiment, for each treatment we calculated the variations of aerial DM and density of weeds between W5 and W16 and, in the case of aerial DM only, between W16 and W40. These variations were calculated relative to initial aerial DM or density of weeds at W5 or W16 depending on the period. In the following sections, these ratios are referred to as $(DM_{W16}-DM_{W5})/DM_{W5}$ for relative aerial DM variations of weeds

between W5 and W16, $(Dens_{W16}-Dens_{W5})/Dens_{W5}$ for relative density variations of weeds during the same period and $(DM_{W40}-DM_{W16})/DM_{W16}$ for relative aerial DM variations of weeds between W16 and W40. The same statistical protocol was used to evaluate the incidence of legumes. Simple linear regressions were estimated to detect, firstly, the effects of the separated or cumulated aerial growth of legumes and wheat on these relative variations and, then, the effects of the sum of temperatures (°C, 0°C basis) and water availability (precipitation + irrigation, in mm) on weed aerial DM at W16.

These analyses were performed using XLStat software (Addinsoft SARL, Paris, France).

3. Results

3.1. Weed growth in sole wheat crop

Weed infestation, estimated by means of the aerial DM of weeds observed in the sole wheat crop at W16, differed widely between sites at harvest time. The mean aerial DM of weeds ranged from 23±8 kg ha^{-1} to 276±33 kg ha^{-1} (mean±standard error of the mean, Fig. 6) on the six sites. The aerial DM of weeds observed in sole wheat crop on the stony soil of site A09 (276 kg DM ha^{-1}) was particularly high compared to the other five sites.

The variability of weed infestation was linked to several environmental and agronomic characteristics of the experimental sites. Table 7 shows that the aerial DM of weeds in sole wheat crop at W16 was significantly affected by both the nature of soil texture ($P \leq 0.001$) and the type of previous crop ($P \leq 0.001$). In our conditions, clayey soil exhibited higher mean aerial DM of weeds than silty or sandy soils at W16 (208 vs. 109 and 87 kg DM ha^{-1}, respectively). We also observed a higher mean weed growth in sole wheat crop at W16 on fields previously cropped with cereals (A09 and D10 with winter wheat and maize respectively) compared to those previously cropped with soybean (B09, C10, E10 and F10). The aerial DM of weeds in wheat following soybean was 2.8 times lower than in wheat following cereals at W16 in sole wheat crop.

Concerning climate conditions, the increase, from one site to another, of the sum of temperatures between the last weeding and W16, ranging from 2178 to 2685°C, was significantly linked with a decrease in the aerial DM of weeds at W16 in sole wheat crop ($P = 0.001$, $R^2 = 0.16$; data not shown). On the contrary, the aerial DM of weeds at W16 in sole wheat crop was not linked to water availability (precipitations + irrigations) during the same period ($P = 0.63$; data not shown).

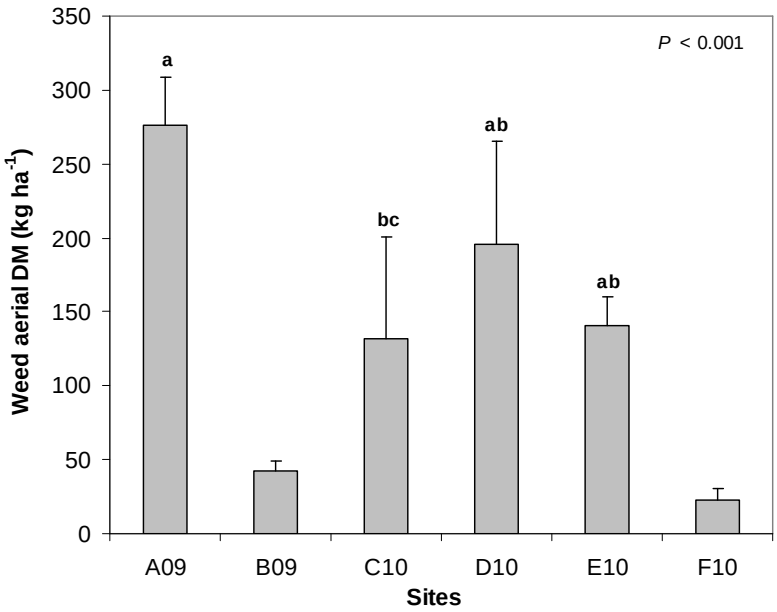

Fig. 6. Average aerial dry matter (DM) of weeds (kg ha^{-1}) on each experimental site in sole wheat crop at wheat harvest time. Error bars represent standard error of the mean (n = 9). Letters indicate significant mean differences between sites according to Tuckey's HSD test.

Table 7. Average aerial dry matter (DM) of weeds (kg ha^{-1}) in sole wheat crop at wheat harvest time depending on the soil's main textural component (clay, silt or sand; n = 18) and on the type of the preceding crop (cereal or soybean; n = 18 and n = 36, respectively).

	Weed aerial DM (kg ha^{-1}) [a]
Soil's main textural component	
Clay	208 *±25* ***a***
Silt	109 *±40* ***b***
Sand	87 *±35* ***b***
p value	*< 0.001*
Type of preceding crop	
Cereal	236 *±39* ***a***
Soybean	84 *±19* ***b***
p value	*< 0.001*

[a] Mean±*standard error of the mean*. Letters in column indicate significant mean differences between groups according to Tuckey's HSD test or Dunn's test (*P* = 0.10).

3.2. Growth of relay forage legumes

The four legume species showed two growth phases during the RIC period (Fig. 7). From the sowing of legumes to wheat flowering stage (W10), CCs growth was very low under wheat cover. *T. repens* was, on average, two times less developed than the other three species at W10 ($P \leq 0.001$; 131 kg DM ha^{-1} vs. 289, 242, and 267 kg DM ha^{-1} for *M. lupulina*, *M. sativa* and *T. pratense* respectively) (Fig. 7). Between wheat flowering (W10) and wheat harvest (W16), the aerial growth of legumes accelerated, on average, for all species. *M. lupulina* and *T. pratense* produced the highest increase of aerial DM (approx. +1400 kg DM ha^{-1}). At W16, these two species showed the highest mean aerial biomass (1753 kg DM ha^{-1} and 1683 kg DM ha^{-1}, respectively), differing significantly from the other two species (Fig. 7), *M. sativa* (1175 kg DM ha^{-1}) and *T. repens* (872 kg DM ha^{-1}).

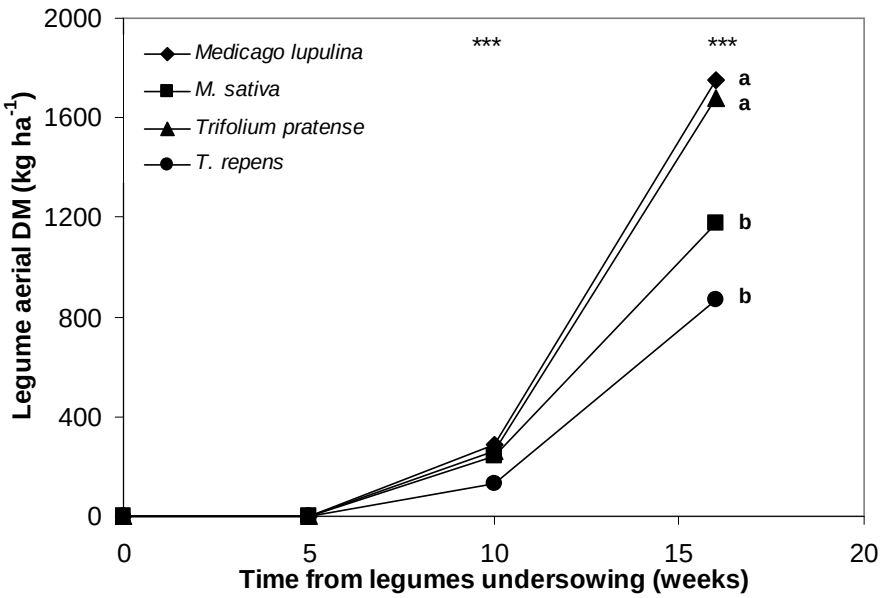

Fig. 7. Dynamics of the aerial dry matter (DM, kg ha^{-1}) of the four legume species from their sowing in winter wheat to its harvest (week 16). Means of the six sites monitored during the relay intercropping of winter wheat and legumes. *** = $P \leq 0.001$. Letters for each date indicate significant mean differences between treatments according to Tuckey's HSD test or Dunn's test (P = 0.10).

On the four sites monitored after wheat harvest, the aerial DM of legume CCs increased until W40 for all species. The growth of *T. repens* was the most spectacular with an average increase of 3153 kg DM ha^{-1} (data not shown). This species reached, on average,

4384 kg DM ha^{-1} at W40 and had a significantly higher biomass than the other legume species (Table 8). *T. repens* was followed by *T. pratense* (3343 kg DM ha^{-1}), *M. lupulina* (2738 kg DM ha^{-1}) and finally *M. sativa* (1742 kg DM ha^{-1}) with significantly lower aerial growth than the other species (Table 8).

Table 8. Aerial dry matter (kg ha^{-1}) of legume cover crops and weeds at the beginning of wintertime, 40 weeks after the sowing of legume cover crops. Means of the four sites monitored after wheat harvest.

	Legumes cover crops [a]	Weeds
Treatment		
Control treatment	-	915 ±*114* ***a***
Medicago lupulina	2738 ±*163* ***b***	86 ±*21* ***b***
M. sativa	1742 ±*62* ***c***	101 ±*28* ***b***
Trifolium pratense	3343 ±*137* ***b***	7 ±*3* ***c***
T. repens	4384 ±*185* ***a***	31 ±*15* ***c***
p value	*< 0.001*	*< 0.001*

[a] Mean ±*standard error of the mean*; n = 36. Letters in column indicate significant mean differences between treatments according to Tuckey's HSD test or Dunn's test (*P* = 0.10).

3.3. Effects of intercropped legumes on weed infestation

The effect of legume CCs on weed infestation appeared from W10 insofar as weed density is concerned. Mean weed density was significantly reduced on treatments intercropped with *T. pratense* and *T. repens* compared to the control treatment (-31% and -22% of T0 value, respectively; Fig. 8a). The high number of legume seeds, linked to the false seedbed intervention used to bury them, may explain this difference. At W16, the decrease in weed density relative to the control treatment was significant for the four legume species (-40% to -57% of the T0 value; Fig. 8a). These four species were efficient at limiting the number of weeds at the end of the wheat crop cycle and *M. lupulina* gave better results, on average, than *T. repens*.

Weed density throughout the RIC was, on average, reduced by the presence of forage legume CCs (Table 9a) and this reduction was significantly linked to the increase in aerial DM of the CCs at W16 (P = 0.001, R^2 = 0.30; Fig. 9a). No difference appeared between the four CC species in their efficiency to reduce the density of weeds relative to the control treatment between W5 and W16 (data not shown). The height of the different CCs at W16 has no additional influence on the reduction of the density of weeds (data not shown).

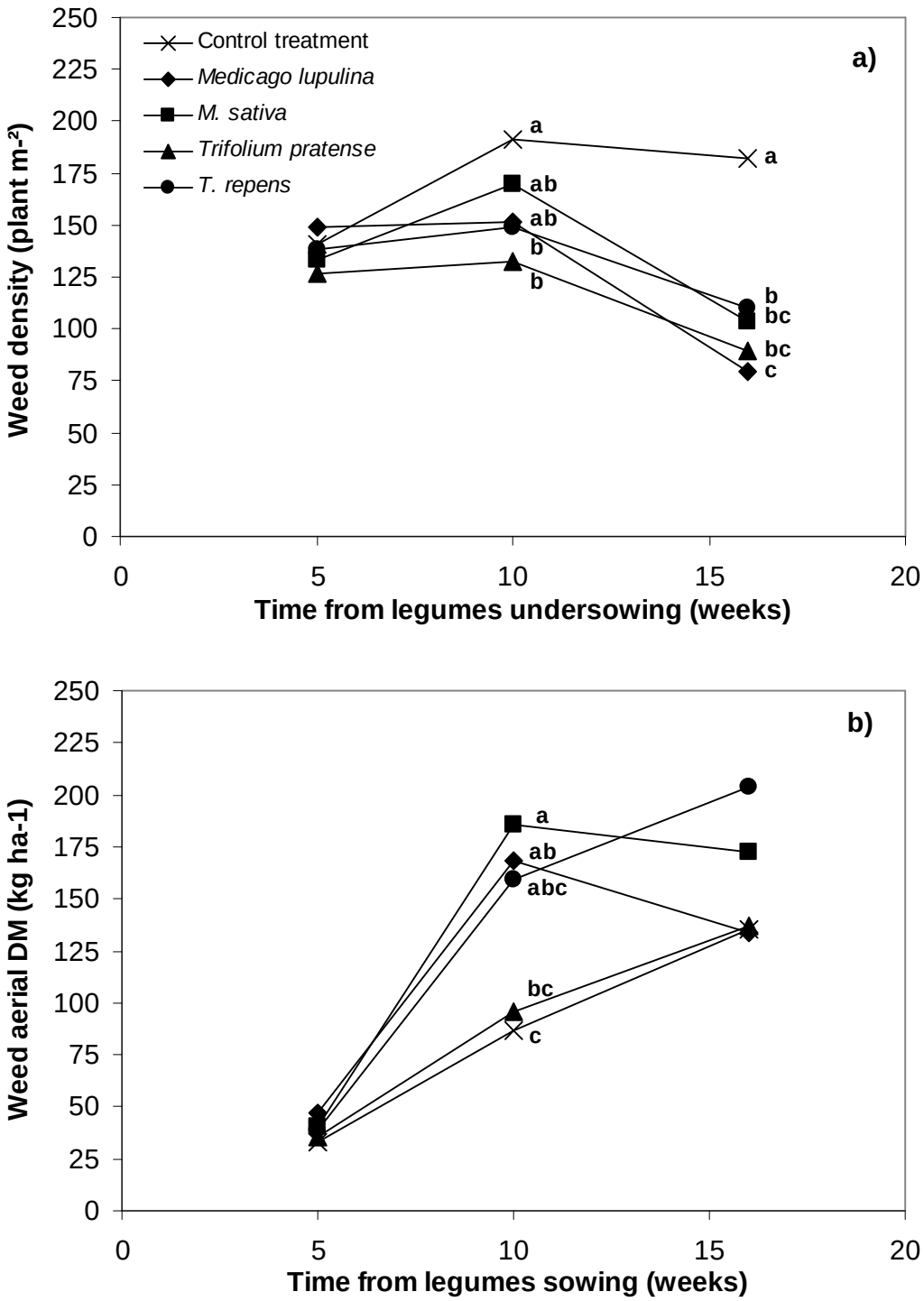

Fig. 8. Dynamics of the density (plant m^{-2}) (a) and aerial dry matter (DM, kg ha^{-1}) of weeds (b) throughout wheat-legumes relay intercropping. Means of the six sites monitored during the relay intercropping period. NS = non significant; ** = 0.001 < *P* ≤ 0.01; * = *P* ≤ 0.001. Letters for each date indicate significant mean differences between treatments according to Tuckey's HSD test or Dunn's test (*P* = 0.10).**

Table 9. Effects of the presence of the four relay-intercropped legumes (RIC) on the relative density variations of weeds between 5 and 16 weeks after the sowing of legume cover crops [($Dens_{W16}$-$Dens_{W5}$)/$Dens_{W5}$, uniteless], on average and for each weed germination sub-population (a) and of averaged relative aerial dry matter (DM) variations of weeds during the same period [(DM_{W16}-DM_{W5})/DM_{W5}, uniteless] (b) and between 16 and 40 weeks after the sowing of legume cover crops [(DM_{W40}-DM_{W16})/DM_{W16}, uniteless] (c).

	Weed density [a]				Weed DM	
	a) ($Dens_{W16}$-$Dens_{W5}$)/$Dens_{W5}$				**b)** (DM_{W16}-DM_{W5})/DM_{W5}	**c)** (DM_{W40}-DM_{W16})/DM_{W16}
	TOTAL [b]	SPR	AUT	UND		
RIC presence						
No RIC	0.27 ±*0.19* ***a***	1.46 ±*1.12* ***a***	-0.40 ±*0.17*	1.99 ±*1.50* ***a***	3.58 ±*1.59*	21.21 ±*17.88* ***a***
RIC	-0.37 ±*0.06* ***b***	0.003 ±*0.19* ***b***	-0.55 ±*0.08*	-0.37 ±*0.21* ***b***	6.49 ±*1.78*	0.60 ±*0.74* ***b***
p value	*< 0.001*	*0.003*	*0.18*	*0.027*	*0.40*	*0.047*
Nature of RIC						
Control treatment	0.27 ±*0.19* ***a***	1.46 ±*1.12* ***a***	-0.40 ±*0.17*	1.99 ±*1.50*	3.58 ±*1.59*	21.21 ±*17.88* ***a***
Medicago lupulina	-0.53 ±*0.09* ***b***	0.16 ±*0.65* ***ab***	-0.59 ±*0.14*	-0.78 ±*0.05*	3.60 ±*1.26*	-0.15 ±*0.37* ***ab***
M. sativa	-0.24 ±*0.15* ***b***	0.02 ±*0.25* ***ab***	-0.58 ±*0.18*	-0.43 ±*0.18*	6.31 ±*3.24*	3.51 ±*2.86* ***ab***
Trifolium pratense	-0.42 ±*0.09* ***b***	-0.02 ±*0.39* ***ab***	-0.57 ±*0.19*	-0.52 ±*0.17*	4.90 ±*2.68*	-0.97 ±*0.02* ***b***
T. repens	-0.27 ±*0.14* ***b***	-0.16 ±*0.22* ***b***	-0.42 ±*0.2*	0.26 ±*0.79*	11.15 ±*5.7*	0.72 ±*1.5* ***ab***
p value	*0.004*	*0.067*	*0.73*	*0.14*	*0.87*	*0.051*

[a] Mean ±*standard error of the mean*.
[b] TOTAL = Total weed population; SPR = Spring-germinating annual weeds; AUT = Autumn-germinating annual weeds; UND = Annual weeds with undetermined germination.

Concerning weed populations, our results showed that among annual weeds, RIC with a forage legume CC had a decreasing effect on the density of spring-germinating and undetermined-germinating annual weeds (Table 9a). For the former, the treatments with *T. repens* exhibited, on average, a greater weed density decrease between W5 and W16 than that what was observed for sole wheat crop. For the latter, no differences were noted between intercropped treatments (Table 9a). Autumn-germinating weeds were not impacted by the presence or the nature of the CCs.

Considering the aerial DM of weeds at W10, there was a significant increase in intercropped treatments with *M lupulina* and *M sativa* compared to T0 (+94 and +115%, respectively) (Fig. 8b). At W16, the differences between treatments were not significant despite decreases in the aerial DM of weeds with *M. lupulina* and *M. sativa* between W10 and W16 (-35 kg DM ha^{-1} and -16 kg DM ha^{-1}, respectively).

Throughout the RIC period, neither the presence of the CCs (Table 9b) nor their height at W16 (data not shown) appeared to have any effect on aerial DM variations of weeds. However, the relationship between aerial DM variations of weeds between W5 and W16 and aerial DM of legumes at W16 showed a significant decrease, although the quality of the estimation was poor ($P = 0.045$, $R^2 = 0.11$; Fig. 9b).

3.4. Post-harvest effect of legumes on weed infestation

On average, on the four experimental sites monitored after the RIC period, the differences in the aerial DM of weeds clearly appeared at W40. The mean DM of weeds observed on the control treatment was 9 to 139 times higher than weed DM observed on treatments with CCs (Table 8). *Trifolium pratense* and *T. repens* were significantly more efficient than the *Medicago* species at controlling the aerial DM of weeds after wheat harvest.

There was an increase in the aerial DM of weeds between W16 and W40, whatever the treatment, with or without RIC. However, on average, this increase was significantly lower in treatments using RIC than in the control treatment (Table 9c). *T. pratense* appeared to be the most efficient species at controlling weed aerial DM after wheat harvest (Table 9c). The variation of aerial DM of weeds from W16 to W40 was significantly related to the DM of legume CCs at W40, whatever the legume species ($P = 0.018$, $R^2 = 0.23$; Fig. 10). This indicates that the aerial DM of weeds is controlled better with a higher growth of legume CCs from harvest to wintertime.

Considering each CC species separately in this relation (Fig. 10), the legumes were noted to behave in two significant ways. On the one hand, the variations of the aerial DM of

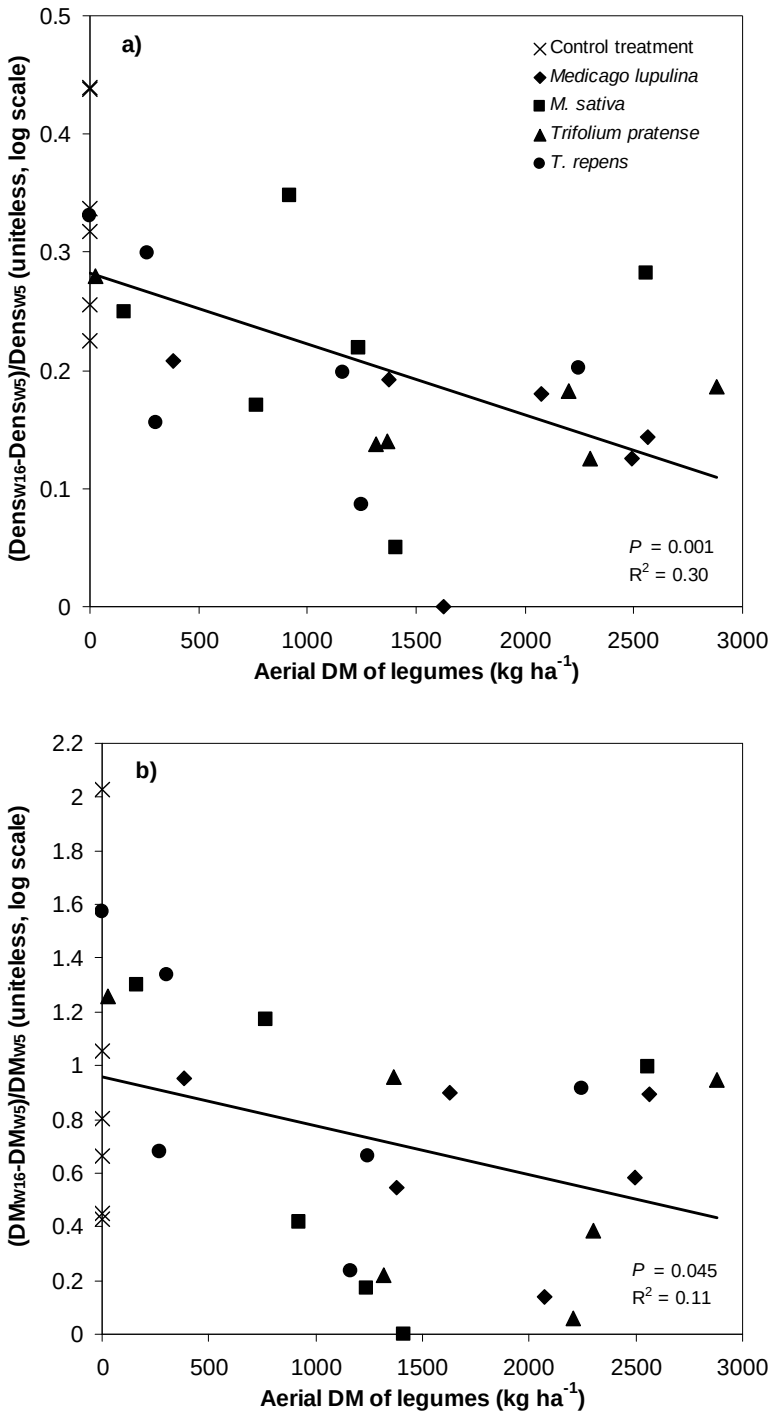

Fig. 9. Relative density variations of weeds between 5 and 16 weeks after the sowing of legume cover crops [($Dens_{W16}$-$Dens_{W5}$)/$Dens_{W5}$, uniteless, log scale] (a) and relative aerial dry matter (DM) variations of weeds during the same period [(DM_{W16}-DM_{W5})/DM_{W5}, uniteless, log scale] (b) related to the aerial DM of legume cover crops (kg ha^{-1}) 16 weeks after being sown, which corresponds to wheat harvest.

weeds between W16 and W40 in the presence of *M. lupulina* and *T. pratense* were not highly variable (DM ratio ranging from -0.59 to 0.94 and from -1.00 to 0.92, respectively). These DM ratios were, in addition, associated to variable aerial DMs of the two legume species (ranging from 1959 to 3525 kg DM ha^{-1} and from 2853 to 3859 kg DM ha^{-1}, respectively; Fig. 10). It seems that, for these species, a threshold of CC aerial DM was exceeded and that, above this threshold, weed aerial DM control remains approximately the same whatever the aerial DM of the CC.

