



HAL
open science

Services écosystémiques rendus par des légumineuses gélives introduites en tant que plantes de service dans du colza d'hiver : évaluation expérimentale et analyse fonctionnelle

Mathieu Lorin

► **To cite this version:**

Mathieu Lorin. Services écosystémiques rendus par des légumineuses gélives introduites en tant que plantes de service dans du colza d'hiver : évaluation expérimentale et analyse fonctionnelle. Sciences agricoles. AgroParisTech, 2015. Français. NNT : 2015AGPT0067 . tel-03632992

HAL Id: tel-03632992

<https://pastel.hal.science/tel-03632992>

Submitted on 6 Apr 2022

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.



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 : Sciences agronomiques

présentée et soutenue publiquement par

Mathieu LORIN

le 26 novembre 2015

Services écosystémiques rendus par des légumineuses gélives introduites en tant que plantes de service dans du colza d'hiver : évaluation expérimentale et analyse fonctionnelle

Directrice de thèse : **Marie-Hélène JEUFFROY**

Co-encadrement de la thèse : **Muriel VALANTIN-MORISON**

Jury

M. Thierry DORE, Professeur, AgroParisTech
Mme Guénaëlle CORRE-HELLOU, Enseignant-chercheur, ESA LEVA Angers
M. Philippe TIXIER, Chercheur, CIRAD
M. Georg CARLSSON, Chercheur, Swedish University of Agricultural Sciences
M. Stéphane CADOUX, Chargé d'études, Terres Inovia
Mme Marie-Hélène JEUFFROY, Directrice de Recherche, INRA Grignon
Mme Françoise LESCOURRET, Directrice de Recherche, INRA Avignon

Président du jury
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directrice de thèse
Examineur



Ce travail a été réalisé avec le soutien financier de l'INRA et de Terres Inovia.

Remerciements

Mes premiers remerciements vont à mes deux directrices de recherche, Muriel Valantin-Morison et Marie-Hélène Jeuffroy pour le soutien qu'elles m'ont apporté tout au long de ces trois années, pour la qualité de nos échanges scientifiques et leurs conseils avisés, mais aussi et surtout pour leur gentillesse et leurs encouragements à persévérer. Un grand merci à toutes les deux!

Ce travail de thèse repose en grande partie sur un dispositif expérimental qu'il m'aurait été impossible de conduire sans le concours et le soutien de l'équipe technique de l'UMR Agronomie.

Je tiens en particulier à remercier très chaleureusement Arnaud Butier et Mathieu Bazot pour leur aide capitale tout au long des deux années d'expérimentation. En plus de leur sérieux et de leurs conseils techniques, ils m'ont surtout permis de passer les parfois longs moments froids, pluvieux et venteux sur le plateau de Grignon dans la bonne humeur. A tous les deux, j'adresse mes plus sincères remerciements!

Je n'oublie pas également d'exprimer ma gratitude aux autres membres de l'équipe technique de l'UMR qui ont participé activement à la collecte des données, en particulier Richard qui m'a fait découvrir la richesse de la langue des signes, Christine, Béatrice, Dominique et tous les autres membres de l'équipe technique de l'UMR.

Je remercie également les trois stagiaires de "l'équipe colza associé", Louison, Julien et Germain qui ont apporté leur pierre à l'édifice durant cette thèse. Tous les trois à leur manière, ils ont apporté leur bonne humeur, leur sérieux et leur efficacité dans la conduite de leurs projets respectifs.

Je tiens aussi à remercier les membres de l'équipe technique de l'unité expérimentale "Grandes cultures" de Grignon pour leur aide durant la mise en place des expérimentations.

Je remercie également particulièrement Michèle Fanucci et Alain Bône pour les moments de détente passés ensemble autour de la machine à café ainsi que pour l'aide, ô combien précieuse, qu'ils m'ont accordée, tant pour la résolution des tracas administratifs que pour la recherche de publis. A tous les deux un grand merci!

Un grand merci aux collègues de l'UMR Agronomie pour le concours qu'ils m'ont apporté tout au long de cette thèse. Je remercie en particulier Arnaud Gauffreteau, Corentin Barbu et David Makowski pour leur aide dans le traitement statistique de mes données, Antoine Gardarin pour sa participation à l'acquisition des données et ses connaissances "fonctionnelles" ainsi que Michel Bertrand pour m'avoir, un jour d'été 2009, donné l'occasion de découvrir cette unité.

Je n'oublie pas également Patricia Garnier pour son aide précieuse dans la mise en place des protocoles et dans l'interprétation des analyses physico-chimiques des mulchs.

Anne-sophie Voisin, Bruno Chauvel, Nathalie Landé, Stéphane Cadoux, Etienne-Pascal Journet et Jean-Pierre Sarthou ont accepté de faire partie du comité de pilotage de ma thèse, je leur exprime toute ma gratitude et mes remerciements!

Guénaëlle Corre-Hellou et Philippe Tixier ont accepté d'être rapporteurs de cette thèse ; Thierry Doré, Françoise Lescouret, Georg Carlsson et Stéphane Cadoux ont bien voulu examiner mon travail. J'en suis honoré et je tiens à leur exprimer mes sincères remerciements.

Merci également à mes collègues "non-titulaires" pour leur bonne humeur et nos discussions du midi. Une pensée particulière pour Quentin et ses connaissances précieuses et avisées de l'architecture foliaire des solanacées.

Merci à ma famille et à mes parents en particulier pour le soutien qu'ils m'ont accordé durant toute ma scolarité ainsi que pour m'avoir donné l'opportunité de choisir ma voie.

Enfin mes plus grands remerciements vont à Jennifer pour son soutien au quotidien, en particulier durant les derniers moments de cette thèse, ainsi que pour son aide précieuse dans la finalisation de ce manuscrit.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	5
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	8
1. Associer une plante de service à une culture de vente	9
1.1 Services écosystémiques et utilisation de plantes de service	9
1.1.1 Définitions et généralités	9
1.1.2 Couverts plurispécifiques et plantes de service	10
1.1.3 Introduire des plantes de service : quels services écosystémiques potentiels ?	11
1.1.4 Modalités d'insertion des plantes de service	13
1.2 Mécanismes impliqués et interactions entre culture de vente et plantes de service	14
1.2.1 Notions fondamentales	14
1.2.2 Mécanismes impliqués au sein des associations culture de vente - plante de service	15
1.2.3 Quels intérêts des légumineuses en tant que plante de service?	18
1.3 Conclusion partielle	18
2. Associations colza-légumineuses gélives: Intérêts recherchés et état des connaissances	19
2.1 Enjeux et perspectives pour le colza d'hiver	19
2.2 Quelques points clés à prendre en compte à propos du colza d'hiver	20
2.2.1 Importance de la phase de croissance automnale dans le cycle de la culture	20
2.2.2 Flux d'azote au cours du cycle cultural	21
2.2.3 Gestion des bioagresseurs	22
2.3 Associer du colza d'hiver à des légumineuses gélives	23
2.3.1 Aux origines des colzas associés	23
2.3.2 Objectifs et hypothèses sur le fonctionnement de ces associations	24
2.3.3 Conduite technique des colzas associés : état des connaissances disponibles	25
2.3.4 Point sur les espèces de légumineuses candidates	26
2.4 Conclusion partielle	27
3. Mobiliser des concepts de l'écologie fonctionnelle	28
3.1 Différentes approches pour étudier les couverts plurispécifiques	28
3.2 Intérêt de mobiliser une démarche fonctionnelle	29
3.2.1 Ecologie fonctionnelle: définitions et concepts	29
3.2.2 Quels apports de l'écologie fonctionnelle pour l'agronome?	31
3.2.3 Quels traits peuvent être mobilisés?	32
3.3 Conclusion partielle	33
PROBLEMATIQUE ET DEMARCHE ADOPTEE	34
1. Problématique et questions de recherche	35
2. Présentation générale du dispositif expérimental mis en place	38
2.1 Démarche expérimentale	38
2.1.1 Objectifs	38
2.1.2 Organisation générale	39
2.1.3 Choix des légumineuses implantées	40
2.1.4 Semis d'adventices	42
2.2 Itinéraire technique mis en oeuvre	43
2.2.1 Implantation de l'essai	43
2.2.2 Gestion de la fertilisation azotée sur la partie azote	44
3. Organisation du manuscrit	46
CHAPITRE 1 : Undersowing winter oilseed rape with frost-sensitive legume living mulches to improve weed control	48
1. Introduction	50
2. Materials and methods	52
2.1 Field experiment	52
2.2 Experimental design	53
2.3 Data collection and plant sampling	54

2.4	Statistical analysis	54
3.	Results	55
3.1	Biomass produced by the intercrop	55
3.2	Weed control performance of the intercrops	57
3.2.1	Weed abundance	57
3.2.2	Weed biomass	59
3.3	Nitrogen uptake by WOSR before the winter	59
3.4	Impact of the intercrop structure on weed control	61
3.4.1	Relationship between weed abundance and intercrop (WOSR+LLM) biomass	61
3.4.2	Relationship between weed abundance and LLM/WOSR biomass ratio	62
4.	Discussion	64
4.1	Impact of SMNC on the structure of the mixture	64
4.1.1	Impact of SMNC on weed control	64
4.1.2	Growth of LLM and WOSR as a function of SMNC	65
4.2	Impact of the legume living mulch on crop performances	66
4.2.1	Autumn WOSR performance	66
4.2.2	Impact of the LLM on weed control	67
4.3	Weed control as a function of intercrop structure	69
5.	Conclusion	70
CHAPITRE 2 : The functional traits of frost-sensitive legume living mulches determine their performance and the weed regulation service they provide to WOSR in autumn		71
1.	Introduction	73
2.	Materials and methods	75
2.1	Field experiment and experimental design	75
2.2	Data collection and plant sampling	75
2.3	Statistical analyses	77
3.	Results	78
3.1	Influence of intercrop performance on the weed regulation service delivered	78
3.2	Competitive relationships between species during the two growth phases	79
3.2.1	Establishment phase	79
3.2.2	Consolidation phase	81
3.3	Effects of legume performance on the delivery of disservices	81
3.4	Functional traits underlying legume performance	83
4.	Discussion	85
4.1	Legume performance determines the weed regulation service provided and competition with WOSR during the autumn	85
4.2	Use of functional traits to explain and understand legume performance	86
4.3	SMNC before sowing is an important environmental filter to be taken into account	87
5.	Conclusion	88
CHAPITRE 3 : Undersowing winter oilseed rape with a frost-sensitive legume living mulch: consequences for cash crop nitrogen nutrition		89
1.	Introduction	91
2.	Materials and methods	92
2.1	Field experiment	92
2.2	Experimental design	93
2.3	Nitrogen fertiliser applications	94
2.4	Data collection and plant sampling	95
2.5	Data processing and calculations	96
2.6	Statistical analysis	97
3.	Results	97
3.1	Nitrogen balance before spring	97
3.1.1	LLM nitrogen uptake	97
3.1.2	WOSR nitrogen uptake before and after winter	98

3.1.3	WOSR nitrogen nutrition index before winter	100
3.1.4	Soil mineral nitrogen content before and after winter	101
3.2	Consequences of the introduction of a LLM for the spring nitrogen uptake of WOSR	102
3.2.1	Nitrogen content in the aerial biomass at the end of flowering	102
3.2.2	Nitrogen content of the other compartments at the end of flowering	103
3.3	Origin of the nitrogen taken up at the end of flowering	104
3.3.1	Mineralisation of organic nitrogen	104
3.3.2	Fertiliser nitrogen use efficiency	106
4.	Discussion	107
4.1	Overview at the beginning/end of winter	107
4.2	The consequences of LLM introduction for nitrogen uptake by WOSR in the spring	109
4.2.1	Comparison of LLM species	109
4.2.2	Mechanisms underlying changes in nitrogen dynamics	110
4.2.3	Experimental approach	111
4.3	Effects of growing conditions on the nitrogen bonus at the end of flowering	112
4.4	Benefits of introducing a legume living mulch to decrease nitrogen fertiliser inputs	113
5.	Conclusion	114
CHAPITRE 4 : Legume dead mulch under winter oilseed rape: ability of several species to provide biological nitrogen during spring		116
1.	Introduction	118
2.	Materials and methods	119
2.1	Field experiment and experimental design	119
2.2	Plant sampling	120
2.3	Physicochemical analysis	121
2.4	Calculations	122
2.5	Construction of physicochemical profiles	122
2.6	Nitrogen bonus derived from mineralisation	122
3.	Results	123
3.1	Initial biochemical characteristics of the legume residues	123
3.2	Physical characteristics of the mulches	125
3.3	Initial state before spring mineralisation	128
3.4	Physicochemical profiles of legumes	129
3.5	Physicochemical profiles and the nitrogen bonus derived from mineralisation	129
4.	Discussion	131
4.1	Using physicochemical characteristics to assess the nitrogen mineralisation potential of legume residues	131
4.2	Use of this set of characteristics for the technical management of LLM-WOSR intercrops	133
4.3	Improving the method	134
5.	Conclusion	135
CHAPITRE 5 : Profils fonctionnels des espèces introduites en tant que plantes de service		137
1.	Introduction	139
2.	Matériels et méthodes	140
2.1	Traits fonctionnels et physico-chimiques mobilisés	140
2.1.1	Compétitivité des légumineuses à l'automne	140
2.1.2	Traits physico-chimiques relatifs à la minéralisation du mulch de légumineuses	141
2.2	Mélanges d'espèces : agrégation des traits à l'échelle de la communauté	141
2.3	Traitement statistique	142
3.	Résultats	143
3.1	Variabilité explorée par notre gamme d'espèces pour les traits retenus	143
3.1.1	Traits fonctionnels relatifs aux performances des légumineuses en automne	143

3.1.2	Traits physico-chimiques relatifs au potentiel de minéralisation des légumineuses	145
3.2	Corrélations entre traits	146
3.3	Profil fonctionnel des espèces candidates	149
3.4	Mélanges d'espèces	150
4.	Discussion	151
4.1	Quels classements obtenus à partir de ces profils fonctionnels ?	151
4.2	Prise en compte du filtre environnemental pour interpréter ces profils	152
4.3	Utiliser des mélanges d'espèces: une solution pour gérer les compromis entre services ?	153
4.4	Méthode de construction des profils fonctionnels	154
5.	Conclusion	156
Synthèse des principaux résultats de la thèse		157
1.	Effets des plantes de service sur la régulation des adventices	158
1.1	Capacité des colzas associés à réguler les adventices	158
1.2	Impact de la disponibilité initiale en azote sur les performances automnales	159
2.	Effets des plantes de service sur la dynamique d'absorption de l'azote par le colza	160
3.	Utilisation des traits fonctionnels des légumineuses pour comprendre les mécanismes et les performances	162
3.1	Traits fonctionnels impliqués dans les mécanismes en jeu	162
3.2	Etablissement des profils fonctionnels des espèces candidates	163
Discussion générale et perspectives		165
1.	Protocole expérimental mis en place et la démarche analytique utilisée	166
1.1	Approche fonctionnelle pour étudier les mécanismes de compétition entre espèces au sein d'associations colza-légumineuses	166
1.1.1	Intérêt de mobiliser ce cadre conceptuel pour les associations colza-légumineuses	166
1.1.2	Choix des traits mobilisés et protocole de mesure	167
1.2	Boucler le bilan azoté de manière plus précise	168
2.	Explorer des nouveaux mécanismes, tester une plus large gamme de conditions de milieu, quantifier de nouveaux services écosystémiques	170
2.1	Comprendre les effets des légumineuses sur le rendement du colza	170
2.2	Comprendre les mécanismes de compétition racinaire	171
2.3	Prendre en compte une plus grande diversité de filtres environnementaux et considérer les traits de réponse qui sont associés	174
2.4	Prendre en compte les techniques mises en oeuvre comme partie intégrante du filtre environnemental et comprendre ses interactions avec les performances des légumineuses.	176
2.5	Evaluer de nouveaux services écosystémiques	176
3.	Vers une optimisation de la conduite technique des colzas associés pour améliorer les performances agro-environnementales de la culture	177
3.1	Fertilisation azotée des colzas associés	177
3.2	Mode d'implantation	178
3.3	Evaluation des services écosystémiques rendus	179
CONCLUSION		181
BIBLIOGRAPHIE		183
LISTE DES FIGURES		201
LISTE DES TABLEAUX		206
TABLE DES ANNEXES		207

INTRODUCTION GENERALE

La simplification des systèmes de culture a induit une augmentation de la consommation d'intrants de synthèse, conduisant à d'importants dommages environnementaux (Tilman *et al.* 2001 ; Jensen *et al.* 2010 ; Steffen *et al.* 2015). Le colza d'hiver est une culture emblématique de cette simplification et standardisation des systèmes de culture ; en France, les surfaces ont ainsi considérablement crû au cours des deux dernières décennies (Schott *et al.* 2010). Or, la consommation d'intrants sur le colza figure parmi les plus élevées chez les grandes cultures, que ce soit en terme d'utilisation de produits phytosanitaires ou d'azote minéral (AGRESTE 2013 ; AGRESTE 2014 ; Schmidt *et al.* 2010), pouvant conduire à des dommages environnementaux (Sausse *et al.* 2012 ; Dejoux 1999). Du fait de cette consommation importante d'intrants, l'utilisation du colza à des fins énergétiques sous forme de biocarburant, l'un de ses débouchés principaux, est également remise en cause du fait d'une efficacité énergétique assez faible (van Duren *et al.* 2015).

L'amélioration des pratiques sur le colza d'hiver, notamment en réduisant le recours aux intrants de synthèse et leurs impacts sur l'environnement, tout en garantissant une productivité élevée, constitue donc un défi important à relever. Les notions d'agroécologie et d'intensification écologique, basées en partie sur la substitution d'intrants chimiques et/ou l'amélioration de la productivité via la mobilisation de services de support et de régulation (Bommarco *et al.* 2013 ; Wezel *et al.* 2014), sont ainsi mises en avant pour satisfaire ces exigences. Parmi les leviers possibles pour faire évoluer les agroécosystèmes afin de répondre à ces enjeux, l'augmentation de la biodiversité cultivée est une voie possible (Doré *et al.* 2011 ; Ratnadass *et al.* 2012 ; Altieri 1999). L'utilisation de cultures plurispécifiques (un des moyens d'augmenter la biodiversité à l'échelle de la parcelle cultivée) a ainsi été identifiée comme étant un levier d'intensification écologique, par la stabilisation ou l'amélioration de la productivité tout en limitant le recours aux intrants (Brooker *et al.* 2015 ; Jensen 1996).

Dans le cas du colza d'hiver, les exemples d'association sont rares (Bergkvist 2003 ; Paulsen et Schochow 2006). Toutefois, ces dernières années, l'idée d'introduire des légumineuses gélives, en association avec le colza à l'automne, s'est développée auprès des agriculteurs et des organismes de conseil. L'introduction de ces plantes de service, semées avant, pendant ou après le semis de la culture principale et non récoltées (Hartwig et Ammon 2002), constitue une façon originale d'introduire de la diversité au sein de la parcelle. Dans le cas des associations colza-légumineuses gélives, les objectifs poursuivis initialement étaient divers : accroissement de la compétitivité vis-à-vis des adventices, réduction des quantités d'azote

minéral à apporter sur la culture de vente au printemps, notamment du fait du relargage de l'azote absorbé et/ou fixé par les légumineuses, et lutte contre les insectes à l'automne (Valantin-Morison *et al.* 2011 & 2012 ; Landé et Sauzet 2011 ; Cadoux *et al.* 2015). Néanmoins, le développement de cette technique à plus large échelle nécessite d'acquérir plus de références scientifiques sur le fonctionnement de ces peuplements complexes et sur les caractéristiques des légumineuses qui déterminent les performances obtenues.

Cette thèse se propose donc de quantifier les effets des légumineuses gélives sur les performances du colza et de comprendre les mécanismes qui les expliquent, ainsi que leurs déterminants. Deux effets escomptés sont en particulier étudiés : la régulation des adventices au cours de l'automne et l'amélioration de la nutrition azotée du colza.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Associer une plante de service à une culture de vente

1.1 Services écosystémiques et utilisation de plantes de service

1.1.1 Définitions et généralités

Les services écosystémiques sont définis comme des bénéfices pour la société issus du fonctionnement de l'écosystème (Millenium Ecosystem Assessment MEA 2005). D'après le MEA, quatre types de services écosystémiques peuvent être identifiés : les services de provision (eau, nourriture), de régulation (contrôle des bioagresseurs), les services culturels (valeur esthétique, récréation) et les services de support (recyclage des nutriments). Cette classification a cependant été remise en question, notamment du fait de la difficulté à prendre en compte les dis-services ou à différencier les services de régulation et de support (Tancoigne *et al.* 2014 ; Lavorel et Sarthou 2008).

D'autres classifications des services écosystémiques ont alors été proposées. Lavorel et Sarthou (2008), en s'appuyant sur les travaux de Zhang *et al.* (2007), ont proposé trois nouvelles catégories de ces services écosystémiques (Figure 1) :

- les services intrants
- les services de production contribuant au revenu agricole
- les services produits hors revenu agricole direct.

Cette typologie permet notamment de mieux comprendre l'impact de l'augmentation de la biodiversité à l'échelle de la parcelle cultivée en mettant l'agroécosystème (*i.e.* le produit de la modification des écosystèmes par l'homme, UNESCO 2009) au centre des préoccupations. Lavorel et Sathou (2008) ont également distingué deux types de services intrants. La première catégorie correspond aux services permettant de fournir ou de maintenir la disponibilité en ressources, ce sont les **services intrants de ressources** (disponibilité en nutriments, maintien de la fertilité des sols). La seconde catégorie correspond aux **services intrants de régulation** qui rendent compte de la régulation des interactions biotiques entre espèces (contrôle des bioagresseurs par exemple). Cette classification permet donc d'appréhender de manière plus précise la diversité des services écosystémiques potentiellement rendus au sein des agroécosystèmes. En effet, la notion de durabilité des systèmes agricoles requiert de ne plus considérer comme unique externalité les services de production, tels que la production de matières premières, mais également de prendre en compte d'autres types de services écosystémiques, notamment ceux de support ou de régulation (Lescourret *et al.* 2015 ; Robertson *et al.* 2005).

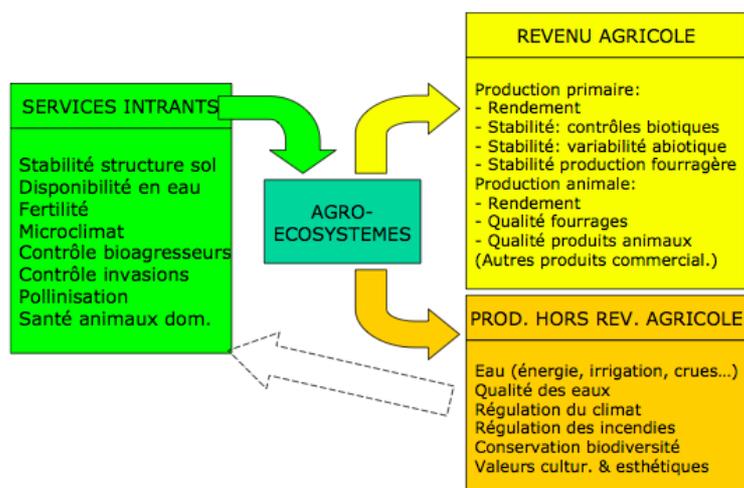


Figure 1 : Schéma conceptuel de l'organisation des services des agroécosystèmes présenté dans Lavorel et Sarthou (2008), adapté de Zhang *et al.* (2007)

1.1.2 Couverts plurispécifiques et plantes de service

De manière générale, l'augmentation de la biodiversité, qu'elle soit cultivée ou non, est mise en avant pour parvenir à l'obtention d'une large gamme de services écosystémiques dans des contextes variés (Isbell *et al.* 2011 ; Lavorel et Grigulis 2012 ; Altieri 1999 ; Tilman *et al.* 2002). Au sein des agroécosystèmes, les mélanges d'espèces sont en particulier identifiés comme un moyen de fournir des services écosystémiques tout en maintenant voire en augmentant la productivité (Brooker *et al.* 2015 ; Storkey *et al.* 2015). Ces associations plurispécifiques, définies comme la présence de plusieurs espèces sur une même unité de surface pendant une période significative de leur cycle (Vandermeer *et al.* 1998 ; Brooker *et al.* 2015), sont ainsi de plus en plus étudiées dans la littérature (Vandermeer *et al.* 1998 ; Altieri 1999 ; Malézieux *et al.* 2009). Parmi les méthodes les plus couramment employées pour associer plusieurs espèces sur un même espace, les associations céréales-légumineuses, pour lesquelles les deux espèces sont récoltées simultanément, occupent une part très importante dans la littérature (Jensen 1996 ; Corre-Hellou *et al.* 2006 ; Naudin *et al.* 2010 ; Pelzer *et al.* 2012 ; Pelzer *et al.* 2014).

Une autre façon d'introduire de la diversité à l'échelle de la parcelle consiste à introduire une ou plusieurs espèces en tant que « mulch vivant » dans une culture de vente. Cette pratique correspond à l'implantation de plantes de couverture, avant ou en même temps que la culture principale, et à leur maintien pendant tout ou partie de son cycle (Hartwig et Hammon 2002 ;

Teasdale 1996). C'est cette forme particulière de couvert plurispécifique qui nous intéressera dans le cadre de cette thèse.

L'expression la plus couramment employée en français pour retranscrire la notion de mulch vivant (living mulch) est le terme de plante de service (Carof 2006 ; Amossé 2013). Or, une plante de service peut être définie comme étant une espèce cultivée pendant ou en dehors de la présence de la culture de vente, non récoltée, et destinée à remplir un ou plusieurs services écosystémiques ou encore comme une espèce ayant pour rôle d'agir sur l'agroécosystème pour l'améliorer (Carof 2006). Cette définition peut donc inclure à la fois les couverts végétaux implantés pendant les périodes d'interculture mais aussi l'ensemble des espèces, nommées plantes compagnes ou plantes de couverture, dont tout ou partie de leur cycle de croissance est concomitant avec celui de la culture de vente.

Dans la suite du manuscrit, nous ne nous intéresserons qu'aux plantes de service correspondant à des **espèces implantées avant, pendant ou après le semis de la culture de vente, non récoltées, qui partagent avec elle une période significative de leur cycle de développement et destinées à fournir un ou plusieurs services écosystémiques.**

1.1.3 Introduire des plantes de service : quels services écosystémiques potentiels ?

L'introduction de plantes de service dans les systèmes de culture est motivée par la recherche d'une diversité de services écosystémiques. Les services intrants sont toutefois ceux qui sont le plus étudiés dans la littérature. Le contrôle des adventices, un exemple de **service intrant de régulation biotique** (Lavorel et Sarthou 2008) constitue ainsi un des objectifs parmi les plus prégnants liés à l'introduction de plantes de service, que ce soit pour améliorer l'efficacité du désherbage ou réduire l'utilisation d'herbicides chimiques en agriculture conventionnelle (Hiltbrunner *et al.* 2007a ; Teasdale 1996 ; Abdin *et al.* 1997 ; Ilnicki et Enache 1992 ; Liebman et Dick 1993 ; Carof 2006) ou bien en tant que méthode alternative de contrôle des adventices en agriculture biologique (Bilalis *et al.* 2010 ; Amossé 2013). Toutefois, les résultats obtenus sont très contrastés et dépendent très fortement des pratiques agricoles mises en œuvre et du contexte pédoclimatique dans lequel ces plantes de service sont utilisées. La régulation d'autres bioagresseurs, tels que les insectes, constitue également un autre service de régulation biotique potentiellement rendu par l'utilisation de plantes de service (Costello 1994 ; Theunissen *et al.* 1995 ; Cadoux *et al.* 2015).

L'obtention de **services intrants de ressources** motive également l'introduction de plantes de service dans les systèmes de culture. L'amélioration de la fertilité du sol, notamment en

augmentant la disponibilité en azote (Blackshaw *et al.* 2010 ; Thorsted *et al.* 2006a ; Amossé *et al.* 2013a), en réduisant les pertes potentielles par lixiviation (Liedgens *et al.* 2004b ; Shili-Touzi *et al.* 2010) ou en augmentant la quantité de matière organique et la qualité physique des sols (Carof *et al.* 2007a ; Shili-Touzi 2009) constituent ainsi des problématiques particulièrement étudiées.

Bien qu'étant rarement mise en avant en tant que levier d'amélioration de ces performances, l'introduction de plantes de service a également des conséquences sur **les services de production contribuant au revenu agricole**. En effet, peu d'études ont démontré des effets positifs des plantes de service sur les performances de la culture de vente en matière de rendement. La majorité des publications conclut à une absence d'effet positif significatif, voire à une détérioration du rendement de la culture principale (Shili-Touzi *et al.* 2010 ; Picard *et al.* 2010 ; Carof *et al.* 2007a ; Teasdale 1996 ; Pedersen *et al.* 2009 ; White et Schott 1991 ; Bergkvist 2003 ; Amossé *et al.* 2013a). Ces impacts négatifs potentiels liés à l'introduction de ces espèces sur les services de production contribuant au revenu agricole peuvent ainsi constituer un dis-service dont il faut nécessairement quantifier les effets.

Les services écosystémiques potentiellement rendus par l'utilisation de plantes de service sont donc multiples, de différentes natures et peuvent parfois être antagonistes. Leurs effets sont rarement additifs, et on parle davantage de bouquets de services car ces derniers interagissent fortement (Gaba *et al.* 2014). Aucune espèce, utilisée en tant que plante de service, n'est à même de rendre tous les services souhaités en même temps (Damour *et al.* 2014 ; Tribouillois *et al.* 2015b), la volonté de maximiser un service écosystémique se faisant bien souvent au détriment d'autres (Bennett *et al.* 2009). La notion de compromis (*i.e.* "trade-off") est donc de première importance pour gérer les antagonismes et les synergies entre services. Le choix d'une espèce candidate relève ainsi du compromis à trouver entre chacun des services et/ou dis-services potentiellement rendus (Tixier *et al.* 2011). Bennett *et al.* (2009) ont identifié deux sources de variation de ce trade-off entre services : les interactions entre services écosystémiques eux-mêmes, ainsi que l'effet des "drivers", définis comme étant des facteurs, modifiés par l'homme qui affectent un ou plusieurs services. Les possibilités de piloter ces trade-offs entre services sont multiples et dépendent très fortement du type d'association considéré. Ainsi, l'arrangement spatial des espèces et la date de semis de l'espèce associée, qui caractérisent les modalités d'insertion, ou encore l'utilisation d'herbicide non-létal ou localisé constituent des leviers potentiellement mobilisables dans ce but (Teasdale 1996 ; Thorsted *et al.* 2006a).

1.1.4 Modalités d'insertion des plantes de service

Les modalités d'insertion des plantes de service dans les systèmes de culture sont diverses, suivant la phénologie des espèces considérées et la période d'insertion de la plante de service dans le système de culture. L'arrangement spatio-temporel des espèces associées constitue ainsi un des moyens d'optimiser le fonctionnement de l'agroécosystème afin d'aboutir aux services escomptés (Gaba *et al.* 2014).

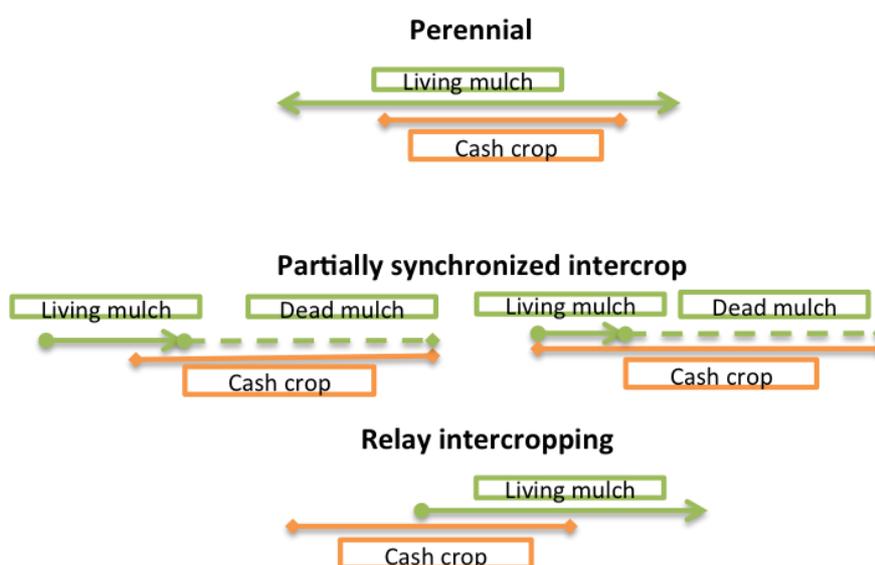


Figure 2 : Modalités d'insertion des plantes de services du point de vue temporel

Sur le plan temporel (Figure 2), les plantes de service peuvent tout d'abord être choisies parmi des espèces pluriannuelles ou pérennes et être introduites dans des systèmes de cultures annuelles (Carof *et al.* 2007a ; Picard *et al.* 2010 ; Shili-touzi *et al.* 2010 ; Ilnicki and Enache 1992 ; White and Schott 1991) ou pluriannuelles, en viticulture (Hartwig and Ammon 2002 ; Célette *et al.* 2009) ou dans les bananeraies (Tixier *et al.* 2011 ; Damour *et al.* 2014).

Des plantes de service annuelles peuvent ensuite être associées à des cultures de vente annuelles et détruites avant la récolte (naturellement par le gel ou par une application d'herbicide). C'est le cas des légumineuses gélives associées au colza (Cadoux *et al.* 2015 ; Valantin-Morison *et al.* 2011 & 2012 ; Landé et Sauzet 2011) dont cette thèse fait l'objet, ou encore des légumineuses associées au blé (Cohan *et al.* 2012). Ces exemples constituent des cas particuliers d'utilisation de plante de service, puisque les services écosystémiques escomptés proviennent à la fois de l'effet des légumineuses en tant que « living mulch », pendant la période de croissance simultanée avec la culture vente (ex : régulation des adventices et des insectes automnaux pour le colza associé), mais aussi de leurs effets

attendus en tant que « dead mulch », après leur destruction avant la fin du cycle de la culture de vente (ex : restitution de l'azote contenu dans les légumineuses pour le colza).

L'arrangement spatial des espèces est également un critère important lors de la conception d'associations culture de vente-plante de service afin d'optimiser leur fonctionnement (Damour *et al.* 2014). Celui-ci peut prendre différentes formes (Vandermeer 1989), selon que la plante de service et la culture de vente sont semées sur la même ligne, à la volée ou bien que le semis est effectué en rangs ou bandes intercalées (Célette *et al.* 2009 ; Thorsted *et al.* 2006a). C'est notamment le cas pour les cultures sarclées telles que le maïs pour lequel des plantes de service peuvent être semées dans l'inter-rang lors d'un binage (Abdin *et al.* 2000). Dans le cas des associations colza-légumineuses gélives, plusieurs modalités d'arrangement spatial sont également possibles selon que le colza est semé à la volée, en ligne ou par un semoir monograine en rangs espacés et que la légumineuse est semée à la volée, en ligne avec le colza ou dans l'inter-rang. Cette notion d'arrangement spatial entre espèces est un levier potentiellement mobilisable par l'agriculteur pour optimiser la conduite technique de l'association (Thorsted *et al.* 2006a ; Damour *et al.* 2014 ; Ripoche *et al.* 2012). Dans le cas du colza associé, le semis des légumineuses sur le même rang que le colza pourrait ainsi être un moyen de maximiser la compétition entre espèces sur le rang, pour limiter le développement des adventices, tout en permettant de recourir au binage de l'inter-rang. Au contraire, pour le même objectif de régulation des adventices, le semis des légumineuses à la volée pourrait être un moyen de favoriser la couverture du sol et de réduire la compétition exercée par les légumineuses sur le colza.

1.2 Mécanismes impliqués et interactions entre culture de vente et plantes de service

1.2.1 Notions fondamentales

Les mécanismes impliqués dans l'obtention des services visés sont multiples et complexes. D'après Brooker *et al.* (2015), les processus écologiques qui interviennent au sein des cultures plurispécifiques sont la résultante d'interactions négatives et positives de diverses natures. Parmi elles, les notions de compétition et de facilitation sont particulièrement importantes pour comprendre le fonctionnement des couverts plurispécifiques. La **compétition** correspond ainsi au phénomène par lequel des espèces interagissent de telle façon qu'au moins une d'entre elles exerce un effet négatif sur une autre (Vandermeer 1989). Inversement, la **facilitation** correspond au phénomène par lequel au moins une espèce exerce un effet positif sur une autre (Vandermeer 1989).

La notion de **niche écologique**, définie par Hutchinson (1957) comme un hypervolume dont chaque dimension correspond à une condition environnementale (physique ou biologique) limitante pour la survie de l'espèce considérée (niche fondamentale), est déterminante pour comprendre ces mécanismes. Lorsque plusieurs espèces coexistent sur un même espace, les interactions entre espèces induisent des modifications de ces niches (*i.e.* niche réalisée, Hutchinson 1957). La prise en compte de la complémentarité entre les niches écologiques de chacune des espèces est ainsi de première importance pour comprendre les mécanismes de compétition et les performances obtenues à l'échelle de l'association (Tilman *et al.* 1990 ; Vandermer 1989 ; Gaba *et al.* 2014). L'un des enjeux consiste donc à minimiser l'intersection entre les niches écologiques des différentes espèces à associer afin de s'assurer que ces dernières n'exercent pas une compétition pour les mêmes ressources (Malézieux *et al.* 2009 ; Vandermer 1989).

1.2.2 Mécanismes impliqués au sein des associations culture de vente - plante de service

Deux principaux mécanismes de compétition pour les ressources interviennent entre espèces composant des cultures plurispécifiques : au niveau aérien pour le rayonnement lumineux et au niveau racinaire pour l'eau et les nutriments (Malézieux *et al.* 2009 ; Tilman 1990).

L'amélioration de l'utilisation du rayonnement lumineux au sein des couverts plurispécifiques est ainsi fréquemment mise en avant pour expliquer l'accroissement de la production de biomasse totale (Malézieux *et al.* 2009 ; Tsubo et Walker 2004 ; Bedoussac et Justes 2010). La complémentarité spatiale de l'architecture des espèces qui composent le couvert (Carof *et al.* 2007a ; Thorsted *et al.* 2006a ; Tsubo *et al.* 2001 ; Bedoussac et Justes 2010) ou bien la complémentarité temporelle de ces espèces du fait de la phénologie et/ou décalage du semis des espèces (Picard *et al.* 2010 ; Zhang *et al.* 2008 ; Baldé *et al.* 2011 ; Amossé *et al.* 2013a ; Bergkvist *et al.* 2011) améliorent ainsi l'efficacité d'interception du rayonnement lumineux par le couvert. Ce mécanisme est ainsi souvent à l'origine de l'amélioration de la compétition exercée par le couvert sur les adventices (Fujiyoshi *et al.* 2007 ; Bilalis *et al.* 2010) mais peut toutefois conduire à une détérioration des performances de la culture de vente dans le cas des associations entre culture de vente et plante de service où cette dernière est trop compétitive vis-à-vis du rayonnement (Amossé *et al.* 2013a ; Thorsted *et al.* 2006a ; Carof *et al.* 2007a ; den Hollander *et al.* 2007b). La sélection de plantes de service permettant à la fois de produire une quantité de biomasse significative, tout en minimisant la compétition exercée sur la

culture de vente est donc de première importance (Mauromicale *et al.* 2010 ; Tixier *et al.* 2011).

Au niveau racinaire, l'eau et l'azote constituent deux ressources limitantes particulièrement importantes pour comprendre les mécanismes de compétition entre espèces. De nombreuses études concluent ainsi à des phénomènes de compétition vis-à-vis de ces ressources (Liedgens *et al.* 2004a ; Oschner *et al.* 2010 ; Carof *et al.* 2007a ; Célette *et al.* 2009). Célette *et al.* (2009) ont ainsi démontré que les plantes de service pouvaient à la fois réduire les quantités d'azote absorbées par la culture de vente du fait de la compétition « directe » pour cette ressource mais également du fait de la diminution de la disponibilité en eau qui induit une réduction de la disponibilité de l'azote minéral du sol. La compétition pour l'eau et l'azote est ainsi particulièrement préjudiciable lorsque la plante de service et la culture de vente cohabitent pendant les phases d'établissement des composantes du rendement de la culture de vente (Carof *et al.* 2007a).

La disponibilité initiale du milieu en eau et en azote joue également un rôle important dans les relations de compétition qui s'exercent pour ces ressources. Ainsi, les phénomènes de compétition sont bien souvent d'autant plus intenses que la disponibilité en ressources est élevée tandis que les phénomènes de facilitation ont tendance à être plus importants en conditions limitantes (Malézieux *et al.* 2009 ; Hauggaard-Nielsen et Jensen 2005). C'est ainsi particulièrement le cas pour les associations entre légumineuses et non-légumineuses (Bedoussac et Justes 2010 ; Corre-Hellou *et al.* 2006) pour lesquelles la disponibilité initiale en azote minéral impacte très fortement les relations de compétition entre les espèces.

D'autres mécanismes de compétition ne concernent pas les ressources mais sont liés aux interactions interspécifiques. Parmi eux, l'allélopathie (Tilman 1990), qui correspond à la production par certaines plantes, de composés chimiques qui inhibent le développement d'autres organismes, est également un critère de choix intéressant pour la composition de couverts plurispécifiques, notamment pour gérer les adventices. Toutefois, le manque de connaissance des processus biologiques qui les gouvernent rend difficile la mobilisation de ces processus dans les agroécosystèmes (Wezel *et al.* 2014).

Des mécanismes de facilitation interviennent également entre espèces au niveau racinaire. La complémentarité spatiale et architecturale des systèmes racinaires a ainsi été mise en avant dans le cadre des associations entre légumineuses et non-légumineuses (Hauggaard-Nielsen et Jensen 2005 ; Corre-Hellou et Crozat 2005). En situation d'association, Hauggaard-Nielsen *et al.* (2001) ont ainsi démontré que le système racinaire de l'espèce non-légumineuse avait

tendance à croître plus profondément qu'en culture pure et que la vitesse de croissance latérale des deux espèces (orge et pois de printemps) était également plus importante. Dans le cas d'association colza-féverole, Jamont *et al.* (2013) ont également mis en évidence cette complémentarité de niche entre les systèmes racinaires des deux espèces en milieu contrôlé : 70% des racines du colza se situaient ainsi dans la partie inférieure du rhizotron.

D'autres types d'interaction entre les systèmes racinaires peuvent également être à l'origine d'effets de facilitation. Fustec *et al.* (2010) ont ainsi suggéré que la sénescence des nodules ou des racines, ainsi que l'exsudation de composés solubles, pouvaient être à l'origine de la stimulation de l'absorption d'azote par la culture de vente. Toutefois, Jamont *et al.* (2013) ont démontré que les transferts directs d'azote entre les systèmes racinaires des deux espèces (colza et féverole) étaient équivalents dans les deux sens. Enfin, la complémentarité entre les réseaux mycorhiziens des deux espèces est également un des mécanismes potentiellement à l'origine d'effets de facilitation (van der Heijden et Horton 2009), notamment lorsque les périodes de croissance diffèrent (Hauggard-Nielsen et Jensen 2005).

Lorsque l'une des deux espèces est détruite avant l'autre (comme c'est le cas pour les associations entre colza et légumineuses gélives), la présence des résidus sous forme de mulch à la surface du sol peut également induire des effets de facilitation. En premier lieu, la minéralisation de l'azote contenu dans ces résidus pourrait conduire à une augmentation de la disponibilité en azote pour la culture en place. En effet, la présence de résidus résultant de la destruction de légumineuses "non-matures", présentant des taux C/N faibles pourrait conduire à une minéralisation rapide de l'azote contenu (Tribouillois *et al.* 2015b). Cependant, dans le cas du colza associé à des légumineuses gélives, les résidus de légumineuses restent sous la forme de mulch à la surface du sol, conduisant à des mécanismes de minéralisation qui diffèrent de ceux traditionnellement étudiés lorsque les résidus de culture ou de couverts végétaux implantés durant l'interculture sont incorporés au sol (Coppens *et al.* 2006 & 2007 ; Garnier *et al.* 2003).

D'autres effets de facilitation sont également susceptibles de se produire du fait de la présence de mulch. Ainsi, l'augmentation de la rétention d'eau dans les sols, l'amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'eau (Vial *et al.* 2015 ; Sarkar en Singh 2007 ; Stagnari *et al.* 2014) ou bien la régulation de la température du sol (Gill *et al.* 1996 ; Su *et al.* 2014) sont mises en avant du fait de la présence de mulchs et peuvent expliquer en partie l'amélioration de l'utilisation de l'azote par la culture en place (Su *et al.* 2014).

1.2.3 Quels intérêts des légumineuses en tant que plante de service?

L'intérêt d'introduire des légumineuses dans les systèmes de culture a été largement étudié dans la littérature, quel que soit le mode d'insertion (Jensen *et al.* 2011 ; Voisin *et al.* 2014), notamment du fait de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique via leurs nodosités et de l'effet positif à moyen terme sur la nutrition azotée des cultures suivantes (Liebman *et al.* 2012 ; Parr *et al.* 2011). Ces espèces sont également particulièrement intéressantes dans le cadre d'associations plurispécifiques avec des espèces non-légumineuses et sont fréquemment utilisées, que ce soit dans le cas d'associations récoltées (Pelzer *et al.* 2014 ; Corre-Hellou *et al.* 2006 ; Jensen 1996 ; Conolly *et al.* 2001) ou de l'introduction de plantes de service (Carof 2006 ; Amossé 2013 ; Hiltbrunner *et al.* 2007a ; Hauggaard-Nielsen et Jensen 2005 ; Feil et Liedgens 2001).

Les mécanismes de facilitation qui interviennent entre les espèces sont mis en avant pour expliquer les performances obtenues par ces associations (Hauggaard-Nielsen et Jensen 2005). La complémentarité de niches du point de vue de l'utilisation de l'azote constitue un avantage particulièrement intéressant dans le cas des associations cultures de vente-plante de service (Brooker *et al.* 2015 ; Pelzer *et al.* 2012). En effet, la disponibilité en azote minéral constitue bien souvent un facteur de croissance limitant pour le rendement de la culture de vente.

1.3 Conclusion partielle

L'utilisation de couverts plurispécifiques est une des voies permettant de favoriser l'obtention de services écosystémiques au sein de l'agroécosystème, notamment les services intrants de régulation et de ressources. En effet, certains mécanismes de compétition et de facilitation qui s'exercent permettent de maximiser l'efficacité d'utilisation des ressources. En jouant sur les complémentarités de niche entre les espèces, par exemple en introduisant des légumineuses qui exercent peu de compétition vis-à-vis de l'azote minéral, on peut ainsi prétendre améliorer les performances agronomiques du couvert tout en minimisant les phénomènes de compétition entre espèces.

Parmi les différentes façons d'associer des espèces entre elles à l'échelle de la parcelle, l'introduction de légumineuses en tant que plantes de service, non récoltées, est une des possibilités permettant d'augmenter la biodiversité cultivée, d'obtenir potentiellement des services écosystémiques et de limiter le recours aux intrants sans toutefois modifier l'usage de la parcelle. En effet, contrairement aux couverts plurispécifiques les plus répandus, pour

lesquels les deux espèces sont récoltées simultanément (associations céréales-légumineuses par exemple), seule la culture de vente est récoltée en cas d'introduction de plantes de service. Cela pourrait ainsi constituer une opportunité intéressante pour certaines cultures pour lesquelles les associations sont difficiles.

2. Associations colza-légumineuses gélives : intérêts recherchés et état des connaissances

2.1 Enjeux et perspectives pour le colza d'hiver

Les surfaces de colza ont connu un accroissement considérable en France au cours des dernières décennies, notamment du fait de son utilisation à des fins énergétiques (Schott *et al.* 2010). Or, le bilan énergétique de ce type de biocarburant est particulièrement remis en cause aujourd'hui (van Duren *et al.* 2015). La consommation d'énergie liée à la fabrication des engrais azotés contribue pour 37% aux émissions de gaz à effet de serre du colza biodiesel (Le Gall *et al.* 2015). L'utilisation importante d'engrais azoté sur la culture grève ainsi de façon très importante son bilan énergétique. Or, Le Gall *et al.* (2015) ont également montré que la substitution des apports d'engrais minéraux au printemps par l'épandage d'engrais organiques avant le semis n'induisait pas forcément une diminution des émissions de gaz à effet de serre et pouvait potentiellement conduire à une augmentation des émissions de protoxyde d'azote. De plus, la valorisation de ces apports est moins bonne à l'automne qu'au printemps, ce qui peut conduire à des risques de lessivage (Merrien *et al.* 1997). D'autres moyens doivent donc être mobilisés pour garantir un niveau de rendement élevé tout en réduisant la consommation de fertilisants minéraux.

L'application de produits phytosanitaires est particulièrement importante pour le colza. En 2011, l'indice de fréquence de traitement total s'élevait à 5.5 points au niveau national, ce qui en fait la grande culture la plus consommatrice après la pomme de terre (AGRESTE 2013). La protection contre les adventices et les insectes, avec des IFT moyens nationaux respectifs de 1.6 et 2.4, constitue les postes pour lesquels la consommation de produits phytosanitaires est la plus importante. La réduction de la consommation de produits phytosanitaires constitue donc également un enjeu prégnant pour cette culture (Schmidt *et al.* 2010). En effet, bon nombre de molécules utilisées sur le colza se retrouve dans les eaux de surface, notamment les herbicides racinaires de pré-levée et de post-levée (Sausse *et al.* 2012). Ainsi, la réduction

de l'utilisation de ces herbicides de pré-levée a été identifiée par Primot *et al.* (2006) comme une voie d'amélioration possible des pratiques sur la culture.

2.2 Quelques points clés à prendre en compte à propos du colza d'hiver

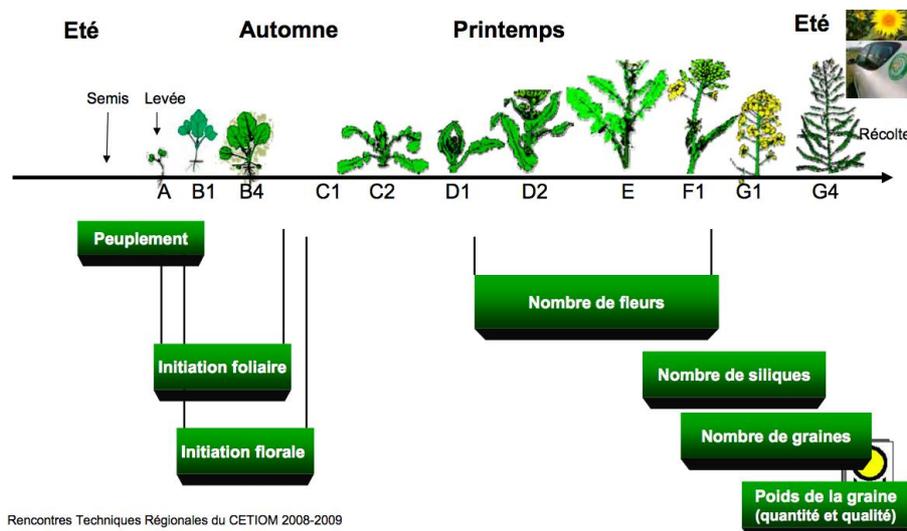
2.2.1 Importance de la phase de croissance automnale dans le cycle de la culture

La mise en place des composantes du rendement (nombre de grains, poids de mille grains) se fait principalement au cours du printemps après la floraison (Figure 3). Le pouvoir de compensation de la culture au printemps est particulièrement important, ce qui confère au colza la capacité à compenser des carences azotées en automne (Colnenne *et al.* 1998) ou bien de faibles niveaux de croissance (Mendham *et al.* 1981). Toutefois, cette période automnale, qui nous intéresse particulièrement dans le cas des associations colza-légumineuses gélives, constitue une phase de croissance importante pour le colza. La somme de température nécessaire pour garantir une croissance et un développement satisfaisant en entrée d'hiver repose sur l'équilibre entre plusieurs mécanismes antagonistes. D'une part, l'accumulation d'une somme de température élevée garantit l'initiation d'un nombre de feuilles (qui apparaîtront au printemps) important, ce qui constitue une composante déterminante au printemps (Merrien et Pouzet 1988). Le stade B8 en entrée d'hiver (correspondant à la présence de huit feuilles vraies et atteint environ 600 degrés-jour en base 0 après la levée), qui constitue le stade de résistance maximale au froid, représente également un objectif de développement important en entrée d'hiver (Merrien et Pouzet 1988 ; Merrien et Landé 2008). Toutefois, lorsque la somme de température dépasse 500 degrés-jour (en base 5), le risque d'élongation de l'épicotyle s'accroît, pouvant conduire à une augmentation de la sensibilité de la culture au gel hivernal (Topinka *et al.* 1991). Le niveau d'azote minéral dans le sol, la densité de semis et le choix variétal influent également sur le risque d'élongation automnale.

La phase de croissance automnale doit également permettre de parvenir à une accumulation de réserves suffisante dans les parties racinaires. En effet, celles-ci permettent de garantir un redémarrage rapide de la culture en sortie d'hiver (Dejoux *et al.* 2003). Merrien et Landé (2008) considèrent ainsi qu'un pivot dont le diamètre est supérieur à 8 mm constitue un critère satisfaisant en entrée d'hiver et permet de maximiser la résistance au froid.

La date de semis optimale de la culture repose donc sur un compromis entre la possibilité d'accumuler une somme de température élevée pour initier un maximum de feuilles sans toutefois risquer une élongation automnale (Merrien et Landé 2008 ; Dejoux *et al.* 2003).

Dans la moitié nord de la France, cela correspond à une date comprise entre la fin du mois d'août et le début du mois de septembre. Toutefois, les conditions sèches qui peuvent retarder la levée de la culture constituent bien souvent un handicap majeur pour parvenir à l'obtention d'un peuplement dont la croissance et le développement sont satisfaisants (Dejoux *et al.* 2003).



Rencontres Techniques Régionales du CETIOM 2008-2009

Figure 3 : Elaboration des composantes du rendement du colza (Terres Inovia). Les stades repères sont présentés en Annexe 1

2.2.2 Flux d'azote au cours du cycle cultural

Les besoins azotés du colza sont particulièrement importants au printemps, sept kg d'azote sont ainsi nécessaires par quintal de grain produit (Reau *et al.* 1997). Au niveau national, l'utilisation de fertilisants azotés minéraux est l'une des plus élevées parmi celle des grandes cultures. En moyenne, en l'absence d'apport organique, 169 kgN.ha⁻¹ étaient apportés sous forme minérale en 2011 (AGRESTE 2014).

Les quantités d'azote absorbé par le colza continuent de croître jusqu'à une période qui diffère, suivant les études, entre les stades G1 (Rossato *et al.* 2003), G4 (Merrien *et al.* 1988) voire G5 (Merrien *et al.* 1997), après quoi l'absorption d'azote exogène cesse (Rossato *et al.* 2003 ; Merrien *et al.* 1988). Toutefois, des études récentes ont mis en évidence une absorption d'azote postérieure à ces stades (Champolivier com. pers). On peut ainsi considérer qu'à la fin de la floraison (correspondant à un stade compris entre G4 et G5), la quantité d'azote contenu dans le colza (plante entière) est maximale. Le remplissage en azote des sillques et des grains fait ensuite intervenir des phénomènes de remobilisation à partir des feuilles, des tiges et du pivot vers les grains.

La chute de feuilles sénescentes, après 600 à 650 degrés-jour en base 0 depuis leur apparition, ou gelées (Dejoux 1999), constitue une des particularités de la culture et peut conduire à des pertes importantes du fait de leur teneur en azote élevée (Dejoux *et al.* 2000 ; Rossato *et al.* 2003 ; Merrien *et al.* 1988). Suivant la date à laquelle ces feuilles sont perdues (depuis l'automne jusqu'à la fin de la floraison), les conditions de milieu et l'état de la culture, l'azote qu'elles contiennent peut ainsi être remobilisé et ré-absorbé par la culture (jusqu'à 28% à la floraison du colza), perdu par lessivage, ou bien sous forme gazeuse (jusqu'à 40% des quantités d'N initiales) (Dejoux *et al.* 2000).

Des précisions sur le mode de calcul de la dose d'azote à appliquer sont fournies dans l'Annexe 2.

2.2.3 Gestion des bioagresseurs

Les pratiques de désherbage sur le colza reposent très majoritairement sur une gestion des adventices au cours de l'automne, *via* une application de produits de post-semis pré-levée à large spectre anti-dicotylédone (89% des cas en France en 2012, CETIOM 2012). Ces applications sont également fréquemment complétées par des applications en post-levée foliaire ou racinaire. La simplification des systèmes de culture, notamment *via* une augmentation de la part des cultures d'hiver et du colza (Schott *et al.* 2010), a conduit également à une spécialisation de la flore adventice sélectionnée. Parmi les espèces qui sont le plus couramment citées par les agriculteurs comme posant problème (CETIOM 2012) et qui se retrouvent le plus fréquemment dans les relevés floristiques effectués sur les parcelles de colza (Fried et Reboud 2007), *Geranium dissectum*, *Galium aparine* ou encore *Capsella bursa-pastoris*, *Papaver rhoeas* et *Sinapis Arvensis* sont les espèces dicotylédones les plus emblématiques et les plus difficiles à contrôler. En effet, depuis quelques années, le retrait de certaines molécules (Sausse *et al.* 2012) et l'apparition de résistances de certaines graminées (et de quelques dicotylédones) rend de plus en plus difficile la lutte chimique contre les adventices sur le colza (Terres Inovia 2015). Or, le désherbage mécanique demeure une alternative marginale (3% des surfaces en 2012, CETIOM 2012), principalement utilisée lorsque le colza est semé en rangs espacés.

La gestion des insectes est également une problématique prégnante pour la culture du colza. Parmi les grandes cultures, le colza est le plus gros consommateur d'insecticides (AGRESTE 2013). Ainsi, respectivement 83 et 95% des parcelles reçoivent au moins un insecticide en automne et au printemps. Les principaux insectes visés sont le charançon du bourgeon

terminal et les petites et grosses altises en automne et le charançon de la tige, les méligèthes et le charançon des siliques au printemps (CETIOM 2012).

2.3 Associer du colza d'hiver à des légumineuses gélives

2.3.1 Aux origines des colzas associés

Face à ces problématiques, l'idée d'introduire des plantes de service dans le colza s'est développée dans les années 2000. Les résultats initialement attendus étaient de plusieurs natures. Tout d'abord, l'objectif principal était de réduire la consommation d'intrants, notamment la quantité d'azote minéral et de produits phytosanitaires, herbicides et insecticides (Landé et Sauzet 2011 ; Valantin-Morison *et al.* 2011 & 2012). L'introduction de plantes de service a également été motivée par la volonté de stabiliser les rendements dans les différents contextes pédoclimatiques dans lesquels la culture est implantée et de trouver un juste compromis économique entre la réduction des intrants et le coût d'implantation de ces plantes de service (Landé et Sauzet 2011).

Les premiers dispositifs expérimentaux mis en place (essais CETIOM à partir de 2009, CASDAR PicoBlé 2009-2011) ont donc tout d'abord visé à tester la faisabilité de ces associations sur le plan technique (mode d'implantation), à effectuer un screening d'espèces potentiellement candidates (légumineuses et non légumineuses) et à mesurer les effets observés dans différents contextes climatiques. Ces premiers essais ont notamment permis de faire émerger les légumineuses gélives comme étant des espèces candidates à privilégier dans le cadre d'associations colza-plante de service (Valantin-Morison *et al.* 2011 & 2012 ; Landé et Sauzet 2011). En effet, le caractère gélif permet notamment de limiter la concurrence exercée par la plante de service au cours du printemps (Landé et Sauzet 2011) lors des principales phases d'établissement des composantes du rendement de la culture de vente. Le fait de choisir des légumineuses, capables de fixer l'azote atmosphérique et dont les résidus sont riches en azote, permet également de limiter la compétition exercée pour ce facteur de croissance au cours de l'automne et de favoriser une restitution de l'azote contenu plus rapide et plus importante au printemps.

Les dispositifs mis en place ensuite, notamment les essais « CLE » du CETIOM (2011-2014) ainsi que les essais du CASDAR ALLIANCE (à partir de 2013), ont visé à comparer les performances de plusieurs espèces de légumineuses, ou de mélanges de légumineuses, en termes d'effets sur le dynamique de l'azote, sur les adventices et sur les insectes automnaux (Cadoux *et al.* 2015).