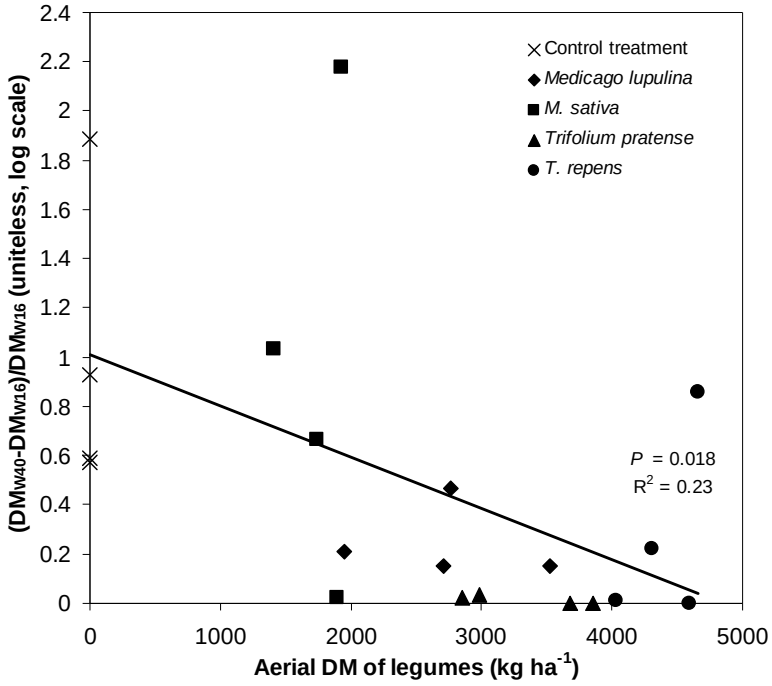

Fig. 10. Relationship between the relative aerial dry matter (DM) variations of weeds between 16 and 40 weeks after the sowing of legume cover crops [(DM_{W40}-DM_{W16})/DM_{W16}, uniteless, log scale] and the aerial DM of legume cover crops (kg ha^{-1}) 40 weeks after these were sown, which corresponds to the beginning of December.

On the other hand, the variations of the aerial DM of weeds between W16 and W40 in the presence of *M. sativa* and *T. repens* were variable (DM ratio ranging from -0.95 to 148.44 and from -1.00 to 5.19, respectively) and associated to aerial DMs of the two legume species with a lower variability (ranging from 1408 to 1893 kg DM ha^{-1} and from 4028 to 4655 kg DM ha^{-1}, respectively). The backwardness of these two species at W16 in their aerial growth and their control of weed aerial DM may have led to considerable weed growth

between W16 and W40 in some conditions. Such weed growth did not prevent *T. repens* from developing significant DM after wheat harvest, contrary to *M. sativa.*

3.5. Role of wheat cover in weed control

Taking into account wheat aerial DM in addition to that of legumes allowed us to improve the estimation of the negative relationship between the relative variations of aerial DM of weeds and the additional DM of the CCs and cash crop (Fig. 11). The statistical parameters associated with this estimation were of better quality ($P \leq 0.001$, $R^2 = 0.39$).

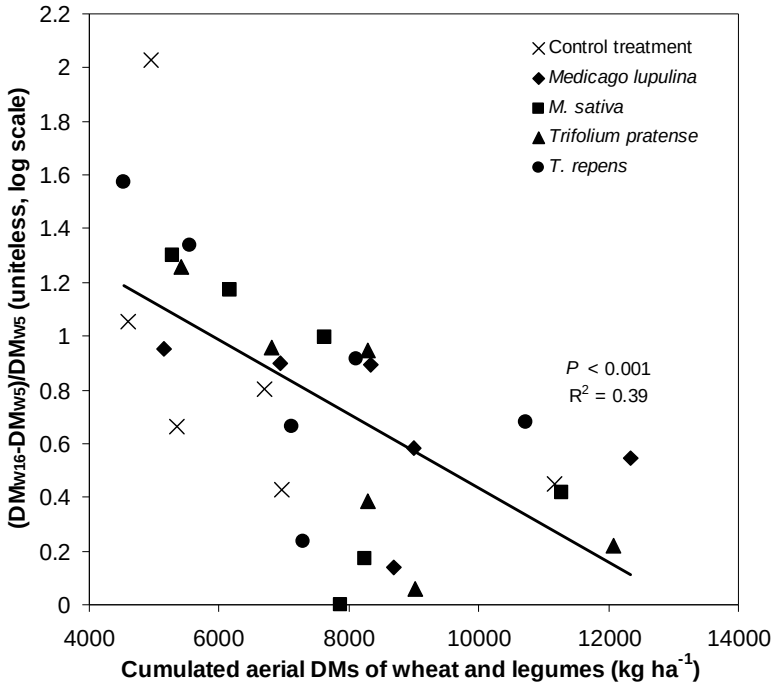

Fig. 11. Relationship between the relative aerial dry matter (DM) variations of weeds between 5 and 16 weeks after the sowing of legume cover crops [(DM_{W16}-DM_{W5})/DM_{W5}, uniteless, log scale] and the cumulated aerial DM of legume cover crops and wheat (kg ha^{-1}) 16 weeks after being sown, which corresponds to wheat harvest.

4. Discussion

4.1. Relay-intercropped forage legume helps to control weeds during and after wheat crop

RIC with winter wheat did not prevent the establishment and development of undersown legume CCs in the tested agronomic and pedo-climatic conditions.

The aerial growth of the CCs was not sufficient to control the aerial DM of weeds during the RIC period. Blackshaw et al. (2010a) noted the same result with alfalfa undersown in conventional winter wheat. The efficiency of the *Medicago*s between W10 and W16 was only sufficient to catch up with the control treatment after a considerable increase in the aerial DM of weeds on these relay-intercropped treatments between W5 and W10, not observed in the control treatment. It is necessary to maintain the CC until late autumn to observe the CCs play a significant role in limiting the aerial DM of weeds.

Nevertheless, the presence and growth of the CCs at harvest were efficient at limiting the density of weeds (Blaser et al., 2006; 2011) and the increase of this density between W5 and W16. This may be due to their effect on the emergence of spring-germinating weeds and also to increased mortality of weed seedlings in the presence of CCs. These mechanisms can be linked to competition for resources, especially light (Kruidhof et al., 2008).

In conclusion, at harvest time, weeds were more numerous in the absence of CCs but were less developed. The abundance of weeds in the former situation represented the same aerial biomass as the lesser weeds present in the relay-intercropped treatments (Fig. 8). As weed seed production can be positively correlated with weed biomass (Lutman, 2002), seed production by weeds may threaten the long-term weed control strategy in RIC situations.

The presence of the CCs after harvest makes it unnecessary to deploy any false seedbed technique or other soil tillage to control weeds. The presence of the legume CC may advantageously replace soil tillage in the role of weed control. Indeed several studies have shown decreases in the weed seedbank when a CC is present in autumn (Gallandt and Molloy, 2008; Mirsky et al., 2010).

The higher the aerial growth of the CCs, the more efficient was their control of weed infestation at W16 concerning weed density and at W40 for aerial DM of weeds. Weed density or aerial DM were inversely correlated with the aerial DM of legumes at the respective dates. This link can be explained by an increasing competition for light exerted by more developed CCs on weeds (Kruidhof et al., 2008). The lack of efficiency of legume CCs on weed aerial DM at W16 can be explained by competition with wheat that limited the aerial development and competitiveness of the CCs against weeds. The better estimation of the relation in Fig. 11 compared to Fig. 9b in which legumes are considered alone, shows that the control of the dynamic of the aerial DM of weeds during RIC was managed by the cumulative effect of wheat and legumes. Then, both legumes and wheat were necessary to limit simultaneously the density and the aerial DM of weeds during RIC.

However, relative to weed biomass at W16 or density at W5, it appeared that the mean variations in weed biomass or density were similar whatever the aerial growth of the legume CCs (Table 9). For example, at W16, despite various mean aerial DMs of legumes depending on species, all the CC species managed to control the variations in the density of weeds throughout the RIC in a similar way. Despite poor mean aerial development of *T. repens* at W16 compared to other legume species (872 kg DM ha^{-1} vs. 1537 kg DM ha^{-1} on average for the three other species), the control of weed density by this species was quite similar to that performed by the other ones.

Although at a similar state of development as *T. repens* at W40, *T. pratense* was the most efficient species at limiting the variations of the aerial DM of weeds between W16 and W40. The backwardness of *T. repens* in the control of aerial DM of weeds at wheat harvest reduces the efficiency of this legume species during the post-harvest period comparatively to *T. pratense* that ensured better weed control at harvest than *T. repens*.

The use of RIC seems particularly interesting in specialized grain production systems. The combination of a winter crop and a RIC forage legume can decrease the number of spring-germinating annual weeds, especially with *T. repens*. In crop rotations characterised by a high proportion of spring crops (e.g. maize, sunflower, soybean) and consequently by weed populations adapted to their cropping cycle, the limitation of the number of spring-germinating weeds during RIC is of great interest at crop rotation scale.

CC residues that can be expected from the amount of biomass developed in late autumn (W40) should limit weed emergence after CC destruction. Then, Kruidhof et al. (2008) showed that residues of alfalfa offered good spring weed seedling inhibition (54% reduction, on average), explaining this principally by the release of allelochemicals in the soil. According to Kruidhof et al. (2009) the physical characteristics of incorporated material, determined by the pre-treatment of the residues and the nature of the CC, also have to be considered in view of weed control during the subsequent crop. The amount of CC residues is also expected to enrich the cropping system with nitrogen and make it available for the subsequent crop (Bergkvist et al., 2011). If this is so, the nitrogen will also be available for weeds. The success in weed control by legume CCs may be offset by weed facilitation through N nutrition in the succeeding crop. For instance, Sjursen et al. (2011) observed weed facilitation in the succeeding crop after repeated red and white clover undersowing over a four year period.

4.2. Nature of cover crops and weed control

The four legume species tested in this study were chosen to represent a diversity of morphological characteristics and behaviours. This diversity was then exposed to the weed issue in RIC situations with organic winter wheat.

T. pratense was chosen for its vigorous growth and generous leaf area. The aerial DM of *T. pratense* as observed at wheat harvest (W16; Fig. 7) indicates that this species withstands well the competition with the wheat crop. In previous RIC studies, *T. pratense* was also found to develop higher aerial biomass than *T. repens* (Bergkvist et al., 2011) and *M. sativa* (Thiessen Martens et al., 2001; Blaser et al., 2011) at the time of wheat harvest or a few days later. This strong growth implied a good control of weeds both in density at W16 and in aerial DM at W40. This species exhibited the greatest efficiency over the course of the experimentation.

M. lupulina was chosen for its short and covering growth characteristics. This species responded the best to the RIC situation with growing winter wheat and showed the highest aerial DM associated with the best control of weed density at the end of the RIC period (W16). Few studies are available on the role of this species in weed control (Hartl, 1989; Buraczynska and Ceglarek, 2004; Korte and Porembski, 2010). In a RIC situation with organic winter wheat, Hartl (1989) observed a significant decrease of 50% of weed DM at harvest in the presence of *M. lupulina* relative to wheat grown alone. After wheat harvest, in our conditions, this species continued to grow and control the aerial DM of weeds but did not remain the most efficient species among those tested. The decrease in the growth rate of this legume after wheat harvest may be explained by the dry conditions of the summer that led to some defoliation, especially in 2009.

The high architecture of *M. sativa* was expected to ensure that this species would enjoy good access to light under the wheat canopy (Thein et al., 2008). However, the aerial growth of this legume was inferior to that of *M. lupulina* and *T. pratense* at wheat harvest time. This characteristic, combined with a low density of leaves and stems that also characterize this plant, limited the control of the density of weeds during RIC. At the end of the post-harvest period, the decreasing temperatures tended to defoliate this plant. As a consequence, *M. sativa* was less efficient than the *Trifolium* species in the control of aerial DM of weeds in late autumn both in absolute terms (Table 8) and relative to aerial DM of weeds at W16 (Table 9c). However, concerning the control of weed aerial DM, *M. sativa* did not perform less well than *M. lupulina* despite producing 1000 kg DM ha^{-1} less aerial DM at W40 (Table 8). The allelochemical compounds produced by *M. sativa* could be an

explanation for this late efficiency (Bhowmik and Inderjit, 2003; Xuan et al., 2003; Weston and Inderjit, 2007; Kruidhof et al., 2008).

As in the case of *M. lupulina*, *T. repens* was chosen for its short and covering growth habit. It was the only stoloniferous species among those tested, and was expected to colonize its environment rapidly. However, its slow growth habit was accentuated under the wheat canopy and it had difficulty withstanding competition in all tested situations. Consequently, the low aerial growth of this species at the end of the RIC period gave rise to the weakest control of weed density among the four species, but the difference was not dramatic. We were unable to find a satisfactory explanation for the relative efficiency of *T. repens* at this early stage despite having much lower aerial growth compared to the other species. The disappearance of competition from wheat after harvest allowed this species to fully express its growth potential and to reach, on average, the highest aerial DM at W40 and the best control of aerial DM of weeds among the four tested species.

Trifolium species, that showed the best aerial biomass at the end of the sampling period, were expected to play an important role in weed control but also in agro-ecological improvements to the system such as (i) production of primary biomass, carbon sequestration and improvement of soil organic matter content, (ii) recycling of nutrient elements, especially nitrogen made available to the succeeding crop, and (iii) soil erosion limitation and crusting effect diminution associated to ground covering as mentioned by Sheaffer & Seguin (2003) or Shili-Touzi et al. (2010).

5. Conclusion

The use of RIC of forage legumes in organic winter wheat appeared to be efficient at tackling weed competition, a prominent issue in organic farming. The comparison of four forage legumes relay-intercropped with organic winter wheat had not been carried out at this level of precision before. Our results showed it is possible to establish legume CCs in winter wheat at the beginning of spring which was the condition for ensuring efficient weed control later.

The control of the density of weeds was effective throughout the RIC phase. However the CCs were not competitive enough to limit the aerial DM of weeds efficiently during RIC due to competition for resources with wheat. In fact, the aerial biomass of wheat was essential in controlling the aerial DM of weeds along with that of the legumes. The RIC technique allowed CCs to be at a developed stage at wheat harvest time and they subsequently demonstrated their efficiency on the aerial DM of weeds in late autumn. Thus, it is necessary

to maintain the relay-intercropped legumes until the beginning of December to observe the CCs limit the aerial DM of weeds with significant efficiency.

In addition, it appeared in our results that *T. pratense* was the most efficient species in weed control throughout the RIC, until the beginning of December. Despite its slow establishment under the wheat canopy, *T. repens* caught up following a spectacular period of aerial growth after wheat harvest, and showed an interesting degree of efficiency relative to the other species. *Medicago sativa* and *lupulina* finally appeared to be less efficient than the *Trifolium* species in late autumn. However *M. lupulina* was the most efficient species of the four at the end of the RIC period.

Our main objective was to study the mean effect of the four relay-intercropped legume species on weeds in organic crop production, which had not frequently been tackled in the past. We have presented and discussed these innovative results gathered in diverse contexts of weed infestation as shown in the first part of our results. Despite the effort to carry out this study in on-farm organic conditions, there are still many agronomic situations to evaluate as far as weed control by legume CCs is concerned. Additional practices such as fertilisation, different weed control strategies or CC management (e.g. mowing, time of destruction) should also be taken into account and tested for their additional effect on weed control.

CHAPITRE 4. Effets des couverts des légumineuses sur la dynamique de l'azote à l'échelle de la succession culturale

Ce chapitre correspond à un article soumis à la revue *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. Cet article poursuit son processus de publication après demande de correction par la revue. Les objectifs de cet article sont de quantifier l'impact des couverts de légumineuses semés sous couvert de blé sur l'enrichissement en N du système sol-plante, la préservation de l'azote minéral du sol de la lixiviation hivernale et la restitution de l'azote accumulé à la culture de printemps suivante.

Contribution of relay intercropping with legume cover crops on nitrogen dynamics in organic grain systems

Camille AMOSSÉ [a], Marie-Hélène JEUFFROY [bc], Bruno MARY [d], Christophe DAVID [a, *]

[a] *ISARA-Lyon, UP SCAB, 23 rue Jean Baldassini, 69364 Lyon 07, France*

[b] *INRA, UMR211 Agronomie, BP01, 78850 Thiverval-Grignon, France*

[c] *AgroParisTech, UMR211 Agronomie, BP01, 78850 Thiverval-Grignon, France*

[d] *INRA, US 1158 Agro-Impact, Pôle du Griffon, 180 rue Pierre-Gilles de Gennes, 02000 Barenton-Bugny, France*

* Corresponding author: Tel: +33 427 858 526; fax: +33 427 858 636.

E-mail addresses: camosse@isara.fr (C. AMOSSÉ), Marie-Helene.Jeuffroy@grignon.inra.fr (M.-H. JEUFFROY), bruno.mary@laon.inra.fr (B. MARY), davidc@isara.fr (C. DAVID).

Abstract

Nitrogen (N) management is considered as a key issue in stockless organic grain systems. Relay intercropping with a legume cover crop can be a relevant technic of improving N availability in the sequence of two cash crops. We evaluated the benefits of four relay intercropped legumes (*Medicago lupulina*, *M. sativa*, *Trifolium pratense* and *T. repens*) on N dynamics and contribution for associated and subsequent cash crops. We assessed their role on the soil-plant N dynamic on six organic fields located in Southeast France.

None of the relay intercropped legumes affected the N uptake of the associated winter wheat but all increased significantly the N uptake by the spring crop, maize or spring wheat, from 43 to 55 kg N ha^{-1}. The improvement of N nutrition of the subsequent maize induced an increase of 30% in grain yield. All relay intercropped legumes enriched the soil-plant system in N through symbiotic fixation. From 80 to 94% of the N contained in the shoot legumes in late autumn was derived from the atmosphere (dfa), representing between 37 and 77 kg Ndfa ha^{-1}. The presence of relay intercropped legumes had no significant effect on the N lixiviation during winter below 90 cm compared to the control. However, legume cover crops could limit the risk of lixiviation in early autumn in situation with high precipitation.

Keywords

Relay intercropping, legume cover crops, lixiviation, nitrate, soil mineral nitrogen.

1. Introduction

The stockless organic farming systems give priority to profitable crops like winter wheat, while cover crops are limited in the crop rotation (David, 2000; Mazzoncini et al., 2008; Stinner et al., 2008). The use of annual fertility-building leys has no direct economic interest in these farms with no livestock to generate an income (Stinner et al., 2008; Blackshaw et al., 2010a) and the lack of farmyard manures makes them dependent from off-farm inputs. Consequently, wheat crop is often faced to nitrogen (N) deficiencies impairing crop performance (Berry et al., 2002; David et al., 2005a; Casagrande et al., 2009; Mazzoncini et al., 2010). In this context, legume cover crops inserted between cash crops could be a relevant option for improving N fertility while maintaining a cash crop every year through sequencing of winter and spring crops (Thiessen Martens et al., 2001). Undersowing legume cover crops at the beginning of spring in an established winter wheat crop, also known as relay intercropping with legume cover crop (RIL), allows getting a well established cover crop after wheat harvest. The early sowing date of the legume in the RIL system should facilitate its establishment, allowing legume cover crop to accumulate more biomass (Ohlander et al., 1996; Jeranyama et al., 1998) and then potentially supply the subsequent crops with more N (Jeranyama et al., 1998). The RIL system is also expected to limit competition between the cash crop and the cover crop, in comparison with simultaneous cereal-legume intercropping (Blackshaw et al., 2010a) or cereal intercropping in a living mulch (Carof et al., 2007b; Hiltbrunner et al., 2007b).

One potential interest of RIL in organic farming systems is the N enrichment of the soil-plant system through symbiotic fixation of N_2 and N transfer to cash crops (Dahlin and Stenberg, 2010). However, the proportion of N derived from atmosphere (Ndfa) in legumes is highly variable and depends on pedo-climatic conditions (Herridge et al., 2008; Peoples et al., 2009). The N-fixing potential of legumes is expected to be high when soil mineral N (SMN) is low compared to richer soil situations, in a natural way or through fertilization (Corre-Hellou et al., 2006; Naudin et al., 2010). Thus, in organic crop production prone to N deficiencies, the legumes might fix large amounts of N and enrich the soil plant system. RIL is also expected to limit SMN in late autumn which is an indicator of the nitrate leaching risk (Vyn et al., 2000; Bergkvist et al., 2011) since legumes can also take up inorganic soil N

(Thorup-Kristensen et al., 2003). The efficiency of legume cover crops against SMN lixiviation is sometimes weaker than that of Poaceaes (Känkänen et al., 2003; Bergkvist et al., 2011) or Brassicaceaes (Thorup-Kristensen, 1994) but relay intercropped legume may absorb residual N in the soil during winter (Vyn et al., 2000).