2.3.2 Objectifs et hypothèses sur le fonctionnement de ces associations

Plusieurs services écosystémiques sont escomptés, dont trois ont été plus particulièrement étudiés dans le cas des associations colza-légumineuses gélives. Le premier correspond à un accroissement de la compétition exercée par le couvert colza + légumineuses vis-à-vis des adventices pouvant conduire *in fine* à réduire l'utilisation d'herbicides, notamment de pré-levée (Landé et Sauzet 2011 ; Sauzet et Landé 2012). L'un des mécanismes susceptible d'intervenir est un effet d'étouffement des adventices (Valantin-Morison *et al.* 2011). Toutefois, jusqu'à présent les effets reportés sur les adventices diffèrent fortement suivant les essais et les pratiques techniques mises en œuvre (densité de semis des légumineuses, utilisation d'herbicides de post-levée, espèces choisies), suivant le témoin utilisé pour les mesurer (colza seul avec ou sans herbicide) mais également suivant la variable considérée : taux de couverture du sol par les adventices, abondance, biomasse en entrée d'hiver. Du fait de la difficulté à mesurer ces variables, peu de données étaient initialement disponibles pour évaluer les performances obtenues de manière rigoureuse.

Le second service particulièrement étudié a trait au fonctionnement azoté de l'association. En effet, du fait de leur faculté à fixer l'azote atmosphérique, les légumineuses sont supposées accumuler cet azote sans concurrencer le colza à l'automne. Ensuite, après leur destruction au cours de l'hiver, cet azote fixé et/ou absorbé à l'automne est supposé, après sa minéralisation, bénéficier au colza et ainsi, *in fine*, permettre de réduire la quantité d'azote minéral à apporter au printemps (Valantin-Morison *et al.* 2012 ; Landé et Sauzet 2011). Jusqu'à présent, la faisabilité d'une réduction forfaitaire de 30 kgN.ha⁻¹ sur le colza a été particulièrement étudiée. Les différentes études menées s'accordent pour juger réaliste cet ordre de grandeur d'économie en terme d'azote minéral (Cadoux *et al.* 2015 ; Valantin-Morison *et al.* 2012), cependant les déterminants de cet accroissement de la disponibilité en azote sont encore mal connus tant les interactions entre conditions du milieu, espèces de légumineuses, techniques et mécanismes mis en jeu sont nombreuses.

Le troisième service étudié concerne la régulation des insectes automnaux. La présence de légumineuses est en effet supposée induire un effet de perturbation sur ces bioagresseurs. Ainsi, Cadoux *et al.* (2015) ont enregistré une réduction du pourcentage de plantes buissonnantes (dommage caractéristique du charançon du bourgeon terminal) en présence de légumineuses de service, notamment liée à l'augmentation de la biomasse totale du couvert. Des effets des plantes de service sur la réduction du nombre de larves de grosses altises ont également été mesurées (CA Poitou-Charentes 2012). Plusieurs hypothèses ont été émises sur

les mécanismes mis en jeu (hauteur relative des légumineuses par rapport au colza par exemple) mais d'autres essais doivent être conduits pour préciser ces effets.

L'impact de l'introduction de légumineuses gélives en tant que plantes de service sur le rendement du colza a également été mesuré, sans toutefois formuler d'hypothèses concrètes sur ces effets. Ainsi, les essais conduits jusqu'à présent ont conclu à de faibles différences de rendement entre les colzas seuls et les colzas associés (Cadoux *et al.* 2015). Toutefois, l'analyse de l'effet des légumineuses gélives sur le rendement reste à affiner. Les connaissances disponibles sur les services fournis par les légumineuses et leurs déterminants (compétition vis-à-vis des adventices, économie potentielle d'azote minéral) sont encore partielles. On peut donc considérer que les techniques mises en œuvre sur les colzas associés ne sont pas encore totalement optimisées.

2.3.3 Conduite technique des colzas associés : état des connaissances disponibles

Les essais de faisabilité des associations colza-légumineuses effectués ces dernières années ont permis de mettre en lumière quelques points importants liés à la conduite technique de ces associations.

(i) Modalité d'implantation

Il est couramment conseillé d'avancer la date de semis du colza et des légumineuses d'une semaine environ par rapport à la date conseillée dans la région pour les colzas purs. En effet, l'objectif est d'accumuler une somme de température suffisante pour garantir une croissance et un développement satisfaisant pour les légumineuses, notamment afin d'accroître leur sensibilité au gel (Sauzet et Landé 2012 ; Terres Inovia 2015) sans toutefois risquer une élongation de l'épicotyle du colza.

La densité de semis du colza demeure inchangée par rapport à une conduite classique, les associations colza-légumineuses sont donc des associations additives. Le mode de calcul des densités de semis des légumineuses varie suivant les expérimentateurs, en terme de kg/ha, de plantes/ha ou en % par rapport à la référence pure, selon les cas (sans pour autant préciser les PMG qui peuvent varier considérablement pour certaines espèces telles que la féverole par exemple). De plus, pour les mélanges commercialisés, les semenciers ne précisent pas toujours la répartition, en terme de nombre de grains, de chacune des espèces qui les composent. Une attention spéciale doit donc être apportée sur ce critère lors de l'interprétation des résultats de ces essais. Dans le cadre des projets CASDAR Picoblé et ALLIANCE, le

protocole reposait sur une densité de semis des légumineuses correspondant à 75% de la densité recommandée pour une culture pure de légumineuses.

Le mode de semis des associations est conditionné par le matériel disponible sur l'exploitation. Plusieurs configurations sont donc possibles : semis du colza et des légumineuses en plein sur le même rang, colza et légumineuses en rangs intercalés, colza et légumineuses à la volée, colza en rangs et légumineuses à la volée, etc.

(ii) Gestion du désherbage – programmes possibles sélectifs des légumineuses

La gestion du désherbage des adventices dicotylédones dans les parcelles de colza associé constitue un point délicat. En effet, les solutions les plus efficaces contre ces espèces sont des herbicides à appliquer en post-semis pré-levée ou en post-levée précoces (donc avant de pouvoir déterminer si les légumineuses produisent l'effet escompté sur les adventices). De plus, les herbicides les plus couramment employés ne sont pour la plupart pas sélectifs des légumineuses.

Dans le cas où un désherbage anti-dicotylédones est nécessaire, des applications d'herbicides de post-levée précoces (de type Novall, BASF AGRO) peuvent néanmoins être effectuées à demi-dose sans compromettre le développement des légumineuses. Les graminées se gèrent quant à elles de la même manière qu'en colza seul, indépendamment de la présence de légumineuses (Terres Inovia 2015).

2.3.4 Point sur les espèces de légumineuses candidates

Les différents dispositifs expérimentaux mis en place ces dernières années ont permis de faire un premier tri parmi les espèces de légumineuses candidates. Aujourd'hui, seules quelques espèces sont utilisées et commercialisées pour cet usage spécifique (souvent sous forme de mélanges) : le fenugrec, la lentille fourragère, la gesse fourragère, le trèfle d'Alexandrie et la vesce commune de printemps (ou pourpre). D'autres espèces, majoritairement destinées à d'autres usages, sont également utilisées à cette fin, c'est le cas notamment de la féverole de printemps, et du pois (fourrager ou protéagineux de printemps).

La sélection de variétés uniquement destinées à cet usage (notamment parmi les vesces et les trèfles d'Alexandrie) a également permis de disposer de variétés plus adaptées, notamment du point de vue de la sensibilité au gel et de la vitesse de croissance. La variabilité intra-spécifique du matériel génétique disponible doit ainsi être prise en compte lors du choix des légumineuses à introduire.

D'un point de vue général, le choix de l'espèce (et de la variété) ou du mélange d'espèces le plus approprié se heurte cependant à la difficulté d'appréhender la variabilité des réponses, du fait des interactions entre les conditions de milieu, la légumineuse choisie et les services écosystémiques recherchés. Ainsi, l'amélioration de la compréhension des mécanismes mis en jeu et l'identification de leurs déterminants est nécessaire afin de sélectionner l'espèce adéquate et la conduite technique à appliquer.

2.4 Conclusion partielle

L'idée d'introduire des légumineuses gélives s'est rapidement répandue au cours des dernières années. Compte-tenu de la difficulté à améliorer les performances agronomiques du colza (pression élevée des bioagresseurs, recours important à la fertilisation minérale), ces légumineuses offraient en effet des potentialités intéressantes pour limiter le recours aux intrants.

Toutefois, au moment de débiter cette thèse, le manque de connaissances scientifiques disponibles tant sur le plan de la quantification des performances que de la compréhension fine des mécanismes de fonctionnement et des déterminants qui les gouvernent rendait difficile la diffusion de cette innovation à une échelle large. De plus, dans l'optique d'établir des préconisations pour les agriculteurs, notamment sur le choix de l'espèce (et de la variété) ou du mélange d'espèces le plus approprié à un contexte donné, les interactions entre les conditions de milieu (pédoclimat et pratiques techniques), la légumineuse choisie et les services écosystémiques recherchés doivent être préalablement explicitées. Or, du fait de la complexité et de la multiplicité des services et des mécanismes en jeu, la compréhension de ces interactions est très délicate.

L'enjeu est donc d'identifier des déterminants génériques de ces mécanismes et des services écosystémiques qui en découlent, afin à la fois d'en améliorer notre compréhension et de pouvoir comparer efficacement les potentiels offerts par chacune des espèces candidates pour délivrer les services escomptés, tout en embrassant une gamme de conditions de milieu la plus large possible.

3. Mobiliser des concepts de l'écologie fonctionnelle

3.1 Différentes approches pour étudier les couverts plurispécifiques

La recherche sur les cultures plurispécifiques et en particulier sur les associations entre une culture de vente et une plante de service, se heurte à plusieurs difficultés. En effet, les mécanismes mis en jeu sont bien souvent nombreux et complexes (Malézieux *et al.* 2009), *a fortiori* lorsqu'on s'intéresse à une diversité de services écosystémiques potentiels. De plus, la productivité et le développement des espèces qui composent le couvert sont fortement dépendants des conditions de milieu (Vandermeer 1989). Ainsi, l'expérimentation factorielle, telle qu'elle est couramment pratiquée en agronomie pour étudier les associations entre plantes de service et culture de vente (Carof 2006 ; den Hollander *et al.* 2007b ; Amossé 2013), ne permet bien souvent pas de comprendre l'intégralité des interactions entre espèces, conditions de milieu et pratiques (Malézieux *et al.* 2009). En effet, cette approche qualifiée « d'**autoécologie** » (Figure 4) où l'objectif est de comprendre les exigences d'une espèce donnée vis-à-vis des facteurs biotiques et/ou abiotiques en mesurant un grand nombre de variables n'a qu'un pouvoir de généralité limitée (Garnier et Navas 2013 ; Keddy 1992).

Malézieux *et al.* (2009) proposent donc de recourir à des champs disciplinaires et des concepts nouveaux pour gérer cette complexité, que ce soit par l'intermédiaire de la modélisation (mais les connaissances sur les espèces candidates et les processus sont faibles dans le cas des associations colza-légumineuses) ou bien encore des concepts de l'écologie. **L'écologie fonctionnelle comparative** constitue une approche dont l'un des objectifs est de comprendre comment et pourquoi les espèces étudiées diffèrent suivant les environnements et comment elles interagissent (Garnier et Navas 2012). Cette approche, utilisée principalement dans les milieux très peu anthropisés (de Bello *et al.* 2010) a trouvé un écho de plus en plus important ces dernières années en agronomie, que ce soit pour traiter des prairies multispécifiques (Cruz *et al.* 2002 ; Duru *et al.* 2010), des adventices (Gardarin *et al.* 2010 ; Doisy *et al.* 2014), des couverts végétaux implantés durant l'interculture (Wilke and Snapp 2008 ; Tribouillois 2014) ou bien des plantes de service (Tixier *et al.* 2011 ; Damour *et al.* 2014 ; Tardy *et al.* 2015).

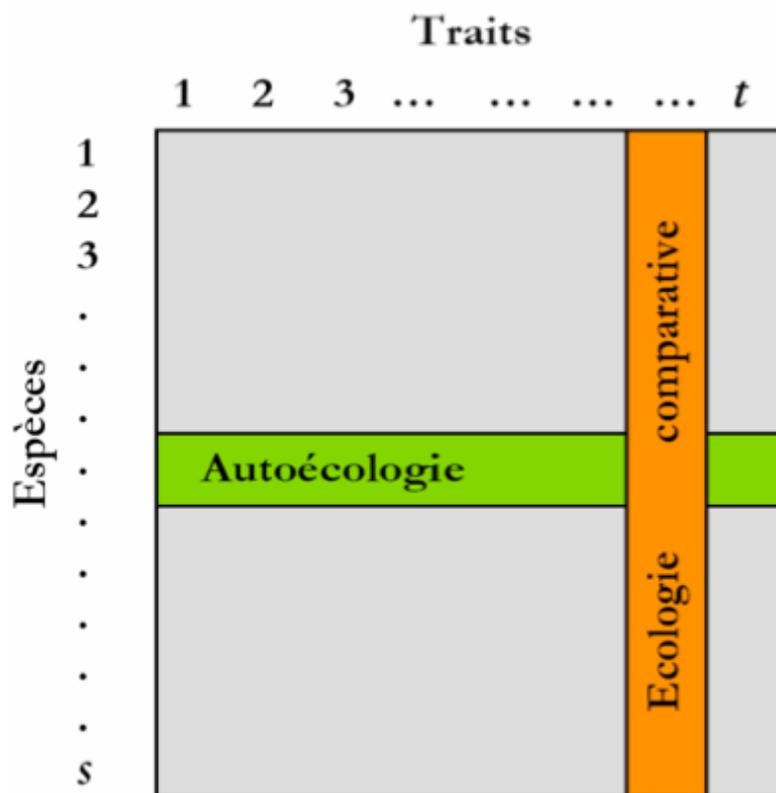


Figure 4 : Représentation de la matrice espèces X traits permettant de comparer les approches d'autoécologie et d'écologie comparative (Garnier et Navas 2013, d'après Keddy 1992)

3.2 Intérêt de mobiliser une démarche fonctionnelle

3.2.1 Ecologie fonctionnelle : définitions et concepts

Au contraire de l'autoécologie, cette démarche repose sur l'identification de quelques caractéristiques seulement (*i.e.* des traits fonctionnels), mesurées au niveau de l'individu et sur un grand nombre d'espèces, qui sont explicatifs des fonctions étudiées (Garnier et Navas 2013 ; Lavorel *et al.* 2007 ; Keddy 1992).

Ainsi, le manque de précision lié à la simplification des mécanismes est contrebalancé par le plus grand nombre d'espèces pour lesquelles ces traits sont mesurés (Duarte *et al.* 1995). Cette opposition entre, d'une part, la compréhension fine des mécanismes dans une gamme de conditions de milieu restreinte pour une espèce donnée, et d'autre part, une compréhension plus fruste mais dans une plus large gamme de conditions de milieu et pour un plus grand nombre d'espèces, constitue ainsi une différence fondamentale entre les approches d'autoécologie et d'écologie comparative (Duarte *et al.* 1995 ; Garnier et Navas 2013). L'enjeu constitue donc à trouver un équilibre entre ces deux approches.

Un trait fonctionnel est défini comme **une caractéristique morphologique, physiologique ou phénologique qui impacte la fitness (i.e. valeur sélective) indirectement via ses effets sur la croissance, la reproduction ou la survie** (Violle *et al.* 2007). Une caractéristique importante à prendre en considération est le fait que ces traits fonctionnels sont définis indépendamment du milieu dans lequel ils sont mesurés (Violle *et al.* 2007 ; Garnier et Navas 2013) et à partir de protocoles standardisés (Cornelissen *et al.* 2003). En revanche, la valeur (ou la modalité) prise par un individu pour un trait, l'attribut (Lavorel *et al.* 1997), peut varier d'un milieu à un autre (Garnier et Navas 2013). Toutefois, pour un trait donné, le classement des espèces ne varie peu ou pas d'un milieu à un autre, ce qui constitue une caractéristique particulièrement intéressante liée à l'utilisation de ce concept (Lavorel *et al.* 2007).

Un autre intérêt d'utiliser ces traits fonctionnels est de pouvoir les relier directement et simplement à une ou plusieurs fonctions (Violle *et al.* 2007 ; Lavorel *et al.* 2007) afin de pouvoir constituer des groupes fonctionnels d'espèces (Lavorel *et al.* 2007), homogènes notamment du point de vue de la stratégie d'acquisition des ressources et identifiables suivant quelques axes de variation ou dimensions (Garnier et Navas 2013 ; Westoby *et al.* 2002 ; Westoby 1998 ; Díaz *et al.* 2004 ; Grime 1974). Lavorel et Garnier (2002) distinguent ainsi la notion de « soft » traits (faciles à mesurer mais non explicitement reliés à un mécanisme fonctionnel), de celle des « hard » traits (plus difficiles à mesurer mais dont le rôle fonctionnel est direct).

Selon Garnier et Navas (2012), l'approche basée sur le concept de trait fonctionnel permet d'améliorer la compréhension des interactions (biotiques ou non) entre les organismes et leur environnement et des processus étudiés à des niveaux d'organisation supérieurs, notamment le fonctionnement des écosystèmes ou la fourniture de services écosystémiques, particulièrement quand ils sont multiples (Storkey *et al.* 2015). En effet, ces derniers, bien que très dépendants des facteurs abiotiques, sont également modulés par la diversité fonctionnelle des communautés, c'est à dire, la valeur, la gamme et l'abondance relative des traits fonctionnels dans l'écosystème considéré (Díaz *et al.* 2007).

L'établissement de groupes fonctionnels d'espèces suggère également que ces dernières présentent des réponses communes à des conditions de milieu données mais également des effets communs sur l'écosystème (Lavorel et Garnier 2002). Ainsi, les traits impliqués dans ces deux cas de figure sont qualifiés respectivement de traits de réponse et de traits d'effets (Lavorel et Garnier 2002 ; Violle *et al.* 2007). Toutefois, la distinction entre ces deux catégories est parfois délicate car de nombreux traits ont à la fois des fonctions de réponse et d'effets (Wilke and Snapp 2008). Cette notion de réponse des groupes fonctionnels à des

conditions de milieu données constitue une caractéristique intéressante en agronomie. En effet, les gradients de condition de milieu (Garnier et Navas 2013), et les interactions entre ces gradients et les communautés végétales, constituent une problématique majeure pour aboutir à plus de généralité. Dans le cas des systèmes agricoles, et en particulier pour les grandes cultures, l'action de l'homme sur l'agroécosystème, via les techniques mises en œuvre sur la parcelle, revient en fait à la modification des gradients de facteurs de milieu (Garnier et Navas 2013) et aboutit ainsi à l'application de différents filtres environnementaux successifs (Lavorel et Garnier 2002 ; Garnier et Navas 2012). La compréhension de la réponse des communautés à ces différents filtres (établissement de groupes fonctionnels de réponse, Cruz *et al.* 2002) pourrait ainsi permettre d'améliorer la compréhension de la structure des peuplements végétaux en réponse aux conditions de milieu (*a fortiori* dans le cas des cultures plurispécifiques). Au contraire, l'identification des effets des communautés d'espèces sur les propriétés de l'agroécosystème (établissement de groupes fonctionnels d'effet, Cruz *et al.* 2002) est quant à elle fondamentale dans l'optique de comprendre les déterminants de la fourniture de services écosystémiques (Lavorel et Grigulis 2012 ; de Bello *et al.* 2010).

3.2.2 Quels apports de l'écologie fonctionnelle pour l'agronome ?

Cette démarche, qui a été largement utilisée dans des milieux naturels ou semi-naturels a également été mobilisée pour étudier des systèmes à vocation agricole, plus anthropisés, tels que les prairies par exemple (Cruz *et al.* 2002 ; Duru *et al.* 2010 & 2015). Les objectifs assignés à l'utilisation de cette démarche sont multiples : compréhension des déterminants de la résistance au stress hydrique (Volaire 2008), au pâturage (Díaz *et al.* 2001) ou bien compréhension de la réponse à des gradients de fertilité (Cruz *et al.* 2002). La caractérisation de la diversité fonctionnelle et des pratiques mises en œuvre permet finalement de proposer des pistes de réflexion pour améliorer la gestion de ces milieux suivant les usages attendus (Ansquer *et al.* 2004 ; Cruz *et al.* 2002). Plus récemment, cette approche fonctionnelle a également été utilisée pour comprendre les déterminants de l'obtention de services écosystémiques (notamment leurs effets sur le recyclage de l'azote) et bâtir des règles d'assemblage d'espèces dans le cas de couverts végétaux (Tribouillois *et al.* 2015a & 2015b ; Wilke et Snapp 2008 ; Storkey *et al.* 2015).

Lorsqu'on s'intéresse aux plantes de service, l'utilisation d'une approche fonctionnelle ou d'une démarche analogue est également un moyen d'aider à la sélection d'espèces candidates suivant des caractéristiques fonctionnelles *a priori* intéressantes pour les services escomptés

(Damour *et al.* 2014 ; den Hollander *et al.* 2007a ; Tardy *et al.* 2015). La caractérisation fonctionnelle des espèces cultivées en pur peut ainsi être un point de départ pour modéliser le fonctionnement de couverts plurispécifiques (Tixier *et al.* 2011 ; Storkey *et al.* 2015 ; Tribouillois *et al.* 2015b).

Enfin, la description de la structure fonctionnelle de communautés, c'est à dire la distribution des traits au sein d'une communauté (Garnier et Navas 2013), en mesurant préalablement sa diversité fonctionnelle (Díaz *et al.* 2007), permet de passer de l'utilisation des traits à l'échelle de la plante à celle de la communauté, ce qui est particulièrement intéressant pour étudier des peuplements plurispécifiques.

3.2.3 Quels traits peuvent être mobilisés?

Plusieurs questionnements, particulièrement prégnants quand on s'intéresse aux couverts plurispécifiques et à l'utilisation de plantes de service, peuvent être traités en adoptant une approche fonctionnelle. L'identification des traits d'effet des plantes de service candidates, qui déterminent leur capacité à rendre les services agronomiques et écosystémiques (lutte contre les bioagresseurs, fourniture d'azote organique, etc), pourrait ainsi permettre de comprendre les performances enregistrées et d'aider à choisir l'espèce (ou le groupe fonctionnel) la plus intéressante pour les objectifs considérés. L'identification des traits de réponse des plantes de service à des conditions de milieu données serait également très intéressante dans l'optique de raisonner le choix de l'espèce en fonction de l'environnement. Par exemple, la connaissance de la réponse des légumineuses au gradient de disponibilité en azote paraît fondamentale dans le cas de couverts plurispécifiques légumineuses-non légumineuses cultivés en parcelles agricoles (car le niveau de disponibilité en azote conditionne le fonctionnement de la légumineuse et constitue un levier technique facilement mobilisable par l'agriculteur).

Ainsi, les traits permettant de comprendre les différences de stratégie d'acquisition et d'utilisation des ressources (notamment l'azote et la lumière) par les espèces sont *a priori* très intéressants, car reliés à la notion de compétitivité. Ces traits ont été largement étudiés en écologie et ont permis de décrire ces stratégies en positionnant les espèces étudiées suivant plusieurs dimensions, ou axes de spécialisation, traduisant des stratégies fonctionnelles différentes (Garnier et Navas 2012 ; Westoby 1998 ; Grime 1979 ; Pierce *et al.* 2013 ; Wright *et al.* 2004). Parmi eux, certains traits foliaires sont particulièrement explicatifs : la surface foliaire spécifique (SLA), le contenu en matière sèche (LDMC), le contenu en azote (LNC) ou

la surface d'une feuille (LA). Des traits mesurés à l'échelle de la plante entière sont également intéressants, notamment la hauteur (Westoby *et al.* 2002 ; Cornelissen *et al.* 2003).

L'une des limites de l'utilisation *in extenso* de cette démarche en agronomie, *a fortiori* lorsqu'on s'intéresse aux grandes cultures, réside dans le fait que les combinaisons de traits qui permettent de comprendre les stratégies d'acquisition des ressources en écologie ne sont pas toujours suffisantes lorsqu'on s'intéresse aux espèces issues de sélection, notamment lorsqu'on veut les classer suivant les services qu'elles sont susceptibles de rendre (Tribouillois *et al.* 2015a ; Tardy *et al.* 2015). De plus, dans les milieux très anthropisés tels que les parcelles agricoles sur lesquelles des cultures annuelles sont cultivées, les facteurs environnementaux peuvent faire varier ces classements et doivent donc être pris en compte (Tribouillois *et al.* 2015b). Ainsi, d'après Cruz *et al.* (2002), l'approche fonctionnelle est utile dans ces cas d'étude mais nécessite de considérer à la fois des traits ayant une signification fonctionnelle mais aussi agronomique, en considérant les pratiques techniques comme des filtres environnementaux et les valeurs d'usage agricoles.

3.3 Conclusion partielle

L'apport des concepts de l'écologie fonctionnelle pourrait ainsi être utile pour appréhender certaines problématiques inhérentes à notre objet d'étude. En effet, l'identification de traits fonctionnels des légumineuses candidates, qui déterminent leurs performances de manière générique, permettrait d'améliorer notre prise en compte de la variabilité des conditions de milieu et de leur interaction avec les mécanismes mis en jeu, notamment en mobilisant les concepts de réponse et d'effet. De plus, l'utilisation de ces traits fonctionnels pourrait également faciliter le choix de la légumineuse la plus appropriée pour un milieu donné et un ou des services écosystémiques recherchés.

Toutefois, il est probablement nécessaire de trouver un juste compromis entre la nécessité de comprendre finement les processus et les mécanismes qui déterminent l'obtention des services écosystémiques et celle d'identifier des traits fonctionnels explicatifs simples et génériques permettant de généraliser nos conclusions à une gamme plus diversifiée de conditions de milieu.

PROBLEMATIQUE ET DEMARCHE ADOPTEE

1. Problématique et questions de recherche

Face à la nécessité de repenser les systèmes de culture afin de répondre aux objectifs de réduction de l'utilisation des intrants chimiques tout en assurant une productivité élevée, l'amélioration des performances de la culture de colza, particulièrement consommatrice d'intrants de synthèse, est un enjeu majeur. L'idée d'associer des légumineuses gélives est une des voies permettant de répondre potentiellement à ces objectifs ambitieux. Les expériences passées ont ainsi permis de mettre en avant des résultats prometteurs quant à la possibilité de réduire l'utilisation des intrants sans obérer la productivité de la culture. Cependant, au moment de débiter ce travail, peu de références scientifiques sont disponibles quant aux performances obtenues et aux mécanismes de compétition interspécifiques qui interviennent.

L'objectif de ce travail est donc de **comprendre le fonctionnement des associations colza-légumineuses gélives** et **d'identifier des caractéristiques des plantes de service** explicatives des mécanismes de compétition/facilitation qui s'exercent et des services écosystémiques rendus. Le préalable consiste à **évaluer le potentiel de ces plantes de services à fournir ces services**. Dans le cadre de cette thèse, nous nous proposons d'en étudier deux en particulier (Figure 5).

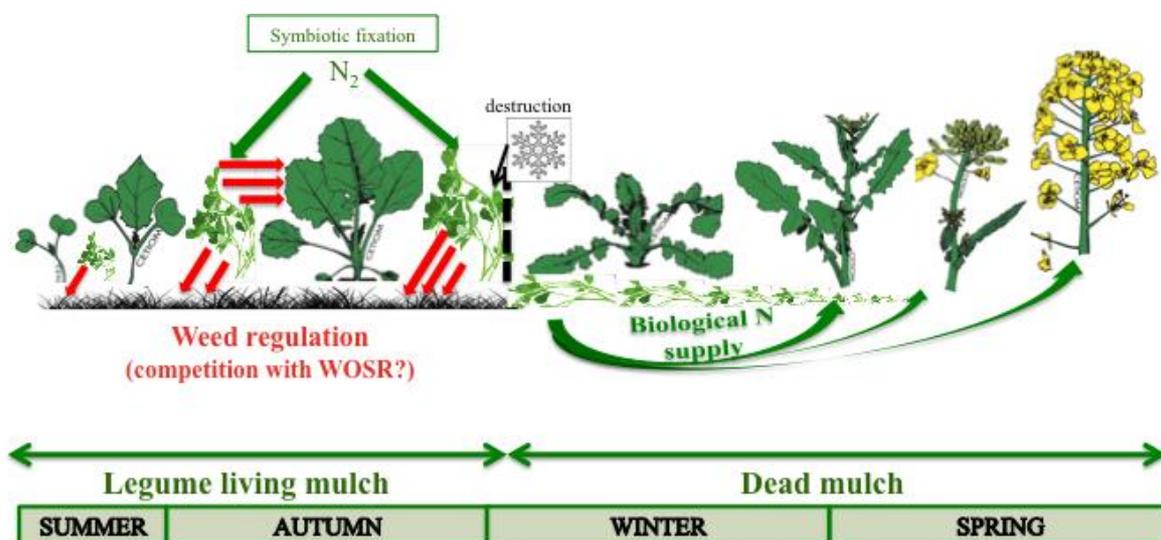


Figure 5 : Schéma de fonctionnement des associations colzas-légumineuses

Le premier concerne **la régulation des adventices**. On suppose en effet que l'introduction de légumineuses gélives en tant que plante de service permet d'accroître la compétition exercée

vis-à-vis des adventices via différents mécanismes. Cela nous amène à poser **la première question de recherche (QR1)** :

- **QR1 : Quelles sont les conséquences de l'introduction de légumineuses gélives sur le niveau d'infestation en adventices et les performances du colza ? Comment s'exerce la compétition entre culture de vente, plante de service et adventices en automne ?**

Hypothèse 1 : La présence d'une légumineuse gélive en tant que plante de service permet de réduire significativement le niveau d'infestation en adventices sans toutefois altérer les performances de la culture de vente. Le choix de l'espèce de légumineuse conditionne l'efficacité de réduction de la quantité d'adventices.

Hypothèse 2 : La compétition entre les espèces composant le couvert colza-légumineuse-adventice s'exerce simultanément via différents mécanismes. Le début du cycle automnal constitue en particulier une période décisive permettant de comprendre les performances obtenues *in fine*.

Hypothèse 3 : Le niveau d'azote minéral disponible au moment du semis constitue une condition de milieu fondamentale pour comprendre les relations de compétition entre espèces en automne.