N release from legume residues to the subsequent crop is the greatest interest associated with the use of relay intercropped legumes (Crews and Peoples, 2005). As mineralization of crop residues is highly variable, depending on their composition and the soil and climatic conditions, there is a risk of inadequacy between the period and rate of mineralization and the needs of the subsequent crop, leading to limited (Blackshaw et al., 2010a) or no advantages (Henry et al., 2010) of the RIL on the subsequent crop. Thus, all legume cover crop species do not show the same contribution to the subsequent crop (Bruulsema and Christie, 1987; Hesterman et al., 1992). A simple way to evaluate the quality of the N release is to focus on subsequent crop yield performance (Henry et al., 2010).

Legume cover crops show other agronomic and ecologic interests like enrichment of soil organic matter (Sheaffer and Seguin, 2003; Jokela et al., 2009), limitation of erosion (Hartwig and Ammon, 2002; Scholberg et al., 2010), enhancement of biodiversity (Lithourgidis et al., 2011a), and weed control (Blaser et al., 2011).

Few studies have focused on the contribution of RIL to the dynamics of N in stockless organic farming systems. The aim of this study was to quantify in these systems the impact of relay intercropped legume cover crops undersown in winter wheat on (i) N uptake by wheat and legumes, (ii) SMN contents between the two cash crops and the nitrate losses during winter evaluated by modelling, and (iii) the contribution of relay intercropped legumes to the N uptake of the subsequent crop and its grain yield.

2. Materials and methods

2.1. Experimental sites

Six field experiments (named hereafter as sites) were carried out during two crop seasons: 2008-2009 (sites A09 and B09) and 2009-2010 (sites C10, D10, E10 and F10). They were established in organic farms located in south-east France (44°37' to 45°41' N and 4°49' to 5°32' E) representing various soil and climatic conditions (Table 10). Soil types included two silt loam soils (D09 and F10), two sandy loam (B09 and C09), one clay loam soil with a stony-calcareous top soil layer (A09) and one silty clay soil (E10) (FAO, 2006). Total N content ranged from 0.9 to 2.5 g kg^{-1} soil. Moisture content at field capacity, estimated as the maximum moisture content observed in winter during the crop succession, varied from 0.169

Table 10. Soil conditions and crop management in the six field experiments

Site	A09	B09	C10	D10	E10	F10
Soil texture (Jahn et al., 2006) [a]	CL	SL	SL	SiL	SiC	SiL
Humidity at field capacity (g g^{-1} soil, 0-90 cm layer)	0.205	0.169	0.170	0.212	0.301	0.207
Total N (g kg^{-1} soil)	2.0	1.0	1.1	0.9	2.5	1.0
Wheat sowing date	02/11/2008	26/11/2008	13/11/2009	27/10/2009	30/10/2009	26/10/2009
Legumes sowing date	25/03/2009	26/03/2009	18/03/2010	15/03/2010	15/03/2010	17/03/2010
Wheat growth stage at legumes sowing [c]	22	22	23	23	23	23
Wheat harvesting time (GDD) [b]	2196	2475	2625	2713	2589	2705
Autumn weed control on the control treatment	Stubble ploughing	Stubble ploughing	Shredding	None	Shredding	None
Autumn weed control date	05/08/09	06/08/09	13/09/2010	-	17/09/2010	-
Subsequent spring crop	Spring wheat	Maize	Maize	No	Maize	Maize
Spring crop sowing date	01/04/2010	29/04/2010	20/04/2011	-	19/04/2011	22/04/2011
Spring crop harvesting time (GDD) [b]	1898	3364	3277	-	3280	3347

[a] CL = Clay Loam ; SL = Sandy Loam ; SiC = Silty Clay ; SiCL = Silty Clay Loam ; SiL = Silty Loam; C = Clay; S = Sand.
[b] GDD = Growing Degree-Day starting from sowing of the cash crop (temperature basis = 0°C).
[c] Zadoks' scale (Zadoks et al., 1974).

to 0.301 g g^{-1} dry soil over 0-90 cm. Daily precipitation, mean air temperature and potential evapotranspiration were recorded at weather stations located within a 20 km radius around each field experiment. Cumulative precipitations over the whole wheat cycle ranged from 473 to 785 mm (Table 11). Additional irrigation was applied on sites B09, C10 and D10 with one or two applications between early April and end of May. During the subsequent spring crop cycle, cumulative rainfall ranged from 269 to 536 mm. Water deficit, calculated as the difference between potential evapotranspiration and water input, ranged from -291 to +113 mm during the winter wheat crop cycle, from -124 to +202 mm between the two cash crops and from +171 to +280 mm during the subsequent spring crop. The mean temperatures ranged from 8.8 to 10.9°C during the wheat cycle, from 10.0 to 11.9°C between the two cash crops and from 16.1 to 19.6°C during the following spring crop cycle (Table 11).

Table 11. Climatic conditions encountered during the field experiments

Site	A09	B09	C10	D10	E10	F10
Cumulative rainfall (mm)						
Period 1 [a]	546	543 (70) [c]	646 (70) [c]	591 (40) [c]	785	505
Period 2	699	643 (40) [c]	561	556	633	498
Period 3	269	654 (280) [c]	595 (280) [c]	-	536	492 (110) [c]
Mean temperature (°C)						
Period 1 [a]	8.7	10.9	10.6	10.2	9.6	10.2
Period 2	10.5	11.9	11.5	11.5	10.0	11.1
Period 3	16.1	18.8	19.6	-	18.7	18.7
Cumulative Water deficit (mm) [b]						
Period 1 [a]	+40	+94	+3	+51	-291	+113
Period 2	-124	+202	+185	+185	-118	+162
Period 3	+185	+171	+280	-	+228	+277

[a] Period 1 = from sowing to harvest of winter wheat; Period 2 = from harvest of winter wheat to sowing of spring crop except for site D10 (from harvest to May 1st); Period 3 = from sowing to harvest of spring crop.
[b] Deficit = potential evapotranspiration - (precipitation + irrigation)
[c] Irrigation volume in brackets

2.2. Experimental design

Each field experiment, except D10, consisted in a 2 years crop sequence of winter wheat/relay intercropped legume/spring crop (maize or spring wheat) (Table 10). Winter wheat (cv. Lona) was sown at a rate of 200 kg ha^{-1}. Four different species of legume cover crops were undersown in winter wheat: black medic (*Medicago lupulina* L), alfalfa

(*Medicago sativa* L), red clover (*Trifolium pratense* L) and white clover (*Trifolium repens* L). Seeds were broadcast with a manual centrifugal seed drill late in March at the end of wheat tillering, at a density of 800 seeds m^{-2}. Legume species were chosen to ensure a diversity of growth rates, root architectures and N fixation potential (Frame, 2005). An additional control treatment with wheat grown as sole crop and let weedy after wheat harvest referred to as T0 was added to quantify the incidence of undersown legumes. Each treatment (200 m^2) was repeated in three randomized blocks per site. Relay intercropped legumes were maintained after wheat harvest until their destruction by soil tillage at the end of winter, in January or February (except D10).

All mechanical weed controls were carried out with a tined weeder before sowing of relay intercropped legumes in winter wheat. No weed control was performed after legume sowing until the end of the RIL, even in the control treatment. The last weed control in all wheat fields was also used to bury legume seeds. After wheat harvest, mechanical weed controls in treatment T0 varied according to farmers' appraisal. Stubble ploughing was performed on T0 on sites A09 and B09 (Table 10). Weeds were shred in mid-September on sites C10 and E10 whereas treatments T0 were left undisturbed until the destruction of relay intercropped legume by ploughing on sites D10 and F10. Winter wheat straw was chopped and left at soil surface on all sites except on sites D10 and E10 where it was balled and removed. Relay intercropped legumes' residues were incorporated in soil by ploughing at the end of winter. Spring crops were sown during the third period (Table 11): one site (A09) was sown with spring wheat 6 weeks after ploughing, and four sites (B09, C10, E10 and F10) were sown with maize 9 to 12 weeks after ploughing. They did not receive any organic N fertilizer.

2.3. Experimental data

2.3.1. Plant biomass and N accumulation

Aboveground dry matter (DM) of winter wheat and relay intercropped legumes were measured separately at wheat harvest, sixteen weeks after legume sowing (date referred to as W16 hereafter). Aboveground DM of legumes was determined at the beginning of December, forty weeks after their sowing date (W40). Three samples of the whole vegetation (wheat, legumes and weeds) in 0.25 m^2 quadrats per treatment were hand harvested at ground level at both dates. The various components of the biomass (wheat straw and grains, legumes and weeds) were separated and weighted after oven-drying (48 h, 60°C). Three samples of grain and straw of the subsequent spring wheat were taken at harvest in 0.25 m^2 quadrats in each

treatment. Grain of the subsequent maize was sampled from a 3.2 m (4 rows) wide by 3.5 m long area in each treatment to determine grain yield.

To determine the N content in each legume species at W16 and W40, the three legume samples per treatment were gathered and ground. A sub-sample of 5.0 to 7.5 mg was analyzed for total N concentration and $\delta^{15}N$ composition using mass spectrometry (Delta Plus Avantage, Thermo-Electron, Bremen, Deutchland). Winter wheat N accumulation at harvest (W16) was calculated using the measured N content in grains and assuming a constant N harvest index (Austin and Jones, 1975) fixed at 0.76 (Barbottin et al., 2005). The measurement of the biomass and N accumulated in the relay intercropped legumes was stopped at W40 since their growth and N accumulation became negligible after December. The subsequent spring wheat samples were processed as legume samples for determining N accumulation in grains and straw. Five maize plants were taken in each treatment for the determination of N accumulation in grains and straw, with a similar process as legumes and spring wheat. The proportion of N derived from atmosphere (Ndfa) in legumes at W40 was determined using the natural variations in ^{15}N abundance. The $\delta^{15}N$ composition of weeds sampled at W40 in the control treatments was measured and used as a reference plant in the natural abundance method (e.g. Voisin et al., 2008). The $\delta^{15}N$ composition of legumes exclusively depending on symbiotic fixation was set at the lowest $\delta^{15}N$ value observed in each legume of each site, as suggested by Carlsson et al. (2009).

2.3.2. SMN content and calculation of leached N

Soil mineral N content was determined in late autumn (W40), at the end of winter (W52), at the emergence of the subsequent spring crop, 2 to 4 weeks after sowing (W64) and at harvest of spring crop. SMN was determined in three soil layers (0-30 cm, 30-60 cm and 60-90 cm) except on site A09 where the deeper layer was not accessible due to a high proportion of stones. Three replicated cores were taken in each treatment and gathered by depth. Moisture content was determined on soil sub-samples after oven drying (48 h, 105°C). Fresh soil sub-samples were used to extract soil mineral in KCl solution, and nitrate and ammonium were determined by standard colorimetric methods.

The LIXIM model proposed by Mary et al. (1999) was used to calculate N and water fluxes in soil (drainage and leaching) during winter and early spring. The model accounts for the measurements of soil water content and SMN in the three soil layers made at the three previously mentioned stages (W40, W52 and W64). It uses simple soil and climatic characteristics (daily mean air temperature, precipitation and potential evapotranspiration, soil

bulk density, moistures at field capacity and permanent wilting point). The model was not developed to work with growing cover crops. Consequently, its use in our conditions was only possible from the late autumn date (W40) as legume cover crops' growth was negligible after this date. Despite the absence of monitoring of the site D10 after W52, the model allowed us to simulate soil water and N fluxes until end of April.

2.4. Statistical analysis

To evaluate the incidence of the presence and the nature of the legume cover crops, the sites were considered as replicates. To detect site, block and treatment effects and two-factor interactions, one-, two- or three-factor ANOVAs were carried out depending on the availability of data as a single value for each treatment on each site (N leaching), as a single value for each treatment of each block (total N content, Ndfa, SMN) or as three replicates in each treatment (biomass). Square root or log transformations were used on data when Levene's homogeneity of variance test (P = 0.05) was not significant. If a significant F test ($P \leq 0.10$) was obtained from ANOVAs, Tukey's HSD test was used to determine factors and interactions significant differences at P = 0.10. If homogeneity of variances was not respected after data transformation, a non-parametrical test of Kruskal-Wallis (K-W, P = 0.10) was performed. Means were compared using a Dunn test when the K-W test was significant. These analyses were performed using XLStat software (Addinsoft SARL, Paris, France).

3. Results

3.1. Biomass and N accumulation in wheat and legumes

At harvest (W16), the mean biomass of wheat ranged from 6.16 to 6.66 t ha^{-1}. Results had shown no significant effect of any RIL treatment and no interactions between RIL treatment and site (Table 12). The quantity of N accumulated in the aerials varied between 63 and 66 kg N ha^{-1} with no effect of RIL. Therefore the RIL system had no influence on yield performance and N uptake by winter wheat whatever the nature of the legume cover crop.

At wheat harvest (W16), the biomass of *M. lupulina* and *T. pratense* (1.75 and 1.68 kg ha^{-1}, resp.) was significantly greater than that of the two other species, *M. sativa* and *T. repens* (1.17 and 0.87 t ha^{-1}, resp.) (Table 13). At the same time, N accumulation in the aboveground parts of the relay intercropped legumes was the highest for *M. lupulina* (49 kg ha^{-1}), the lowest for *T. repens* (22 kg ha^{-1}) and intermediate for *T. pratense* and *M. sativa*.

Table 12. Aboveground dry matter and nitrogen content of wheat at harvest in control and relay intercropped treatments. Mean of the six field experiments ± *standard error of the mean* (n = 54 for biomass, n=18 for N content).

	Biomass (t ha^{-1})	**N content (kg ha^{-1})**
Control treatment	6.35 ± *0.30*	66.2 ± *5.0*
Medicago lupulina	6.66 ± *0.31*	63.8 ± *5.3*
M. sativa	6.40 ± *0.27*	64.1 ± *4.6*
Trifolium pratense	6.52 ± *0.31*	64.0 ± *5.4*
T. repens	6.16 ± *0.27*	63.4 ± *5.5*
p value	***0.81***	***0.88***

Table 13. Aboveground biomass, N accumulated and N derived from atmosphere (Ndfa) in relay intercropped legumes at wheat harvest (W16) and late autumn (W40). Mean of the six field experiments ± *standard error of the mean* (n=54 for biomass and N accumulated, n=18 for proportion and quantity of Ndfa). Means followed by the same letter are not significantly different (*P* = 0.10).

	Biomass (t ha^{-1})	N accumulated (kg N ha^{-1})	%Ndfa (%)	Ndfa (kg N ha^{-1})
At wheat harvest (W16)				
Medicago lupulina	1.75 ± *0.05* ***a***	49.5 ± *5.6* ***a***		
M. sativa	1.17 ± *0.06* ***b***	34.6 ± *5.5* ***b***		
Trifolium pratense	1.68 ± *0.07* ***a***	42.2 ± *5.9* ***b***		
T. repens	0.87 ± *0.08* ***b***	22.0 ± *5.1* ***c***		
p value	***<0.001***	***<0.001***		
In late autumn (W40)				
Medicago lupulina	2.47 ± *0.04* ***b***	70.0 ± *5.5* ***b***	90.9 ± *2.9*	62.7 ± *4.9* ***a***
M. sativa	1.36 ± *0.02* ***c***	39.9 ± *4.0* ***c***	93.3 ± *1.6*	36.9 ± *3.7* ***b***
Trifolium pratense	2.91 ± *0.04* ***ab***	76.9 ± *7.9* ***b***	93.9 ± *1.3*	71.9 ± *7.4* ***a***
T. repens	3.58 ± *0.07* ***a***	97.9 ± *11.5* ***a***	80.5 ± *6.0*	76.5 ± *11.9* ***a***
p value	***<0.001***	***<0.001***	***0.72***	***<0.001***

During the 24 weeks following wheat harvest, *T. repens* had the highest growth (+2.70 t ha^{-1}, on average). This species showed a mean aboveground biomass of 3.58 t ha^{-1} at W40. *T. pratense* stayed one of the most developed species at this date (2.91 t ha^{-1}). The *Trifolium* species were followed by the *Medicago* species with a lower biomass of 2.47 t ha^{-1} for *M. lupulina* and 1.36 t ha^{-1} for *M. sativa* at W40. N accumulation in the aboveground parts of the relay intercropped legumes at W40 followed the same order as the aboveground DM at this date with the highest N uptake in *T. repens* (98 kg N ha^{-1}) after a large increase from W16 and the lowest for *M. sativa* (40 kg N ha^{-1}) that showed similar aboveground DM and N content than what was observed at W16 (Table 13). On average, the proportion of Ndfa in legumes represented 80.5% to 93.9% of the N accumulated in the aerials of legumes. No differences in the proportion of Ndfa appeared between the four species. Ndfa contributed to 37 kg N ha^{-1} on average to the N accumulation in shoots of *M. sativa*, and between 62 kg N ha^{-1} (*M. lupulina*) and 76 kg N ha^{-1} (*T. repens*) for the three other legumes that were not statistically different between them (Table 13).

3.2. SMN content and nitrate leaching

The average SMN content in the 0-90 cm soil layer was influenced by the presence of the relay intercropped legumes and the legume species (Fig. 12). Between late autumn (W40) and the end of winter (W52), the relay intercropped legumes were still present on the fields. On both dates, the differences between treatments were small but significant. Only the *M. sativa* treatment showed higher SMN content than the control treatment at these dates. The differences between treatments with legumes were variable at these two dates with significant decreases between *M. sativa* and *T. pratense* at W40 and between *M. sativa* and *T. repens* at W52. Between these two dates, the SMN contents decreased slightly in all treatments, except for *T. pratense* in which the SMN did not change significantly. At the emergence of the spring crop (W64), the SMN content was 3 to 5 times greater than twelve weeks earlier due to mineralization of organic N following ploughing and incorporation of relay intercropped legumes residues in soil. SMN contents in the relay intercropped treatments were significantly greater than in the control without cover crop: the mean amount of relay intercropped legumes was 46% greater than in the control, and the net increase varied from 28 to 42 kg N ha^{-1}.

The residual quantity of SMN in the first 90 cm of soil at the harvest of the subsequent spring crop was comparable to SMN observed at the destruction of relay intercropped legumes, at the end of winter (means of 32 vs. 29 kg N ha^{-1}, respectively). At the harvest of the spring crop, the quantity of mineral N still available under the *T. repens* treatment was

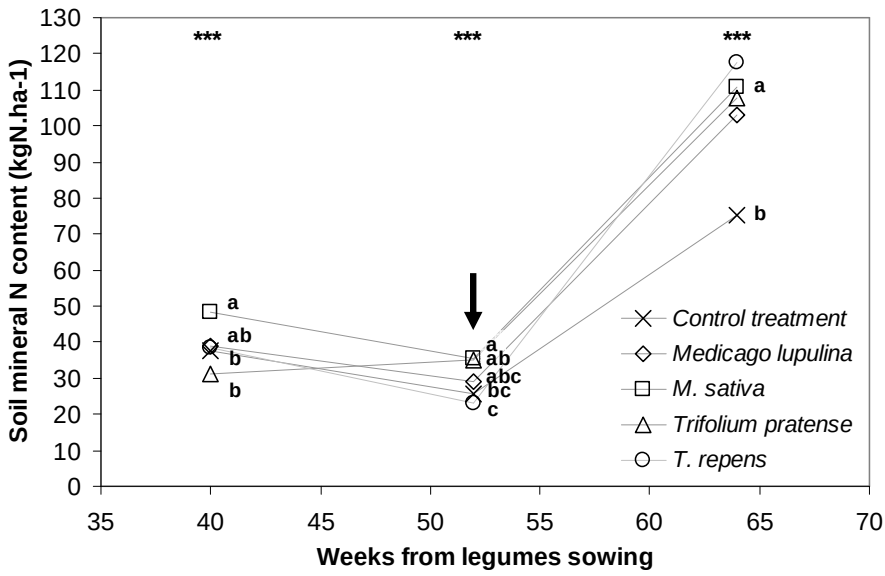

Fig. 12. Evolution of soil mineral nitrogen content in the 0-90 cm soil layer from the beginning of December (week 40, W40), the end of winter (W52) and the emergence of subsequent crop (W64) in the relay intercropped treatments. Symbols associated with the same letter at a given date are not significantly different (*P* = 0.10). *** = P < 0.001. The arrow indicates the date of incorporation of relay intercropped legumes residues in soil. Each point is the mean of the 5 monitored sites (D10 excluded).

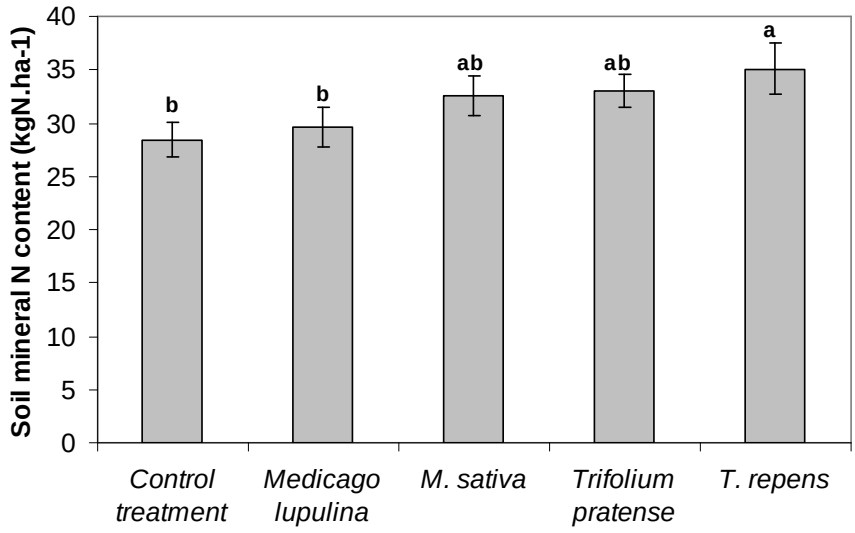

Fig. 13. SMN content at the harvest of the subsequent spring crop as affected by the previous relay intercropped legume species. Grey bars associated with the same letter are not significantly different (*P* < 0.001). Error bars indicate standard error of the mean (n = 15). Each bar is the mean of the five sites which were monitored during the subsequent spring crop.

significantly higher than under the control treatment (35 vs. 28 kg N ha^{-1}, respectively, Fig. 13). The three other treatments previously covered with legumes were not different from the control treatment.