Le second service écosystémique étudié dans le cadre de ce travail concerne **l'effet des plantes de service sur le fonctionnement azoté de l'association**. En effet, après leur destruction au cours de l'hiver, la minéralisation des résidus de ces légumineuses, riches en azote et laissés à la surface du sol sous forme de mulch, est susceptible de modifier la disponibilité en azote minéral et pourrait potentiellement bénéficier au colza, ce dernier ayant de forts besoins azotés au printemps. De plus, d'autres effets de facilitation (complémentarité des systèmes racinaires entre le colza et la légumineuse, amélioration de l'exploration racinaire du colza, effet du mulch sur la température et l'humidité du sol) ayant des conséquences sur la nutrition azotée de la culture de vente ont également été mis en évidence dans le cadre d'associations avec des légumineuses et/ou de la présence de mulchs à la

surface du sol. Ces mécanismes nous amènent à poser la **seconde question de recherche (QR2)** :

- **QR 2 : Y-a-t-il un effet bénéfique de la présence des résidus de légumineuses sur la nutrition azotée du colza au printemps ?**

Hypothèse 4 : En situation d'association, le colza absorbe plus d'azote qu'en culture pure.

Hypothèse 5 : La minéralisation des résidus de légumineuses au printemps constitue une source d'azote accessible au colza au cours du printemps.

Hypothèse 6 : D'autres mécanismes de facilitation, tels que la complémentarité des systèmes racinaires ou l'amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'azote, s'exerçant pendant ou après la phase de croissance simultanée, sont susceptibles d'intervenir et d'accroître la quantité d'azote absorbée par le colza à la fin de la floraison.

La compréhension du fonctionnement du couvert ainsi que des mécanismes mis en jeu dans l'obtention des services permettra de mettre en avant certaines espèces ou mélanges d'espèces plus ou moins intéressants, suivant les conditions de milieu et les services considérés. L'adoption d'une démarche fonctionnelle, et son adaptation à un cas d'étude « agronomique », est supposée permettre de comprendre les mécanismes et les performances obtenues en identifiant des traits fonctionnels des légumineuses, explicatifs et plus génériques, permettant d'extrapoler ces conclusions à d'autres conditions de milieu et à de nouvelles espèces de plantes de service candidates. Cela nous amène ainsi à poser la **troisième question de recherche (QR3)** :

- **QR 3 : Existe-t-il des traits des légumineuses permettant de comprendre les performances obtenues et les mécanismes impliqués dans des conditions de milieu variées ?**

Hypothèse 7 : Certains traits d'effet des légumineuses permettent de comprendre les mécanismes mis en jeu et les services écosystémiques rendus.

Hypothèse 8 : La disponibilité initiale en azote constitue un filtre environnemental déterminant. L'identification des traits de réponses des légumineuses à ce filtre permet d'aider au choix des espèces les plus adaptées suivant les caractéristiques du milieu.

Hypothèse 9 : L'établissement de profils fonctionnels, propres à chaque espèce candidate, concourt finalement à aider au choix de l'espèce et de la conduite technique à appliquer pour un milieu et des objectifs donnés.

2. Présentation générale du dispositif expérimental mis en place

Afin de faciliter la compréhension générale du dispositif mis en place à Grignon, nous présentons dans cette partie, de manière synthétique, la démarche expérimentale mise en place, en cohérence avec les questions de recherche et les hypothèses formulées précédemment. Le détail du protocole et des mesures effectuées est donné dans les chapitres correspondants.

2.1 Démarche expérimentale

2.1.1 Objectifs

L'objet des deux premières questions de recherche est de mesurer et de comprendre les effets des légumineuses gélives sur les performances de la culture de vente du point de vue de la gestion des adventices et du fonctionnement azoté de l'association. Pour cela, nous nous sommes appuyés sur un dispositif expérimental analytique mettant en œuvre différentes espèces de légumineuses en association avec du colza et un protocole de mesures permettant (i) d'évaluer le potentiel des légumineuses pour fournir les services écosystémiques étudiés et (ii) de mesurer les processus et les mécanismes de compétition pour lesquels nous avons émis des hypothèses. L'autre objectif assigné à ce dispositif est de permettre l'identification des traits fonctionnels des légumineuses permettant de comprendre la réponse du couvert à un gradient de conditions de milieu (en faisant l'hypothèse que la disponibilité initiale en azote est particulièrement importante de ce point de vue) et son effet sur la fourniture des services escomptés. Pour cela, une gamme diversifiée d'espèces candidates, en termes de caractéristiques supposées explicatives a été mobilisée.

Le dispositif expérimental mis en place dans le cadre de cette thèse sur le domaine INRA de Grignon vise ainsi à répondre simultanément aux trois questions de recherche exposées précédemment. Pour cela, le même dispositif a été dupliqué en deux sous-parties, identiques du point de vue des facteurs et modalités étudiés, et adapté à l'étude des deux services écosystémiques recherchés.

La première partie (« **partie adventices** ») vise à comprendre les mécanismes de compétition qui s'exercent entre les espèces pendant la phase de croissance simultanée et à mesurer les performances obtenues en terme de régulation des adventices. Sur cette partie, afin de maximiser la compétition exercée par les adventices, et d'avoir une population homogène sur la totalité de l'essai, un cocktail de huit espèces d'adventices a été semé. Aucun herbicide n'a été appliqué sur ce dispositif.

La seconde partie (« **partie azote** ») a pour objectif de quantifier le bénéfice lié à la présence de légumineuses en tant que mulch vivant (living mulch), puis mort (dead mulch), sur la nutrition azotée du colza. Sur cette partie, contrairement à la précédente, aucune adventice n'a été semée et les adventices « spontanées » ont été détruites. Les mesures principales ont été effectuées en entrée et en sortie d'hiver, ainsi qu'à la fin de la floraison et ont eu pour objectif de quantifier, à ces stades-clés, les quantités d'azote contenues dans chacun des compartiments (plante et sol).

Enfin, au cours de la deuxième année d'expérimentation, des parcelles élémentaires de légumineuses cultivées en pur ont également été mises en place afin de mesurer des traits fonctionnels foliaires suivant les protocoles normalisés (Cornelissen *et al.* 2013) dans des conditions de milieu non limitantes.

Le plan du dispositif expérimental utilisé est donné en Annexe 3.

2.1.2 Organisation générale

Deux facteurs ont été étudiés sur les deux dispositifs expérimentaux :

- Le facteur légumineuse associée (« LLM treatment ») comporte 10 modalités de colza associé à une ou plusieurs espèces de légumineuse et un témoin correspondant à un colza seul.
- Le facteur azote disponible au semis (« soil mineral nitrogen content », SMNC) comporte deux modalités : une première sur laquelle aucun apport d'azote minéral est effectué au moment du semis, elle correspond à une situation de faible disponibilité initiale en azote ("low SMNC"). Le niveau d'azote minéral disponible correspond donc au reliquat d'azote minéral sur la parcelle. Les précédents culturaux (céréales à paille) et la conduite technique appliquée sur la culture précédente ont été choisis de façon à minimiser ce niveau d'azote

disponible au moment du semis du colza. L'autre modalité correspond à une situation de forte disponibilité en azote (« high SMNC »). Sur cette partie, 100 kg N.ha⁻¹ (sous forme d'ammonitrate) ont été apportés afin de simuler de forts reliquats azotés. Ces situations sont notamment rencontrées en cas d'épandages d'effluents d'élevage (30% de parcelles de colza ont reçu un apport organique en 2011, AGRESTE 2014) ou de précédents culturaux dont les résidus de culture sont riches en azote (légumineuses notamment), cependant les quantités d'azote minéral immédiatement disponibles au moment du semis du colza dans ces situations sont probablement souvent inférieures à cette valeur.

Chaque modalité a été répétée trois fois. Les parcelles élémentaires ont été organisées en split plot, randomisées pour le facteur « légumineuse associée ». Pour les deux années d'expérimentation, le dispositif comprenait donc deux fois 66 micro-parcelles (parties « adventices » et « azote »). Chaque parcelle comporte deux trains de semis correspondant à deux largeurs de semoir (2 x 1.75m) sur une longueur de 12 mètres. Les deux parcelles choisies pour les deux années d'expérimentation, contigües, présentent des caractéristiques pédologiques voisines.

2.1.3 Choix des légumineuses implantées

Les projets passés et en cours concernant les associations de légumineuses de service et de colza (Valantin-Morison *et al.* 2011 & 2012 ; Landé et Sauzet 2011 ; Cadoux *et al.* 2015) ont permis de déterminer les premières clés de choix des espèces à associer. La gélivité est ainsi apparue comme un critère très important à considérer dans l'optique de maximiser les bénéfices. En effet, l'intérêt de cette destruction précoce de la plante de service est lié au fait que la phase de croissance simultanée de la légumineuse et du colza ne correspond pas aux principales phases d'établissement des composantes du rendement de la culture de vente. De plus la destruction des légumineuses au cours de l'hiver permettrait également à l'azote fixé et/ou absorbé au cours de l'automne d'être minéralisé au cours du printemps suivant et donc de bénéficier au colza. Cependant, la gélivité des légumineuses est un caractère difficile à appréhender tant les interactions entre espèces, stades phénologiques et conditions climatiques sont fortes (Brandsaeter *et al.* 2008). Nous nous sommes donc basés principalement sur les connaissances expertes acquises au cours des projets précédents ainsi que sur celles du semencier qui a fourni les semences de légumineuses (Caussades Semences) pour sélectionner des espèces *a priori* gélives dans des conditions climatiques moyennes de Grignon.

Dans l'objectif d'adopter une démarche fonctionnelle, le choix des espèces candidates a également été effectué en veillant à extrémiser la gamme d'attributs pour des caractéristiques qui nous paraissaient *a priori* intéressantes (Figure 6) et donc en maximisant le nombre d'espèces, dans la limite des contraintes techniques et humaines (surface et personnel disponibles pour l'expérimentation).

Nous avons finalement retenu sept espèces candidates (Annexe 4) :

- le fenugrec *Trigonella foenum-graecum*, cv. Fenusol (Fenugreek)
- la féverole de printemps *Vicia faba*, cv. Espresso (Faba bean)
- la gesse *Lathyrus Sativus*, cv. Fertigess (Grass pea)
- la lentille fourragère *Lens culinaris*, cv. Fentille (Lentil)
- le pois fourrager de printemps *Pisum sativum*, cv. Rif (Field pea)
- le trèfle d'Alexandrie *Trifolium alexandrinum*, cv. Tigri (Berseem clover)
- la vesce commune de printemps *Vicia sativa*, cv. Marianna (Common vetch)

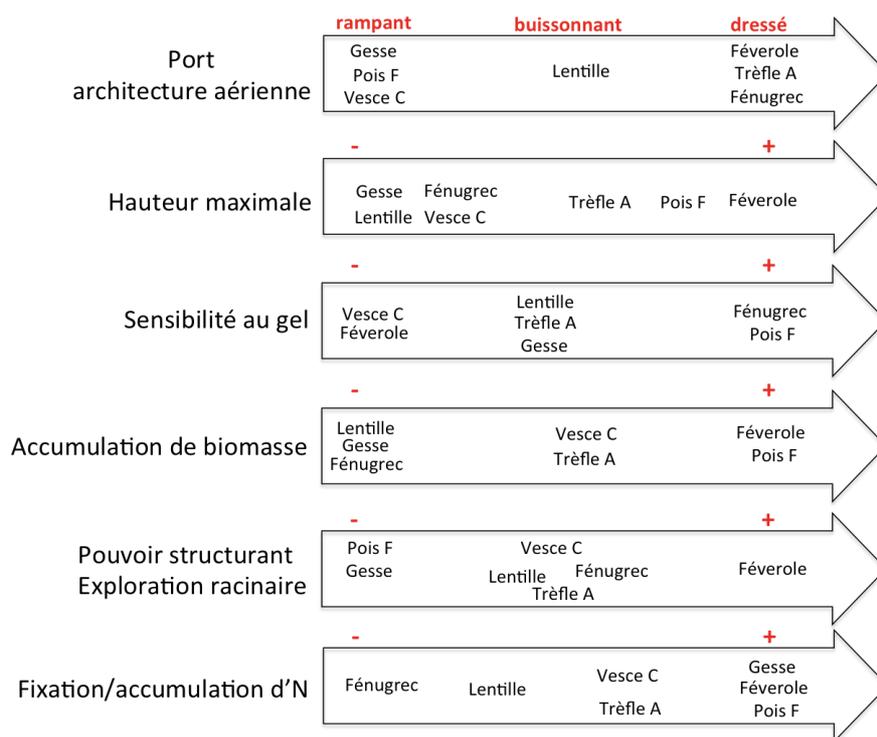


Figure 6 : Classement qualitatif des espèces de légumineuses candidates suivant plusieurs caractéristiques jugées intéressantes *a priori* (effectué à dire d'experts)

Au cours de la première année d'expérimentation, une variété de luzerne méditerranéenne annuelle a également été testée (cv. Giulia). En raison de son manque de gélivité (malgré un hiver 2012-2013 pourtant très froid), cette espèce a finalement été abandonnée l'année

suivante. Les résultats obtenus en 2012-2013 ne sont donc pas inclus dans les analyses présentées ci-après.

Trois modalités de mélanges de légumineuses ont également été testées. En effet, l'augmentation de la diversité est fréquemment mise en avant dans l'optique de maximiser les bénéfices écosystémiques. Dans le cadre des couverts végétaux semés en interculture, Tribouillois *et al.* (2015b) ont ainsi démontré que des mélanges bispécifiques de plantes de service permettaient de satisfaire plusieurs services écosystémiques faisant pourtant appel à des mécanismes parfois antagonistes, particulièrement quand la disponibilité en azote est faible. De plus, la maximisation de la diversité fonctionnelle ou de la divergence fonctionnelle des traits permet également de maximiser les phénomènes de complémentarité de niche (Gaba *et al.* 2014).

Le choix d'implanter des mélanges de légumineuses repose également sur la volonté de tester, *a priori*, des assemblages de traits (choisis pour la diversité des attributs) afin d'en mesurer les performances. En effet, l'établissement de règles d'agrégation de traits à l'échelle d'une communauté d'espèces afin d'en prédire les performances est de première importance dans l'objectif de constituer des mélanges d'espèces adaptés aux conditions de milieu et aux services écosystémiques recherchés. Enfin, deux des mélanges d'espèces testés correspondent aussi à des modalités déjà implantées dans des essais antérieurs ou présents (essais CASDAR PicoBlé et Alliance, essais CLE CETIOM). C'est le cas des mélanges lentille-féverole et lentille-gesse-fenugrec. Nous avons ensuite construit un troisième mélange, vesce-féverole-trèfle d'Alexandrie en choisissant des espèces complémentaires du point de vue de leurs caractéristiques architecturales (hauteur, port et système racinaire).

2.1.4 Semis d'adventices

Le choix des espèces d'adventices semées (partie adventices uniquement) repose sur les observations réalisées dans le cadre du réseau « Biovigilance flore » sur des parcelles de colza. Ainsi, les espèces ont été choisies parmi les plus fréquemment observées dans ce réseau (Fried et Reboud 2007). Le choix repose également sur la volonté de maximiser la diversité fonctionnelle des adventices en choisissant des espèces dont les caractéristiques phénologiques et morphologiques sont variées. Du fait du manque de disponibilité pour certaines d'entre elles, nous avons finalement retenu huit espèces (fournies par la société Arbiotech) : *Geranium dissectum*, *Galium aparine*, *Papaver rheas*, *Capsella bursa pastoris*, *Matricaria chamomilla*, *Alopecurus myosuroides*, *Sinapis arvensis* et *Veronica persica*.

L'objectif principal est de disposer d'une population homogène d'adventices sur tout le dispositif, représentative de la communauté d'espèces que l'on peut couramment rencontrer dans des parcelles de colza. Nous avons choisi de viser un objectif de 50 plantes levées par m² au total. Cette densité était sensée garantir une compétition forte des adventices vis-à-vis du colza et des légumineuses, sans toutefois que la compétition entre espèces d'adventices ne soit trop importante. Les doses de semis calculées reposent sur les préconisations données par le fournisseur qui tiennent compte d'un pourcentage de germination de 50% et d'un taux de pertes de 50% dû aux problèmes de levée (fonte de semis, difficulté de maintenir une profondeur de semis optimale) et de prédation. Ces doses de semis ont été ensuite réduites, au prorata du nombre d'espèces semées (objectif de 50 plantules par m² au total). Ce mode de calcul, qui repose sur des approximations importantes, n'a toutefois pas pu être précisé par les tests de germination préalables, du fait de la difficulté à faire germer la plupart des espèces au laboratoire.

Compte-tenu des abondances d'adventices semées, mesurées en entrée d'hiver 2012-2013 (voir chapitre 1), bien plus importantes que celles escomptées (y compris en tenant compte de l'abondance des espèces spontanées), la dose de semis d'adventices a été réduite de moitié en 2013-2014. Toutefois, cette réduction n'a pas permis de réduire l'abondance des espèces d'adventices semées de manière suffisante.

2.2 Itinéraire technique mis en oeuvre

2.2.1 Implantation de l'essai

Avant l'établissement des essais, un labour ainsi qu'un passage de herse rotative ont été effectués afin de préparer le lit de semences. Les semis du colza, des légumineuses et des adventices (pour la partie adventices) ont été réalisés le 23 août 2012 et 22 août 2013. Les légumineuses ont tout d'abord été semées à la volée puis recouvertes par un passage d'outil superficiel (herse alternative) sur une profondeur d'environ 5 cm. Les doses de semis des légumineuses correspondent à 75% de la dose recommandée en pur par le semencier. Cette densité de semis est la même que celle préconisée et utilisée au cours des projets CASDAR PicoBlé et ALLIANCE, afin notamment de maximiser la compétition exercée par le couvert sur les adventices (Table 1).

Table 1 : Correspondance entre la dose de semis recommandée et la densité de semis des légumineuses

	Dose de semis recommandée en pur (kg/ha)	PMG	Nombre de pieds semés par m ²
fenugrec	35	13.3	197
féverole	170-180	435	30
gesse	50-60	174	24
lentille	35-40	21.5	131
pois fourrager	100-120	38	38
trèfle d'Alexandrie	15-20	3.1	423
vesce	50-60	59	70

Le colza (*Brassica napus*, cv Alpaça) a ensuite été semé en ligne, à la densité de 50 pieds par m², conformément aux pratiques locales. Cette variété, lignée précoce à floraison, a été choisie car elle offrait un potentiel de rendement satisfaisant parmi les lignées, est peu sensible à l'élongation (caractéristique importante en cas de semis avec plante de service et/ou en cas de forte disponibilité en azote minéral à l'automne) et très peu sensible au phoma (TPS groupe I) et à la cylindrosporiose. Les adventices ont finalement été semées à la volée (partie « adventices » uniquement). Pour la modalité forte disponibilité initiale en azote, 100 kgN.ha⁻¹ ont été apportés sous forme d'ammonitrate juste après le semis.

Les autres interventions culturales sont détaillées dans l'Annexe 5. Il est important de noter que des apports d'eau sous forme d'irrigation par aspersion ont été effectués au cours deux années juste après le semis, ce qui a permis d'assurer une levée homogène et une dissolution rapide de l'azote minéral apporté. En 2013-2014, l'hiver anormalement doux et humide n'a pas permis de détruire l'ensemble des légumineuses (seul le pois a été totalement détruit, la vesce et le trèfle d'Alexandrie, partiellement), un passage d'herbicide anti-dicotylédones (Lontrel, 0.4 L.ha⁻¹) a donc été réalisé en sortie d'hiver.

2.2.2 Gestion de la fertilisation azotée sur la partie azote

L'objectif général sur la partie azote est de quantifier les flux d'azote dans chaque compartiment à la fin de la floraison afin de déterminer le potentiel surplus d'azote absorbé par le colza dans les modalités associées par rapport au colza seul. Une des possibilités afin de quantifier les flux d'azote organique minéralisé consiste fréquemment à ne pas apporter de fertilisation minérale, toutefois, dans le cas de matière organique sous forme de mulch, les apports azotés pourraient modifier la dynamique de minéralisation des résidus. Ainsi, afin de nous rapprocher des conditions rencontrées en parcelles agricoles, et de ne pas modifier les

mécanismes susceptibles d'intervenir, un apport d'azote minéral a été effectué au printemps. Cependant, ne sachant pas *a priori* quelles sont les quantités d'azote restitué par les résidus de légumineuses et absorbé par le colza (c'est l'un des objectifs de cet essai), nous avons choisi de sous-fertiliser la culture sur chacune des modalités afin de réduire les risques de pertes, en apportant toutefois une dose d'azote commune au sein d'une même modalité de disponibilité d'azote au moment du semis. Le mode de calcul de la fertilisation azotée repose sur la méthode du bilan azoté, basée sur les pesées de biomasse aérienne effectuées en entrée et sortie d'hiver (Reau et Wagner 1998). Nous avons considéré un objectif de rendement de 38 qx.ha⁻¹, un reliquat post-récolte de 30 kgN.ha⁻¹ ainsi qu'une minéralisation printanière de 50 kgN.ha⁻¹ (conformément à ce qui est couramment pratiqué dans la région). Afin de faire la distinction entre l'azote issu de la minéralisation de la matière organique du sol et des résidus de culture, de celui des feuilles mortes, perdu par le colza à partir de la fin de l'automne et réabsorbé au cours du printemps, ces dernières ont donc été prélevées périodiquement. Ainsi, le calcul du bilan azoté a été modifié afin de ne pas prendre en compte ces quantités dans le calcul de la dose à apporter. A partir de cette dose théorique calculée, nous avons finalement retranché la valeur maximum d'azote absorbé par les légumineuses en entrée d'hiver (toutes espèces confondues et pour une même modalité d'azote disponible initialement), en faisant l'hypothèse que cette dernière constitue le surplus maximum d'azote absorbé par les colzas associés par rapport au colza seul.

Enfin, la présence du mulch à la surface du sol est susceptible de modifier la dynamique d'absorption d'azote issu de la fertilisation. Ces mécanismes peuvent différer suivant la biomasse et les caractéristiques physico-chimiques du mulch. Afin d'appréhender les interactions entre les quantités d'azote issu de la minéralisation des résidus de légumineuse et les potentiels effets indirects du mulch sur l'efficacité de la fertilisation azotée, nous avons choisi d'apporter cette fertilisation sous la forme d'azote marqué ¹⁵N. Ainsi, à la fin de la floraison du colza, l'azote contenu dans chaque compartiment a pu être distingué selon son origine: i) azote issu de la fertilisation ou ii) azote issu de la minéralisation des résidus de légumineuse et de la matière organique du sol.

3. Organisation du manuscrit

La démarche analytique adoptée au cours de ce travail (Figure 7) et l'organisation de ce manuscrit reposent sur un traitement analogue et symétrique des deux services écosystémiques étudiés, basés chacun sur un dispositif ("adventices" ou "azote"). La première étape vise à caractériser les performances obtenues pour chaque modalité en termes respectivement de régulation des adventices et d'absorption du colza en azote. La seconde étape vise à analyser les mécanismes qui interviennent dans l'obtention de chaque service et à en comprendre les déterminants, notamment en identifiant des traits fonctionnels explicatifs. Enfin, la dernière étape permet de synthétiser l'ensemble de ces informations en établissant les profils fonctionnels pour chaque légumineuse candidate, pour les fonctions et les services écosystémiques étudiés.

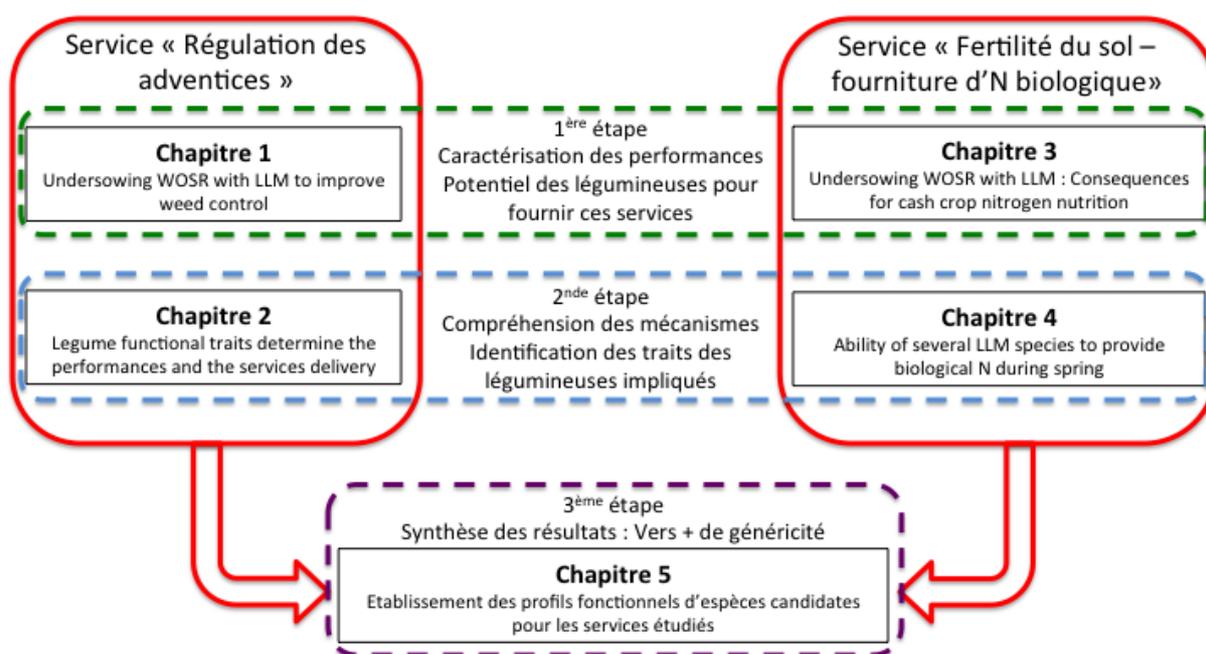


Figure 7 : Démarche générale adoptée au cours de la thèse et organisation du manuscrit

Le **chapitre 1**, intitulé " Undersowing winter oilseed rape with frost-sensitive legume living mulches to improve weed control " (article publié dans la revue *European Journal of Agronomy*) traite ainsi spécifiquement des performances obtenues pour chaque modalité de colza associé en terme de régulation des adventices, il répond donc à la première question de recherche. Ce chapitre s'appuie sur les mesures effectuées en entrée d'hiver sur la partie adventices du dispositif expérimental mis en place à Grignon. Le **chapitre 2**, intitulé " The functional traits of frost-sensitive legume living mulches determine their performance and the

weed regulation service they provide to WOSR in autumn " (en préparation pour une soumission dans la revue *European journal of agronomy*) s'appuie également sur la partie adventices du dispositif expérimental. Il traite des mécanismes de compétition qui s'exercent entre les différentes espèces au cours de l'automne et vise à identifier les traits fonctionnels des légumineuses, explicatives des performances enregistrées. Le chapitre 2 vise donc à répondre à la fois aux questions de recherche 1 et 3.

Le **chapitre 3**, intitulé " Undersowing winter oilseed rape with frost-sensitive legume living mulch : Consequences for cash crop nitrogen nutrition " (article " under review " dans la revue *Field Crops Research*) traite des performances enregistrées en terme de nutrition azotée du colza et répond donc à la seconde question de recherche. A l'instar du chapitre 3, le **chapitre 4** s'appuie sur la partie azote du dispositif expérimental. Il s'intitule " Legume dead mulch under winter oilseed rape : ability of several species to provide biological nitrogen during spring " (article en préparation pour une soumission dans la revue *Plant and Soil*) et vise à identifier les traits physico-chimiques des résidus de légumineuses impliquées dans la dynamique de minéralisation de l'azote qu'elles contiennent. Le chapitre 4 répond donc aux questions de recherche 2 et 3.

Enfin, le **chapitre 5**, intitulé " Profils fonctionnels des espèces de légumineuses introduites en tant que plantes de service dans le colza " s'appuie sur l'ensemble des résultats et vise à synthétiser les relations entre les traits des légumineuses mis en avant dans l'obtention des fonctions recherchées ainsi que dans celles des services écosystémiques remplis. Ce chapitre traite donc principalement de la question de recherche 3.

CHAPITRE 1 : Undersowing winter oilseed rape with frost-sensitive legume living mulches to improve weed control

Ce chapitre correspond à un article publié dans la revue *European Journal of Agronomy*

Lorin, M., Jeuffroy, M-H., Butier, A., Valantin-Morison, M., 2015. Undersowing winter oilseed rape with frost-sensitive legume living mulches to improve weed control. *Eur. J. Agron.* 71, 96-105, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.001>

Undersowing winter oilseed rape with frost-sensitive legume living mulches to improve weed control

LORIN M^{1,2}, JEUFFROY M-H^{1,2}, BUTIER A^{1,2}, VALANTIN-MORISON M.^{1,2}

¹ INRA, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

² AgroParisTech, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

Abstract

Living mulches are generally seen as a possible way to decrease the reliance on pesticides. We investigated the effect of a frost-sensitive legume living mulch on weed control during the autumn and cash crop performance, in winter oilseed rape crops. A field trial was carried out over two years, comparing seven legume species — fenugreek, spring faba bean, grass pea, lentil, field pea, berseem clover and spring common vetch — and three legume mixtures, as living mulches, in crops with two levels of soil mineral nitrogen content before sowing. The presence of the legume living mulch decreased weed abundance before winter. Field pea, berseem clover, common vetch and the common vetch/faba bean/berseem clover mixture were particularly effective, regardless of the growing conditions, decreasing weed abundance by 20 to 75% with respect to that in the crop grown alone, in the absence of herbicide application. Weed abundance before winter was negatively correlated with total intercrop biomass, and this relationship was dependent on the legume species considered and soil mineral nitrogen content. As with other legume intercrops, the level of soil mineral nitrogen had a strong influence on intercrop structure, modifying the proportion of legume biomass produced. The legume/oilseed rape biomass ratio was also found to be a useful indicator in all growing conditions: the higher the ratio, the more efficient the weed control. However, a high ratio was associated with a higher risk of competition with the cash crop. The choice of the most appropriate legume living mulch is therefore a compromise between the anticipated ecosystem services and the potential disservices provided by the legume mulch. The introduction of a legume living mulch did not entirely prevent weed growth, but was clearly a relevant agroecological solution for decreasing herbicide, while increasing the sustainability and diversity of weed-control strategies in cropping systems.

1. Introduction

The simplification of cropping systems in recent decades has led to an increase in the consumption of chemical inputs and fossil energy, leading to environmental damage (Tilman *et al.* 2001; Jensen *et al.* 2010; Schott *et al.* 2010). As for other chemical inputs, there are environmental issues concerning herbicide use (Malézieux 2012; Altieri 1999). Moreover, the number of herbicide-resistant weeds has rapidly increased worldwide in recent years (Heap 2014), rendering chemical weed control less efficient and more expensive. Efforts are now being made to limit the reliance of cropping systems on pesticides, through the promotion of agroecological practices favouring the production of significant amounts of food while valorising ecological processes and ecosystem services as much as possible (Wezel *et al.* 2014). These practices include new weed control strategies aiming to decrease or completely eliminate the need for herbicide applications. The development of such strategies is a key challenge.

The area under winter oilseed rape in France has greatly increased in recent years, due to the value of this crop as a biofuel. This expansion has been associated with an increase in pesticide use (Schott *et al.* 2010). Herbicides account for a large proportion of the pesticides applied to this crop (mean herbicide treatment frequency index of 1.6 points in 2011 in France, AGRESTE 2013) and their use constitutes a major operational cost (Valantin-Morison *et al.* 2004). Pre-emergence herbicides, which are applied without taking the real weed pressure in the field into account, were used in 89% of French fields in 2012. Indeed, there are only some foliar and root-absorbed catch-up post-emergence herbicides that could be used after winter oilseed rape has two or more leaves; they are used in 27% and 24% of fields, respectively (CETIOM 2012). Agroecological practices, such as integrated weed control management which aims at decreasing the reliance on pesticides, for example by avoiding such pre-emergence applications (Primot *et al.* 2006), are thus a key means of reducing herbicide use.

The use of mixtures of plant species is often highlighted as a relevant solution, making it possible to decrease chemical inputs and to achieve more sustainable cropping systems (Malézieux *et al.* 2009). The use of living mulches, defined as “a cover crop sown either before or with a main crop and maintained as a living ground cover throughout the growing season” (Hartwing and Ammon 2002), is a promising solution. This approach may provide total weed control or make it possible to use low levels of chemical weed control (Hiltbrunner *et al.* 2007a; Ilnicki and Enache 1992; Liebman and Dick 1993; Abdin *et al.* 1997; White and

Scott 1991). Therefore, very few studies have assessed the interest of mixing winter oilseed rape with other crops (Bergkvist 2003; Paulsen and Schochow 2006). To our knowledge, the only study measuring the value of a frost-sensitive living mulch for weed control in winter oilseed rape (WOSR) carried out to date is that of Cadoux *et al.* (2015). They showed positive effects of legume living mulch in term of ground cover by weeds (compared to the sole crop) but they only assessed the weed control effect in term of ground cover by weeds in few sites and for three legume mixtures.

One of the disadvantages of introducing a living mulch is that it may compete with the cash crop (Teasdale 1996). Most studies have reported a decrease in cash crop yield (Pedersen *et al.* 2009; Picard *et al.* 2010; Carof *et al.* 2007a; White and Schott 1991; Bergkvist 2003), although a few have reported an absence of yield loss (Ilnicki and Enache 1992). The reported yield losses were due mostly to the presence of the living mulch during the main phases of yield component establishment, particularly during the spring (Carof *et al.* 2007a; Hiltbrunner *et al.* 2007a). The introduction of a frost-sensitive living mulch might therefore make it possible to avoid competition with the cash crop during the establishment of WOSR yield components in spring.

Winter oilseed rape requires particularly high levels of nitrogen and is capable of taking up very large amounts of this nutrient during the autumn (Dejoux *et al.* 2003). That's the reason why manure spreading before WOSR sowing accounts for more than 30% of the case in France in 2011 (AGRESTE 2014). Soil mineral nitrogen content (SMNC) in autumn has been shown to be correlated with the competitiveness of WOSR against weeds. Moreover, available SMNC strongly affects the symbiotic fixation of nitrogen by legume crops grown alone (Voisin *et al.* 2002; Naudin *et al.* 2011) or in intercropping conditions (Naudin *et al.* 2010; Corre-Hellou *et al.* 2006).

Legume species, which would not compete with WOSR for mineral nitrogen in intercrops when low level of mineral nitrogen is available (Naudin *et al.* 2010), would potentially make excellent living mulches in this context, increasing the competitiveness of the whole intercrop against weeds, without decreasing the competitiveness of WOSR. We thus hypothesized that the level of soil mineral nitrogen content available before sowing strongly modifies the competition between species and partly determined the performances of the intercrop.

In this study, we aimed to assess the effects of introducing a frost-sensitive legume living mulch on the performance of winter oilseed rape in terms of weed control and cash crop performance in the autumn. We compared various frost-sensitive legume species, assuming

that their ability to control weeds strongly differed, under two levels of soil mineral nitrogen availability before sowing.

2. Materials and methods

2.1 Field experiment

Field trials were carried out during two growing seasons, in 2012-2013 and 2013-2014, at the INRA experimental station at Grignon (48.9° N, 1.9° E) in the Paris Basin. The average annual temperature and rainfall amounts to 11.2 °C and 565 mm (1993-2013). The soil was a clay-loam (

Table 2). Rainfall between September 1st and November 15th (corresponding approximately to the growing period of the legume living mulch (LLM)) was similar for both years of the experiment and exceeded mean levels for the 1993-2013 period (

Table 2). The number of cumulated degree-days (CDD) and the mean daily photosynthetically active radiation (PAR) were much higher in 2013-2014 than in 2012-2013. The preceding crops were spring barley in 2012-2013 and winter wheat in 2013-2014. They were under-fertilised in order to insure low levels of soil mineral nitrogen content before winter oilseed rape establishment and straws were removed from the field, both years. Before the experiments, the soil was subjected to mouldboard ploughing; the seedbed was prepared with a rotary harrow just before sowing.

Table 2 : Climatic and soil (for the 0-30 cm at the top of the soil) characteristics at the Grignon experimental station, for the two experiments, in 2012-2013 and 2013-2014. The climatic variables were recorded between September 1st and November 15th. SMNC: soil mineral nitrogen content; CDD: cumulative degree-days; PAR: photosynthetically active radiation

	2012-2013	2013-2014	Mean 1993-2013
Climatic variables			
Rainfall (mm)	154	164	126 ± 48
CDD base 0 (°C)	919	1021	961 ± 81
CDD base 5 (°C)	542	641	582 ± 77
Mean PAR (J.cm ⁻² .day ⁻¹)	388	421	444 ± 33
Soil characteristics			
clay (g.kg ⁻¹)	238	269	
silt (g.kg ⁻¹)	683	655	
sand (g.kg ⁻¹)	79	76	
SMNC before sowing 0-30 cm (kg N.ha ⁻¹)	33	32	

2.2 Experimental design

We compared seven species of legume, to enable us to explore a wide range of characteristics, in terms of the amount of biomass produced, shoot growth rate, morphology (height, width, leaf form) and competitive ability. The frost sensitivity of the species tested was compatible with local climatic conditions (all species likely to be killed off by frosts): fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*, cv. Fenusol), spring faba bean (*Vicia faba*, cv. Espresso), grass pea (*Lathyrus Sativus*, cv. Fertigess), lentil (*Lens culinaris*, cv. Fentille), field pea (*Pisum sativum*, cv. Rif), berseem clover (*Trifolium alexandrium*, cv. Tigri), and spring common vetch (*Vicia sativa*, cv. Marianna). We also studied three mixtures of legumes: lentil-grass pea-fenugreek, lentil-faba bean and common vetch-faba bean-berseem clover. These mixtures were composed of species with complementary architectural characteristics. A treatment without living mulch (winter oilseed rape as the sole crop) was also established as a control treatment (CT).

Assuming that soil nitrogen availability in the autumn would influence the competition between species, we applied 100 kg.ha⁻¹ nitrogen (as ammonium nitrate) just before sowing, to half the plots in the trial (high SMNC treatment), but applied no nitrogen fertiliser to the other plots (low SMNC treatment).

We used a split-plot experimental design with two factors: legume living mulch species and soil mineral nitrogen content (SMNC) before sowing. The plots were 3.5 m x 12 m in size. Treatments were replicated three times and randomised for the living mulch factor. Finally, each experiment included three replicates of 10 LLM plots and 1 control treatment, with two levels of SMNC, giving 66 plots in total.

Three sowing passes were carried out on the field, on the same day (August 23rd 2012 and August 22nd 2013), to adapt the sowing depth to the seed size for each species. Legumes were sown at 75% the recommended rate for a sole crop. For legume mixtures, the sowing density of each species was reduced proportionally, according to the number of species. Soil cover was maximised by the broadcast sowing of the legumes, with the seeds subsequently incorporated into the uppermost 3 cm of soil by light tillage.

We obtained a homogeneous population of weeds, by sowing seven of the weed species most frequently observed in winter oilseed rape fields in France (Fried and Reboud 2007): *Geranium dissectum*, *Galium aparine*, *Papaver rhoeas*, *Capsella bursa pastoris*, *Matricaria chamomilla*, *Alopecurus myosuroides* and *Sinapis arvensis*. The weed seeds were broadcast-sown to give a total target density of about 50 plants.m⁻² (densities were proportionally

adjusted, as recommended by the seed company). The density of weeds at emergence was higher than expected in experiment 1. We therefore halved the sowing density in experiment 2. We then sowed winter oilseed rape (*Brassica napus*, cv. alpage) with a row spacing of 17.5 cm, at a density of 50 seeds.m⁻², for all treatments (with or without living mulch and/or nitrogen), in accordance with local practices. The crop was irrigated to ensure homogeneous emergence and to insure rapid dissolution of the mineral fertiliser, at a rate of 50 mm.ha⁻¹ in 2012 (25 mm.ha⁻¹ on 28/08/2012 and 25 mm.ha⁻¹ on 5/09/12) and 20 mm.ha⁻¹ in 2013 (27/08/2013).

2.3 Data collection and plant sampling

Winter oilseed rape (WOSR), legume living mulches (LLM; the species were separated for LLM mixtures) and weeds were sampled before winter (on 13th November in both years) from one plot per replicate (plot sizes of 0.75 m² and 1 m² in 2012 and 2013, respectively). This period was considered to correspond to the end of the simultaneous growing season, LLM growth subsequently being slowed by low temperatures. We first determined the total weed density in these samples by considering sown and spontaneous weed species (species were also identified but these data are not presented in this paper). We then determined the aerial biomass of each component (LLM, WOSR and weeds), after drying at 80°C for 48 hours.

All WOSR aerial biomass samples were then ground (0.5 mm grid) and total nitrogen content was analysed, by the Dumas method (1831), through total combustion of the plant powder. Total WOSR N uptake (in kg.ha⁻¹) was then calculated for each replicate, by multiplying aerial biomass with total N content.

2.4 Statistical analysis

We performed three-factor ANOVA to study WOSR+LLM biomass, LLM biomass, weed biomass and abundance, and WOSR nitrogen uptake, with the aov procedure of R software (R Core, 2006). LLM, SMNC and year were considered as fixed effects. Data were transformed with log or square root functions if the results of Shapiro normality tests or Bartlett's test for the homogeneity of variances were not significant. In cases of significant interaction with the LLM treatment, we analysed the data for 2012 and 2013 and/or low and high SMNC separately. If a significant *P*-value was obtained in ANOVA, we carried out Dunnett multiple

comparison tests, to compare each treatment with the control treatment, and Tukey's HSD for comparisons of LLM biomass.

We investigated the impact of introducing a LLM on WOSR nitrogen uptake during the autumn, by analysing the effect of SMNC, year and LLM treatment on the difference between nitrogen uptake for the intercrop and the control treatment, using the `lm` procedure of R software. These differences were calculated per year*replicate combination. The objective was to determine whether these differences were significantly different from zero.

Linear regressions between weed abundance and LLM+WOSR biomass were investigated with the `lm` procedure of R software, over the two years of the experiment and for the two levels of SMNC. We used quantile regression analysis to estimate the conditional quantiles of the weed abundance distribution (the response variable) as a function of LLM/WOSR biomass ratio (explanatory variable), as described by Cade and Noon (2003), assuming that other possible explicative factors interact. The relationship between the two variables was as defined by Casagrande *et al.* (2010):

$$Y = \beta_0 * X^{\beta_1} \epsilon$$

where Y is weed abundance before winter, X is LLM/WOSR biomass ratio, β_0 and β_1 are two parameters to be estimated and ϵ is the residual error. The model was made linear by logarithmic transformation (adding 1 to the LLM/WOSR ratio to avoid zero values).

3. Results

3.1 Biomass produced by the intercrop

For both SMNC levels, significantly more biomass was produced during the autumn of 2013 than during the autumn of 2012 ($p < 10^{-16}$). Soil mineral nitrogen content significantly affected the amount of biomass produced by the WOSR+LLM intercrop ($p < 10^{-16}$); high levels of SMNC were associated with a significantly higher WOSR+LLM biomass (Figure 8).

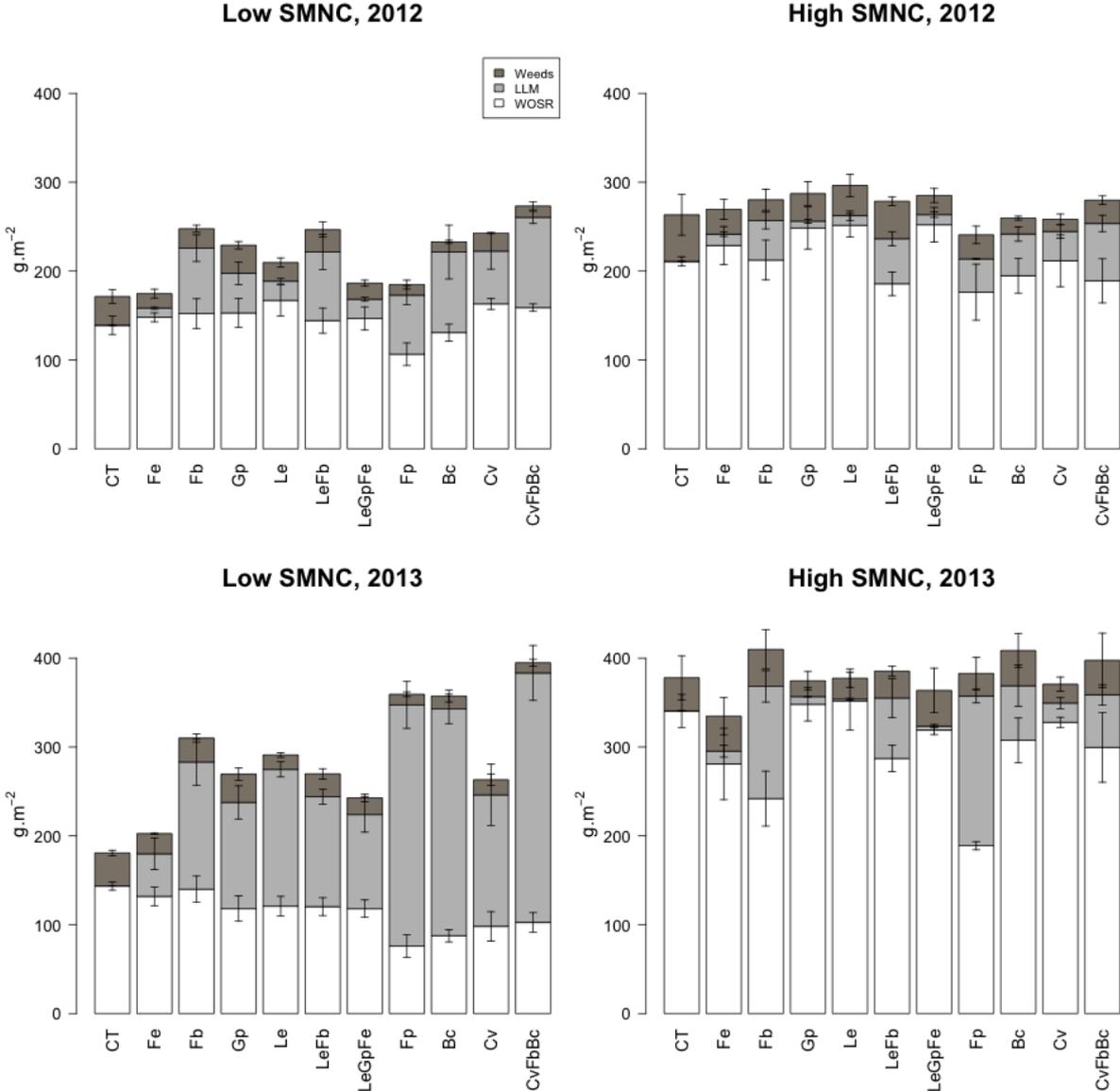


Figure 8 : Cumulative biomass of WOSR, LLM (for the LLM mixtures, the species are not separated) and weeds for each treatment. Vertical bars indicate the standard deviation of each compartment. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

For low SMNC, the WOSR+LLM biomass at the beginning of winter ranged from 139 to 261 g.m⁻² in 2012 and from 143 to 383 g.m⁻² in 2013. In 2012, the WOSR+LLM biomasses of the faba bean, lentil-faba bean, berseem clover, common vetch and common vetch-faba bean-berseem clover treatments were significantly higher than the biomass of the sole crop (*p*<0.05). In 2013, all intercrops produced more biomass than the control treatment (*p*<0.05). In high SMNC conditions, biomass ranged from 210 to 264 g.m⁻² in 2012 (for the control

treatment and the lentil-grass pea-fenugreek mixture, respectively) and from 294 to 369 g.m⁻² in 2013 (for fenugreek and berseem clover, respectively). No significant difference was found between LLM treatments (including the sole crop) under high SMNC conditions, regardless of the year considered.

LLM biomass was highly dependent on LLM treatment ($p < 10^{-16}$), SMNC ($p < 10^{-16}$) and year ($p = 3.1 \times 10^{-11}$). In low SMNC conditions, aerial LLM dry matter ranged from 11 to 102 g.m⁻² in 2012 and from 48 to 281 g.m⁻² in 2013, with fenugreek and the common vetch-faba bean-berseem clover mixture yielding the lowest and highest values, respectively, in both years. LLM biomass was significantly higher in 2013 than in 2012 (three times higher than in 2012, on average), probably due to the additional 33 J.cm⁻².day⁻¹ photosynthetically active radiation over the growing season in 2013 (corresponding to an 8.5% increase). The most productive species in low SMNC conditions were faba bean, field pea and berseem clover, whereas fenugreek was the least productive species (the fenugreek crop was badly damaged by rabbits). In high SMNC conditions, LLM biomass ranged from 8 to 65 g.m⁻² in 2012 and from 2 to 168 g.m⁻² in 2013.

3.2 Weed control performance of the intercrops

3.2.1 Weed abundance

Total weed abundance was significantly lower in 2013 than in 2012 ($p = 2.3 \times 10^{-16}$, Figure 9). Nevertheless, despite the decrease in weed sowing rates in 2013, total weed abundance before winter was very similar in 2012 and 2013 for the control treatment in low SMNC conditions: 138±16 and 116±16 pl.m⁻², respectively, suggesting a similar initial weed pressure.

In 2012, LLM treatments had a significant effect on weed abundance ($p = 0.004$) whereas SMNC did not (weed density reached 138 and 150 pl.m⁻², respectively, in low and high SMNC conditions, for the control treatment). Field pea, berseem clover and the common vetch-faba bean-berseem clover mixture gave significantly lower weed abundances ($p < 0.05$) than the control treatment (whereas faba bean and common vetch treatments decreased weed abundance, $p < 0.1$). In 2013, SMNC had a significant effect on weed abundance ($p = 7 \times 10^{-8}$): weed control was much more effective with a high SMNC than with a low SMNC (the weed abundance in the sole crop was 116 pl.m⁻² for low SMNC and 52 pl.m⁻² for high SMNC). As in 2012, field pea, berseem clover, common vetch and the common vetch-faba bean-berseem clover mixture significantly decreased weed abundance ($p < 0.05$), greatly increasing weed control efficacy.

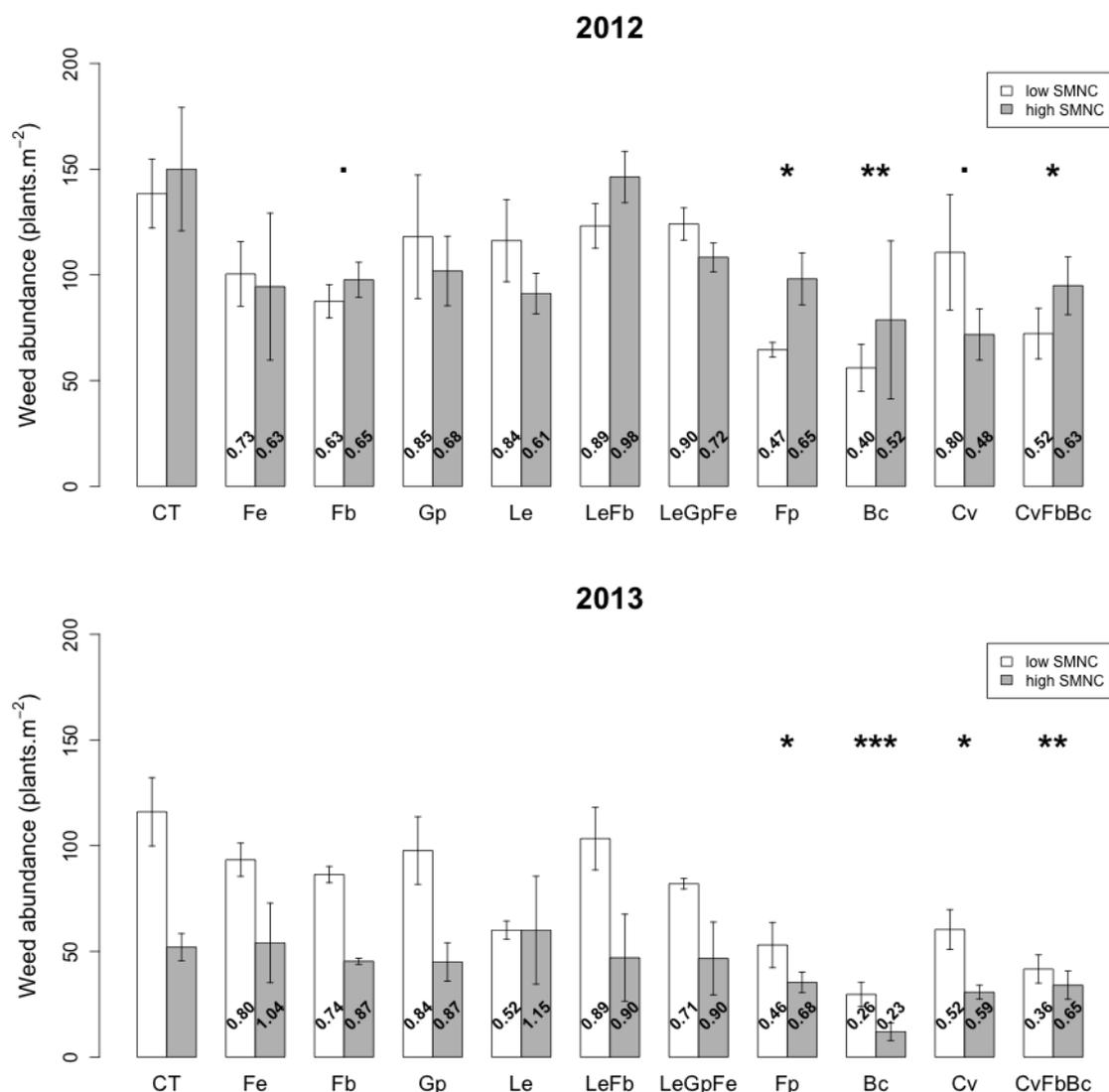


Figure 9 : Weed abundance before the winter in 2012 and 2013. The numbers within the bars are the ratios of weed abundance between the sole crop and the LLM treatment considered (this ratio was calculated per combination year*SMNC*treatment (for example, a ratio of 0.4 indicates that weed abundance was 60% lower than in the sole crop). The symbols above the bars indicate the treatments for which weed abundance was significantly lower than for the control treatment: $p < 0.1$ (.), $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), and $p < 0.001$ (***). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

With the exception of lentil and fenugreek in high SMNC conditions in 2013, the introduction of LLM into WOSR decreased weed abundance with respect to that observed for the sole crop. Whatever the year or level of SMNC considered, field pea, berseem clover, common vetch and the common vetch-faba bean-berseem clover mixture were the most effective LLM treatments for weed control, resulting in a weed abundance significantly lower than that for

the sole crop. Berseem clover was the most effective weed control treatment (decreasing weed abundance by 60% and 48% in 2012-2013 and by 74% and 77% in 2013-2014, in low and high SMNC conditions, respectively).

3.2.2 Weed biomass

By contrast to the findings for weed abundance, there was no significant difference in weed biomass between 2012 and 2013, for any of the LLM treatments (Figure 8). However, SMNC had a significant effect: weed biomass was higher for high SMNC than for low SMNC ($p=0.03$).

At low SMNC, there were significant differences between LLM treatments: fenugreek, lentil, lentil-grass pea-fenugreek, field pea, berseem clover, common vetch and common vetch-faba bean-berseem clover all resulted in significantly lower weed biomasses than for the sole crop ($p<0.05$). Field pea, berseem clover and common vetch-faba bean-berseem clover were the most effective LLMs for decreasing weed biomass. These treatments resulted in 60 to 70% less weed biomass than for the control treatment (these treatments were also the most effective at decreasing weed abundance, for which similar percentage reductions were observed).

For high SMNC treatments, LLM treatments did not result in significantly lower weed biomasses than the control treatment, partly due to the very high variability. The density of *Sinapis arvensis* had a major impact on total weed biomass. This species, similarly to winter oilseed rape, is nitrophilous and grew rapidly, with a biomass per plant of 17.7 g.m⁻² for a density of between 0 and 5 pl.m⁻² in 2013. Mustard accounted for 36 and 53% of total weed biomass in 2012 and 2013, on average.

3.3 Nitrogen uptake by WOSR before the winter

Year, SMNC, LLM treatment and the interaction between year and SMNC significantly affected WOSR nitrogen uptake ($p<0.05$). SMNC, LLM treatment and the interaction between year and SMNC also significantly affected the difference in WOSR nitrogen uptake between intercrops and the sole crop ($p<0.05$).

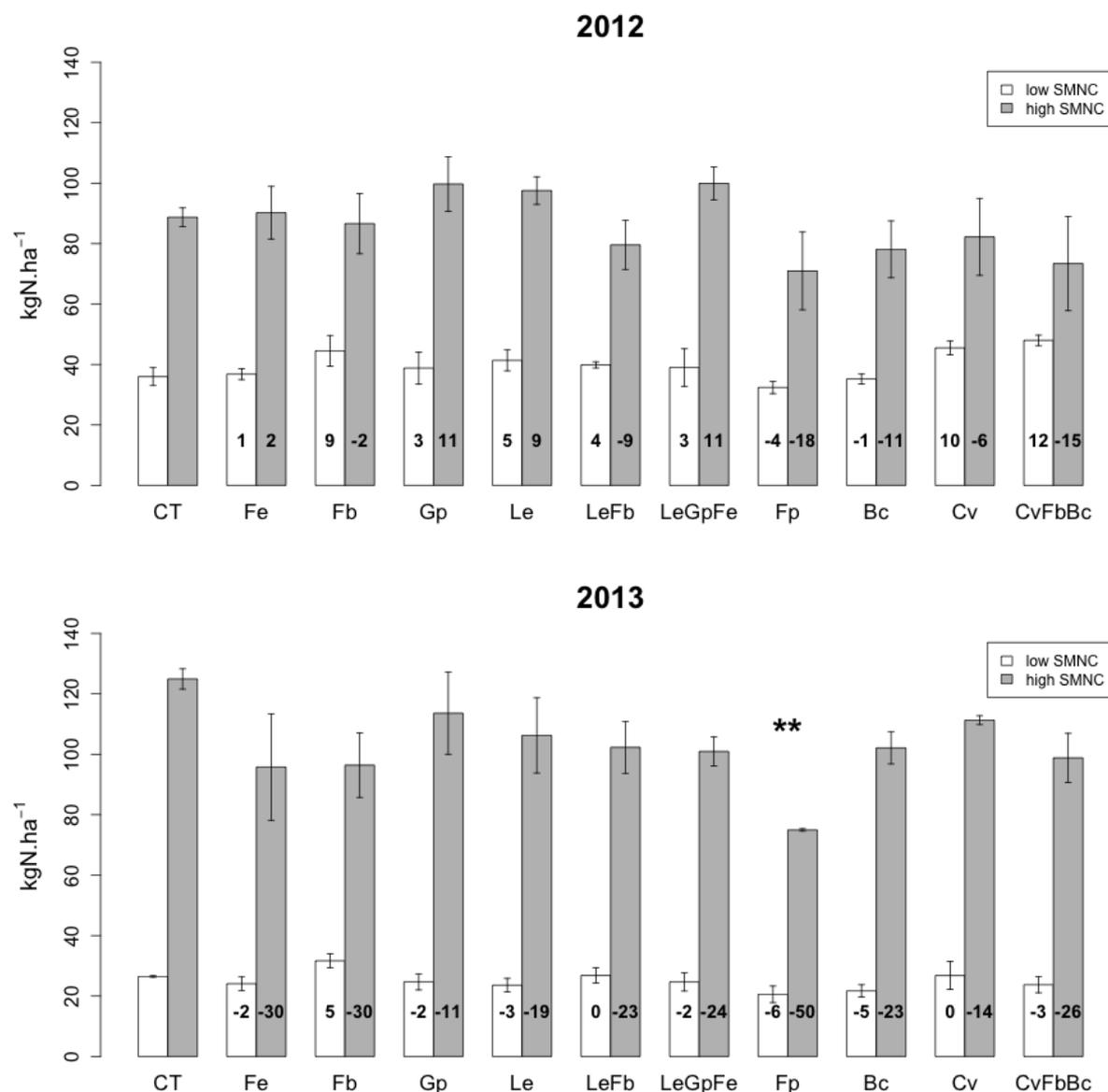


Figure 10 : WOSR nitrogen uptake before the winter, in 2012 and 2013, in low and high soil mineral nitrogen content conditions. The numbers within the bars indicate the difference in WOSR nitrogen uptake between the intercrop and the sole crop (calculated per year*SMNC*treatment combination. ***, ** or * indicates that this difference is significantly different from zero at $p=0.001$, 0.01 and 0.05 , respectively. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

In 2012, SMNC had a significant effect on WOSR nitrogen uptake ($p < 2 \times 10^{-6}$), which reached 36 and 89 kgN.ha⁻¹ for the control treatment, in low and high soil mineral nitrogen content conditions, respectively. SMNC and LLM treatment had no significant effect on the difference in nitrogen uptake by WOSR between intercrops and the control treatment.