The difference of the SMN content between wheat harvest and late autumn (i.e. at the onset of drainage) was linked to the water balance during this period. The greater the water input, the lower was the SMN content in the soil profile (0-90 cm) at W40 considering all treatments, with and without cover crops (P = 0.029). This is likely due to an early nitrate leaching in sites receiving large amounts of rainfall. The relationship also applied for treatments without relay intercropped legumes (P = 0.043, Fig. 14). The decrease was effective in control (slope = -0.25 kg N ha^{-1} mm^{-1}) but not in relay intercropped treatments where the SMN variation between W16 and W40 was not influenced by the water input during this period (P = 0.20). Therefore, the presence of a relay intercropped cover crop after wheat harvest during summer and autumn might have reduced nitrate losses through lixiviation during this period on rainy sites.

Nitrate leaching losses in winter (i.e. between early December and end of February W40-W52) and early spring (end of February to mid April W52-W64) were calculated using LIXIM. The model allowed to well reproduce the measured SMN at the end of each period (Fig. 15).

Despite cumulated values of simulated N leaching systematically lower in the RIL treatments compared to the control without cover crop, the simulated mineral N leaching was not significantly different from one treatment to another at the emergence of the subsequent crop. (Table 14). No effect of the treatment was also visible during the periods from late autumn to the end of winter (W40-W52) and from the end of winter to the emergence of the subsequent crop (W52-W64). The cumulative nitrate losses calculated between W40 and W64 varied between 12.8 and 17.5 kg N ha^{-1}.

3.3. Nitrogen use by the subsequent crop

The grain yields of the subsequent spring wheat in site A09 were very low, from 0.5 t ha^{-1} in control (*T0*) to 0.9 t ha^{-1} with *M. lupulina*). These low performance were largely explained by the mono-cropping of wheat (4 year with winter or spring wheat) on low fertility soil, far from the principles of diversify crop rotation under organic methods. The situation previously covered with *M. lupulina* showed a mean grain yield significantly higher than the control treatment (P = 0.045) when *M. lupulina* showed the best aerial growth compared to

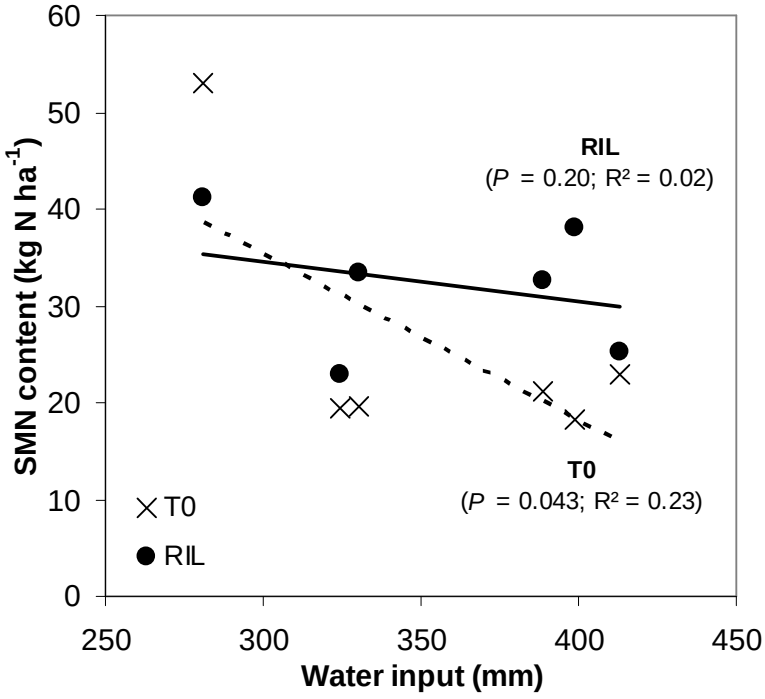

Fig. 14. Relationship between the difference of soil mineral nitrogen (SMN) content in the 0-90 cm soil layer between winter wheat harvest (W16) and the beginning of December (W40) and water input (precipitation + irrigation) from W16 to W40 in the control (T0, ×, n=3) and the relay intercropping treatments with legume cover crops (RIL, ●, n=12).

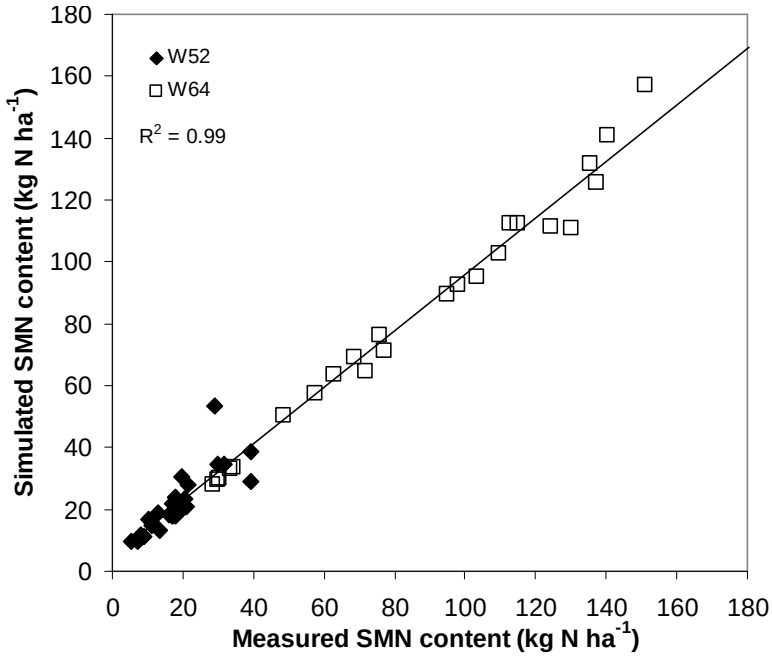

Fig. 15. Relationship between measured and simulated (using LIXIM model) soil mineral nitrogen (SMN) content on the 0-90 cm soil layer at the end of winter (W52, ◆) and the emergence of the spring crop (W64, □).

Table 14. Cumulative leached nitrogen (kg N ha^{-1}) below 90 cm calculated by LIXIM model from the beginning of December to the end of winter (W40-W52), from the end of winter to emergence of subsequent spring crop (W52-W64) and from the beginning of December to emergence of subsequent spring crop (W40-W64) as affected by the relay intercropping treatment. Each number is the mean of six sites ± *standard error*.

	W40-W52 (kg N ha^{-1})	W52-W64 (kg N ha^{-1})	W40-W64 (kg N ha^{-1})
Control treatment	8.7 ± *4.6*	8.8 ± *4.0*	17.5 ± *8.5*
Medicago lupulina	6.8 ± *3.5*	9.7 ± *5.2*	16.5 ± *8.6*
M. sativa	6.2 ± *2.6*	10.1 ± *5.0*	16.3 ± *6.7*
Trifolium pratense	4.9 ± *2.4*	7.9 ± *4.7*	12.8 ± *6.5*
T. repens	5.3 ± *3.3*	7.5 ± *4.4*	12.8 ± *6.4*
Treatment effect	***0.13***	***0.29***	***0.10***

the three other legume species at W40 (0.96 t ha^{-1} vs. 0.06 to 0.43 t ha^{-1}, respectively). The three other legumes had no effect on grain yield of the subsequent spring wheat.

The four sites cropped with maize had a high productivity under irrigation: the grain yields ranged from 9.8 (*T0*) to 13.4 t ha^{-1} (*T. repens*) (data not shown). The four treatments previously covered with relay intercropped legumes exhibited maize grain yields higher than those of the control ($P < 0.001$): the mean increase represented 31% of the grain yield of the control treatment. There was no difference of maize grain yield between the four treatments previously covered with legumes that varied between 12.4 t ha^{-1} (*T. pratense*) and 13.4 tha^{-1} (*T. repens*).

The previous RIL treatments also affected the N uptake from the subsequent crop (Fig. 16). Firstly, we observed a significant increase in the straw N content in all RIL treatments (+46% on average), without difference between legume species. Secondly, the RIL treatments with *M. sativa*, *T. pratense* and *T. repens* exhibited higher grain N contents than the control. The difference with the control represented 38 kg N ha^{-1} on average (+56%). *M. lupulina* treatment had also a higher N grain content (27 kg ha^{-1}) but not significantly different from the control. Finally, the N accumulated in the whole aboveground biomass of the subsequent crop was significantly increased in three out of four RIL treatments, i.e. *M. sativa*, *T. pratense* and *T. repens*. The nitrogen harvest indexes (NHI) were not affected by the RIL treatments: the values ranged from 0.71 to 0.74 and did not differ significantly from one treatment to another.

The extra N uptake in the aboveground biomass of the subsequent crop in RIL treatments (difference with control) represented between 48% (*M. lupulina*) and 136% (*M. sativa*) of legume-N content measured in shoots at the beginning of

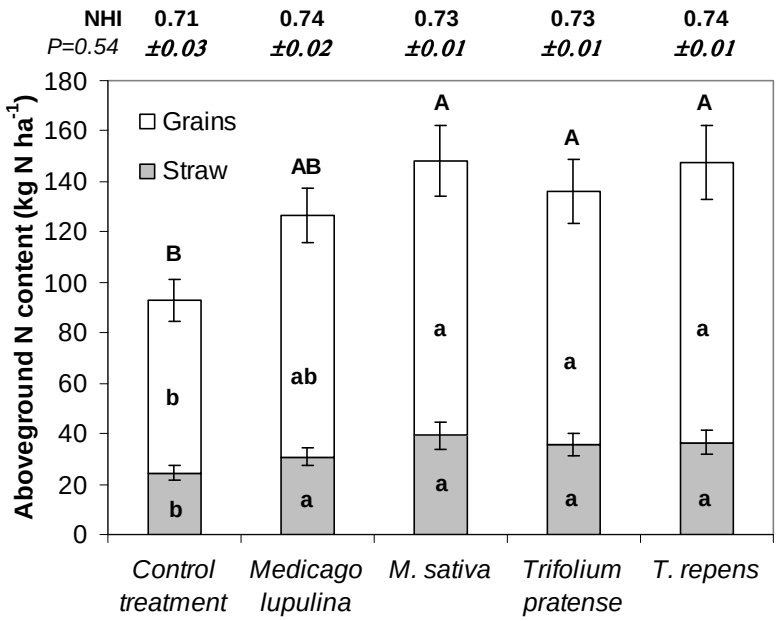

Fig. 16. Nitrogen contents in grain and straw at harvest of the subsequent spring crop as affected by the previous relay intercropped legume. Each bar represents the mean of the five sites. Error bars indicate standard error of the mean (n = 15). Bars associated with the same letter are not significantly different (*P* < 0.001). The Nitrogen Harvest Index (NHI) is indicated on the top of the graph.

December (data not shown). This ratio, which illustrates the efficiency of legume-N use by the subsequent crop, was significantly higher ($P = 0.052$) in *M. sativa* (136%) than with *T. pratense* (60%) and *M. lupuli*na (48%). The *T. repens* (81%) was not statistically different from the three other RIL treatments.

4. Discussion

4.1. N enrichment with RIL systems

The legume cover crops were expected to enrich the soil-plant system with exogenous N derived from symbiotic N fixation. The percentages of N derived from atmosphere observed in this study were high, greater than 80% at the beginning of December. These proportions are comparable or higher to what was observed for *T. pratense* and *T. repens* in ley systems by Hogh-Jensen & Schjoerring (2001) or in the review by Carlsson and Huss-Danell (2003). Although no statistical difference was found between the four legume species, the %Ndfa of *T. repens* was 10 to 13% lower than that of the three other species. This could be explained by the competition for light exerted by winter wheat during RIL. As light

interception is essential to support N symbiotic fixation (Liu et al., 2011), the backwardness in the early growth of *T. repens* led to limited %Ndfa at the beginning of December compared to the other legume species. However this lower %Ndfa of *T. repens* was compensated by higher aboveground biomass and N accumulation than the three other species which finally led to similar quantities of Ndfa.

Our estimates of the symbiotic N fixed by relay intercropped legumes showed that this system could provide reactive N to the plant-soil system in significant amounts. This is particularly useful in cropping systems showing marked N deficiencies (Carlsson and Huss-Danell, 2003), such as organic grain production systems (Berry et al., 2002; David et al., 2005a; Casagrande et al., 2009; Mazzoncini et al., 2010). In our study, we found that relay intercropped legumes could provide between 37 and 77 kg Ndfa ha^{-1} in the aboveground parts of *T. repens* at the beginning of December. These figures clearly underestimate the total N inputs due to RIL since N associated with belowground parts of the legumes was not included. Känkänen and Eriksson (2007) measured in late autumn the N accumulated in roots of *M. lupulina*, *T. pratense* and *T. repens* sown with spring barley and found that it represented 60, 120 and 82% of the N accumulated in the aboveground parts of these legumes, respectively.

4.2. Relay-intercropped legume establishment and growth

In our conditions, the wheat canopies did not impede the establishment and growth of the relay intercropped legumes. Among the four legume species tested, *M. lupulina* and *T. pratense* appeared to be the best competitors with winter wheat since they produced the highest aboveground biomass and accumulated more N in their aboveground parts at wheat harvest. On the contrary, *M. sativa* and *T. repens* were more impacted by the competition. The aboveground biomass of legumes reached at wheat harvest was sufficient to ensure significant aboveground biomass and N content in legumes at the beginning of December, except for *M. sativa* that suffered from defoliation with decreasing autumnal temperatures. Aboveground biomass of legumes observed in our conditions are comparable to previous observations made in North-American (Hesterman et al., 1992; Vyn et al., 2000; Thiessen Martens et al., 2001) or North-European conditions (Bergkvist et al., 2011) in RIL systems. N accumulations in relay intercropped legumes reached high values in late autumn, up to 98 kg N ha^{-1} for *T. repens*. Bergkvist et al. (2011) observed in late autumn mean N accumulation c. 75 kg N ha^{-1} in *T. pratense*, similarly to our situation at W40, and also in *T. repens*, lower by c. 20 kg N ha^{-1} than in our conditions. Vyn et al. (2000) observed N accumulations

between 44 and 98 kg N ha^{-1} in *T. pratense* relay intercropped in winter wheat at the same period. For cereal/legume intercrops between spring barley and *M. lupulina*, *T. pratense* or *T. repens* sown in May in Finland, Känkänen and Eriksson (2007) observed much weaker N accumulation in legumes than in our conditions: 4-5 kg N ha^{-1} at harvest of spring barley and between 19 and 33 kg N ha^{-1} in late autumn. In the situation of simultaneous intercropping of cereal and legume cover crops in spring, the competition for N can be detrimental contrary to our situation.

4.3. N release from legume cover crops

We expected that the provision of reactive N from RIL systems could be beneficial to both the intercropped wheat and the subsequent cash crop. It appeared that RIL had no significant effect on the first crop but only on the second crop. In fact during the first crop, the relay intercropped legumes were insufficiently developed to provide N and facilitate wheat N nutrition or compete with it. These results agree with the conclusions of Blackshaw et al. (2010a) or Becker et al. (2008) relative to grain protein content of winter wheat undersown with relay intercropped legumes. The delay in the sowing dates of the cash crop and the relay intercropped legumes linked with the choice of perennial or pluriannual legume species limited the risk of competition. Känkänen & Eriksson (2007) showed that intercropped legumes sown with spring barley were less influential on final barley performance than non-fixing annual relay intercrops due to a slower early growth.

Our results demonstrate that RIL systems had beneficial effects on grain yields and N uptake by the subsequent crop, confirming some studies (Hesterman et al., 1992; Vyn et al., 2000; Bergkvist et al., 2011) but are in contradiction with others. For example, Blackshaw et al. (2010a) found no significant effect of spring relay intercropped *M. sativa* or *T. pratense* on the grain yield and oil concentration of a subsequent canola. Henry et al. (2010) only observed a positive effect of relay intercropped *T. pratense* on subsequent maize in one out of four site-year and concluded that "*Red clover cover crop establishment during a wheat crop does not appear to be a reliable method of supplementing large amounts of N for a subsequent corn crop in western Ohio.*" Other authors reported variable effects of RIL according to year (Hively and Cox, 2001) or legume species (Kandel et al., 2000).

The confrontation of our results with the literature leads to questioning about the matching between N restitution through the mineralization of the cover crops and the N demand by the cash crop. Questions about when and how the cover crops are ploughed or mulched are discussed concerning the residual effect on the subsequent crop (Känkänen et al.,

1999; Blackshaw et al., 2010b) but also concerning the risk of mineral N pollution linked with uncontrolled mineralization (Känkänen et al., 1998; Plaza, 2011). Our results showed an important mineralization in the soil in few weeks after the ploughing of legume cover crops, whatever the treatment. The presence of relay intercropped legume from the beginning of spring until the end of winter benefited the system with an extra 28 to 42 kg N ha^{-1} in soil at the emergence of the subsequent crop compared to the absence of relay intercropped legumes. Despite different N amounts in the aboveground parts of the four relay intercropped legumes at the beginning of December (W40), mean SMN contents at the emergence of the subsequent crop were not significantly different between the legume species. As far as the subsequent crop starts its growth, this SMN surplus is expected to benefit the establishing crop. In our situations, it is clear that soil and climatic conditions and management of the cover crop residues allowed a synchronism between the restitution of mineral N coming from the legumes and the needs of the cash crops. The low grain yield of spring wheat with and without relay intercropped legume cover crops was essentially explained as this spring wheat was the fourth successive wheat crop on this field inducing high weed competition. In such situation with low diversity, the insertion of legume cover crops could not solve N deficiency and weed competition. On this site, the significant increase of spring wheat grain yields on *M. lupulina* treatment compared to the control treatment would allowed a saving of N fertiliser of 12 kg N ha^{-1} at the rate of 30 kg N necessary to produce 1 t of wheat grains. The grain and the biomass N yields of maize were significantly higher on treatments previously covered with relay intercropped legumes. The economic gains associated with grain yield increases and fertilizer savings should not be negligible. This saving would be, on average on the four sites cropped with maize and for the four legume treatments, of 65 kg N ha^{-1} at the rate of 21 kg N necessary to produce 1 t of maize grains.

4.4. N lixiviation during winter

We hypothesized that RIL system could help reduce nitrate losses during winter, despite the high N content of legume cover crops in late autumn. Our results showed no significant increase of SMN during winter in RIL systems, except for *M. sativa*. This situation could be explained by the early leaves losses of this species in autumn that might have decomposed earlier and increased soil mineral content of the upper layer. However we observed no increase in N leaching with this legume. Askegaard & Eriksen (2008) or Vyn et al. (2000) showed that relay intercropped clover covers were able to limit N leaching during winter compared to the absence of cover crops and as efficiently as rye, oat or oilseed radish

established as catch crops after wheat harvest in the second study. Without attaining this efficiency, the relay intercropped legumes tested in our study showed their efficiency to avoid extra N lixiviation compared to the absence of relay intercropped legumes from the end of winter to the emergence of the spring crop. A non significant tendency of limitation of N leaching in the presence of relay intercropped legumes even appeared at these two dates. The nature of the relationship between SMN at the beginning of December and water input between winter wheat harvest and late autumn on the six experimental sites goes in the same direction.

At the end of the spring crop, the residual SMN is still ranging from 28 and 35 kg N ha^{-1} with a weak excess on *T. repens* treatment compared to the control treatment (+6.7 kg N ha^{-1}). In order to avoid the loss of residual SMN by winter lixiviation after the second crop of the succession, a new crop should be sown rapidly to save and recycle as much N as possible in the soil-plant system.

5. Conclusion

This study brings innovative knowledge on an interesting way of improvement of stockless organic grain production systems. The experimental design allowed validating the hypotheses of enrichment, preservation and release of N in the soil-plant system thanks to relay intercropped legumes inserted in a winter wheat-spring cereal crop succession. Indeed, legumes ensured a natural input of exogenous N in the system through symbiotic fixation that represented a high proportion of the N content of the aboveground parts of the cover crops. Relay intercropped legumes also avoided any worsening of nitrate lixiviation. Finally, they ensured a notable N release available for the subsequent spring crop.

Despite the backwardness of *T. repens* during the first months of growth under winter wheat canopy, it largely caught up after winter wheat harvest and showed an efficiency comparable to *T. pratense* or *M. sativa* on the subsequent crop. On the contrary, *M. lupulina* that developed well under wheat canopy did not stand its advance as far as the performance of the subsequent crop were concerned. *M. sativa* underwent a negative influence of autumnal temperatures that should need further evaluation. Finally, *T. pratense* appeared to be the most regular species all along the crop sequence.

The use of other cover crops (Poaceae or Brassicaceae) should also be considered in mixture with the legumes tested here in situation with risk of lixiviation, on livestock farms with frequent fertilization or sensitive soils. Future research should consider actual

fertilization practices on cash crops to evaluate enrichment, preservation and restitution of N in RIL systems.

CHAPITRE 5. Discussion générale et conclusions

1.1. Rappel des objectifs de la thèse et synthèse des résultats

Ce travail de thèse avait pour objectifs :

- d'analyser et de comprendre le fonctionnement d'associations relais entre une céréale et une légumineuse de service en conditions d'AB vis-à-vis des ressources trophiques principales (eau et azote du sol, rayonnement lumineux) et d'en mesurer les conséquences sur les performances de la céréale.
- d'évaluer le rôle des couverts de légumineuses dans la maîtrise des adventices durant l'association et l'interculture
- d'évaluer le rôle des couverts de légumineuses dans l'alimentation azotée des cultures de vente et dans le contrôle du lessivage durant l'interculture.

Pour y parvenir, quatre espèces de légumineuses à vocation fourragère ont été semées en association relais avec une culture de blé d'hiver puis maintenues durant l'interculture avant implantation d'une culture de printemps. Ces quatre associations ont été comparées à une situation en culture pure sans plante de service (blé d'hiver suivi d'un sol nu en interculture). Ces modalités ont été testées sur huit parcelles agricoles, réparties dans la région Rhône-Alpes, dans le but de couvrir une gamme diversifiée de conditions climatiques et pédologiques. Ces expérimentations ont eu lieu sur les périodes 2008-2010 pour quatre parcelles et 2009-2011 pour quatre autres parcelles.

1.1.1. Fonctionnement de l'association relais céréale-légumineuse de service et effets sur les performances des cultures associées.

Nos travaux ont montré que l'insertion en relais de la légumineuse de service n'affecte pas le rendement en grains du blé d'hiver conduit en AB. Nous confirmons donc les résultats des travaux précédents menés en conditions d'agriculture conventionnelle (Hesterman et al., 1992; Thiessen Martens et al., 2001; Mutch et al., 2003; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011) ou biologique (Hartl, 1989; Becker and Leithold, 2008). Nous avons démontré que les couverts implantés au printemps dans une céréale d'hiver développent une biomasse insuffisante durant l'association pour affecter le rendement de la culture principale (Hesterman et al., 1992). Le nombre de grains par m², composante principale du rendement

déterminée à la floraison, n’a pas été affecté par le faible développement du couvert de légumineuse jusqu’à la floraison.