In 2013, as in 2012, SMNC significantly affected nitrogen uptake by WOSR ($p < 2 \times 10^{-6}$). As a sole crop, WOSR absorbed 26 and 125 kgN.ha⁻¹ in low and high SMNC conditions, respectively. The difference in nitrogen uptake by WOSR between intercrops and the sole crop was significantly affected by SMNC ($p = 3.6 \times 10^{-8}$) and LLM treatment ($p = 2.3 \times 10^{-6}$). High soil mineral nitrogen content resulted in lower levels of nitrogen uptake by WOSR in intercrops than in the control treatment. Field pea was the only treatment for which the difference with respect to the control treatment was significantly different from zero ($p = 0.007$). This difference amounted to -6 and -50 kgN.ha⁻¹ for low and high SMNC, respectively, corresponding to decreases of 22 and 40% with respect to the control treatment (Figure 10).

3.4 Impact of the intercrop structure on weed control

3.4.1 Relationship between weed abundance and intercrop (WOSR+LLM) biomass

Weed abundance and WOSR+LLM biomass were significantly correlated, for both levels of available SMNC (Figure 11): larger amounts of WOSR+LLM biomass were associated with larger decreases in weed abundance (the relationship between intercrop leaf area, available in 2013, and weed abundance before winter showed consistent results, Annexe 6).

For a given year, the maximum biomass production of the WOSR+LLM intercrops was very similar for the two levels of SMNC (see also Figure 8). In 2012, the maximum WOSR+LLM biomass was 261 g.m⁻² for common vetch-faba bean-berseem clover in low SMNC conditions and 264 g.m⁻² for lentil-grass pea-fenugreek treatment in high SMNC conditions; in 2013, it was 383 g.m⁻² for common vetch-faba bean-berseem clover in low SMNC conditions and 369 g.m⁻² for berseem clover in high SMNC conditions. However, inter-treatment variability was lower in the presence of high levels of soil mineral nitrogen.

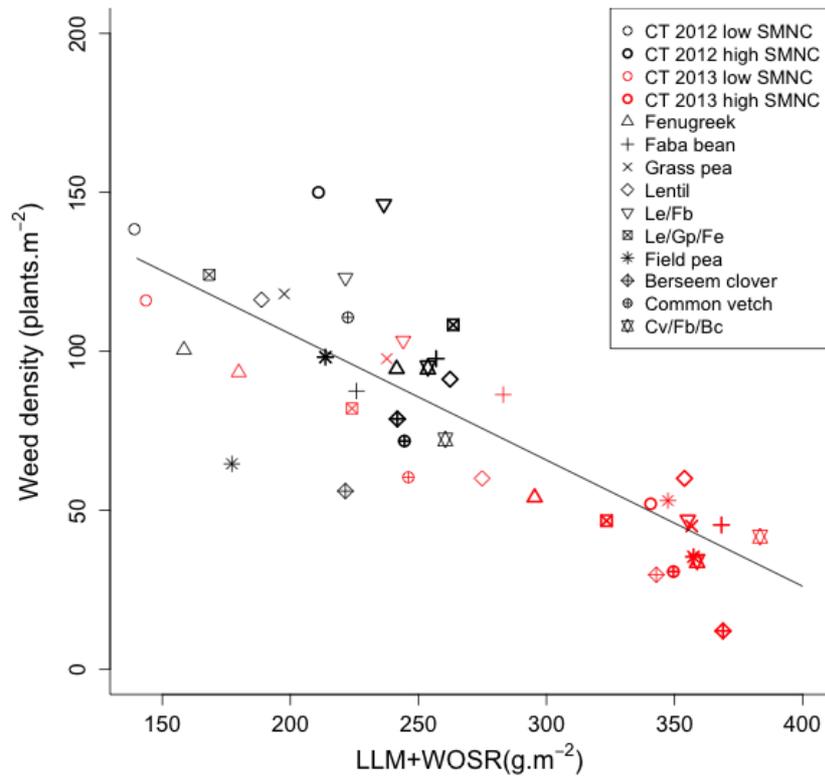


Figure 11 : Relationship between weed abundance and WOSR+LLM biomass. Each point represents the mean of the three replicates ($R^2=0.49$, $p \leq 0.05$). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

3.4.2 Relationship between weed abundance and LLM/WOSR biomass ratio

The quantile regression analysis indicated that weed abundance and LLM/WOSR ratio were inversely correlated, and the confidence intervals of the two estimated parameters (β_0 and β_1) showed them to be significantly different from 0 (data not shown): the higher the ratio, the more efficient the weed control (Figure 12). The different fitted response curves are represented for values of $\tau=0.50$ to $\tau=0.95$. For example, the chances of weed abundance being below 171 pl.m^{-2} and 93 pl.m^{-2} are 95% and 50%, respectively for a ratio of zero.

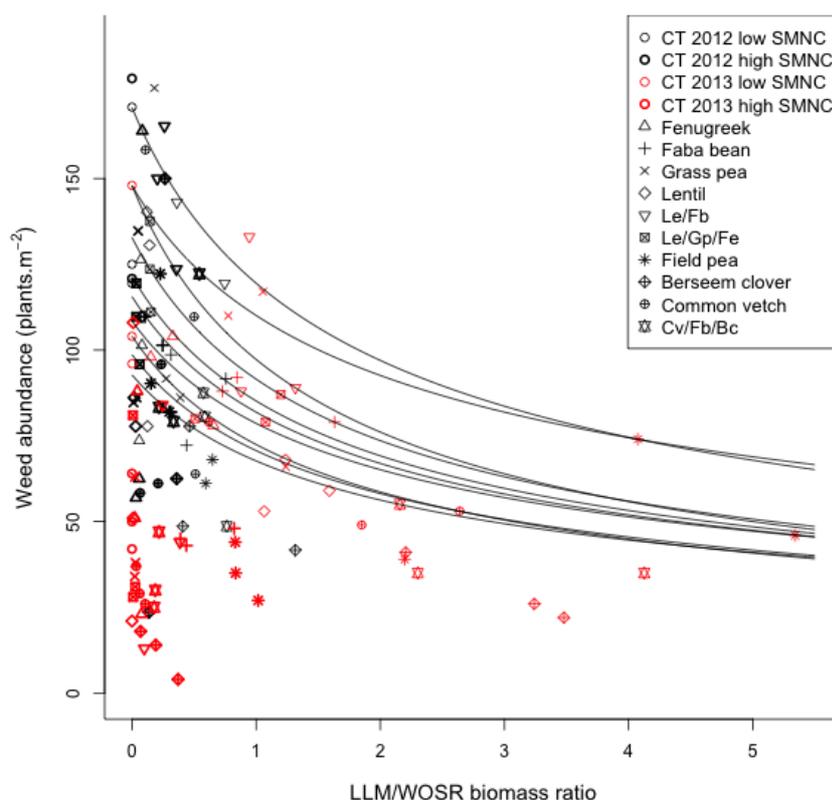


Figure 12 : Relationship between weed abundance and LLM/WOSR biomass ratio, plotted with fitted regression functions, from $\tau=0.5$ (lowest values of weed abundance) to $\tau=0.95$ (highest values of weed abundance), in increments of 0.05. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

The distribution of weed abundance, conditionally on different values of LLM/WOSR biomass ratio, indicated the uncertainty of obtaining a given weed abundance (Figure 13). For $\tau = 0.95$, weed abundance decreased from 171 to 139 pl.m^{-2} for an increase in ratio from 0 to 0.5; weed abundance was 119 pl.m^{-2} for a ratio of 1, 97 pl.m^{-2} for a ratio of 2, and 75 for a ratio of 4. Thus, weed abundance decreased by about 100 pl.m^{-2} for an increase in ratio from 0 to 4. The probability of a weed density of less than 70 pl.m^{-2} (about half the weed abundance for the control treatment in low SMNC conditions) was about 55%, 75% and 90% for LLM/WOSR biomass ratios of 1, 2 and 4, respectively.

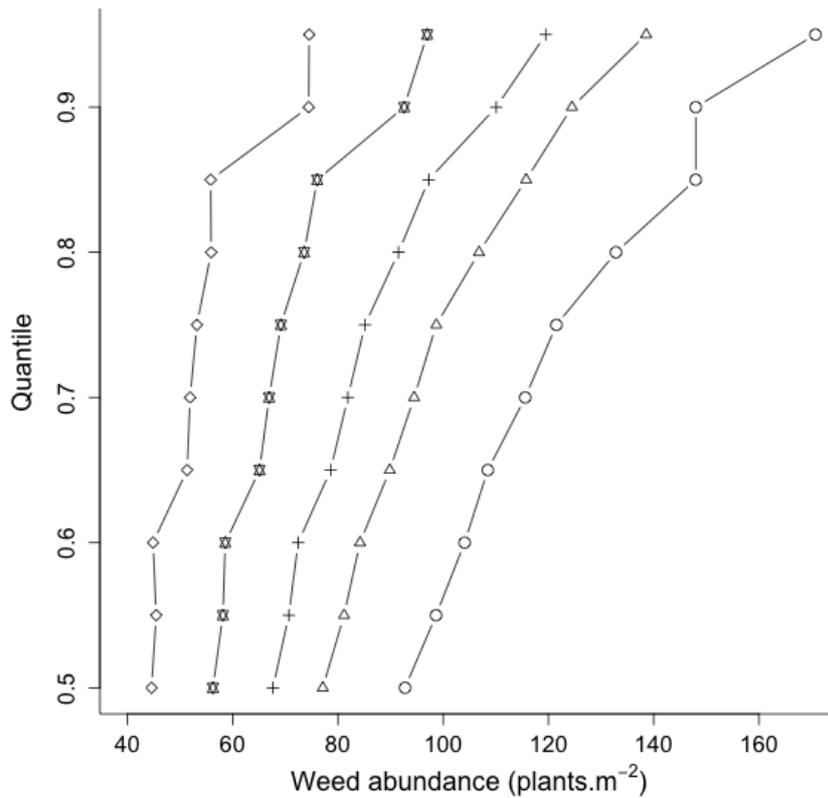


Figure 13 : Distribution of weed abundance for five different LLM/WOSR ratios: 0 (circle), 0.5 (triangle), 1 (cross), 2 (star) and 4 (diamond)

4. Discussion

4.1 Impact of SMNC on the structure of the mixture

4.1.1 Impact of SMNC on weed control

Other studies have reported that autumn fertilisation decreases weed biomass, principally by increasing the competitiveness of winter oilseed rape (Dejoux *et al.* 2003), or that it has no effect on weed biomass (Sim *et al.* 2007). By contrast, we found that a high SMNC resulted in a maintenance of or increase in weed biomass during the autumn. The results for weed abundance were more variable and depended on the year. Thus, we found that the impact of SMNC depended on the variable used to assess weed control (results consistent with those of Amossé *et al.* 2013b). High SMNC tended to be associated with a weed biomass similar to or higher than that for low SMNC, and a weed abundance similar to or lower than that for low SMNC.

One possible explanation of these opposite results for weed biomass and weed abundance is that the ability of WOSR to compete with weeds in the presence of a high SMNC depends on the weed species considered, and particularly on the nitrogen requirements of the weed species. The predominance of *Sinapis arvensis* in these conditions, probably explained these results. In the presence of a high SMNC, despite having a low specific abundance, nitrophilous species, such as mustard, can accumulate a high biomass. Indeed, weed biomass depends heavily on the composition of the weed community, whereas weed abundance is a more generic variable. Moreover, farmers pay more attention to weed abundance than to biomass, when deciding whether to apply herbicides, and herbicides targeting grasses are often applied before the winter (CETIOM 2012). Weed abundance therefore appeared to be the most relevant indicator of weed pressure in the autumn for the establishment of a weed control strategy.

However, weed pressure before winter is an intermediate indicator, revealing the effect of autumnal competition between weeds and the intercrop. Indeed, the relationship between weed pressure in autumn and WOSR yield is not very stable, due to the considerable ability of winter oilseed rape to compensate for poor early growth in spring (Lutman and Dixon 1990).

4.1.2 Growth of LLM and WOSR as a function of SMNC

High levels of soil mineral nitrogen have frequently been shown to have a negative impact on the growth of legumes intercropped with other species (Jensen 1996; Corre-Hellou *et al.* 2006; Pelzer *et al.* 2014), partly because the availability of large amounts of nitrogen reduces symbiotic fixation by the legume (Naudin *et al.* 2010) and partly because legumes are frequently less competitive for soil mineral nitrogen than the cash crop (Jensen 1996). In pea-wheat intercrops, Naudin *et al.* (2010) found that early fertiliser applications systematically favoured the cereal over the legume crop. Winter oilseed rape can absorb large amounts of nitrogen in the autumn (Dejoux *et al.* 2003), our results demonstrate that SMNC before sowing has a large impact on the structure of the intercrop. Higher soil mineral nitrogen availability led to a higher WOSR nitrogen content before winter (as also reported by Sim *et al.* 2007). The legume living mulches grew less well in the presence of high SMNC. Thus, as demonstrated for cereal/legume intercrops (Corre-Hellou *et al.* 2006; Naudin *et al.* 2010) and other LLM-cash crop mixtures (Hiltbrunner *et al.* 2007a), the proportion of the total biomass accounted for by the legume was lower at higher SMNC. The LLM/WOSR biomass ratio rarely exceeded 1 for high SMNC; whereas it sometimes exceeded 4 for low SMNC.

SMNC before sowing did not affect the maximum potential biomass production of the intercrop, whereas the year did (Figure 8; Figure 11). In low SMNC conditions, WOSR biomass was little affected by LLM treatment, whereas LLM biomass depended strongly on the species concerned. In high SMNC conditions, biomass production was similar across all treatments, with a higher LLM biomass being compensated by a lower WOSR biomass. SMNC therefore had a large effect on the structure of the mixture.

4.2 Impact of the legume living mulch on crop performances

4.2.1 Autumn WOSR performance

The use of living mulches is generally thought to have a negative impact on the cash crop through different forms of competition: mostly for nitrogen, water, and light (Carof *et al.* 2007a; Shili-touzi *et al.* 2010; Hiltbrunner *et al.* 2007a; Sawyer *et al.* 2010; Flynn *et al.* 2013; Picard *et al.* 2010; Bergkvist 2003). The use of legume species as living mulches should limit competition with the cash crop for nitrogen (Thorsted *et al.* 2006b). For winter oilseed rape, nitrogen uptake before winter is a key variable when assessing the performance of the cash crop during the period of simultaneous LLM and WOSR growth. Indeed, crop nitrogen requirement during the following spring is directly dependent on crop nitrogen uptake before winter (Reau and Wagner 1998; Makowski *et al.* 2005). Higher levels of nitrogen uptake before the winter result in a need for less fertiliser in the spring.

We found that growing conditions were a key factor determining the consequences of LLM introduction for WOSR nitrogen uptake. Interactions between LLM treatment, SMNC and year were difficult to explain, despite the similarities in SMNC before sowing. Competition between species for resources appeared to be more intense in 2013 than in 2012 (with the intercrop producing larger amounts of biomass), generally resulting in lower WOSR nitrogen content than for the control treatment. These differences were partly explained by the two different preceding crops, spring barley and winter wheat. These could lead to different growing conditions, despite common way to manage fertilisation, straws and tillage before oilseed rape crop. It could more probably be due to longer growth cycle and higher cumulated degree-days and mean daily photosynthetically active radiation (PAR) in autumn that generated better growth conditions for legumes in 2013-2014 experiment.

In all years, WOSR nitrogen uptake in low SMNC conditions was little affected by the presence of LLM. As already shown for other intercrops with legumes (Naudin *et al.* 2010; Corre-Hellou *et al.* 2006), in conditions of limiting soil mineral nitrogen availability, WOSR

outcompeted the legumes (and probably forced the LLM to develop its N₂ fixation system); thus, competition for mineral nitrogen between the species is limited in these situations. Jamont *et al.* (2013) demonstrated that, for WOSR-faba bean intercrops, the WOSR accumulated larger amounts of nitrogen than the sole crop in some cases, thanks to niche complementarity between the root systems of the two species (in our study, the WOSR in the faba bean treatment displayed the highest nitrogen uptake levels before winter). However, these mechanisms are probably highly dependent on the root system characteristics of the legume species.

In general, the risk of lower levels of WOSR nitrogen uptake than for the control was greater for high SMNC than for low SMNC. In these situations, the fixation of atmospheric nitrogen by the legume is inhibited (Naudin *et al.* 2011), and the WOSR and LLM therefore compete for the same nitrogen resource. Thanks to the ability of WOSR to compensate for poor autumn growth in the spring (Leach *et al.* 1994; Lutman and Dixon 1990; Colnenne *et al.* 2002), we can therefore assume that these lower levels of nitrogen content before winter are not prejudicial to the crop in spring. Moreover, the mineralisation of LLM residues in the spring may improve the nitrogen nutrition of the WOSR (although we did not test this hypothesis here).

Finally, special care must be taken to check the frost sensitivity of the candidate legume species. Indeed, in 2013-2014, some of the legume species did not die off naturally, necessitating the use of specific herbicide applications in the spring, to prevent excessive competition with the cash crop, that could lead to reconsider the benefit of intercropping legume living mulch. However, while the number of days with a negative mean temperature during winter amounted to 15 in average between 1993 and 2013, 2013-2014 was still the only winter without any frost-day (at the Grignon station). Thus, these situations can be considered very rare in the Paris basin growing conditions.

4.2.2 Impact of the LLM on weed control

We found that, for all LLM species and SMNC levels considered, intercropping WOSR with a legume generally resulted in a lower weed biomass and abundance before winter than for the control treatment (although the differences were not always significant). These results are consistent with the conclusions of most studies on the value of living mulches for controlling weeds (Hiltbrunner *et al.* 2007a; Ilnicki and Enache 1992; White and Scott 1991). However, these studies were generally carried out in conditions in which the living mulch was able to compete strongly (living mulches established before sowing of the cash crop) or over a long

period (more than six months) with the weeds. Studies of the introduction of living mulches into cash crops with only short periods of simultaneous growth (as for WOSR-LLM intercrops) have generally reported weaker or more variable weed control (Amossé *et al.* 2013b; Blackshaw *et al.* 2010; Cadoux *et al.* 2015).

As we initially hypothesized, we found that efficacy for weed control differed considerably between LLM species, as in other studies about the opportunity of using living mulches (Hiltbrunner *et al.* 2007a; den Hollander *et al.* 2007b; Bergkvist *et al.* 2003). Four treatments were particularly effective for weed control, regardless of SMNC or year: field pea, berseem clover, common vetch and the common vetch-faba bean-berseem clover mixture (all of which significantly decreased weed abundance). These results were difficult to compare with Cadoux *et al.* (2015) findings since the variable for weed control assessment (ground cover by weeds) and the candidate species differed but some species appeared interesting in both experiments (common vetch and berseem clover particularly).

The largest decreases in weed abundance were achieved in 2013 with berseem clover, which decreased weed abundance by about 75% with respect to the values obtained for the sole crop, in both low and high SMNC conditions. This result is of particular interest, as this decrease was achieved in conditions of very high weed pressure (more than 100 pl/m² for the control treatment), without any herbicide sprayed. Thus, under “common” weed pressure conditions, the results obtained would be expected to be at least as good as those reported here. Indeed, both WOSR and LLM growth would be improved and LLM+WOSR cover would therefore be even more competitive with weeds.

It would be interesting to compare these intercrops with a control treatment with herbicide in various weed pressure conditions (in terms of abundance and the predominant species), to explore the efficacy of these mixtures in farmers’ fields. Indeed, living mulches are often compared with control treatments without chemical control or under organic conditions; very few studies have compared the weed control efficacy of living mulches with that of chemical applications (Abdin *et al.* 2000; Cadoux *et al.* 2015). Moreover, as our results indicated that LLM gave efficient but not total weed control, the introduction of LLM together with lower levels of herbicide application is a potentially relevant solution. However, common herbicide programs must be adapted to the presence of legume crops, by suppressing pre-emergence applications (non-selective to legumes) and using reduced applications of post-emergence broad-leaves herbicides to avoid phytotoxicity against legumes (Cadoux *et al.* 2015). Technical practices, in terms of sowing strategies (row spacing, spatial arrangement) and tillage intensity, are also of potential interest. Indeed, the use of living mulches is often

combined with low- or no-tillage practices, with the aim of improving weed control (White and Scott 1991; Hilbrunner *et al.* 2007; Inicki and Enache 1992). Thus, sowing WOSR and LLM by direct drilling, with no tillage, would probably decrease weed germination and further improve intercrop competitiveness.

4.3 Weed control as a function of intercrop structure

Like Dejoux *et al.* (2003), who reported a positive correlation between weed control efficacy and WOSR biomass before winter, or Cadoux *et al.* (2015), we found that total intercrop biomass (*i.e.* LLM + WOSR) before winter was always a good indicator of the ability of the cover to decrease weed abundance, whatever the level of soil mineral nitrogen content: the higher the total intercrop biomass, the more effective the weed control. Like Hilbrunner *et al.* (2007a), who found that legume biomass and weed biomass were inversely correlated, we found that, in low SMNC conditions, legume biomass was a key factor determining the competitiveness of the intercrop against weeds. Given the structure of the LLM+WOSR biomass in high SMNC conditions, there was no relationship between LLM biomass and weed abundance.

In fact, LLM/WOSR biomass ratio is an interesting and more generic variable. Regardless of growing conditions, higher values of this ratio were associated with more effective weed control before the winter and reduced the uncertainty of weed control effect. Weed abundance decreased with increase in this ratio from 0 to 0.5, but the efficacy of weed control increased little thereafter. Basing the choice of the most appropriate LLM species on its ability to yield a good LLM/WOSR ratio appears to be an effective way to classify legumes in terms of their potential efficacy for weed control: field pea, common vetch-faba bean-berseem clover mixture and berseem clover gave the best results according to this criterion. However, we found that WOSR nitrogen uptake tended to be lower for these treatments (although this difference was not always significant).

5. Conclusion

As we initially assumed, the growing conditions, including soil mineral nitrogen content in particular, had a major impact on intercrop structure. In the presence of a low SMNC, the legume produced large amounts of biomass without competing with the cash crop, whereas, in the presence of a high SMNC, the legumes produced less biomass, but, for the most effective species, they tended to increase the risk of competition for mineral nitrogen with winter oilseed rape.

Our results indicate that the use of a LLM in winter oilseed rape is an effective solution for weed control. Some species (field pea, berseem clover, common vetch and the common vetch-faba bean-berseem clover mixture) significantly decrease weed abundance from 20-30%, to up to 75%, regardless of the growing conditions. Total weed suppression was not achieved with any of the treatments, but the combination of the introduction of LLM into WOSR crops and an appropriate herbicide program (based on weed infestation surveys before winter) would probably make it possible to decrease herbicide use substantially.

The ability of a legume species to control weeds must not be the only criterion taken into account. The choice of the most appropriate LLM should be based on the best compromise between the potentials for weed control and for other ecosystem services, such as pest control, the supply of biological supply to the cash crop in spring, and potential dis-services. Thus, more research is needed to better understand the mechanisms involved in these other ecosystem services but also the impacts of growing conditions (in various contexts of soil and climate) and technical practices in order to help the choice of the best suited species.

Acknowledgements

This work was partly financed by Terres Inovia, CASDAR Alliance and Métaprogramme SMaCH. We would like to thank the Caussade Semences firm for providing legume seeds.

CHAPITRE 2 : The functional traits of frost-sensitive legume living mulches determine their performance and the weed regulation service they provide to WOSR in autumn

Ce chapitre correspond à un article en préparation pour une soumission dans la revue *European Journal of Agronomy*

The functional traits of frost-sensitive legume living mulches determine their performance and the weed regulation service they provide to WOSR in autumn

LORIN M^{1,2}, JEUFFROY M-H^{1,2}, BRASCHI J^{1,2}, LAISSUS L^{1,2}, BUTIER A^{1,2}, VALANTIN-MORISON M.^{1,2}

¹ INRA, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

² AgroParisTech, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

Abstract

The introduction of a frost-sensitive legume living mulch into winter oilseed rape crops can improve weed regulation during autumn, but the determinants of this service are unknown. The functional traits describing the resource acquisition strategy and performance of legume species may facilitate the choice of the most appropriate species for use as a living mulch.

We investigated the determinants of the ability of seven legume species grown as living mulches with winter oilseed rape, at different levels of soil mineral nitrogen availability, to deliver weed regulation services through competition with weeds. In a two-year field experiment, we measured six functional traits and biomass growth rates (an indicator of plant performance) in seven legumes intercropped with winter oilseed rape, during two separate growth periods (the establishment and consolidation phases) on two soils with different levels of soil mineral nitrogen content.

We found that weed regulation and winter oilseed rape nitrogen uptake were highly dependent on legume performance. Competitive phenomena explained the delivery of services and disservices more effectively during the consolidation phase than during the establishment phase. Soil mineral nitrogen content before sowing appeared to be a strong environmental filter conditioning the response of the legumes in terms of performance and their effects on ecosystem service delivery. Finally, legume height growth rate and leaf area were identified as key functional traits accounting for performance differences, suggesting that competition for radiation interception was the principal explanatory mechanism. We then discussed the variability of legume performance not accounted for by functional traits.

1. Introduction

Increasing functional biodiversity is a promising way to ensure the delivery of ecosystem services (Isbell *et al.* 2011). In agroecosystems, the use of mixtures of plant species has often been proposed as a relevant solution for decreasing reliance on pesticides and achieving more sustainable cropping systems (Malézieux *et al.* 2009). The introduction of living mulches in cropping systems could supply several ecosystem services, including weed regulation (White and Schott 1991; den Hollander *et al.* 2007b; Amossé 2013).

We have previously shown, in winter oilseed rape (WOSR), that the use of a frost-sensitive legume living mulch can decrease weed abundance and biomass before winter (chapter 1). Like Cadoux *et al.* (2015), we showed that weed regulation was variable, depending on the intercrop biomass (cash crop + living mulch), as demonstrated for other cash crop-living mulch systems (Amossé *et al.* 2013b). Competition between the cash crop and the living mulch has frequently been reported in such systems (Carof *et al.* 2007a; Den Hollander *et al.* 2007b; Hiltbrunner *et al.* 2007a; Amossé *et al.* 2013a), but we also demonstrated that the use of some legume species led to much smaller decreases in WOSR biomass or nitrogen uptake before winter, as shown by Cadoux *et al.* (2015) and Valantin-Morison *et al.* (2012).

Identification of the determinants of legume performance, which condition the delivery of the weed regulation service and competition with the cash crop, is thus of prime importance, to facilitate the choice of the most appropriate legume species.

In various studies investigating the competitive relationships between species in intercrops, the use of functional traits has been shown to facilitate the identification of resource acquisition and use strategies and to improve understanding of species performances (Damour *et al.* 2014, Tardy *et al.* 2015; Tixier *et al.* 2011), including, in particular, the ability to grow rapidly and to cover the soil as soon as possible after sowing (den Hollander *et al.* 2007a; Tribouillois *et al.* 2015a). A functional trait is defined as a morphological, phenological or physiological trait with an indirect effect on fitness through effects on growth, reproduction and survival, the three components of individual performance (Violle *et al.* 2007). The use of functional traits to account for differences in species biomass growth rate, which is considered to be a performance trait (Violle *et al.* 2007), may therefore be a useful approach. The relationships between relative growth rate and functional traits have already been studied (Poorter and Garnier 2007; Tribouillois *et al.* 2015a). Several foliar traits have been shown to account for differences between species in terms of resource acquisition and use strategies: specific leaf area (SLA), leaf size (LA) and leaf dry matter content (LDMC) (Pierce *et al.*

2013; Westoby 1998). Simple whole-plant traits, such as plant height, are also good indicators of the competitive vigour of the species (Cornelissen *et al.* 2003). Seed traits, such as seed mass, also provide information about biomass accumulation during early growth (Fayaud *et al.* 2014; Gardarin *et al.* 2010; den Hollander *et al.* 2007a).

As demonstrated by Fayaud *et al.* (2014), the early growth phase is particularly important in intercrops because it conditions resource sharing and the dominance between species. Similar results were also obtained in another study on pea-wheat intercrops (Naudin *et al.* 2010). However, we previously showed (chapter 1) that the proportion of legume in WOSR-living mulch systems, which varied widely as a function of soil mineral nitrogen content, was a key element underlying the weed regulation effect. The period of simultaneous cash crop and legume growth in the autumn is very short (legume species likely to be killed off by frost in early winter) and the cash crop rapidly accumulates large amounts of biomass (Dejoux *et al.* 2003). We therefore assumed that the growth dynamics of the two species would be important elements governing weed regulation. We thus hypothesised that species performances (in terms of biomass growth rate) during the phase of intercrop establishment would determine service delivery in WOSR-legume living mulch intercrops.

In this study, our principal objective was to understand the contribution of legume performance to the weed regulation effect and competition phenomena observed for the cash crop, assuming that species performance during the establishment phase was of particularly importance and that soil mineral nitrogen content was also a key factor (as it conditions dominance relationships between species, chapter 1). Our second objective was to identify legume functional traits determining legume performance, for each of the growth phases considered (establishment and consolidation) and for the two levels of soil mineral nitrogen content.

2. Materials and methods

2.1 Field experiment and experimental design

A field trial was carried out during two growing seasons in 2012-2013 and 2013-2014, at the INRA experimental station of Grignon (France). The details of this field trial are provided elsewhere (chapter 1). We compared seven frost-sensitive legume species: fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*, cv. Fenusol), spring faba bean (*Vicia faba*, cv. Espresso), grass pea (*Lathyrus Sativus*, cv. Fertigess), lentil (*Lens culinaris*, cv. Fentille), field pea (*Pisum sativum*), berseem clover (*Trifolium alexandrium*, cv. Rif), and spring common vetch (*Vicia sativa*, cv. Marianna). We also studied three mixtures of legumes: lentil-grass pea-fenugreek, lentil-faba bean and common vetch-faba bean-berseem clover. Legumes were first broadcast sown at 75% the recommended rate for a sole crop. We then sowed winter oilseed rape, according to local practices, at a density of 50 seeds.m⁻². All sowing passes were carried out on the same day (August 23rd 2012 and August 22nd 2013). A control treatment with no legume living mulch (winter oilseed rape as a sole crop) was also set up.

Assuming that soil mineral nitrogen content strongly modifies the competitiveness relationships between species, we compared two levels of nitrogen availability, by applying 100 kgN.ha⁻¹ (as ammonium nitrate) just before sowing to half the trial and leaving the other half without nitrogen fertilisation. These two treatments were considered to correspond to “high” and “low” soil mineral nitrogen content (SMNC), respectively. We also sowed a cocktail of seven weed species (some of the most frequently observed species in a winter oilseed rape field survey, Fried and Reboud (2007)) to obtain a homogeneous population of weeds. No herbicide was applied. Finally, the crop was irrigated just after sowing, to ensure homogeneous crop emergence and the rapid dissolution of fertiliser.

We used a split plot design with two factors: the legume living mulch species (11 treatments) and the level of soil mineral nitrogen content (2 treatments), with three replicates, resulting in 66 plots per year.

2.2 Data collection and plant sampling

Legume and winter oilseed rape (WOSR) aerial biomasses were sampled twice during the simultaneous growth period. The first sample (S1) was obtained on 25th September in 2012 and 23rd September in 2013 (corresponding to 452 and 492 cumulative degree-days (CDD))

after sowing, respectively, and the B4 stage for winter oilseed rape). The period between sowing and this first sample was defined as the intercrop establishment phase. We sampled legume and WOSR biomasses again just before winter (S2), at a time point corresponding to the end of the simultaneous growth period, on 13th November in both years (980 CDD and 1145 CDD after sowing, respectively). The time interval between the first and second samples was defined as the consolidation phase. Samples were oven-dried for 48 hours at 80°C and weighed, to determine their biomass (in grams of dry matter per square metre). We then calculated biomass growth rates for each of the two phases, by dividing the aerial biomass accumulated between the two dates considered (sowing and S1 for the establishment phase, S1 and S2 for the consolidation phase) by the cumulative number of degree-days between these two dates. These two variables were considered to be performance traits, as defined by Violle *et al.* (2007), and are expressed in kilogrammes of dry matter per hectare and degree-day ($\text{kgDM}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{DD}^{-1}$). At the second sampling, we also measured weed abundance and WOSR nitrogen uptake (see chapter 1).

Just before sampling aerial biomass, we also performed *in situ* measurements of legume height, by measuring the shortest distance between the top of the plant and ground level without stretching out the plant. We performed five measurements per treatment, for each replicate. We applied the formula given above to determine legume height growth rates (expressed in $\text{cm}\cdot\text{DD}^{-1}$). Due to the damage caused by a hailstorm on 1st November in 2012, we were unable to measure legume height for the last sampling date. We therefore used height data obtained during a previous measurement (on 22nd October 2012, corresponding to 809 CDD after sowing). We then used a measurement made at a similar date in 2013 (14th October, corresponding to 795 CDD) as the final legume height, to prevent experimental bias. We also determined the stem/leaf biomass ratio for the first sample and before winter, by separating out the stem and leaves from a subsample (collected from each replicate) of a minimum of 30% of the initial fresh biomass for the first sample and 10% for the final sample before winter (but always with more than three plants per subsample). We then dried each part of the subsample at 80°C for 48 hours and weighed it. This measurement was made only in 2013 and we assumed that this trait was related to the ability of the species to colonise the interplant space.

The foliar functional traits SLA (specific leaf area in $\text{mm}^2\cdot\text{mg}^{-1}$), LA (leaf area in cm^2) and LDMC (leaf dry matter content in $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) were measured in accordance with standardised protocols (Cornelissen *et al.* 2003). As recommended, we carried out these measurements on specific plots, with legumes grown alone and sown at the recommended density for a sole

crop, so as to obtain non-limiting growth conditions, in the two sets of soil mineral nitrogen availability conditions, during the last autumn sampling in 2013.

2.3 Statistical analyses

We used ANOVA (aov procedure in R software, R Core, 2006) for statistical analyses, after checking for residue normality and variance homogeneity.

We first assessed the effects of the intercrop biomass growth rates (calculated during the two growth phases) on weed abundance before winter, for the two growth periods. We then studied the effects of legume and WOSR biomass growth rates on intercrop biomass growth rates during the establishment and consolidation growth phases, considered separately. Finally, we assessed the competitive effect of the legume on the cash crop, by studying the effect of legume biomass growth rate during the two growth phases on the level of WOSR nitrogen uptake before winter.

For each step, assuming that the effects of species biomass growth rate on the response variables varied with SMNC, we also tested the effects of SMNC availability and its interactions with species biomass growth rates. We estimated the regression coefficients for each explanatory variable by multiple linear regression analyses (lm procedure of R software). All terms were considered as fixed effects. We did not include year as an explanatory variable in our statistical analyses.

For identification of the functional traits accounting for legume performance during the two growth phases, we first calculated Pearson's correlation coefficients and tested their significance. These correlation coefficients were calculated only for single legumes (we did not consider the legume mixtures). For the establishment phase, we considered SLA, LA, LDMC, seed mass, stem leaf biomass ratio measured during the first sampling and legume height growth rate during the establishment phase as explanatory variables. For the consolidation phase, we considered the same set of functional traits but we used the legume height growth rate and stem/leaf biomass ratio measured during the consolidation phase. Then, for each trait identified as significant, we assessed the link between pairs of variables, by performing multiple linear regressions with the functional trait considered, SMNC and the interaction between SMNC and the functional trait considered as explanatory variables for legume performance. Due to the correlations between explanatory variables, we were unable to test multiple combinations of traits as factors accounting for legume performance.

3. Results

3.1 Influence of intercrop performance on the weed regulation service delivered

During the establishment phase (Figure 14), there was a significant effect of the interaction between intercrop performance and SMNC on weed abundance before winter (Table 3). In high SMNC conditions, intercrops able to accumulate large amounts of biomass during the establishment phase significantly decreased weed abundance (estimate= -60.97 ± 13.62). By contrast, in low soil mineral nitrogen content conditions, legume performance during the establishment phase had no significant effect on weed abundance. Intercrop performances were higher in high SMNC ($0.84 \pm 0.20 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$ on average) than in low SMNC ($1.12 \pm 0.29 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$ on average) conditions ($p=3.02 \times 10^{-9}$; data not shown). Regardless of soil mineral nitrogen content, intercrop performance during the consolidation phase (Figure 14) always had a significant effect on the weed regulation service provided ($p=9.4 \times 10^{-14}$, table 1). Higher intercrop biomass growth rates were associated with lower weed abundance before winter. As in the establishment phase, intercrop performances were significantly higher in high SMNC ($4.08 \pm 0.73 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$ on average) than in low SMNC ($3.21 \pm 0.95 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$ on average) conditions ($p=4.4 \times 10^{-8}$; data not shown). The interaction between legume performance and SMNC was not significant during the consolidation phase.

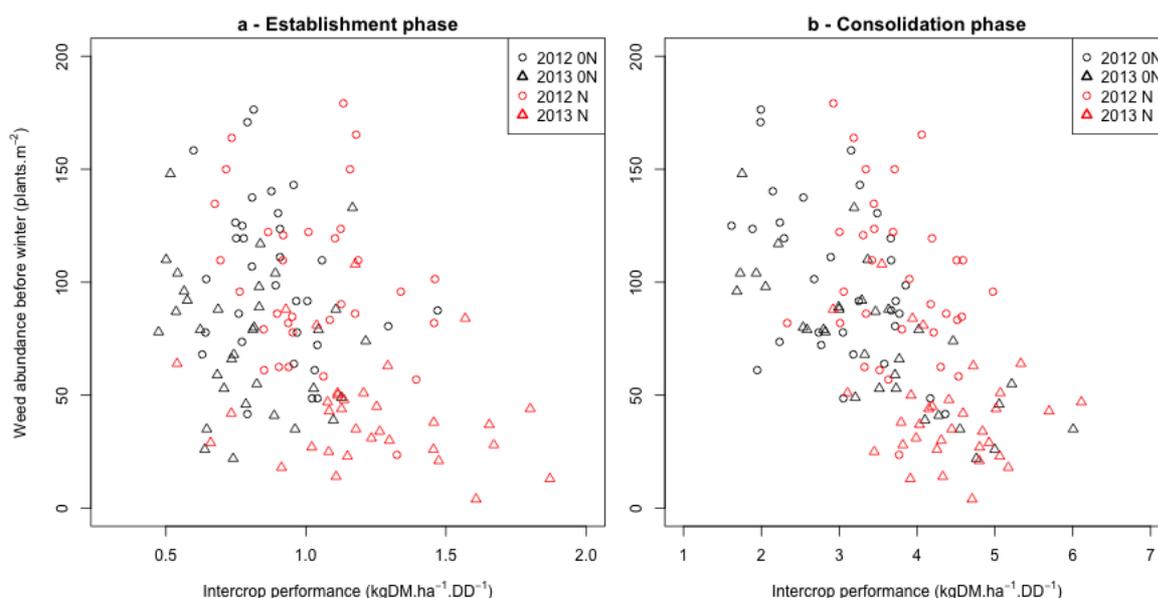


Figure 14 : Relationships between weed abundance before winter and intercrop performance during the establishment phase (figure a) and the consolidation phase (figure b)

Table 3 : Regression parameters for weed abundance against intercrop performance and SMNC

	<i>P</i> -value
Intercrop performance (consolidation phase)	9.4×10^{-14} ***
Intercrop performance (establishment phase)	4.6×10^{-3} **
SMNC	0.0203 *
Intercrop performance (consolidation phase) X SMNC	0.41
Intercrop performance (establishment phase) X SMNC	0.012 *
Adjusted $R^2 = 0.41$	

3.2 Competitive relationships between species during the two growth phases

3.2.1 Establishment phase

WOSR and legume performances had strong effects on intercrop performance ($p < 2 \times 10^{-16}$ and $p = 4.1 \times 10^{-11}$, respectively, Figure 15; Table 4). Higher legume and WOSR performances were associated with higher intercrop performance. Nevertheless, the performance levels for the two species clearly indicated that winter oilseed rape made a much greater contribution than the legume to the performance of the intercrop during the establishment phase. There was no significant effect of the interaction between legume or WOSR performance and SMNC on intercrop performance.

Regardless of the legume species considered, the introduction of a legume living mulch always resulted in the intercrop performing significantly better ($p < 2 \times 10^{-16}$) than winter oilseed rape grown alone ($0.25 \pm 0.17 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$ more, on average, for intercrop treatments). SMNC also had a significant effect ($p = 8 \times 10^{-10}$) on intercrop performance ($0.27 \pm 0.04 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$ more, on average, in high SMNC conditions).

SMNC had no significant effect on legume performance during the establishment phase ($p = 0.205$). Intercrop performance was not affected by SMNC during the establishment phase, reaching 0.22 ± 0.14 and $0.26 \pm 0.15 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$ on average in low and high SMNC conditions, respectively. By contrast, SMNC had a significant effect on WOSR performance ($p = 2.6 \times 10^{-9}$, data not shown), with better performances observed in high SMNC ($0.86 \pm 0.03 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$) than in low SMNC ($0.62 \pm 0.03 \text{ kgDM.ha}^{-1}.\text{DD}^{-1}$) conditions.

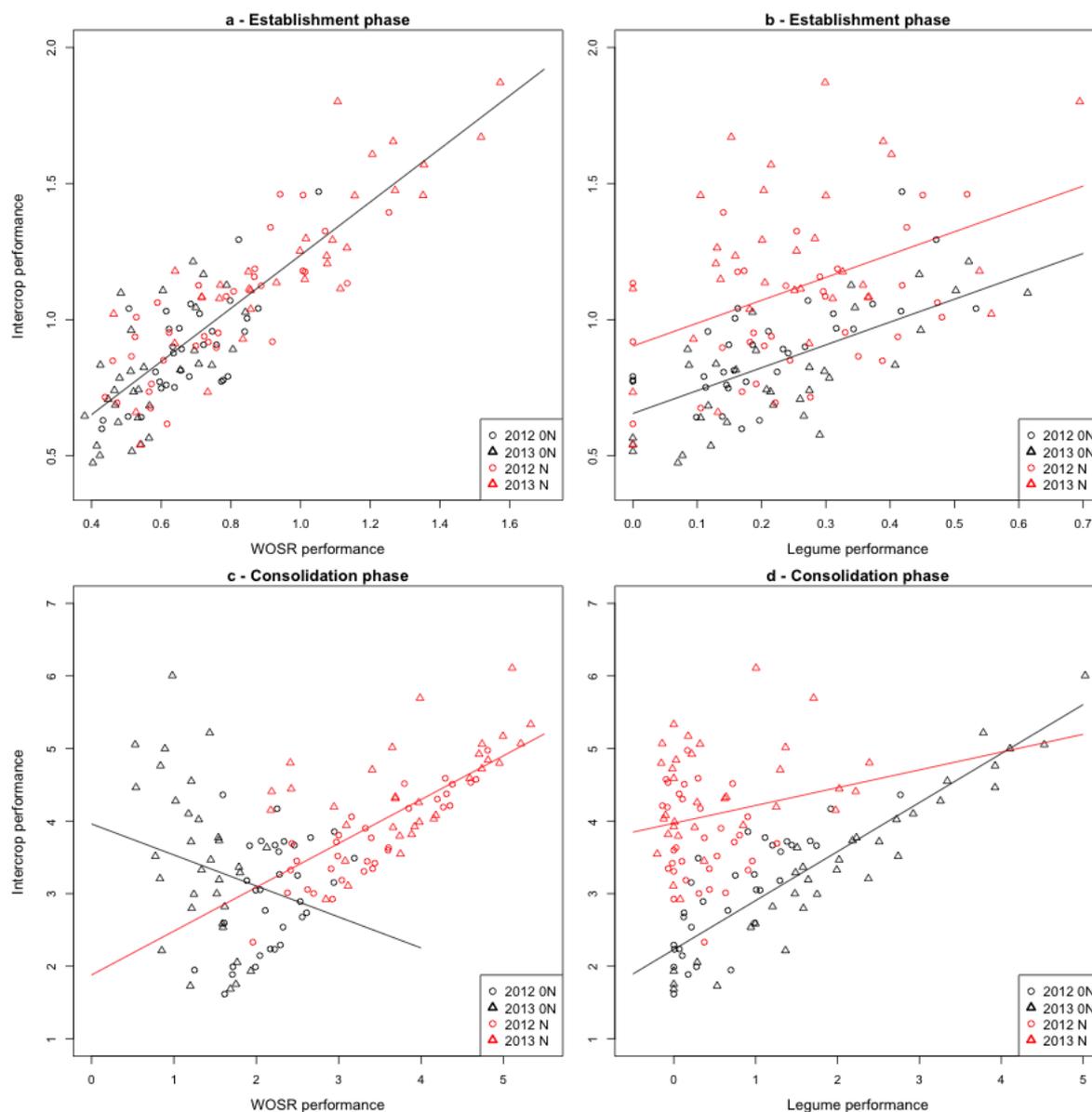


Figure 15 : Relationships between intercrop performance and WOSR (figure a) and legume (figure b) performances during the establishment and consolidation phases (figure c and d, respectively). Performances (corresponding to species biomass growth rate) are expressed in $\text{kgDM}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{DD}^{-1}$

Table 4 : Regression parameters for intercrop performance against WOSR or legume performance and SMNC for the two growth phases considered

	Establishment phase	Consolidation phase
WOSR performance	$<2 \times 10^{-16} ***$	$1.3 \times 10^{-10} ***$
SMNC	0.1	0.09
WOSR performance X SMNC	0.67	$3.2 \times 10^{-7} ***$
Legume performance	$4.1 \times 10^{-11} ***$	$1.6 \times 10^{-8} ***$
SMNC	$1.4 \times 10^{-9} ***$	$<2 \times 10^{-16} ***$
Legume performance X SMNC	0.34	0.0017 **

3.2.2 Consolidation phase

During the consolidation phase, WOSR and legume performances interacted significantly with SMNC before sowing and this interaction accounted for intercrop performance (Table 4; Figure 15), resulting in contrasting situations. In low SMNC conditions, both legume and WOSR performances had significant effects on intercrop performance. Better legume performance was associated with better intercrop performance (estimated coefficient= 0.67 ± 0.06 , $p < 2 \times 10^{-16}$). Conversely, in these conditions, better WOSR performance was associated with a significantly poorer intercrop performance (estimated coefficient= -0.43 ± 0.06 , $p = 0.007$). Thus, in the presence of small amounts of soil mineral nitrogen, intercrop performance was strongly dependent on legume performance. In high soil mineral nitrogen content conditions, both legume and WOSR performances had significant positive effects on intercrop performance ($p = 0.04$ and $p = 1.8 \times 10^{-7}$, estimated coefficient= 0.25 ± 0.12 and 0.60 ± 0.11 , respectively). Thus, increases in legume and/or WOSR biomass growth rates resulted in a significant improvement in intercrop performance.

In low SMNC conditions, the introduction of a legume, regardless of the species used, resulted in a significant increase in intercrop performance during the consolidation phase ($p = 1.8 \times 10^{-4}$), with the intercrop biomass growth rate $1.47 \pm 0.37 \text{ kgDM} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{DD}^{-1}$ greater, on average, than the control biomass growth rate. In high SMNC conditions, the presence of legumes was also associated with a higher intercrop performance, but this difference was not significant ($0.15 \pm 0.31 \text{ kgDM} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{DD}^{-1}$ more, on average for the intercrops than for winter oilseed rape grown alone).

As in the establishment phase, SMNC greatly affected WOSR performance ($p < 2 \times 10^{-16}$), resulting in better performances in high SMNC ($3.64 \pm 0.09 \text{ kgDM} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{DD}^{-1}$ on average) than in low SMNC ($1.76 \pm 0.09 \text{ kgDM} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{DD}^{-1}$ on average) conditions. By contrast, legume performances were much better ($p < 2 \times 10^{-16}$) in low SMNC ($1.45 \pm 0.12 \text{ kgDM} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{DD}^{-1}$ on average) than in high SMNC ($0.44 \pm 0.12 \text{ kgDM} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{DD}^{-1}$ on average) conditions.

3.3 Effects of legume performance on the delivery of disservices

The interactions between legume performance during the two growth phases and SMNC had a significant effect on the level of nitrogen uptake by WOSR before winter (Table 5; Figure 16). Legume performance during the establishment phase was inversely correlated with WOSR N uptake before winter in high SMNC conditions ($p = 0.04$, slope estimation= -28.8 ± 13.9). In low SMNC conditions, the interaction between these two variables

was not statistically significant ($p=0.13$), but estimation of the slope of the regression line (19.8 ± 13) suggested that better legume performance tended to be associated with slightly higher levels of nitrogen uptake by the WOSR before winter. Nevertheless, legume performance had no significant effect on the rate of nitrogen acquisition by winter oilseed rape and did not interact with SMNC either (data not shown), consistent with an absence of direct competition between the legume and the WOSR during this growth phase.

Regardless of SMNC levels, better legume performance during the consolidation phase was associated with lower levels of N uptake by WOSR ($p=0.0016$ in low SMNC and $p=0.03$ in high SMNC conditions). This effect was strongest at high SMNC (estimated regression coefficients= -4.8 ± 1.5 in low SMNC and -7.1 ± 3.3 in high SMNC conditions). Moreover, legume performance was inversely correlated with WOSR nitrogen acquisition rate in the consolidation phase, for both levels of SMNC (data not shown). Thus, direct competition occurred between the legume and the WOSR during the consolidation phase.

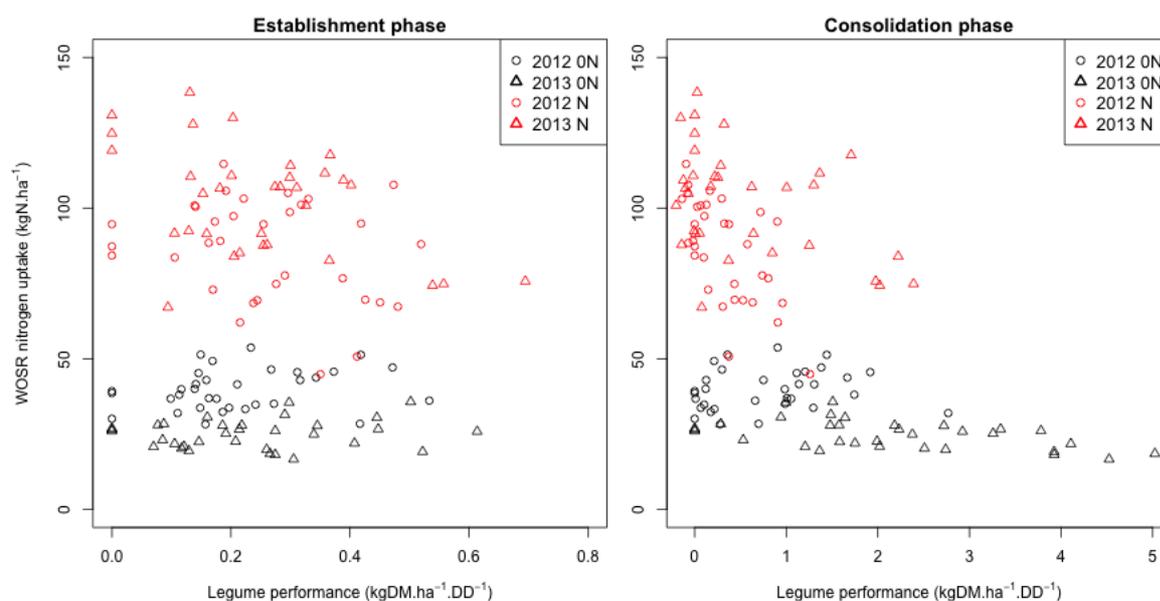


Figure 16 : Relationships between WOSR nitrogen uptake before winter and legume performance during the establishment phase (figure a) and the consolidation phase (figure b)

Table 5 : Regression parameters for WOSR nitrogen uptake before winter against intercrop performance and SMNC

	<i>P</i> -value
Legume performance (consolidation phase)	$<2 \times 10^{-16}$ ***
Legume performance (establishment phase)	2.5×10^{-7} ***
SMNC	$<2 \times 10^{-16}$ **
Legume performance (consolidation phase) X SMNC	0.041 *
Legume performance (establishment phase) X SMNC	0.012 *

3.4 Functional traits underlying legume performance

Legume performance during the establishment phase was found to be positively correlated with leaf area ($p=5.9 \times 10^{-11}$), seed mass ($p=1.2 \times 10^{-4}$) and height growth rate ($p=7.8 \times 10^{-11}$), whereas legume biomass growth rate was significantly negatively correlated with leaf dry matter content ($p=3.0 \times 10^{-5}$, Table 6). The correlations for leaf size and height growth rate were particularly strong (Figure 17), with Pearson's coefficients of 0.64 (with a significant effect, $p<0.001$) for both these variables. There was no significant interaction between these functional traits and SMNC to account for legume performances during the establishment phase and SMNC had no significant effect on legume height growth rate during the establishment phase or on leaf area.

Table 6 : Pearson's correlation between legume performances during the establishment and consolidation phases and functional traits. SLA: Specific leaf area, LDMC: Leaf dry matter content, LA: Leaf size

Legume performance - Establishment phase		
	Pearson's coefficient	P-value
SLA	0.08	0.46
LDMC	-0.43	3.0×10^{-5}
LA	0.64	5.9×10^{-11}
Stem/leaf biomass ratio	-0.2	0.07
Seed mass	0.41	1.2×10^{-4}
Height growth rate	0.64	7.8×10^{-11}
Legume performance - Consolidation phase		
	Pearson's coefficient	P-value
SLA	0.04	0.75
LDMC	-0.33	1.9×10^{-3}
LA	0.32	2.9×10^{-3}
Stem/leaf biomass ratio	0.22	5.1×10^{-2}
Seed mass	0.18	0.11
Height growth rate	0.42	8.2×10^{-5}

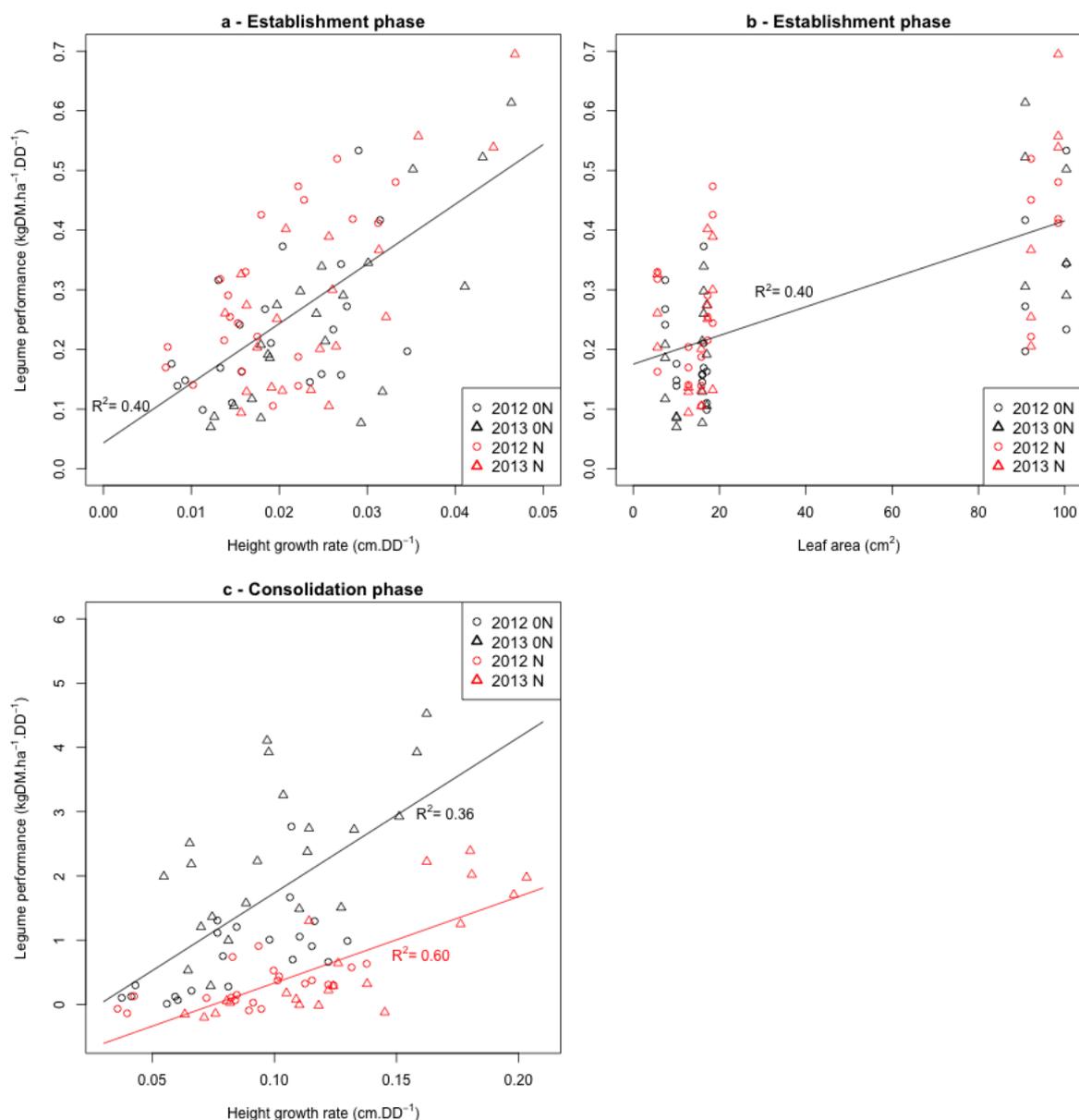


Figure 17 : Relationships between legume performance, during the establishment (figure a b) and consolidation (Figure c) phases, and explanatory functional traits. Height growth rates were calculated for each of the growth phases considered

During the consolidation phase, legume height growth rate was significantly positively correlated with legume performance, yielding the highest Pearson's coefficient for this phase, 0.42 (Table 6). The multiple linear regression analysis also revealed a significant interaction between legume height growth rate and SMNC ($p=0.029$). The slope of the regression line for legume height growth rate and legume performance was greater in low SMNC conditions (24.2 ± 3.8 , $R^2=0.36$) than in high SMNC conditions (13.4 ± 3.0 , $R^2=0.60$, Figure 17c). LDMC and LA were also significantly correlated with legume performance during the consolidation phase, but the Pearson's correlation coefficients obtained were relatively low (Table 6) and

linear regression analysis showed that only a small proportion of the variability was explained by these variables ($R^2=0.10$ and 0.09 for these two variables).

4. Discussion

4.1 Legume performance determines the weed regulation service provided and competition with WOSR during the autumn

As shown in other studies of the intercropping of a cash crop with a legume living mulch, legume biomass growth rate accounted for much of the greater weed control afforded by the intercrop than by the cash crop alone; however, it also accounted for the depressive effect of intercropping on cash crop performances (den Hollander *et al.* 2007b; Hiltbrunner *et al.* 2007a; Carof *et al.* 2007a). Regardless of the species introduced, better legume performance was always associated with a better performance of the legume-winter oilseed rape intercrop. Legume biomass acquisition is thus a key function governing both the weed regulation service and the disservices provided by legumes during intercropping.

Contrary to our initial assumptions and published results (Uchino *et al.* 2009; Fayaud *et al.* 2014), competition phenomena occurring during the establishment phase did not determine either the weed regulation effect or nitrogen uptake by the WOSR. Indeed, there was no direct competition between species during this growth phase and intercrop performances were related exclusively to the weed regulation effect in high SMNC conditions. Contrary to what was found in low SMNC conditions, the legume species with the best performance during the establishment phase in high SMNC conditions were associated with a greater ability to outcompete weeds and winter oilseed rape in terms of nitrogen uptake.

Species performances during the consolidation phase had a more determinant effect on the services and disservices studied. The ability of the intercrop to accumulate large amounts of biomass (*i.e.* intercrop performance) during the consolidation phase had a strong effect on the reduction of weed abundance, regardless of SMNC. Legume performance accounted for this greater intercrop biomass growth rate well, and legumes made a much greater contribution to intercrop biomass accumulation in low SMNC conditions. However, despite the better performance of legumes in low SMNC than in high SMNC conditions, legumes depressed winter oilseed rape nitrogen acquisition rate more strongly at high SMNC.

4.2 Use of functional traits to explain and understand legume performance

Regardless of nitrogen availability or the growth phase considered, legume height growth rate was the most relevant functional trait for understanding legume performance. In all conditions tested, the legume species most able to grow rapidly in the vertical plane were associated with the best performances in terms of legume biomass growth rate (and legume leaf area growth rate, Annexe 7). Indeed, plant height is often considered to be a functional trait associated with competitive vigour (Cornelissen *et al.* 2003), and this association has been highlighted particularly in cash crop-legume living mulch systems (den Hollander *et al.* 2007b; Carof *et al.* 2007b). The importance of leaf area, which is associated with the size of the photosynthetic organ (Pierce *et al.* 2013) and was found to be positively correlated with legume performance, also highlighted the role of competition for radiation as a fundamental mechanism explaining the performance of the living mulch in autumn, as in other examples of cash crop-living mulch intercrop systems (Bilalis *et al.* 2010; Carof *et al.* 2007a & 2007b). Indeed, the competitive ability of a species is known to be related to the structure of its canopy and its shading ability (Seavers and Wright 1999; Wallace *et al.* 1991), and the ability of the legume to increase its competitiveness for radiation in intercrops may partly account for its performance in weed regulation. Moreover, other investigations in this experiment also showed that the legume species with the best performances were associated with greater WOSR epicotyl elongation during the autumn than observed for WOSR grown alone (significant only in 2012, Annexe 8), suggesting that the presence of the legume in these cases also increased the intensity of competition for radiation with the cash crop. WOSR epicotyl growth is favoured when interspecific competition for radiation is intense (Dejoux 1999).