En revanche, nous avons observé, dans un tiers des situations, une diminution du taux protéique des grains de blé associé comparativement au blé pur. Ce résultat apporte des connaissances originales sur les conséquences de l'association relais entre une céréale d'hiver et une légumineuse de service en AB. Ainsi, malgré la faible concurrence intervenue avant floraison, le développement post floraison des légumineuses peut intervenir dans la phase de remplissage des grains. Peu d'études se sont intéressées à la teneur en protéines, premier critère de qualité du blé biologique, et ceux l'ayant fait n'avaient pas noté de diminutions significatives en situation d'association relais (Becker and Leithold, 2008; Blackshaw et al., 2010a). Notre étude apporte donc une information nouvelle et significative sur les associations relais entre une céréale et une légumineuse de service en AB.

De précédents travaux avaient également montré que le développement des couverts de légumineuses en association relais était différent selon l'espèce de légumineuse et les conditions environnementales testées (Thiessen Martens et al., 2001; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011). Notre dispositif multi-sites et pluriannuel a permis de mettre en évidence des dynamiques de croissance très variables selon l'espèce et les conditions environnementales. Nous avons également montré qu'à la récolte du blé, les quatre espèces de légumineuses de service testées présentaient un développement généralement important, malgré la présence du blé dès leur implantation. Les espèces ayant le mieux supporté la compétition du blé sont la minette et le trèfle violet. Ce sont également les deux espèces qui ont entrainé le plus fréquemment une diminution de la teneur en protéines (TP) des grains de blé (les deux tiers des traitements associés concernés par des diminutions du TP des grains de blé). Le trèfle blanc a, quant à lui, difficilement supporté l’ombrage exercé par la céréale ; il s'est peu développé au cours de l’association comparativement aux trois autres espèces (ca. 50% de la MS aérienne du trèfle violet et de la minette et ca. 75% de celle de la luzerne, en moyenne à la récolte du blé). La luzerne a eu une croissance modérée malgré son port aérien dressé favorable à une meilleure interception du rayonnement lumineux. Par ailleurs, nos résultats ont montré que l'association permet une meilleure utilisation de la ressource lumineuse grâce à une complémentarité temporelle et spatiale dans le développement aérien des plantes associées. La production de biomasse totale est en conséquence augmentée par rapport à une culture de blé pur.

Enfin, nous avons établi que le statut organique et hydrique de chaque parcelle expérimentale, évalué à partir de la nutrition azotée et des performances finales du blé pur,

permettait d'expliquer la variabilité des performances de l'association blé – légumineuse de service. Dans les situations à faible potentiel de production (cf. Table 3), la disponibilité des ressources et les performances finales du blé ont été améliorées ou peu impactées, par la présence des légumineuses associées. Celles-ci y présentaient un développement aérien moyen très variables (1240 ±1102 kg MS ha^{-1}, moyenne ±écart-type) selon le site et l'espèce. En revanche sur les sites à potentiel de production intermédiaire (cf. Table 3), la disponibilité des ressources et les performances finales du blé ont été négativement impactées dans la majorité des situations. Les légumineuses étaient fortement développées avec une MS aérienne moyenne de 1766 ±553 kg ha^{-1}. Enfin sur les sites à fort potentiel de production pour le blé (cf. Table 3), la disponibilité des ressources et les performances finales du blé ont été peu impactées par la présence de légumineuses peu développées (MS aérienne moyenne de 396 ±506 kg ha^{-1}) du fait de la forte compétition du blé.

Peu d'études précédentes ont cherché à identifier les conditions et facteurs expliquant l'évolution des performances finales de la céréale en situation d'association relais à l'exception des travaux de Carof et al. (2007c) ou Thorsted et al. (2006a) dans le cas de mulchs vivants de légumineuses. Les travaux sur les associations relais étaient principalement centrés sur la réussite des couverts de légumineuses implantés sous couvert (Thiessen Martens et al., 2001; Singer et al., 2007; Queen et al., 2009; Blaser et al., 2011). L'expression du développement relatif des couverts comparativement à celui de la céréale n'avait pas été utilisée précédemment. Nos résultats apportent de nouvelles connaissances sur le fonctionnement de ces associations relais en s'intéressant à l'effet du couvert sur la répartition des ressources trophiques. Dans nos conditions, le développement des couverts après floraison a conduit à une diminution de la disponibilité en eau et de l'azote du sol. Ces effets dépressifs étaient d'autant plus importants que les couverts étaient développés par rapport au blé (au-delà d'un ratio de biomasses aériennes "légumineuse / blé" de 20%). Le ratio de biomasses utilisé dans cette étude est un indicateur pertinent qui nécessite toutefois d'être validé dans d'autres conditions de production sous des climats tempérés.

Le travail mené en conditions d'AB contribue à enrichir les recherches encore peu nombreuses sur les associations à base de légumineuses de service dans ces systèmes agricoles sous contraintes multiples : climatiques, agronomiques et réglementaires (Hartl, 1989; Clements et al., 2000; Hiltbrunner et al., 2007c; Becker and Leithold, 2008; Olesen et al., 2009; Tosti and Guiducci, 2010; Løes et al., 2011; Sjursen et al., 2011).

1.1.2. Effet des couverts de légumineuses dans la maîtrise des adventices durant l'association et l'interculture

L'implantation et le développement initial des couverts de légumineuses n'ont pas été limités par les forts salissements observés sur certains sites. Au contraire, le développement des légumineuses a permis un contrôle de la densité des adventices au terme de la phase d'association, conformément aux résultats obtenus précédemment en agriculture conventionnelle sur les associations relais céréale-légumineuse de service (Blaser et al., 2006; 2011). En revanche, la biomasse aérienne des adventices ne s'est pas trouvée significativement limitée au terme de l'association, contrairement aux résultats d'études précédentes menées en agriculture conventionnelle (Mutch et al., 2003; Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011; Blaser et al., 2011). L'efficacité des couverts de légumineuses n'a été mesurée qu'au terme de la phase d'association dans les précédents travaux. Dans notre cas, nous nous sommes intéressés à l'évolution du salissement à trois dates-clés de la phase d'association. Nous avons ainsi montré que le contrôle de la densité des adventices est visible dès la floraison du blé. Nous avons également montré que, malgré une MS aérienne des adventices significativement plus élevée sur les traitements avec la minette et la luzerne comparativement au témoin sans couvert à la floraison du blé, ces deux espèces ont permis une diminution de la MS aérienne des adventices entre la floraison et la récolte du blé.

A la fin de l'automne, nous avons observé que la MS aérienne des adventices des traitements associés ne représentait plus que 0.7 à 11% de la MS aérienne observée sur le traitement témoin selon l'espèce de couvert.

Durant la phase d'association, plus les couverts de légumineuses sont développés, plus les variations de biomasse aérienne ou de densité des adventices entre le début et la fin de l'association sont faibles, quelle que soit l'espèce de légumineuses. Les observations ont été similaires pour les variations de biomasse des adventices entre la récolte du blé et la fin de l'automne. Ce sont les espèces présentant le plus fort développement aérien moyen, la minette et le trèfle violet au terme de la phase d'association, et le trèfle blanc et le trèfle violet au terme de la phase d'interculture, qui ont permis le meilleur contrôle des adventices, respectivement à ces deux dates. Cette relation s'explique par une compétition accrue pour la lumière au détriment des adventices (Kruidhof et al., 2008). La luzerne, dont le port élevé aurait pu assurer une bonne interception lumineuse et donc une bonne compétitivité vis-à-vis des adventices, s'est peu développée sous couvert de blé et s'est rapidement défoliée durant l'interculture du fait de la diminution des températures. Par conséquent, cette espèce s'est montrée peu efficace dans le contrôle des adventices en interculture comparativement aux

trois autres espèces. Au contraire, le trèfle blanc qui s'est difficilement implanté sous couvert de blé a montré un fort contrôle des adventices au cours de l'interculture suite à son fort développement après la récolte du blé.

Durant la phase d'association, les couverts se sont montrés particulièrement efficaces contre les adventices printanières, notamment le trèfle blanc. Ce résultat s'avère intéressant dans les rotations de grande culture des systèmes biologiques où les cultures de printemps reviennent régulièrement et où le risque d'infestation par des adventices printanières est donc important.

1.1.3. Effets des couverts de légumineuses sur la dynamique de l'azote à l'échelle de la succession culturale

Nous avons mis en évidence le rôle significatif des légumineuses dans l'enrichissement du système sol-plante en N, dans les conditions testées où l'enfouissement des résidus des couverts s'est fait à la fin de l'hiver. La quantité d'azote issue de la fixation symbiotique a été évaluée entre 37 et 77 kg N ha^{-1}, soit 80 à 94% de l'azote accumulé dans la biomasse aérienne des couverts à la fin de l'automne. Ces proportions d'azote fixé dans la biomasse aérienne des légumineuses sont conformes aux résultats précédents obtenus sur des couverts annuels de légumineuses (Høgh-Jensen and Schjoerring, 2001; Carlsson and Huss-Danell, 2003). La part de fixation semble alors équivalente dans le cas des associations relais où la légumineuse de service se développe sous le couvert de céréale.

Par ailleurs, les couverts ont restitué à la culture suivante une part de l'N qu'ils avaient accumulé (+28 à +42 kg ha^{-1} d'N minéral sur les 90 premiers centimètres de sol par rapport au témoin à l'émergence de la culture de printemps, 12 semaines après leur destruction). Cette restitution a permis un enrichissement en N, de +46%, en moyenne pour tous les traitements avec couvert, dans les pailles et de +56% dans les grains des cultures de printemps suivantes pour les deux trèfles et la luzerne comparativement au traitement sans couvert (augmentation non significative de 40% de la valeur du témoin avec la minette). Nous avons également noté une amélioration du rendement en grains du maïs de l'ordre de +30% en moyenne pour les quatre espèces de couverts. Le rendement du blé de printemps, testé sur un des sites, a également été significativement augmenté (+0.4 t ha^{-1}) mais uniquement avec le couvert d'interculture de minette le plus développé sur ce site. Ces observations viennent confirmer certains résultats obtenus en conditions d'agriculture conventionnelle (Hesterman et al., 1992; Vyn et al., 2000; Bergkvist et al., 2011) tout en étant en contradiction avec d'autres études où l'effet des couverts de légumineuses était nul (Blackshaw et al., 2010a; Henry et al., 2010) ou variable (Kandel et al., 2000; Hively and Cox, 2001) sur les performances finales de la culture

suivante. Nos travaux apportent une réponse supplémentaire à ce débat qui doit encore être alimenté par de futures études pour qu'un consensus se dégage.

Enfin, les couverts de légumineuses n'ont pas renforcé les pertes d'N par lixiviation durant l'hiver. Les études qui se sont intéressées à la lixiviation de l'N dans le cas des associations relais ont montré un effet positif du trèfle violet (Vyn et al., 2000; Bergkvist et al., 2011) ou négatif du trèfle blanc (Bergkvist et al., 2011) sur le contrôle du lessivage hivernal. Toutefois, ces études se sont appuyées uniquement sur des données statiques telles que la richesse du sol en N minéral à la sortie de l'hiver. Le travail de modélisation entre la fin de l'automne et le début du printemps, 24 semaines plus tard, nous a permis de juger des quantités d'azote minéral perdues par lixiviation (ca. 15 kg N ha^{-1} sur chacun des traitements).

Malgré des développements aériens et une richesse en azote différents selon les espèces de légumineuses:

- La quantité d'azote absorbée par le blé d'hiver n'a pas été significativement influencée par la présence des couverts, même dans le cas des couverts contenant une forte quantité d'azote à la récolte. Cette absence d'effet est en accord avec les observations de Becker et al. (2008), Blackshaw et al. (2010a) et Blaser et al. (2011). Au contraire, dans nos situations l'enrichissement du blé en N tendait à diminuer lorsque la biomasse aérienne des couverts augmentait (cf. Chapitre 2).
- Les couverts ont peu ou pas garanti le contrôle du lessivage sans pour cela augmenter le risque.
- La restitution d'N à la culture suivante, exprimée à travers la richesse en N des grains et pailles, n'est pas significativement différente quel que soit le couvert présent durant l'hiver précédent.

Nos travaux ont mis en lumière cette question de l'adéquation entre d'une part la quantité d'N accumulée dans la biomasse aérienne des couverts de légumineuses et d'autre part la répartition de l'N dans le système sol-plante au terme de l'association, durant l'interculture et la culture suivante. De futurs travaux pourraient s'intéresser à ces questions à travers des protocoles expérimentaux ciblés plus particulièrement sur l'une ou l'autre des phases de la succession culturale.

1.2. Retour sur le choix de l'association relais de légumineuses de service

Nous avons fait l'hypothèse que l'association relais entre un blé d'hiver et des couverts de légumineuses de service pouvait permettre d'apporter une réponse combinée à l'échelle de la succession de deux cultures afin de répondre à la compétition par les adventices et aux déficits chroniques de fertilité des sols à l'origine de pertes de rendement et/ou de limitation de la qualité des productions.

Ce type d'association relais devait permettre le développement des couverts tout en limitant la compétition interspécifique et assurer la couverture du sol dès la récolte de la céréale. Le semis des couverts à la fin du tallage du blé (stade 23 sur l'échelle de Zadoks) (Zadoks et al., 1974) l'a permis et a également présenté d'autres intérêts :

Le désherbage des parcelles par les agriculteurs préalablement au semis des couverts lorsque les conditions de ressuyage des sols l'ont permis.

La germination et l'implantation des légumineuses dans des conditions climatiques (notamment hydriques) favorables à la croissance d'une nouvelle culture sur la parcelle.

Les résultats rappelés ci-dessus nous permettent, en conclusion, de dire que **la technique d'association relais de légumineuses de service apporte une réponse positive aux deux facteurs limitants majeurs des systèmes de grande culture biologiques spécialisés, responsables de la baisse des performances des cultures principales.**

Des voies d'amélioration sont toutefois possibles pour éviter la limitation de la teneur en protéines des grains du blé, en limitant le compétition sur les ressources.

D'une part il est possible d'augmenter la compétitivité de la céréale associée vis-à-vis des couverts. Cela peut se faire en choisissant des variétés de blé plus couvrantes que celles utilisées dans cette étude. Blaser et al. (2011) ont, par exemple, montré que les variétés de blé et de triticale plus couvrantes étaient associées à des développement moindres du trèfle violet et de la luzerne associés en relais comparativement à des variétés de céréales moins couvrantes. Ross et al. (2004) font les même observations sur différents cultivars d'orge et d'avoine associés à du trèfle d'Alexandrie et notent également que les variétés plus tardives sont associées à un moindre développement du couvert associé par rapport aux variétés précoces. Ils l'expliquent par un moindre accès des couverts à la lumière en cas de fort pouvoir couvrant de la céréale ou de variétés plus tardives. Ce moindre accès à la lumière

limite le développement aérien des couverts de légumineuses et leur compétitivité pour les ressources.

D'autre part il est possible de jouer sur la compétitivité du couvert de légumineuse vis-à-vis des ressources. Pour cela on peut privilégier l'utilisation des deux espèces testées dans cette étude qui ont eu peu d'effets sur la teneur en protéines du blé associé c'est-à-dire la luzerne et le trèfle blanc.

Le choix de la variété de légumineuse pourrait être un élément important dans la réussite de l'association entre une céréale et une légumineuse de service au vu des résultats précédents sur la variabilité intra-spécifique des légumineuses (Entz et al., 2007; Hakala and Jauhiainen, 2007; Annicchiarico and Proietti, 2010). Singer et al. (2006) ont par exemple montré des différences de développement aérien significatives comprises entre 0.9 et 1.9 t MS ha^{-1} entre 15 variétés de trèfle violet, et ce, 80 jours après la récolte du blé associé en relais. Vaseva et al. (2011) ont montré des différences de comportements face à la sécheresse pour deux variétés de trèfles blanc.

Les modalités de semis et de gestion des couverts de légumineuse durant l'association sont aussi des moyens de donner à la céréale un avantage compétitif vis-à-vis de la légumineuse et de limiter les interactions néfastes pour le blé.

Malgré plusieurs études montrant l'absence d'effet dépressif de couverts de légumineuses de service semés simultanément à une céréale (Ohlander et al., 1996; Känkänen et al., 2001a; Känkänen and Eriksson, 2007; Blackshaw et al., 2010a), il semble difficilement envisageable d'augmenter le temps de présence des couverts en association avec le blé sans limiter les performances du blé dans nos conditions d'AB. Le rendement en grains du blé qui n'a pas été impacté dans nos conditions pourrait l'être au même titre que le taux protéique des grains. Plusieurs études d'association simultanée avec des céréales de printemps ont montré des effets dépressifs du couvert associé sur le rendement de la céréale (Jeranyama et al., 1998; Wiersma et al., 2005; Pridham and Entz, 2008). Les baisses de rendement peuvent atteindre 60% de la valeur du témoin (Hiltbrunner et al., 2007b) voire 80% du témoin (Carof et al., 2007b) lors d'implantation du blé dans des mulchs vivants de légumineuses. Pour éviter les situations de compétition au détriment du blé, il est donc possible de retarder le semis des légumineuses dans le blé au-delà de la fin du tallage. Plusieurs études passées ont montré que plus le semis sous couvert de céréale est tardif, moins les couverts sont développés et moins ils risquent d'entrer en compétition avec la céréale associée (Ohlander et al., 1996; Abdin et al., 1997; Kandel et al., 1997; Blackshaw et al., 2010a). La contrepartie de ce retard est de limiter l'intérêt des couverts dans l'enrichissement du système en azote et dans sa restitution à

la culture suivante comme ont pu l'observer Blackshaw et al. (2010a) sur du trèfle violet et de la luzerne semée soit à l'automne, soit au printemps dans un blé d'hiver.

La dose de semis des couverts peut également être modulée. Dans notre cas, la dose utilisée (800 gr.m^{-2} soit ca. 15 kg ha^{-1} pour le trèfle violet, la minette et la luzerne et ca. 5 kg ha^{-1} pour le trèfle blanc) est effectivement élevée par rapport aux doses généralement utilisées en situation d'association relais de ces quatre espèces de légumineuses de service dans une céréale d'hiver (Blackshaw et al., 2010a; Bergkvist et al., 2011) ou de printemps (Ohlander et al., 1996; Känkänen and Eriksson, 2007) conduites en agriculture conventionnelle. Le choix d'augmenter la dose de semis s'est fait afin de lutter au mieux contre les adventices. Toutefois, les faibles taux de levée observés dans nos conditions expérimentales (compris entre 20 et 67%, moyenne de 48% toutes espèces et tous sites confondus) n'ont pas permis d'augmenter le nombre de plantes émergentes et ont pu conduire à une diminution du taux protéique des grains. La technique de semis à la volée peut expliquer cette faiblesse de germination malgré le passage de herse étrille pour améliorer le contact terre-graine. L'utilisation d'un semoir en ligne ou d'un passage de rouleau pour améliorer le contact terre-graine permet généralement d'augmenter le taux de germination (Edwards, 1998; Känkänen et al., 2001b) dans les conditions où ce contact risque d'être limité par la nature du sol (exemple des sols grossiers, à forte charge en cailloux). Ces interventions doivent toutefois être adaptées à l'état de ressuyage du sol car elles peuvent entrainer une dégradation de son état physique (Edwards, 1998).

D'autres auteurs ont montré que le mulching (fauche des couverts laissée sur place) des couverts de légumineuses durant l'association permettait non seulement de limiter la compétitivité de la légumineuse vis-à-vis de la céréale mais également d'améliorer les performances finales de cette dernière (Thorsted et al., 2006b). Une telle gestion du couvert de légumineuses durant la phase d'association nécessite toutefois une séparation spatiale des deux cultures – par des semis de bandes (Thorsted et al., 2006c; Becker and Leithold, 2008) – et/ou l'utilisation d'outils adaptés (Thorsted et al., 2006b; Becker and Leithold, 2008) permettant le semis et plus tard la fauche du couvert sans perturber la céréale.

La diminution de la compétitivité des couverts pour les ressources trophiques peut également être assurée par une fertilisation azotée de couverture au printemps. Bergkvist et al. (2011) et Queen et al. (2009) ont effectivement montré dans le cas d'associations relais en agriculture conventionnelle qu'un apport d'azote au printemps limite le développement aérien des couverts de trèfle violet et trèfle blanc comparativement à une situation non fertilisée et augmente les performances de la culture de vente. Toutefois, cette limitation de la

compétitivité des couverts durant la phase d'association limite leur développement aérien, l'enrichissement en azote du système sol-plante par les couverts et la restitution à une culture de printemps suivante tout en favorisant le développement des adventices comme ont pu le démontrer Bergkvist et al. (2011).

L'agriculteur pourra chercher à profiter de la restitution d'azote par les résidus du couvert sur la culture suivante pour économiser sur ses apports d'engrais organiques et diminuer ses charges. Les résultats obtenus sur les cultures suivantes restent cependant variés selon les cultures suivantes telles que le maïs (Vyn et al., 2000), le colza (Blackshaw et al., 2010a), l'orge de printemps (Bergkvist et al., 2011), le blé de printemps (Kandel et al., 2000) ou l'avoine (Thiessen Martens et al., 2005).

1.3. Retour sur le protocole expérimental

Nos travaux ont permis de conclure que la compétition entre le couvert et le blé se faisait principalement sur l'eau du sol et indirectement sur l'azote minéral. Or le suivi dynamique de l'eau et de l'azote du sol n'a pas été suffisamment fin durant cette phase. Une analyse plus fine de la dynamique d'absorption de l'azote par le blé associé et de l'évolution des caractéristiques morphologiques et phénologiques des couverts (taux de couverture du sol, surface foliaire, vitesse de croissance), durant l'association, pourrait permettre de mieux expliquer la limitation de la teneur en protéines selon la disponibilité des ressources trophiques, en lien avec les caractéristiques des couverts (Uchino et al., 2009). Le choix d'espèces ou de variétés de légumineuses moins compétitives ou de mode de gestion particulier pourrait ainsi être ciblé en fonction des caractéristiques du couvert intervenant directement sur la compétition pour les ressources trophiques.

La méthode de suivi de l'interception lumineuse par les couverts pourrait également être améliorée pour évaluer la répartition du rayonnement lumineux entre les différents éléments du couvert végétal de chaque traitement (blé, légumineuses et adventices). La méthode de mesure du rayonnement lumineux utilisée nous a permis de conclure à une meilleure interception et donc à une meilleure valorisation du rayonnement lumineux en situation d'association. Toutefois, ces mesures ne nous ont pas permis de distinguer l'interception de chaque élément du couvert et donc de conclure sur une éventuelle compétition entre le blé et le couvert pour la lumière pour les espèces à port aérien élevé (Chapitre 2). Un suivi plus fin de l'interception lumineuse permettrait surtout de préciser l'intensité de la compétition des différentes espèces de légumineuses vis-à-vis des adventices (Chapitre 3).

La gestion des adventices et de la fertilité des sols sont des actions qui se gèrent sur le long terme et non pas à l'échelle de la succession de deux cultures. Cependant, notre travail apporte déjà des informations intéressantes en annonçant des tendances sur le moyen terme (par exemple sur l'évolution du stock semencier en adventices). D'autre part, l'étude sur le temps long est plus difficilement conciliable avec les exigences académiques d'une thèse de doctorat surtout dans le cas d'une démarche analytique comme celle dans laquelle nous nous sommes placés. La modélisation pluriannuelle pourrait par exemple permettre de contourner cette difficulté pour prédire des processus sur le long terme. Une prochaine étude orientée sur l'effet des couverts associés dans la maîtrise des adventices ou de la fertilité des sols pourrait donc se placer sur une échelle de temps plus longue, comme par exemple la rotation culturale, en adéquation avec les cycles temporels sur lesquels se développent et se stabilisent ces processus. Plusieurs études se sont placées à cette échelle pour évaluer l'utilisation répétée de couverts de légumineuses insérés en association dans les cultures de la rotation. Brandsaeter et al. (2012) et Sjursen et al. (2011) qui se sont intéressés au contrôle des adventices durant la rotation ont montré un effet limité à moyen terme des couverts sur les adventices. Sjursen et al. (2011) ont même observé une augmentation du stock semencier et de la densité des adventices au terme de la rotation. Ils l'expliquent par un effet facilitateur des couverts de légumineuses qui augmentent la disponibilité d'azote dans le sol pour les cultures de vente mais aussi pour les adventices. Concernant l'azote, Loes et al. (2011) n'ont pas observé d'enrichissement du système sol-plante au terme de la rotation du fait d'exportations par les cultures de vente supérieures aux enrichissements permis par les couverts. Les études qui se sont intéressées aux performances finales des cultures ont montré de meilleurs rendements cumulés au terme de la rotation avec des couverts associés (Känkänen et al., 2001a; Løes et al., 2011; Sjursen et al., 2011). L'étude à l'échelle de la rotation complète des cultures permettrait également d'évaluer le devenir de l'azote résiduel du sol que nous avons observé au terme de la culture suivante (cf. Chapitre 4). Peu d'informations sont également disponibles sur le risque de développement d'organismes pathogènes ou nuisibles en cas de présence trop importante de légumineuses dans les rotations de grande culture. Cependant, Lager et Gerhardson (2002) ont montré que les champignons pathogènes des trèfles blanc et violet (essentiellement issus des genres *Fusarium*, *Phoma*, et *Pythium*) sont également nuisibles pour d'autres légumineuses présentes dans les rotations de grande culture biologiques telles que le pois ou le haricot. Søegaard & Møller (2005) ont également observé un accroissement des populations de nématodes à kystes du trèfle dans le cas de prairies de trèfle blanc. Ce risque est évoqué par Askegaard & Eriksen (2008) et Loes et al. (2011) dans le cas

d'utilisations répétées de couverts de trèfles dans les rotations céréalières des systèmes à bas niveaux d'intrants ou biologiques.

La modélisation pourrait être utilisée sur ce type d'association en situations d'AB. Elle aurait pu nous servir pour analyser certains processus dynamiques, allonger la période d'étude ou intégrer d'autres facteurs de variation (conditions environnementales, choix du travail du sol, des espèces cultivées ou des dates de semis). Plusieurs modèles ont été développés et testés dans des situations d'association (Baumann et al., 2002; Brisson et al., 2004; Tsubo et al., 2005). Un modèle tel que STICS (Brisson et al., 2004) a montré son intérêt dans plusieurs situations d'association mais uniquement pour des associations simultanées, en conditions d'agriculture conventionnelle et avec un nombre limité de plantes : blé-fétuque (Shili-Touzi et al., 2010) ou orge-pois (Corre-Hellou et al., 2009; Launay et al., 2009). Cependant un travail de paramétrage de ces modèles est nécessaire préalablement à leur utilisation pour des associations relais en AB. Les résultats issus de cette thèse pourraient servir de base à un tel travail. Cependant, les modèles d'associations sont peu adaptés aux conditions d'AB car ils ne prennent pas en compte les adventices et leurs effets sur les cultures (Jeuffroy, communication personnelle). L'outil de simulation *ex-ante* de systèmes de culture PERSYST (PERformances agronomiques, économiques et environnementales des SYSTèmes de culture), développé par l'UMR Agronomie INRA/AgroParisTech et conçu à partir de connaissances d'experts de terrain à l'échelle régionale, pourrait être utilisé dans le cas des associations relais testées.

Le choix de travailler sur huit parcelles d'exploitations de grande culture biologique réparties sur la région Rhône-Alpes nous a permis de nous placer dans des conditions variées de sols, de climats et de gestions techniques. Un essai dans une seule station expérimentale ne nous aurait pas permis de profiter d'une telle diversité de conditions. Nous avons donc eu à notre disposition une palette de réponses de ces couverts et des associations en fonction des conditions environnementales et agronomiques des parcelles.

Un autre avantage de l'expérimentation sur des parcelles d'agriculteurs réside dans le fait d'avoir pu profiter de conditions d'exploitations proches de la réalité (succession des cultures, dates de semis et de récolte des cultures principales, désherbages du blé d'hiver associé et de la culture de printemps). Cependant, le protocole expérimental que nous avons élaboré a également imposé certains choix aux agriculteurs expérimentateurs (espèces, dates, doses et technique de semis des couverts, variété et dose de semis du blé d'hiver associé, fertilisation). Cette diversité de situations a eu des conséquences sur les données recueillies :

- Certaines parties du protocole expérimental nous ont éloignés des pratiques habituelles des agriculteurs telles que la gestion de l'enherbement et/ou du développement des couverts en interculture. De ce fait, les conséquences de certains choix expérimentaux ont dépassé les risques que certains agriculteurs étaient prêts à prendre, notamment vis-à-vis de la gestion de l'enherbement durant l'interculture. Ainsi, malgré notre volonté de ne pas désherber les traitements témoins sans couvert de légumineuse durant la période d'interculture pour connaître le potentiel de contrôle des adventices par les couverts, le risque d'infestation durable de ces traitements sans couvert par les adventices était trop important aux yeux de certains agriculteurs et mettait en péril les performances des cultures suivantes. Leur décision a donc été d'intervenir et de désherber soit par travail du sol soit par fauche ces traitements non couvert durant l'automne. Cette situation nous a imposé de sortir deux sites de l'analyse sur la gestion des adventices par les couverts (cf. Chapitre3). Cette situation indique également la nécessité d'intégrer, dans un futur protocole expérimental, des pratiques plus proches de celles habituellement utilisées par les agriculteurs dans la gestion de l'enherbement entre deux cultures de vente. Ce protocole permettrait alors de juger de l'efficacité des couverts par rapport aux pratiques habituelles de désherbage des agriculteurs durant l'interculture.
- La variabilité inter-parcellaire des résultats, induite par la diversité des conditions pédo-climatiques et agronomiques a pu occulter en partie l'effet des couverts lors des analyses statistiques.

A ce stade, nous avons encore insuffisamment valorisé cette diversité de situations. En effet, face à la faible quantité de connaissances sur la pratique d'association relais entre céréale et légumineuses de service, notamment en AB, notre objectif était d'abord d'évaluer les effets des quatre espèces de légumineuses sur le système quelles que soient les conditions dans lesquelles elles avaient été cultivées. Nous avons tout de même cherché tout au long de l'analyse à rapprocher certains comportements de l'association et des couverts de légumineuses aux conditions environnementales des sites (potentiel agronomique du blé, conditions climatiques).

Maintenant que les effets de ces quatre espèces de légumineuses sont mieux connus dans les systèmes de grande culture biologiques, une prochaine étape pourrait expliquer de façon plus fine la variabilité inter-sites. Les conclusions que nous avons tirées globalement pour chacune des quatre espèces de légumineuse pourraient être modulées en fonctions des caractéristiques pédo-climatiques et agronomiques des huit parcelles du dispositif

expérimental. Ce complément d'analyse pourrait aussi alimenter un processus de modélisation de ces associations en AB tel que nous l'avons proposé précédemment.

1.4. Place des associations relais dans les systèmes agricoles

Un point important dans l'appropriation d'une telle technique de production par les agriculteurs est le fait d'avoir travaillé directement sur leurs parcelles. Cela leur a permis de se rendre compte par eux-mêmes de la faisabilité de la pratique d'association et de ses effets sur leur système de culture. La gamme des espèces de légumineuses testées leur a également permis de se rendre compte que d'autres espèces que celles qu'ils avaient utilisées jusque-là comme plante de couverture associée ou non, notamment la luzerne, étaient plus performantes dans leur contexte. Les agriculteurs que nous avons mobilisés dans le réseau expérimental de cette thèse étaient toutefois peu nombreux (6 agriculteurs pour 8 parcelles). Ce travail doit maintenant être repris par les structures de R&D pour diffuser et consolider nos résultats. La pratique de l'association relais de légumineuses de service dans une culture de blé d'hiver n'a pas posé de problèmes techniques majeurs, ce qui devrait faciliter sa diffusion et son appropriation. Elle ne nécessite pas de matériel supplémentaire, laisse la possibilité à l'agriculteur de gérer ses désherbages avant le semis des couverts au printemps et ne vient pas perturber le calendrier de travail de manière trop conséquente dans le cas des exploitations de grande culture biologiques. Cette pratique d'association relais ne remet pas non plus en cause les rotations pratiquées et les filières de grande culture dans lesquelles s'insèrent les agriculteurs qui les pratiquent. Ils pourraient même envisager de s'insérer dans une nouvelle filière de valorisation fourragère de la biomasse produite par les couverts si des éleveurs se trouvaient dans leur environnement. La seule contrainte technique que nous avons pu observer et qui a retenu notre attention est la contamination de la récolte du blé d'hiver associé par de la matière verte issue du couvert dans le cas de peuplements de blé mal développé associés à de la luzerne. Cette situation peut nécessiter un tri supplémentaire des grains à leur récolte.

Cette pratique d'insertion de couverts de légumineuses en association dans les rotations de grande culture biologiques entraine des dépenses pour les agriculteurs pour l’achat de semences de légumineuses et leur semis sous couvert de blé. Mais l'utilisation des couverts leur permet potentiellement des économies sur les désherbages mécaniques durant la période d'interculture, et donc sur l'énergie et les machines. L'économie peut également se faire sur les fertilisants dans la mesure où l'azote fixé par les couverts peut remplacer une

partie des engrais organiques apportés qui représentent une lourde charge dans ce type d'exploitation (Casagrande et al., 2009). Bergkvist et al. (2011) ont évalué succinctement l'intérêt économique d'utiliser des couverts de trèfles associés en relais à du blé d'hiver comparativement à leur absence ou à l'utilisation de ray-grass. A partir de leurs résultats, ils estiment qu'un gain financier est possible dans les situations avec du trèfle comparativement aux autres situations, quel que soit le prix des fertilisants. L'impact économique des associations à base de légumineuses de service a été rarement évalué, contrairement aux associations où les deux plantes associées sont récoltées car elles constituent un revenu direct pour l'exploitant (Dhima et al., 2007; Lithourgidis et al., 2011b; Dordas et al., 2012; Pelzer et al., 2012). Dans le cas des légumineuses de service en associations relais, ce travail reste donc à approfondir, par exemple, à l'échelle de la succession de deux cultures, sur la base de ce travail.

Dans la mesure où notre analyse de la variabilité inter-sites est encore insuffisante, il nous semble difficile d'extrapoler la réussite des associations testées dans d'autres zones géographiques. La diversité des milieux dans lesquels ces associations ont été testées a permis de donner un premier jugement sur leur adaptation mais nécessite d'être approfondie. Cependant, il ne fait aucun doute que l'utilisation de couverts de légumineuses de service en association dans les rotations de grande culture, qu'elles soient biologiques ou conventionnelles, est bénéfique pour l'agroécosystème. En effet, les facilités de mise en œuvre de la pratique d'association relais à base de légumineuses de service et ses conséquences sur l'agroécosystème ne sont pas réservées aux seuls systèmes biologiques. D'après les connaissances accumulées dans la bibliographie, il est évident que ces plantes de service et les associations de cultures ont d'autres intérêts pour les systèmes de grande culture que ceux que nous avons présentés. Il s'agit, par exemple, pour les plantes de couverture, de la protection du sol de l'érosion par la plante vivante et ses résidus (Hartwig and Ammon, 2002; Scholberg et al., 2010), de la structuration du sol qui améliore l'infiltration de l'eau (Sheaffer and Seguin, 2003; Scholberg et al., 2010) et l'accès aux ressources trophiques profondes et de l'accumulation de MO dans le sol qui lui assure une meilleure rétention en eau, un stockage du carbone et fournit un substrat pour la microfaune (Scholberg et al., 2010). Les couverts assurent également des habitats pour la faune auxiliaire. Par ailleurs, les associations peuvent constituer une barrière au développement des maladies du sol (e.g. *Fusarium* spp., *Sclerotinium* spp., *Gaeumannomyces graminis*) (Hiddink et al., 2010) et de celles dispersées par effet splash telle que la septoriose (Bannon and Cooke, 1998; Hiddink et al., 2010). Les associations permettent également de limiter la dispersion et l'incidence des insectes

ravageurs (Lithourgidis et al., 2011a; Xu et al., 2011). Ratnadass et al. (2011) ou Hiddink et al. (2010) identifient plusieurs mécanismes en jeu pour le contrôle des organismes nuisibles dans les associations dont la dilution des hôtes et donc des ressources, la perturbation de leurs cycles spatio-temporels, les effets allèlopathiques ou les résistances systémiques induites et acquises. Des aspects essentiellement agronomiques du fonctionnement des associations relais ont été abordés dans cette étude mais les aspects écologiques, évoqués ici, doivent encore être approfondis.

Certaines observations issues de nos travaux ou de la bibliographie évoqués ci-dessus permettent d'affirmer que les couverts de légumineuses utilisés en association relais permettent une intensification écologique des rotations de grande culture biologiques au sens de Chevassus-au-Louis & Griffon (2007) ("*intensification dans l'utilisation des fonctions naturelles que les écosystèmes offrent*"). En effet, nos travaux nous ont permis d'analyser certaines régulations biologiques permises par les couverts de légumineuses associés en relais, notamment l'enrichissement biologique en azote et la maîtrise des adventices, et de proposer des voies d'optimisation de ces systèmes, à travers le choix des espèces les plus adaptées.

Enfin, l'utilisation des couverts de légumineuses en association apporte des réponses agronomiques et écologiques aux questions techniques, économiques et scientifiques qui se posent dans les systèmes de grande culture biologiques. Ce travail de thèse positionne la pratique agricole de l'association relais dans le cadre de l'agroécologie comme la définissent Wezel & Soldat (2009) : **une discipline scientifique** que nous avons mise en œuvre dans le cadre de ce travail de recherche, **une pratique** illustrée par l'exemple des associations relais et **un mouvement** qui sollicite conjointement, et de plus en plus fréquemment, les agriculteurs et les chercheurs pour apporter des solutions innovantes et durables aux problèmes de l'agriculture.

Références

Abdin, O.A., Coulman, B.E., Cloutier, D.C., Faris, M.A., Smith, D.L., 1997. Establishment, Development and Yield of Forage Legumes and Grasses as Cover Crops in Grain Corn in Eastern Canada. J. Agron. Crop Sci. 179, 19-27.

Altieri, M.A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agr. Ecosys. Environ. 74, 19-31.

Amossé, C., Jeuffroy, M.-H., Celette, F., David, C., 2013a. Relay-intercropped forage legumes help to control weeds in organic grain production. Eur. J. Agron. (in press).

Amossé, C., Jeuffroy, M.-H., David, C., 2013b. Relay intercropping of legume cover crops in organic winter wheat: Effects on performance and resource availability. Field Crop Res. 145, 78-87.

Andersen, M.K., Hauggaard-Nielsen, H., Weiner, J., Jensen, E.S., 2007. Competitive dynamics in two- and three-component intercrops. J. Appl. Ecol. 44, 545-551.

Anil, L., Park, J., Phipps, R.H., Miller, F.A., 1998. Temperate intercropping of cereals for forage: a review of the potential for growth and utilization with particular reference to the UK. Grass Forage Sci. 53, 301-317.

Annicchiarico, P., Proietti, S., 2010. White clover selected for enhanced competitive ability widens the compatibility with grasses and favours the optimization of legume content and forage yield in mown clover-grass mixtures. Grass Forage Sci. 65, 318-324.

Antichi, D., Mazzoncini, M., Bàrberi, P., Bigongiali, F., Carpi, G., 2008. Leguminous cover crops: an important tool for improving resource use efficiency in organic arable cropping systems. 16th IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy, p. 4.

Arlauskiene, A., Maiksteniene, S., Sarunaite, L., Kadziuliene, Z., Deveikyte, I., Zekaite, V., Cesnuleviciene, R., 2011. Competitiveness and productivity of organically grown pea and spring cereal intercrops. Zemdirbyste 98, 339-348.

Askegaard, M., Eriksen, J., 2007. Growth of legume and nonlegume catch crops and residual-N effects in spring barley on coarse sand. J. Plant Nutr. Soil Sc. 170, 773-780.

Askegaard, M., Eriksen, J., 2008. Residual effect and leaching of N and K in cropping systems with clover and ryegrass catch crops on a coarse sand. Agr. Ecosys. Environ. 123, 99-108.

Austin, R.B., Jones, H.G., 1975. The physiology of wheat. Cambridge Plant Breeding Institute Report for 1974 Part III, 20-73.

Badgley, C., Moghtader, J., Quintero, E., Zakem, E., Chappell, M.J., Avil?s-V?zquez, K., Samulon, A., Perfecto, I., 2007. Organic agriculture and the global food supply. Renew. Agr. Food Syst. 22, 86-108.

Bannon, F.J., Cooke, B.M., 1998. Studies on dispersal of Septoria tritici pycnidiospores in wheat-clover intercrops. Plant Pathol. 47, 49-56.

Bàrberi, P., 2002. Weed management in organic agriculture: are we addressing the right issues? Weed Res. 42, 177-193.

Barbottin, A., Lecomte, C., Bouchard, C., Jeuffroy, M.-H., 2005. Nitrogen remobilization during grain filling in wheat. Crop Sci. 45, 1141-1150.

Barnes, R.F., Nelson, C.J., Collins, M., Moore, K.J., 2003. Forages vol. I, An Introduction to grassland agriculture. Blackwell Publishing.

Barnes, R.F., Nelson, C.J., Collins, M., Moore, K.J., 2007. Forages vol. II, The science of grassland agriculture. Blackwell Publishing.

Baumann, D.T., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2002. Intercropping system optimization for yield, quality, and weed suppression combining mechanistic and descriptive models. Agron. J. 94, 734-742.

Becker, K., Leithold, G., 2008. Improvement of winter wheat baking quality in ecological cultivation by enlargement of row spacing and undersown intercrops. In: D. Neuhoff, N.H., T. Alföldi, W. Lockeretz, A. Thommen, I.A. Rasmussen, J. Hermansen, M. Vaarst, L. Lueck, F. Caporali, H. H. Jensen, P. Migliorini and H. Willer. (Ed.), Second Scientific conference of the International Society of Organic Agriculture Research (ISOFAR), 16th IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy, pp. 550-553.

Bennett, S.J., 2003. New Perennial Legumes for Sustainable Agriculture. University of Western Australia.

Bennett, S.J., Broughton, D.A., Maxted, N., 2006. Ecogeographical Analysis of the Perennial Medicago. CRC Salinity Bulletin 1, 62.

Beres, B.L., Harker, K.N., Clayton, G.W., Bremer, E., Blackshaw, R.E., Graf, R.J., 2010. Weed-competitive ability of spring and winter cereals in the Northern Great Plains. Weed Technol. 24, 108-116.

Bergkvist, G., Stenberg, M., Wetterlind, J., Båth, B., Elfstrand, S., 2011. Clover cover crops under-sown in winter wheat increase yield of subsequent spring barley - Effect of N dose and companion grass. Field Crop. Res. 120, 292-298.

Berry, P.M., Sylvester-Bradley, R., Philipps, L., Hatch, D.J., Cuttle, S.P., Rayns, F.W., Gosling, P., 2002. Is the productivity of organic farms restricted by the supply of available nitrogen? Soil Use Manage. 18, 248-255.

Bhowmik, P.C., Inderjit, 2003. Challenges and opportunities in implementing allelopathy for natural weed management. Crop Prot. 22, 661-671.

Bilalis, D., Karkanis, A., Efthimiadou, A., 2009. Effects of two legume crops, for organic green manure, on weed flora, under mediterranean conditions: Competitive ability of five winter season weed species. Afr. J. Agric. Res. 4, 1431-1441.

Blackshaw, R.E., Brandt, R.N., 2008. Nitrogen fertilizer rate effects on weed competitiveness is species dependent. Weed Sci. 56, 743-747.

Blackshaw, R.E., Molnar, L.J., Moyer, J.R., 2010a. Suitability of legume cover crop-winter wheat intercrops on the semi-arid Canadian prairies. Can. J. Plant Sci. 90, 479-488.

Blackshaw, R.E., Molnar, L.J., Moyer, J.R., 2010b. Sweet clover termination effects on weeds, soil water, soil nitrogen, and succeeding wheat yield. Agron. J. 102, 634-641.

Blaser, B.C., Gibson, L.R., Singer, J.W., Jannink, J.-L., 2006. Optimizing seeding rates for winter cereal grains and frost-seeded red clover intercrops. Agron. J. 98, 1041-1049.

Blaser, B.C., Singer, J.W., Gibson, L.R., 2007. Winter cereal, seeding rate, and intercrop seeding rate effect on red clover yield and quality. Agron. J. 99, 723-729.

Blaser, B.C., Singer, J.W., Gibson, L.R., 2011. Winter cereal canopy effect on cereal and interseeded legume productivity. Agron. J. 103, 1180-1185.

Bodner, G., Loiskandl, W., Kaul, H.P., 2007. Cover crop evapotranspiration under semi-arid conditions using FAO dual crop coefficient method with water stress compensation. Agr. Water Manage. 93, 85-98.

Bond, W., Grundy, A.C., 2001. Non-chemical weed management in organic farming systems. Weed Res. 41, 383-405.

Brandsaeter, L.O., Thomsen, M.G., Waernhus, K., Fykse, H., 2012. Effects of repeated clover undersowing in spring cereals and stubble treatments in autumn on Elymus repens, Sonchus arvensis and Cirsium arvense. Crop Prot. 32, 104-110.

Briggs, S., 2008. Nitrogen Supply and Management in Organic Farming.

Brisson, N., Bussière, F., Ozier-Lafontaine, H., Tournebize, R., Sinoquet, H., 2004. Adaptation of the crop model STICS to intercropping. Theoretical basis and parameterisation. Agronomie 24, 409-421.

Bruulsema, T.W., Christie, B.R., 1987. Nitrogen contribution to succeeding corn from alfalfa and red clover. Agron. J. 79, 96-100.

Bulson, H.A.J., Snaydon, R.W., Stopes, C.E., 1997. Effects of plant density on intercropped wheat and field beans in an organic farming system. J. Agr. Sci. 128, 59-71.

Buraczynska, D., Ceglarek, F., 2004. The role of green manures, in form of undersown cover crops, and straw in sugarbeet cultivation. Part I. Sugarbeet plantations infestation with weeds. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roslin 234, 171-180.

Campiglia, E., Mancinelli, R., Radicetti, E., Caporali, F., 2010. Effect of cover crops and mulches on weed control and nitrogen fertilization in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Crop Prot. 29, 354-363.

Carcea, M., Salvatorelli, S., Turfani, V., Mellara, F., 2006. Influence of growing conditions on the technological performance of bread wheat (Triticum aestivum L.). Int. J. Food Sci. Tech. 41, 102-107.

Carlsson, G., Huss-Danell, K., 2003. Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. Plant Soil 253, 353-372.

Carlsson, G., Palmborg, C., Jumpponen, A., Scherer-Lorenzen, M., Hogberg, P., Huss-Danell, K., 2009. N(2) fixation in three perennial Trifolium species in experimental grasslands of varied plant species richness and composition. Plant Ecol. 205, 87-104.

Carof, M., De Tourdonnet, S., Coquet, Y., Hallaire, V., Roger-Estrade, J., 2007a. Hydraulic conductivity and porosity under conventional and no-tillage and the effect of three species of cover crop in northern France. Soil Use Manage. 23, 230-237.

Carof, M., de Tourdonnet, S., Saulas, P., Le Floch, D., Roger-Estrade, J., 2007b. Undersowing wheat with different living mulches in a no-till system. I. Yield analysis. Agron. Sustain. Dev. 27, 347-356.

Carof, M., de Tourdonnet, S., Saulas, P., Le Floch, D., Roger-Estrade, J., 2007c. Undersowing wheat with different living mulches in a no-till system. II. Competition for light and nitrogen. Agron. Sustain. Dev. 27, 357-365.

Casagrande, M., David, C., Valantin-Morison, M., Makowski, D., Jeuffroy, M.-H., 2009. Factors limiting the grain protein content of organic winter wheat in south-eastern France: a mixed-model approach. Agron. Sustain. Dev. 29, 565-574.

Cavigelli, M.A., Hima, B.L., Hanson, J.C., Teasdale, J.R., Conklin, A.E., Lu, Y.C., 2009. Long-term economic performance of organic and conventional field crops in the mid-Atlantic region. Renew. Agr. Food Syst. 24, 102-119.

Cavigelli, M.A., Teasdale, J.R., Conklin, A.E., 2008. Long-term agronomic performance of organic and conventional field crops in the mid-Atlantic region. Agron. J. 100, 785-794.

Celette, F., Findeling, A., Gary, C., 2009. Competition for nitrogen in an unfertilized intercropping system: The case of an association of grapevine and grass cover in a Mediterranean climate. Eur. J. Agron. 30, 41-51.

Chevassus-au-Louis, B., Griffon, M., 2007. La nouvelle modernité : une agriculture productive à haute valeur écologique. In: Déméter, C. (Ed.), Déméter 2008 : économie et stratégies agricoles, Paris, France, pp. 7-48.

Clements, R.O., Martyn, T.M., Donaldson, G., Wolfe, M., 2000. Clover: cereal bi-cropping for organic farms. Aspects of Appl. Biol., 181-185.

Coïc, Y., 1956. Les besoins en azote du ble d'hiver, conséquences agronomiques. Ann. Agron. 7, 115-131.

Colbach, N., Kurstjens, D.A.G., Munier-Jolain, N.M., Dalbiès, A., Doré, T., 2010a. Assessing non-chemical weeding strategies through mechanistic modelling of blackgrass (Alopecurus myosuroides Huds.) dynamics. Eur. J. Agron. 32, 205-218.

Colbach, N., Schneider, A., Ballot, R., Vivier, C., 2010b. Diversifying cereal-based rotations to improve weed control. Evaluation with the AlomySys model quantifying the effect of cropping systems on a grass weed. OCL-Ol. Corps Gras Li. 17, 292-300.

Connolly, J., Goma, H.C., Rahim, K., 2001. The information content of indicators in intercropping research. Agr. Ecosys. Environ. 87, 191-207.

Cormack, W.F., 2006. Constraints to the sustainability of a stockless arable rotation. What can organic farming deliver? COR 2006. Unpublished, Heriot-Watt University, Edinburgh.

Cormack, W.F., Shepherd, M., Wilson, D.W., 2003. Legume species and management for stockless organic farming. Biol. Agric. Hortic. 21, 383-398.

Corre-Hellou, G., Dibet, A., Hauggaard-Nielsen, H., Crozat, Y., Gooding, M., Ambus, P., Dahlmann, C., von Fragstein, P., Pristeri, A., Monti, M., Jensen, E.S., 2011. The competitive ability of pea-barley intercrops against weeds and the interactions with crop productivity and soil N availability. Field Crop. Res. 122, 264-272.

Corre-Hellou, G., Faure, M., Launay, M., Brisson, N., Crozat, Y., 2009. Adaptation of the STICS intercrop model to simulate crop growth and N accumulation in pea-barley intercrops. Field Crop. Res. 113, 72-81.

Corre-Hellou, G., Fustec, J., Crozat, Y., 2006. Interspecific competition for soil N and its interaction with N2 fixation, leaf expansion and crop growth in pea-barley intercrops. Plant Soil 282, 195-208.

Crews, T., Peoples, M., 2005. Can the synchrony of nitrogen supply and crop demand be improved in legume and fertilizer-based agroecosystems? A review. Nutr. Cycl. Agroecosys. 72, 101-120.

Dahlin, A.S., Stenberg, M., 2010. Transfer of N from red clover to perennial ryegrass in mixed stands under different cutting strategies. Eur. J. Agron. 33, 149-156.

Darnhofer, I., Lindenthal, T., Bartel-Kratochvil, R., Zollitsch, W., 2010. Conventionalisation of organic farming practices: from structural criteria towards an assessment based on organic principles. A review. Agron. Sustain. Dev. 30, 67-81.

David, C., 2000. La spécialisation des systèmes céréaliers en Europe : origine et conséquences. INRA, Versailles, FRANCE.

David, C., 2009. Grandes cultures biologiques, des systèmes en équilibre instable. In: QUAE (Ed.), Transitions vers l'agriculture biologique. Pratiques et accompagnements pour des systèmes innovants, pp. 129-141.

David, C., Celette, F., Abecassis, J., Carcea, M., Friedel, J.K., Corre-Hellou, G., Hiltbrunner, J., Messmer, M., Peigne, J., Samson, M.-F., Schweinzer, A., Thomsen, I.K., Thommen, A., 2011. New challenges to improve organic bread wheat production in Europe. 3rd ISOFAR Scientific Conference, Gyeonggi Paldang, South Korea.

David, C., Jeuffroy, M.H., Henning, J., Meynard, J.-M., 2005a. Yield variation in organic winter wheat: a diagnostic study in the Southeast of France. Agron. Sustain. Dev. 25, 213-223.

David, C., Jeuffroy, M.H., Laurent, F., Mangin, M., Meynard, J.M., 2005b. The assessment of Azodyn-Org model for managing nitrogen fertilization of organic winter wheat. Eur. J. Agron. 23, 225-242.

Destain, J., Reuter, V., Goffart, J., 2010. Les cultures intermédiaires pièges à nitrate (CIPAN) et engrais verts : protection de l'environnement et intérêt agronomique. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement 14, 73-78.

Dhima, K.V., Lithourgidis, A.S., Vasilakoglou, I.B., Dordas, C.A., 2007. Competition indices of common vetch and cereal intercrops in two seeding ratio. Field Crop. Res. 100, 249-256.

Doltra, J., Lægdsmand, M., Olesen, J.E., 2011. Cereal yield and quality as affected by nitrogen availability in organic and conventional arable crop rotations: A combined modeling and experimental approach. Eur. J. Agron. 34, 83-95.

Dordas, C.A., Vlachostergios, D.N., Lithourgidis, A.S., 2012. Growth dynamics and agronomic-economic benefits of pea-oat and pea-barley intercrops. Crop Pasture Sci. 63, 45-52.

Edwards, L., 1998. Comparison of two spring seeding methods to establish forage cover crops in relay with winter cereals. Soil Till. Res. 45, 227-235.

Entz, M.H., Thiessen Martens, J.R., May, W., Lafond, G.P., 2007. Black medic (Medicago lupulina) germplasm screening for use as a self-regenerating cover crop on the Canadian Prairies. Can. J. Plant Sci. 87, 873-878.

Fliessbach, A., Mader, P., Dubois, D., Gunst, L., 2000. Results from a 21 year old field trial. Organic farming enhances soil fertility and biodiversity. FiBL Dossier.

Foulds, W., 1978. Response to soil moisture supply in three leguminous species. I.Growth, reproduction and mortality. New Phytol. 80, 535-545.

Frame, J., 2005. Forage legumes for temperate grasslands. Science Publisher, Inc., FAO, Enfield, United States.

Fustec, J., Lesuffleur, F., Mahieu, S., Cliquet, J.-B., 2010. Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. Agron. Sustain. Dev. 30, 57-66.

Gallandt, E.R., Molloy, T., 2008. Exploiting weed management benefits of cover crops requires pre-emption of seed rain. In: Neuhoff, D., Halberg, N., Alföldi, T., Lockeretz, W., Thommen, A., Rasmussen, I.A., Hermansen, J., Vaarst, M., Lueck, L., Caporali, F., Jensen, H.H., Migliorini, P., Willer, H. (Eds.), Cultivating the future based on science. Volume 1: Organic Crop Production. Proceedings of the Second Scientific Conference of the International Society of Organic Agriculture Research (ISOFAR). International Society of Organic Agricultural Research (ISOFAR), Modena, Italy, pp. 414-417.

Germeier, C.U., 2000. Wide row spacing and living mulch : New strategies for producing high protein grains in organic cereal production. AB, Oxon, ROYAUME-UNI.

Gherekhloo, J., Noroozi, S., Mazaheri, D., Ghanbari, A., Ghannadha, M.R., Vidal, R.A., de Prado, R., 2010. Multispecies weed competition and their economic treshold on the wheat crop. Planta Daninha 28, 239-246.

Goewie, E.A., 2002. Organic agriculture in the Netherlands; developments and challenges. Neth. J. Agr. Sci. 50, 153-169.

Gunton, R.M., Petit, S., Gaba, S., 2011. Functional traits relating arable weed communities to crop characteristics. J. Veg. Sci. 22, 541-550.

Hakala, K., Jauhiainen, L., 2007. Yield and nitrogen concentration of above- and below-ground biomasses of red clover cultivars in pure stands and in mixtures with three grass species in northern Europe. Grass Forage Sci. 62, 312-321.

Hamidi, D., Ghadiri, H., 2011. Winter wheat cultivars responses to allelopathic potential of wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch) extracts. J. Plant Breed. Crop Sci. 3, 391-395.

Hartl, W., 1989. Influence of undersown clovers on weeds and on the yield of winter wheat in organic farming. Agr. Ecosyst. Environ. 27, 389-396.

Hartwig, N.L., Ammon, H.U., 2002. Cover crops and living mulches. Weed Sci. 50, 688-699.

Hauggaard-Nielsen, H., Gooding, M., Ambus, P., Corre-Hellou, G., Crozat, Y., Dahlmann, C., Dibet, A., von Fragstein, P., Pristeri, A., Monti, M., Jensen, E.S., 2009. Pea-barley intercropping for efficient symbiotic N2-fixation, soil N acquisition and use of other nutrients in European organic cropping systems. Field Crop. Res. 113, 64-71.

Hauggaard-Nielsen, H., Jensen, E., 2005. Facilitative root interactions in intercrops. Plant Soil 274, 237-250.

Hauggaard-Nielsen, H., Jørnsgaard, B., Kinane, J., Jensen, E.S., 2008. Grain legume - Cereal intercropping: The practical application of diversity, competition and facilitation in arable and organic cropping systems. Renew. Agr. Food Syst. 23, 3-12.

Henry, D.C., Mullen, R.W., Dygert, C.E., Diedrick, K.A., Sundermeier, A., 2010. Nitrogen contribution from red clover for corn following wheat in Western Ohio. Agron. J. 102, 210-215.

Herridge, D., Peoples, M., Boddey, R., 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. Plant Soil 311, 1-18.

Hesterman, O.B., Griffin, T., S., Williams, P., T., Harris, G., H., Christenson, D., R., 1992. Forage legume-small grain intercrops: nitrogen production and response of subsequent corn. J. Prod. Agric. 5, 340-348.

Hiddink, G.A., Termorshuizen, A.J., Bruggen, A.H.C., 2010. Mixed Cropping and Suppression of Soilborne Diseases
Genetic Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming. In: Lichtfouse, E. (Ed.). Springer Netherlands, pp. 119-146.

Hildermann, I., Thommen, A., Dubois, D., Boller, T., Wiemken, A., Mäder, P., 2009. Yield and baking quality of winter wheat cultivars in different farming systems of the DOK long-term trial. J. Sci. Food Agr. 89, 2477-2491.

Hiltbrunner, J., Jeanneret, P., Liedgens, M., Stamp, P., Streit, B., 2007a. Response of weed communities to legume living mulches in winter wheat. J. Agron. Crop Sci. 193, 93-102.

Hiltbrunner, J., Liedgens, M., 2008. Performance of winter wheat varieties in white clover living mulch. Biol. Agric. Hortic. 26, 85-101.

Hiltbrunner, J., Liedgens, M., Bloch, L., Stamp, P., Streit, B., 2007b. Legume cover crops as living mulches for winter wheat: Components of biomass and the control of weeds. Eur. J. Agron. 26, 21-29.

Hiltbrunner, J., Streit, B., Liedgens, M., 2007c. Are seeding densities an opportunity to increase grain yield of winter wheat in a living mulch of white clover? Field Crop. Res. 102, 163-171.

Hively, W.D., Cox, W.J., 2001. Interseeding cover crops into soybean and subsequent corn yields. Agron. J. 93, 308-313.

Høgh-Jensen, H., Schjoerring, J.K., 2001. Rhizodeposition of nitrogen by red clover, white clover and ryegrass leys. Soil Biol. Biochem. 33, 439-448.

Jahn, R., Blume, H.-P., Asio, V.B., Spaargaren, O., Schad, P., 2006. Guidelines for soil description, 4th ed. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Jensen, E.S., 1996. Grain yield, symbiotic N-2 fixation and interspecific competition for inorganic N in pea-barley intercrops. Plant Soil 182, 25-38.

Jensen, E.S., Ambus, P., Bellostas, N., Boisen, S., Brisson, N., Corre-Hellou, G., Crozat, Y., Dahlmann, C., Dibet, A., von Fragstein, P., Gooding, M., Hauggaard-Nielsen, H., Kasyanova, E., Launay, M., Monti, M., Pristeri, A., 2006. Intercropping of cereals and grain legumes for increased production, weed control, improved product quality and prevention of N-losses in European organic farming systems. Joint Organic Congress, p. 335.

Jeranyama, P., Hesterman, O.B., Sheaffer, C.C., 1998. Medic planting date effect on dry matter and nitrogen accumulation when clear-seeded or intercropped with corn. Agron. J. 90, 616-622.

Jokela, W.E., Grabber, J.H., Karlen, D.L., Balser, T.C., Palmquist, D.E., 2009. Cover crop and liquid manure effects on soil quality indicators in a corn silage system. Agron. J. 101, 727-737.

Jutsum, A.R., Heaney, S.P., Perrin, B.M., Wege, P.J., 1998. Pesticide resistance: Assessment of risk and the development and implementation of effective management strategies. Pestic. Sci. 54, 435-446.

Kandel, H.J., Johnson, B.L., Schneiter, A.A., 2000. Hard red spring wheat response following the intercropping of legumes into sunflower. Crop Sci. 40, 731-736.

Kandel, H.J., Schneiter, A.A., Johnson, B.L., 1997. Intercropping Legumes into Sunflower at Different Growth Stages. Crop Sci. 37, 1532-1537.

Känkänen, H., Eriksson, C., 2007. Effects of undersown crops on soil mineral N and grain yield of spring barley. Eur. J. Agron. 27, 25-34.

Känkänen, H.J., Eriksson, C., Rakkolainen, M., Vuorinen, M., 2001a. Effect of annually repeated undersowing on cereal grain yields. Agr. Food Sci. Finland 10, 197-208.

Känkänen, H.J., Eriksson, C., Rakkolainen, M., Vuorinen, M., 2003. Soil nitrate N as influenced by annually undersown cover crops in spring cereals. Agr. Food Sci. Finland 12, 165-176.

Känkänen, H.J., Kangas, A., Mela, T., Nikunen, U., Tuuri, H., Vuorinen, M., 1998. Timing incorporation of different green manure crops to minimize the risk of nitrogen leaching. Agr. Food Sci. Finland 7, 553-567.

Känkänen, H.J., Kangas, A., Mela, T., Nikunen, U., Tuuri, H., Vuorinen, M., 1999. The effect of incorporation time of different crops on the residual effect on spring cereals. Agr. Food Sci. Finland 8, 285-298.

Känkänen, H.J., Mikkola, H.J., Eriksson, C.I., 2001b. Effect of Sowing Technique on Growth of Undersown Crop and Yield of Spring Barley. J. Agron. Crop Sci. 187, 127-136.

Korte, N., Porembski, S., 2010. Suitability of different cover crop mixtures and seedlings for a new tree row management in an organic orchard. Gesunde Pflanz. 62, 45-52.

Kosinski, S.M., King, J.R., Harker, K.N., Turkington, T.K., Spaner, D., 2011. Barley and triticale underseeded with a kura clover living mulch: Effects on weed pressure, disease incidence, silage yield, and forage quality. Can. J. Plant Sci. 91, 667-687.

Kruidhof, H.M., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2008. Ecological weed management by cover cropping: effects on weed growth in autumn and weed establishment in spring. Weed Res. 48, 492-502.

Kruidhof, H.M., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2009. Cover crop residue management for optimizing weed control. Plant Soil 318, 169-184.

Lager, J., Gerhardson, B., 2002. Pathogenicity of clover root pathogens to pea, bean and lucerne. J. Plant Dis. Protect. 109, 142-151.

Launay, M., Brisson, N., Satger, S., Hauggaard-Nielsen, H., Corre-Hellou, G., Kasynova, E., Ruske, R., Jensen, E.S., Gooding, M.J., 2009. Exploring options for managing strategies for pea-barley intercropping using a modeling approach. Eur. J. Agron. 31, 85-98.

Li, L., Sun, J., Zhang, F., Guo, T., Bao, X., Smith, F., Smith, S., 2006. Root distribution and interactions between intercropped species. Oecologia 147, 280-290.

Li, Y., Hu, H., Cheng, X., Sun, J., Li, L., 2011. Effects of interspecific interactions and nitrogen fertilization rates on above- and below- growth in faba bean/maize intercropping system. Acta Ecol. Sin. / Sheng Tai Xue Bao 31, 1617-1630.

Liebman, M., Davis, A.S., 2000. Integration of soil, crop and weed management in low-external-input farming systems. Weed Res. 40, 27-47.

Liebman, M., Dyck, E., 1993. Crop Rotation and Intercropping Strategies for Weed Management. Ecol. Appl. 3, 92-122.

Lithourgidis, A.S., Dordas, C.A., Damalas, C.A., Vlachostergios, D.N., 2011a. Annual intercrops: An alternative pathway for sustainable agriculture. Aust. J. Crop Sci. 5, 396-410.

Lithourgidis, A.S., Vlachostergios, D.N., Dordas, C.A., Damalas, C.A., 2011b. Dry matter yield, nitrogen content, and competition in pea-cereal intercropping systems. Eur. J. Agron. 34, 287-294.

Liu, Y., Wu, L., Baddeley, J.A., Watson, C.A., 2011. Models of biological nitrogen fixation of legumes. A review. Agron. Sustain. Dev. 31, 155-172.

Løes, A.-K., Henriksen, T.M., Eltun, R., 2006. Repeated undersowing of clover in stockless organic grain production. Joint Organic Congress, Odense, Denmark.

Løes, A.K., Henriksen, T.M., Eltun, R., 2007. N supply in stockless organic cereal production under northern temperate conditions. Undersown legumes, or whole-season green manure? In: Niggli, U.L.C.A.T.L.L.W.H. (Ed.), Improving sustainability in organic and low input food production systems. Proceedings of the 3rd International Congress of the European Integrated Project Quality Low Input Food, pp. 226-230.

Løes, A.K., Henriksen, T.M., Eltun, R., Sjursen, H., 2011. Repeated use of green-manure catch crops in organic cereal production - grain yields and nitrogen supply. Acta Agr. Scand. B-S P 61, 164-175.

Lutman, P.J.W., 2002. Estimation of seed production by *Stellaria media*, *Sinapis arvensis* and *Tripleurospermum inodorum* in arable crops. Weed Res. 42, 359-369.

Ma, B.L., Ying, J., Dwyer, L.M., Gregorich, E.G., Morrison, M.J., 2003. Crop rotation and soil N amendment effects on maize production in eastern Canada. Can. J. Soil Sci. 83, 483-495.

Mahieu, S., Fustec, J., Faure, M.L., Corre-Hellou, G., Crozat, Y., 2007. Comparison of two 15N labelling methods for assessing nitrogen rhizodeposition of pea. Plant Soil 295, 193-205.

Mahieu, S., Germon, F., Aveline, A., Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P., Jensen, E.S., 2009. The influence of water stress on biomass and N accumulation, N partitioning between above and below ground parts and on N rhizodeposition during reproductive growth of pea (Pisum sativum L.). Soil Biol. Biochem. 41, 380-387.

Mary, B., Beaudoin, N., Justes, E., Machet, J.M., 1999. Calculation of nitrogen mineralization and leaching in fallow soil using a simple dynamic model. Eur. J. Soil Sci. 50, 549-566.

Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G., Swift, M.J., 1997. Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. Science 277, 504-509.

Mazzoncini, M., Bàrberi, P., Cerrai, D., Rinaudo, V., Belloni, P., 2004. Effects of green manure on soil nitrogen availability and crop productivity in a Mediterranean organic farming system. In: Scheurer, N.W.a.M. (Ed.), Eurosoil 2004, Freiburg, Germany, p. 9.

Mazzoncini, M., Canali, S., Giovannetti, M., Castagnoli, M., Tittarelli, F., Antichi, D., Nannelli, R., Cristani, C., Bàrberi, P., 2010. Comparison of organic and conventional stockless arable systems: A multidisciplinary approach to soil quality evaluation. Appl. Soil Ecol. 44, 124-132.

Mazzoncini, M., Migliorini, P., D., A., Vazzana, C., 2008. Effects of green-manure and organic fertiliser on organic maize (Zea Mays L.) in south Tuscany. 16th IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy.

Mazzoncini, M., Sapkota, T.B., Bàrberi, P., Antichi, D., Risaliti, R., 2011. Long-term effect of tillage, nitrogen fertilization and cover crops on soil organic carbon and total nitrogen content. Soil Till. Res. 114, 165-174.

Meiss, H., Le Lagadec, L., Munier-Jolain, N., Waldhardt, R., Petit, S., 2010. Weed seed predation increases with vegetation cover in perennial forage crops. Agr. Ecosyst. Environ. 138, 10-16.

Melander, B., Rasmussen, I.A., Bàrberi, P., 2005. Integrating physical and cultural methods of weed control-examples from European research. Weed Sci. 53, 369-381.

Mirsky, S.B., Gallandt, E.R., Mortensen, D.A., Curran, W.S., ShumwaY, D.L., 2010. Reducing the germinable weed seedbank with soil disturbance and cover crops. Weed Res. 50, 341-352.

Morel, M.H., Dehlon, P., Autran, J.C., Leygue, J.P., Bar-L'Helgouac'h, C., 2000. Effects of temperature, sonication time, and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by Size-Exclusion High-Performance Liquid Chromatography. Cereal Chem. 77, 685-691.

Mutch, D.R., Martin, T.E., Kosola, K.R., 2003. Red clover (*Trifolium pratense*) suppression of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) in winter wheat (*Triticum aestivum*). Weed Technol. 17, 181-185.

Naudin, C., Corre-Hellou, G., Pineau, S., Crozat, Y., Jeuffroy, M.-H., 2010. The effect of various dynamics of N availability on winter pea-wheat intercrops: Crop growth, N partitioning and symbiotic N2 fixation. Field Crop. Res. 119, 2-11.

Oerke, E.-C., Dehne, H.-W., 1997. Global crop production and the efficacy of crop protection - current situation and future trends. Eur. J. Plant Pathol. 103, 203-215.

Ohlander, L., Bergkvist, G., Stendahl, F., Kvist, M., 1996. Yield of catch crops and spring barley as affected by time of undersowing. Acta Agr. Scand. B-S P 46, 161-168.

Olesen, J.E., Askegaard, M., Rasmussen, I.A., 2009. Winter cereal yields as affected by animal manure and green manure in organic arable farming. Eur. J. Agron. 30, 119-128.

Olesen, J.E., Hansen, P.K., Berntsen, J., Christensen, S., 2004. Simulation of above-ground suppression of competing species and competition tolerance in winter wheat varieties. Field Crop. Res. 89, 263-280.

Paul, K.I., Polglase, P.J., O'Connell, A.M., Carlyle, J.C., Smethurst, P.J., Khanna, P.K., 2003. Defining the relation between soil water content and net nitrogen mineralization. Eur. J. Soil Sci. 54, 39-48.

Peel, M.C., Finlayson, B.L., Mcmahon, T.A., 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. Hydrol. Earth Syst. Sci. Discuss. 4, 439-473.

Peigne, J., Ball, B.C., Roger-Estrade, J., David, C., 2007. Is conservation tillage suitable for organic farming? A review. Soil Use Manage. 23, 129-144.

Pelzer, E., Bazot, M., Makowski, D., Corre-Hellou, G., Naudin, C., Al Rifai, M., Baranger, E., Bedoussac, L., Biarnes, V., Boucheny, P., Carrouee, B., Dorvillez, D., Foissy, D., Gaillard, B., Guichard, L., Mansard, M.C., Omon, B., Prieur, L., Yvergniaux, M., Justes, E., Jeuffroy, M.H., 2012. Pea-wheat intercrops in low-input conditions combine high economic performances and low environmental impacts. Eur. J. Agron. 40, 39-53.

Peoples, M.B., Brockwell, J., Herridge, D.F., Rochester, I.J., Alves, B.J.R., Urquiaga, S., Boddey, R.M., Dakora, F.D., Bhattarai, S., Maskey, S.L., Sampet, C., Rerkasem, B., Khan, D.F., Hauggaard-Nielsen, H., Jensen, E.S., 2009. The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. Symbiosis 48, 1-17.

Plaza, A., 2011. Soil mineral nitrogen content after undersown crops in autumn and spring in the conventional and organic farming system. Fresen. Environ. Bull. 20, 2446-2450.

Pridham, J.C., Entz, M.H., 2008. Intercropping Spring Wheat with Cereal Grains, Legumes, and Oilseeds Fails to Improve Productivity under Organic Management. Agron. J. 100, 1436-1442.

Queen, A., Earl, H., Deen, W., 2009. Light and moisture competition effects on biomass of red clover underseeded to winter wheat. Agron. J. 101, 1511-1521.

Ratnadass, A., Fernandes, P., Avelino, J., Habib, R., 2011. Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: a review. Agron. Sustain. Dev., 1-31.

Robson, M.C., Fowler, S.M., Lampkin, N.H., Leifert, C., Leitch, M., Robinson, D., Watson, C.A., Litterick, A.M., 2002. The agronomic and economic potential of break crops for ley/arable rotations in temperate organic agriculture. Adv. Agron. 77, 369-427.

Ross, S.M., King, J.R., Izaurralde, R.C., O'Donovan, J.T., 2001. Weed suppression by seven clover species. Agron. J. 93, 820-827.

Ross, S.M., King, J.R., O'Donovan, J.T., Spaner, D., 2004. Intercropping Berseem Clover with Barley and Oat Cultivars for Forage. Agron. J. 96, 1719-1729.

Ryan, M.R., Smith, R.G., Mortensen, D.A., Teasdale, J.R., Curran, W.S., Seidel, R., Shumway, D.L., 2009. Weed-crop competition relationships differ between organic and conventional cropping systems. Weed Res. 49, 572-580.

Sarunaite, L., Deveikyte, I., Kadžiuliene, Z., 2010. Intercropping spring wheat with grain legume for increased production in an organic crop rotation. Zemdirbyste 97, 51-58.

Saxton, K.E., Patrick H. Willey, Rawls, W.J., 2006. Field and pond hydrologic analyses with the SPAW model. 2006 ASAE Annual Meeting. American Society of Agricultural and Biological Engineers, St. Joseph, Michigan, USA.

Scholberg, J.M.S., Dogliotti, S., Leoni, C., Cherr, C.M., Zotarelli, L., Rossing, W.A.H., 2010. Cover crops for sustainable agrosystems in the Americas. In: Lichtfouse, E. (Ed.), Genetic

Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming. Springer Netherlands, pp. 23-58.

Sheaffer, C.C., Seguin, P., 2003. Forage legumes for sustainable cropping systems. J. Crop Prod. 8, 187-216.

Shili-Touzi, I., De Tourdonnet, S., Launay, M., Dore, T., 2010. Does intercropping winter wheat (*Triticum aestivum*) with red fescue (*Festuca rubra*) as a cover crop improve agronomic and environmental performance? A modeling approach. Field Crop. Res. 116, 218-229.

Singer, J.W., Casler, M.D., Kohler, K.A., 2006. Wheat effect on frost-seeded red clover cultivar establishment and yield. Agron. J. 98, 265-269.

Singer, J.W., Sauer, T.J., Blaser, B.C., Meek, D.W., 2007. Radiation Use Efficiency in Dual Winter Cereal-Forage Production Systems. Agron. J. 99, 1175-1179.

Sjursen, H., Brandsæter, L.O., Netland, J., 2011. Effects of repeated clover undersowing, green manure ley and weed harrowing on weeds and yields in organic cereals. Acta Agr. Scand. B-S P 62, 138-150.

Søegaard, K., Møller, K., 2005. White clover soil fatigue: an establishment problem on large and intensive farms. In: Murphy, J.J. (Ed.), Utilisation of grazed grass in temperate animal systems. Proceedings of satellite workshop of the XXth International Grassland Congress, Cork, Ireland, p. 231.

Stinner, W., Möller, K., Leithold, G., 2008. Effects of biogas digestion of clover/grass-leys, cover crops and crop residues on nitrogen cycle and crop yield in organic stockless farming systems. Eur. J. Agron. 29, 125-134.

Teasdale, J.R., 1996. Contribution of cover crops to weed management in sustainable agricultural systems. J. Prod. Agric. 9, 475-479.

Teasdale, J.R., Brandsæter, L.O., Calegari, A., Skora Neto, F., 2007. Cover Crops and Weed Management. In: Upadhyaya, M.K., Blackshaw, R.E. (Eds.), Non-chemical weed management: principles, concepts and technology. CABI, Wallingford, United Kingdom, pp. 49-64.

Teasdale, J.R., Cavigelli, M.A., 2010. Subplots facilitate assessment of corn yield losses from weed competition in a long-term systems experiment. Agron. Sustain. Dev. 30, 445-453.

Teasdale, J.R., Mohler, C.L., 2000. The quantitative relationship between weed emergence and the physical properties of mulches. Weed Sci. 48, 385-392.

Thein, S., Roscher, C., Schulze, E.-D., 2008. Effects of trait plasticity on aboveground biomass production depend on species identity in experimental grasslands. Basic Appl. Ecol. 9, 475-484.

Thiessen Martens, J.R., Entz, M.H., Hoeppner, J.W., 2005. Legume cover crops with winter cereals in southern Manitoba: Fertilizer replacement values for oat. Can. J. Plant Sci. 85, 645-648.

Thiessen Martens, J.R., Hoeppner, J.W., Entz, M.H., 2001. Legume cover crops with winter cereals in Southern Manitoba: Establishment, productivity, and microclimate effects. Agron. J. 93, 1086-1096.

Thorsted, M.D., Olesen, J.E., Weiner, J., 2006a. Above- and below-ground competition between intercropped winter wheat (*Triticum aestivum*) and white clover (*Trifolium repens*). J. Appl. Ecol. 43, 237-245.

Thorsted, M.D., Olesen, J.E., Weiner, J., 2006b. Mechanical control of clover improves nitrogen supply and growth of wheat in winter wheat/white clover intercropping. Eur. J. Agron. 24, 149-155.

Thorsted, M.D., Olesen, J.E., Weiner, J., 2006c. Width of clover strips and wheat rows influence grain yield in winter wheat/white clover intercropping. Field Crop. Res. 95, 280-290.

Thorup-Kristensen, K., 1994. The effect of nitrogen catch crop species on the nitrogen nutrition of succeeding crops. Nutr. Cycl. Agroecosys. 37, 227-234.

Thorup-Kristensen, K., Magid, J., Jensen, L.S., 2003. Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. Adv. Agron. 79, 227-302.

Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. Nature 418, 671-677.

Tolon-Becerra, A., Lastra-Bravo, X.B., Botta, G.F., Tourn, M., Linares, P., Ressia, M., Balbuena, R., 2011. Traffic effect on soil compaction and yields of wheat in Spain. Span. J. Agric. Res. 9, 395-403.

Tosti, G., Benincasa, P., Guiducci, M., 2010. Competition and facilitation in hairy vetch-barley intercrops. Ital. J. Agron. / Riv. Agron. 5, 239:247.

Tosti, G., Guiducci, M., 2010. Durum wheat-faba bean temporary intercropping: Effects on nitrogen supply and wheat quality. Eur. J. Agron. 33, 157-165.

Tsubo, M., Walker, S., Ogindo, H.O., 2005. A simulation model of cereal-legume intercropping systems for semi-arid regions: I. Model development. Field Crop. Res. 93, 10-22.

Uchino, H., Iwama, K., Jitsuyama, Y., Ichiyama, K., Sugiura, E., Yudate, T., 2011. Stable characteristics of cover crops for weed suppression in organic farming systems. Plant. Prod. Sci. 14, 75-85.

Uchino, H., Iwama, K., Jitsuyama, Y., Yudate, T., Nakamura, S., 2009. Yield losses of soybean and maize by competition with interseeded cover crops and weeds in organic-based cropping systems. Field Crop. Res. 113, 342-351.

Van den Putte, A., Govers, G., Diels, J., Gillijns, K., Demuzere, M., 2010. Assessing the effect of soil tillage on crop growth: A meta-regression analysis on European crop yields under conservation agriculture. Eur. J. Agron. 33, 231-241.

Vandermeer, J., 1989. The ecology of intercropping. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

Vaseva, I., Akiscan, Y., Demirevska, K., Anders, I., Feller, U., 2011. Drought stress tolerance of red and white clover-comparative analysis of some chaperonins and dehydrins. Sci. Hortic.-Amsterdam 130, 653-659.

Voisin, A.-S., Salon, C., Delfosse, O., Mary, B., 2008. Theoretical evaluation of 15N isotopic methods for measuring symbiotic nitrogen fixation in the field. In: Couto, G.N. (Ed.), Nitrogen fixation research progress. Nova Science Publishers, Inc., pp. 1-25.

Vyn, T.J., Faber, J.G., Janovicek, K.J., Beauchamp, E.G., 2000. Cover crop effects on nitrogen availability to corn following wheat. Agron. J. 92, 915-924.

Wei, D., Liping, C., Zhijun, M., Guangwei, W., Ruirui, Z., 2010. Review of non-chemical weed management for green agriculture. Int. J. Agric. Biol. Eng. 3, 52-60.

Weston, L.A., Inderjit, 2007. Allelopathy: a potential tool in the development of strategies for biorational weed management. In: Upadhyaya, M.K., Blackshaw, R.E. (Eds.), Non-chemical weed management: principles, concepts and technology. CABI, Wallingford, United Kingdom, pp. 65-76.

Wezel, A., Soldat, V., 2009. A quantitative and qualitative historical analysis of the scientific discipline of agroecology. Int. J. Agric. Sustain. 7, 3-18.

Wiersma, J., Sheaffer, C., Nelson, G., Wyse, D., Betts, K., 2005. Intercropping Legumes in Hard Red Spring Wheat under Semi-Arid Conditions. Crop Manage.

Willey, R.W., 1979a. Intercropping - its importance and research needs. 1. Competition and yield advantages. Field Crop Abstracts 32, 1-10.

Willey, R.W., 1979b. Intercropping - its importance and research needs. 2. Agronomy and research needs. Field Crop Abstracts 32, 73-85.

Wu, Y., Zhang, H., Zhou, D., 2011. Emergence and seedling growth of five forage legume species at various burial depth and two light levels. Afr. J. Biotechnol. 10, 9051-9060.

Xu, Q.C., Fujiyama, S., Xu, H.L., 2011. Biological pest control by enhancing populations of natural enemies in organic farming systems. J. Food Agric. Environ. 9, 455-463.

Xuan, T.D., Tsuzuki, E., Terao, H., Matsuo, M., Khanh, T.D., 2003. Correlation between growth inhibitory exhibition and suspected allelochemicals (phenolic compounds) in the extract of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant. Prod. Sci. 6, 165-171.

Zadoks, J.C., Chang, T.T., Konzak, C.F., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Res. 14, 415-421.

Analyse expérimentale de l'effet de couverts de légumineuses associés en relais à un blé d'hiver, conduit en agriculture biologique, sur les performances des cultures, la maîtrise des adventices et la dynamique de l'azote

Résumé. La productivité et la qualité des céréales biologiques sont soumises à deux principaux facteurs limitants dans les systèmes sans élevage : des déficits chroniques en azote (N) du sol et des infestations par les adventices. Des légumineuses telles que les trèfles ou les luzernes peuvent servir à la fois de plantes de couverture et d'engrais verts grâce à leur fixation symbiotique d'N atmosphérique. Cependant, leur substitution aux céréales présente un moindre intérêt économique dans les systèmes de grandes cultures en l'absence d'animaux pour les valoriser. L'association relais de couverts de légumineuses dans un blé d'hiver nous a semblé être une option intéressante pour à la fois enrichir le système sol-plante en N, couvrir le sol dès la récolte du blé associé et limiter le risque de compétition avec le blé en décalant au printemps la date de semis des légumineuses sous couvert de blé. Pour évaluer l'efficacité de ces associations, quatre espèces de légumineuses (*Medicago lupulina* L., *M. sativa* L., *Trifolium pratense* L. et *T. repens* L.) ont été semées au tallage du blé d'hiver sur huit parcelles réparties dans la région Rhône-Alpes. Leurs effets sur la maîtrise des adventices, l'enrichissement, la préservation et la restitution d'N au système sol-plante et les performances des cultures ont été observés, durant une succession blé d'hiver-culture de printemps. Les résidus des couverts ont été enfouis à la fin de l'hiver, 9 à 12 semaines avant le semis d'une culture de printemps. Nos travaux ont montré l'absence d'effet des couverts associés sur le rendement en grains du blé d'hiver. Mais des diminutions du taux protéique des grains sont apparues dans un tiers des situations d'association notamment avec *M. lupulina* et *T. pratense*, les espèces les plus développées à la récolte du blé. Notre suivi de la disponibilité des ressources trophiques principales (eau, N, lumière) nous a permis d'identifier une compétition pour l'eau et l'N du sol. Nous avons également noté l'efficacité des couverts de légumineuses dans le contrôle de la densité des adventices dès le stade de floraison du blé et de leur biomasse durant l'interculture. Le meilleur contrôle des adventices a été permis par *M. lupulina* et *T. pratense*, à la récolte du blé, et *T. pratense* et *T. repens*, à la fin de l'automne, associé aux biomasses aériennes observées les plus importantes. Enfin, nous avons observé une forte proportion d'N issu de la fixation symbiotique dans la biomasse aérienne des légumineuses à la fin de l'automne (80 à 94%), représentant un apport d'N exogène au système sol-plante évalué entre 37 et 77 kg N ha^{-1}. Cet enrichissement en N n'a pas entrainé d'aggravation de la lixiviation d'N durant l'hiver. Les couverts de légumineuses n'ont pas non plus diminué la lixiviation comparativement à l'absence de couvert. Après leur destruction, les résidus des couverts ont restitué une partie de l'N accumulé (+28 à +42 kg ha^{-1} d'N minéral sur les 90 premiers centimètres de sol par rapport au témoin à l'émergence de la culture de printemps, 12 semaines après leur destruction). Cette restitution a permis un enrichissement en N des pailles et grains de la culture de printemps et une augmentation de 30% du rendement lorsqu'il s'agissait de maïs. Finalement nous concluons sur l'intérêt des couverts de légumineuses associés en relais dans un blé d'hiver pour apporter une réponse positive aux problèmes principaux des rotations de grandes cultures biologiques (adventices, déficits d'N et diminutions des performances des cultures). Nous terminons en proposant des voies d'évolution des associations testées, notamment pour limiter les risques de compétition durant l'association. Nous évoquons également les implications scientifiques et pratiques de ce travail pour de futures études sur ce sujet.

Mots-clés : *Associations culturales, Agriculture biologique, Blé (*Triticum aestivum *L.), Légumineuses, Adventices, Azote*

Experimental analysis of the effect of relay intercropped legume cover crops with winter wheat, in organic grain systems, on crop performance, weed control and nitrogen dynamics

Abstract. Cereal productivity and quality are subject to two main problems in organic stockless systems: chronic soil nitrogen (N) deficiencies and weed infestation. Legume species as clovers or alfalfas can be used as cover crops and green manures due to their natural ability to fix atmospheric N. Nevertheless, their substitution to cereals in crop rotations is less economically viable without animals to use it. Relay intercropping of legume cover crops (RIL) in winter wheat was expected to simultaneously enrich the soil-plant system in N, cover the soil from the wheat harvest onwards and limit the risk of competition with wheat by delaying the undersowing of legumes in spring. To evaluate the efficiency of RIL, four legume species (*Medicago lupulina* L., *M. sativa* L., *Trifolium pratense* L. and *T. repens* L.) were undersown at wheat tillering stage, in eight fields organically managed in the Rhône-Alpes region, France. Their effects on weed control, on N enrichment, preservation and restitution in the soil-plant system and on crop performance were observed during the succession of the winter wheat and a spring crop. RIL residues were incorporated in soil in late winter, 9 to 12 weeks before the sowing of spring crops. Our work illustrated the absence of detrimental effect of RIL on wheat grain yield despite the decrease of the grain protein content in one third of the situations. This decrease was mainly observed with *M. lupulina* and *T. pratense* as they were the most developed legume species at wheat harvest. Our monitoring of trophic resources (water, N and light) enlightened the competition for soil water and N during the intercropping period. We also showed the efficiency of RIL in the control of weed density from wheat flowering stage onwards and of weed aerial biomass in late autumn. The best weed control was observed with *M. lupulina* and *T. pratense*, at wheat harvest, and with *T. pratense* and *T. repens* in late autumn, in relation to the highest aerial biomasses observed with these species. Finally, we noted an important proportion of N derived from atmosphere (Ndfa) in legumes' shoots in late autumn (80 to 94%), representing an input of exogenous N in the soil-plant system ranging from 37 to 77 kg Ndfa ha^{-1}. The N enrichment of the system did not increase mineral N lixiviation during winter. However, legume cover crops did not significantly prevent any lixiviation of mineral N relative to the control without cover crop. After their ploughing in, legumes residues returned a part of the accumulated N (+28 to +42 kg ha^{-1} of mineral N in the first 90 cm of soil compared to the control at the emergence of the spring crop, 12 weeks after ploughing). This restitution of mineral N allowed a significant N enrichment of straw and grains of the spring crop with all previous legumes cover crop species. With maize as spring crop, the grain yield increased by 30%, on average, compared to the control treatment. We finally conclude on the interest of RIL in winter wheat to bring a positive response to the problems of weed control, N deficiency and crop performances in organic crop rotations. We then suggest possible improvements of the RIL system, especially against the competition for trophic resources during the relay intercropping period. We also mention scientific and practical implications of this work for future studies on this subject.

Keywords: *Relay intercropping, Organic farming, Winter Wheat (*Triticum aestivum *L.), Legumes, Weed, Nitrogen*