Legume performance appeared to be more strongly related to functional traits during the establishment phase than during the consolidation phase, and LDMC and seed mass were also significantly correlated with legume performance. These results are consistent with those of Gardarin *et al.* (2010), Uchino *et al.* (2011) and Fayaud *et al.* (2014), who found that initial biomass was positively correlated with seed mass. The relationship between LDMC and legume performance found here (significant negative correlation) was relatively weak, but was also consistent with the tendency of the species to present strong potential relative growth and to be productive when LDMC was low (Cornelissen *et al.* 2003).

During the establishment phase, when there was no significant competition between legumes and the cash crop, and SMNC had no significant effect on the early growth of the species, legume performance was more closely related to resource acquisition strategies. This explains

why the general relationships between legume performance and functional traits identified in comparative ecology studies of wild species (Pierce *et al.* 2013; Westoby *et al.* 1998) were also identified in the legume species studied here, for various traits (LDMC, leaf area, seed mass, height). By contrast, during the consolidation phase, SMNC strongly conditioned the level of competitiveness of the WOSR and, thus, affected legume performance. For this reason, we believe that the relatively low significance of the correlations between legume performance and functional traits in agroecosystems with high levels of anthropic disturbance was probably due to a greater influence of environmental conditions in these systems, rather than intrinsic differences in resource acquisition strategies. Like Tribouillois *et al.* (2015), we identified significant correlations, but the proportion of variability in legume performance explained by these functional traits was relatively low and depended on the growth period and level of SMNC considered.

Tardy *et al.* (2015) and Tribouillois *et al.* (2015a) suggested that domestication and breeding might have modified the traits of these cultivated species, with the selection of greater homogeneity in competitive ability. It may therefore be more difficult to detect differences in resource acquisition strategies and growth performances for these species than for wild species. The simultaneous consideration of other functions and of mechanisms of competition occurring between intercrops and weeds, such as belowground competition/facilitation mechanisms (Hauggaard-Nielsen and Jensen 2005; Corre-Hellou *et al.* 2005; Jamont *et al.* 2013) or allelopathy (Wezel *et al.* 2014), and the functional traits involved in these mechanisms would also probably improve our understanding of intercrop functioning.

4.3 SMNC before sowing is an important environmental filter to be taken into account

Soil mineral nitrogen content was an important environmental filter for understanding the functioning of winter oilseed rape-legume living mulch intercrops during the autumn. Indeed, it modified the responses of the legumes in terms of both their own performance and their effects on the intercrop and the cash crop. These changes in legume responses and effects also differed between the growth phases considered.

During the establishment phase, the SMNC had no significant effect on legume performance. However, the effects of legume performance on the services and disservices delivered depended on SMNC during this period. SMNC did not affect the influence of legume performance on intercrop performance or the rate of nitrogen acquisition by the WOSR, but legume performance affected the amount of nitrogen taken up by the WOSR before winter in

conditions of high SMNC. Similarly, intercrop performance also affected weed abundance, with high intercrop performance decreasing weed abundance before winter.

During the consolidation phase, legume performance was much higher in low SMNC than in high SMNC conditions. The effects of legume performance during the consolidation phase were also key determinants of intercrop performance (and, consequently, of the weed regulation effect) and of disservices to WOSR, in both low and high SMNC conditions. Regardless of SMNC, higher rates of legume or intercrop biomass growth were associated with more intense competition with the cash crop or weeds. These competitive relationships were stronger in high SMNC than in low SMNC conditions.

5. Conclusion

Legume performance, in terms of biomass growth rate, was found to be a key determinant of weed regulation (service) and competition with the cash crop (disservice). Functional traits describing the ability of legume species to intercept radiation, their height growth rate and leaf area were the most relevant for explaining legume performance, regardless of SMNC before sowing. These functional traits explained about half the variability of performance.

Competition between species during the establishment phase had no great effect on intercrop performance and its effect was significant only if the SMNC was high. By contrast, competition between species during the consolidation phase was a key determinant of weed regulation and competition with the cash crop. Regardless of SMNC, legumes able to accumulate large amounts of biomass during the consolidation phase competed strongly with both weeds and WOSR.

In winter oilseed rape-legume living mulch intercrops, SMNC before sowing was an important environmental filter conditioning the response of legumes in term of performance, mostly during the consolidation phase, and determining the effects of intercropping on weed regulation (an ecosystem service) and competition with WOSR (a disservice).

CHAPITRE 3 : Undersowing winter oilseed rape with a frost-sensitive legume living mulch: consequences for cash crop nitrogen nutrition

Ce chapitre correspond à un article soumis dans la revue *Field Crops Research*

Undersowing winter oilseed rape with a frost-sensitive legume living mulch: consequences for cash crop nitrogen nutrition

LORIN M^{1,2}, JEUFFROY M-H^{1,2}, BUTIER A^{1,2}, VALANTIN-MORISON M.^{1,2}

¹INRA, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

²AgroParisTech, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

Abstract

The use of legume cover crops as green manure is often seen as an effective way of supplying the next crop with nitrogen. For winter oilseed rape (WOSR), which requires large amounts of nitrogen in the spring, the introduction of a frost-sensitive legume living mulch (which is killed off during the winter) is a promising way to decrease mineral N fertiliser inputs.

The aim of this study was to assess the potential of several frost-sensitive legumes, grown as intercropped living mulches, to provide WOSR with a biological nitrogen supply during the spring. We carried out a field trial over two growing seasons, comparing seven legume species and three legume mixtures intercropped with WOSR, and two levels of soil mineral nitrogen content before sowing. The presence of legumes, living during the autumn and dead during the spring, was generally associated with greater nitrogen uptake by oilseed rape, with 20 to 40 kgN.ha⁻¹ taken up by the end of flowering, than for WOSR as a sole crop. Studies with ¹⁵N-labelled nitrogen fertiliser demonstrated that this nitrogen bonus was due to the mineralisation of legume residues, together with other mechanisms, such as increases in nitrogen fertilisation use efficiency and soil organic matter mineralisation.

1. Introduction

Intensive agricultural production is highly dependent on nitrogen fertilisation, but only 30 to 50% of the nitrogen fertiliser applied globally is actually taken up by the crop (Tilman *et al.* 2002). Nitrogen is lost through various mechanisms, leading to changes in biogeochemical nitrogen fluxes that greatly destabilise the Earth's homeostasis (Steffen *et al.* 2015) and affect ecosystems functioning (Tilman *et al.* 2001; Cameron *et al.* 2013).

One of the principal arable crops grown in Western Europe, winter oilseed rape (WOSR), requires particularly large amounts of nitrogen fertiliser. In France, the mean rate of nitrogen application reached 169 kgN.ha⁻¹ in 2011 (AGRESTE 2014). The area under WOSR has rapidly increased in recent decades, due to the use of this crop as a biofuel (Schott *et al.* 2010; van Duren *et al.* 2015). There is thus an urgent need to decrease mineral fertiliser inputs and to increase the efficiency of fertilisation practices for WOSR.

Organic mulches of plant residues provide an interesting source of biological nitrogen for cash crops. Legumes, grown as cover crops or as green manure, have frequently been shown to have positive effects on the following cash crop, particularly for spring crops (Liebman *et al.* 2012; Nagumo et Nakamura 2013; Amossé *et al.* 2014). However, as WOSR is generally preceded in the rotation by cereals (Schott *et al.* 2010), the period available for the growth of a cover crop is very short, making it impossible to produce significant amounts of legume biomass.

The introduction of a frost-sensitive legume living mulch (Cadoux *et al.* 2015) may be an effective way of providing the WOSR crop with biological nitrogen during the spring. After a period of simultaneous growth, winter temperatures should kill off the legume, providing a source of nitrogen for mineralisation, fixed or taken up by legumes in the autumn, for use by WOSR in the following spring. Moreover, as shown in previous studies (Cadoux *et al.* 2015; chapter 1), this approach should provide other ecosystem services, such as weed regulation and lower levels of rape winter stem weevil damage. The living mulch species must fix and/or absorb a significant amount of nitrogen within a short period of growth (from the end of August to mid-November), minimising competition with WOSR for nitrogen uptake, for such a system to be effective. The symbiotic nitrogen fixation system of legumes generally results in an absence of competition with non-legume crops, particularly at low levels of mineral nitrogen availability (Naudin *et al.* 2010). Moreover, the dynamics of organic nitrogen mineralisation from legume residues should be adapted to the dynamics of N uptake by the cash crop, thereby decreasing the need for mineral nitrogen fertiliser applications.

In WOSR-LLM intercrops, the organic nitrogen present in the legume residues remains at the soil surface as a dead mulch, resulting in a pattern of mineralisation dynamics different from that observed when these residues are incorporated (Coppens *et al.* 2006). The incorporation of legume residues may lead to higher (Yamawaki *et al.* 2014) or lower (Corbeels *et al.* 2003) levels of nitrogen mineralisation, depending on the quality of the residues concerned. However, Dejoux *et al.* (2000) showed that some of the nitrogen derived from dead leaves of WOSR that detach from the plant during the winter (with a low C:N ratio) was absorbed by WOSR during the subsequent spring, potentially providing several dozen kgN.ha⁻¹. This suggests that non-mature legume residues, with their low C:N ratio (Tribouillois *et al.* 2015b), could provide significant amounts of nitrogen to WOSR crops.

The aim of this study was to assess the potential effect of a frost-sensitive legume living mulch on the supply of biological nitrogen to WOSR during the spring. We assessed the effects of different legume species and growth conditions (including inorganic soil nitrogen availability before sowing, in particular).

2. Materials and methods

2.1 Field experiment

A field trial was carried out during two growing seasons in 2012-2013 and 2013-2014 at the INRA experimental station at Grignon (48.9°N, 1.9°E). The soil was an orthic-luvisol (FAO classification), with 250 g.kg⁻¹ clay, 670 g.kg⁻¹ silt and 80 g.kg⁻¹ sand in the uppermost 30 cm (for a precise description, see chapter 1). The soil mineral nitrogen content (SMNC) before sowing reached 33 and 30 kgN.ha⁻¹ in the 0-30 cm layer, 24 and 11 kgN.ha⁻¹ in the 30-60 cm layer and 18 and 4 kgN.ha⁻¹ in the 60-90 cm layer, in 2012 and 2013, respectively. The two growing seasons were characterised by higher cumulative precipitation totals than the 20-year average and a drier than usual early spring period (in March and April, Figure 18). The months of January to May in 2013 were colder than the 20-year average.

During the winter of 2012-2013, the mean temperature was below 0°C on 14 days from early December to February. The minimum mean temperature recorded was -3.8°C. In the winter of 2013-2014, none of the days had a minimum temperature below 0°C, the coldest temperature recorded being 0.1°C, in early December.

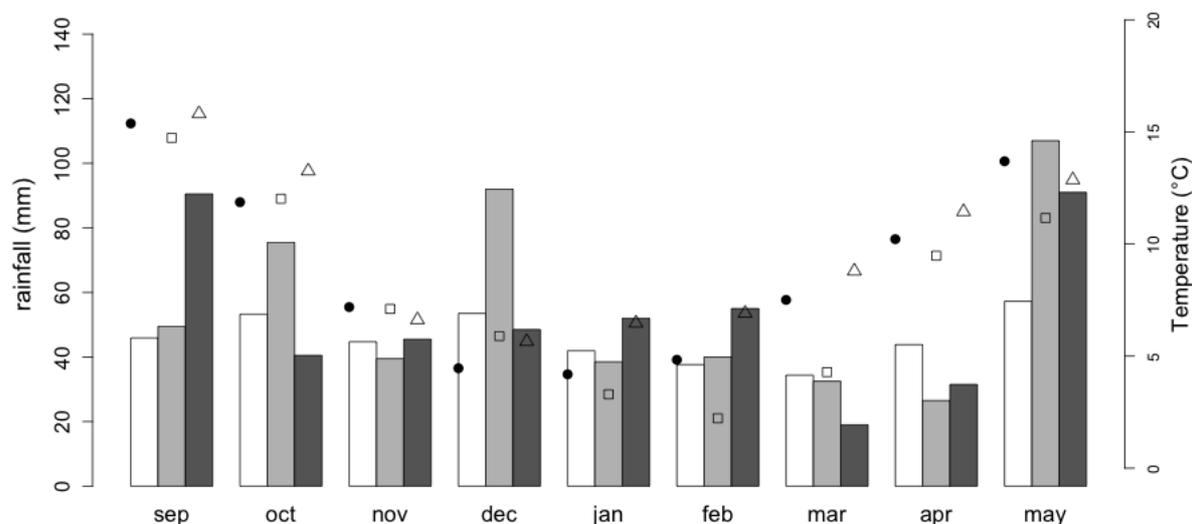


Figure 18 : Rainfall and temperature at the Grignon station in the growing seasons of 2012-2013 and 2013-2014, as compared with average data (1993-2013). The bars indicate the cumulative monthly rainfall (white: average for 1993-2013; light grey: 2012-2013, dark grey: 2013-2014). The symbols above the bars indicate the mean temperature of the corresponding growing season (•: 1993-2013, □ 2012-2013, Δ: 2013-2014)

2.2 Experimental design

We compared seven species of legume sensitive to the frost levels found in the local climatic conditions: fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*, cv. Fenusol), spring faba bean (*Vicia faba*, cv. Espresso), grass pea (*Lathyrus sativus*, cv. Fertigess), lentil (*Lens culinaris*, cv. Fentille), field pea (*Pisum sativum*, cv. Rif), berseem clover (*Trifolium alexandrinum*, cv. Tigri), spring common vetch (*Vicia sativa*, cv. Marianna). We also used three mixtures of legumes: lentil-grass pea-fenugreek, lentil-faba bean and common vetch-faba bean-berseem clover. A control treatment, with winter oilseed rape (WOSR) as a sole crop, was also implemented.

Legumes were broadcast sown at 75% the recommended rate for a sole crop, and the seeds were incorporated into the uppermost 3 cm of soil by light tillage. For legume mixtures, the sowing density was reduced proportionally, according to the number of species. WOSR (*Brassica napus*, cv. Alpaga) was then sown at a density of 50 seeds.m⁻², in accordance with local practices. The legumes and the WOSR were sown the same day (*i.e.* August 23rd, 2012 and August 22nd, 2013). We simulated different soil nitrogen availabilities, by applying 100 kgN.ha⁻¹ fertiliser (as ammonium nitrate) to half the trial just before sowing and leaving the

other half of the plots without nitrogen fertiliser. Finally, the crop was irrigated to ensure uniform emergence, at a rate of 50 mm.ha⁻¹ in 2012 (25 mm.ha⁻¹ on August 28th and 25 mm.ha⁻¹ on September 5th) and 20 mm.ha⁻¹ in 2013 (on August 27th).

The experimental design was a split plot with two factors: legume living mulch species (LLM) and soil mineral nitrogen content (SMNC) before sowing. The treatments — 10 living mulches intercropped with winter oilseed rape and 1 control treatment, with two levels of SMNC — were established in 3.5 x 12 m plots, with three replicates and randomisation for the LLM factor, giving 66 plots in total.

Pests and diseases were controlled by the application of appropriate pesticides. A single application of 1.5 L.ha⁻¹ Kerb flo (propyzamide, Dow AgroSciences) was performed at the start of the winter, in both years, to kill off cereal regrowth. No herbicide specific for dicots was applied in autumn, to prevent damage to the LLM, but weed competition was negligible in both years. The low temperatures of the 2012-2013 winter were sufficient to kill off all the LLM plants. However, the winter of 2013-2014 was unusually mild and only field pea was killed off (common vetch and berseem clover were partially killed off), thanks to the low temperatures in early December. A herbicide for broad-leaved weeds was therefore applied on March 5th, 2014, to kill off the remaining LLM (0.4 L.ha⁻¹ of Lontrel 100, clopyralid, Dow AgroSciences). The same herbicide was applied to all treatments, to prevent experimental bias.

2.3 Nitrogen fertiliser applications

The rates of nitrogen application in the spring were calculated by the nitrogen balance method (Reau and Wagner 1998), based on measurements of WOSR nitrogen uptake before and after the winter, the available SMNC after the winter and determinations of target yields based on the regional reference (*i.e.* 3.8 t.ha⁻¹). The main objective of this study was to obtain a precise measurement of the potential uptake of surplus nitrogen by WOSR in intercropping situations (through comparison with the control treatment) and the proportions of the nitrogen taken up by WOSR originating from spring fertiliser applications and mineralisation. We maximised nitrogen uptake and minimised the risk of nitrogen loss, taking into account the unknown level of mineralisation of the organic nitrogen present in the dead legume mulch, by underfertilising the crop. We subtracted the maximum nitrogen uptake by the LLM before winter from the recommended rate of nitrogen fertiliser calculated by the balance sheet

method for the sole crop. Thus, all treatments (intercrops and the control treatment) were fertilised at the same rate, calculated per year x SMNC combination.

Based on our calculations, we applied 130 kgN.ha^{-1} in 2013 to the low and high SMNC treatments, and 90 kgN.ha^{-1} to the low SMNC treatment in 2014. No nitrogen fertiliser was required for the high SMNC plots in 2014 according to our calculations. In 2013, we split the total rate into two applications of 60 kgN.ha^{-1} on March 5th and 70 kgN.ha^{-1} on April 4th. In 2014, fertiliser was applied at the lower rate, once only, on March 6th.

We used ^{15}N -labelled fertiliser, to make it possible to distinguish between nitrogen derived from mineralisation (soil organic matter and legume residues) and the nitrogen applied as fertiliser in the spring. We delineated fixed microplots (0.72 and 1 m^2 in 2012-2013 and 2013-2014, respectively), onto which we spread the ^{15}N -labelled fertiliser. For the sole crop, we also delineated a second fixed microplot, onto which we applied unlabelled nitrogen fertiliser. The ammonium nitrate solution (with a $^{15}\text{NO}_3$ -labelled 1% excess), was applied carefully to the plots, at a rate of 160 mL per microplot, with syringes, to prevent leaf contamination.

2.4 Data collection and plant sampling

WOSR and LLM were sampled for aerial biomass determination before the winter (on November 5th 2012 and November 18th 2013), from 0.72 and 1 m^2 plots for each replicate, in 2012 and 2013, respectively. This period was considered to correspond to the end of the growing season for the LLM. We sampled the biomass from the central five rows, leaving 2 x 2 rows at the edges of each plot. We then determined aerial biomass by weighing, after drying at 80°C for 48 hours. The shoot biomass samples of the WOSR and the LLM were then ground (0.5 mm grid) and their nitrogen content was analysed by Dumas' method (1831).

For assessments of total nitrogen uptake by WOSR during the entire growth cycle and to prevent confusion between the effects of the mineralisation of dead WOSR leaves and that of the dead legume mulch during the spring, we periodically removed dead leaves (resulting from natural senescence and/or frost damage) from the fixed microplots before they reached the ground. For each microplot, we grouped the samples (after drying) collected from mid-October (the start of leaf loss) until the first application of ^{15}N -labelled fertiliser. Total nitrogen content was then analysed by Dumas' method, to determine nitrogen losses in dead leaves (in kgN.ha^{-1}). Finally, we grouped together the samples from the first application of ^{15}N fertiliser until the end of flowering.

At the stage of maximum nitrogen absorption, corresponding approximately to the end of flowering (May 22nd 2013 and April 29th 2014), we selected 0.25 and 0.5 m² subplots from the middle of the 0.72 and 1 m² fixed microplots in 2013 and 2014 respectively. Taproot and shoot biomasses were removed from this subplot and washed to remove all the soil. The samples were then dried at 80°C for 48 hours. Root, shoot and dead leaf samples (after the application of 15N-labelled fertiliser) were then ground (passage through a 0.5 mm grid) and 0.5 to 0.7 mg subsamples were weighed out. Isotopic excess was then determined by mass spectrometry.

Soil samples were removed with a mechanical probe before winter, after winter and at the end of flowering, from three layers: 0-30, 30-60 and 60-90 cm. Three samples per replicate were obtained before and after winter. At the end of flowering, two soil samples were removed from within the fixed microplots. Soil mineral nitrogen content before winter, after winter and at the end of flowering was then determined by extraction with KCl (50 g soil in 100 mL of 1 mol.L⁻¹ KCl solution) followed by standard colorimetric methods.

2.5 Data processing and calculations

Nitrogen nutrition index (NNI) was calculated before winter, as described by Colnenne *et al.*, (1998). NNI was defined as follows:

$$\begin{aligned} \text{NNI} &= N_t / 4.63 && \text{when } W < 1.18 \text{ t.ha}^{-1} \\ \text{NNI} &= N_t / (4.48 \times W^{-0.25}) && \text{when } W > 1.18 \text{ t.ha}^{-1} \end{aligned}$$

where N_t is the nitrogen concentration of the shoot biomass and W is the shoot biomass, expressed in t.ha⁻¹. At the end of flowering, we calculated the percentage of the nitrogen present derived from fertiliser for each fraction (shoot biomass, root biomass and dead leaves collected after the first application of 15N-labelled fertiliser). For each treatment, the excess of the 15N isotope (*i.e.* the isotopic abundance of a sample corrected for the isotopic abundance of the air) was compared with that for the corresponding control treatment (*i.e.* sole crop fertilised with unlabelled nitrogen) and weighted according to the isotopic excess of the fertiliser applied. Calculations were carried out for each replicate. We then calculated the amount of nitrogen derived from fertiliser, by multiplying the percentage of nitrogen derived from fertiliser by the amount of nitrogen in the corresponding fraction (shoot, root or dead leaves). Nitrogen derived from mineralisation was deduced by subtracting the fraction derived from fertilisation from the total amount of nitrogen in the corresponding compartment.

2.6 Statistical analysis

We performed a three-factor analysis of variance to assess WOSR and LLM nitrogen uptake, and soil mineral nitrogen content before and after winter, with the aov procedure of R software (R Core 2006). LLM and SMNC before sowing were treated as fixed effects. Data were transformed with log functions if the results of Shapiro normality tests or Bartlett's test for the homogeneity of variances were not significant.

We investigated the impact of introducing a LLM on nitrogen uptake by WOSR (before winter and at the end of flowering), by analysing the effects of SMNC before sowing, year and LLM treatment on the difference between nitrogen uptake for the intercrop and the control treatment, with the lm procedure of R software. These differences were calculated per year x replicate combination. The objective was to determine whether these differences were significantly different from zero.

3. Results

3.1 Nitrogen balance before spring

3.1.1 LLM nitrogen uptake

Legume living mulch nitrogen uptake was highly dependent on LLM treatment, year and SMNC and on interactions between these factors ($p < 0.05$).

Regardless of the growth conditions, LLM treatment had a significant effect on the amount of nitrogen taken up and/or fixed by the LLM ($p < 0.05$). In 2012-2013, LLM nitrogen uptake at the beginning of winter ranged from 3 to 23 kgN.ha⁻¹ in low SMNC conditions and from 4 to 28 kgN.ha⁻¹ in high SMNC conditions (Figure 19). In 2013-2014, LLM nitrogen uptake ranged from 26 to 79 kgN.ha⁻¹ in low SMNC conditions, and from 1 to 51 kgN.ha⁻¹ in high SMNC conditions. In 2013-2014, contrary to 2012-2013, LLM nitrogen uptake was significantly greater in low SMNC than in high SMNC conditions ($p < 0.05$).

Faba bean, berseem clover and the common vetch-faba bean-berseem clover mixture contained the largest amounts of nitrogen in all growth conditions (they were always in the first ANOVA group). Fenugreek, grass pea, lentil and lentil-grass pea-fenugreek had a much lower nitrogen uptake potential, as they belonged to the last group.

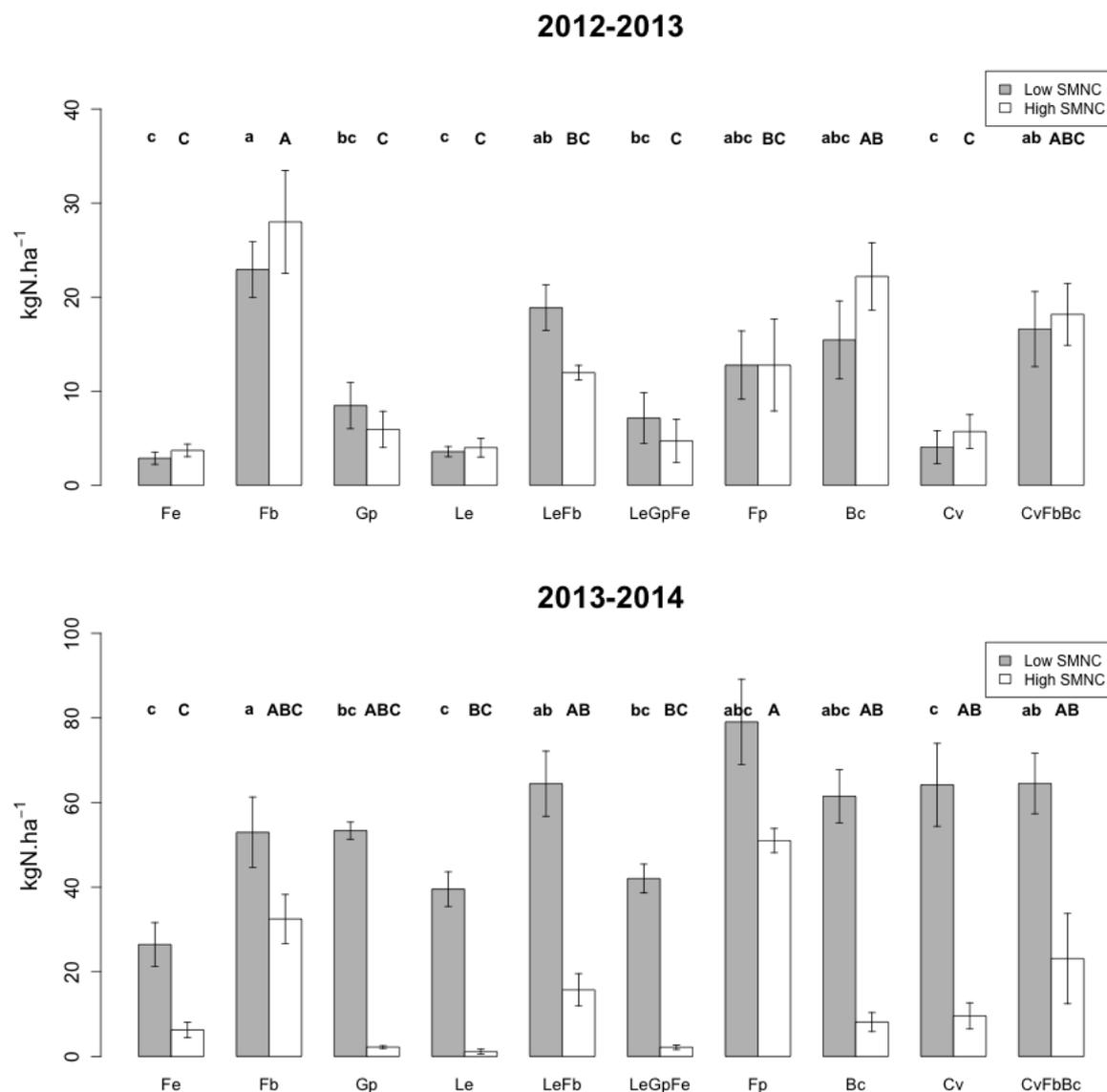


Figure 19 : Legume nitrogen uptake before winter in conditions of low and high soil mineral nitrogen content (SMNC) before sowing in 2012 and 2013. Letters indicate significant mean differences between LLM treatments for each year x SMNC combination in Student-Newman-Keuls tests, with a significance threshold of $p=0.05$. Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

3.1.2 WOSR nitrogen uptake before and after winter

The difference in nitrogen uptake by WOSR before winter between intercrops and the sole crop was significantly affected by year ($p=0.0127$) and SMNC before sowing ($p=0.0275$), whereas LLM treatment had no significant effect. This difference amounted to 2 and 9 kgN.ha^{-1} for low and high SMNC conditions, respectively, on average (Table 7). Thus, in

high SMNC conditions, the difference between intercrops and the sole crop was significantly different from zero ($p=3 \times 10^{-4}$).

The difference in nitrogen uptake between intercrops and the sole crop after winter was significantly affected by year ($p=4.2 \times 10^{-6}$) and the interaction between year and SMNC before sowing ($p=6.4 \times 10^{-4}$). In 2012-2013, the difference between intercrops and the sole crop was 7.6 kgN.ha⁻¹ in low SMNC conditions and 25.2 kgN.ha⁻¹ in high SMNC conditions (significantly different from zero, $p=5.9 \times 10^{-4}$) on average. It ranged from -5.7 to 11.2 kgN.ha⁻¹ on average for berseem clover and grass pea, respectively. In 2013-2014, the difference ranged between -4.6 and 10 kgN.ha⁻¹ for grass pea and lentil-faba bean, respectively, but there was no significant effect of LLM treatment or SMNC.

Table 7 : WOSR nitrogen content before and after winter for the two growing seasons, 2012-2013 and 2013-2014 (kgN.ha⁻¹), for the two levels of soil mineral nitrogen content (SMNC). The data shown are the means of the three replicates (\pm the standard deviation). LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

Treatment	LOW SMNC				HIGH SMNC			
	Before winter		After winter		Before winter		After winter	
	2012-	2013-	2012-	2013-	2012-	2013-	2012-	2013-
Control treatment	47 \pm 5	22 \pm 3	65 \pm 8	39 \pm 11	65 \pm 4	101 \pm 8	69 \pm 21	133 \pm 20
Fenugreek	51 \pm 13	21 \pm 7	63 \pm 12	43 \pm 6	88 \pm 11	104 \pm 16	103 \pm 15	142 \pm 16
Faba bean	42 \pm 8	23 \pm 3	69 \pm 12	37 \pm 5	71 \pm 1	94 \pm 11	89 \pm 18	106 \pm 19
Grass pea	46 \pm 6	17 \pm 1	78 \pm 10	34 \pm 2	86 \pm 3	107 \pm 1	96 \pm 13	144 \pm 39
Lentil	49 \pm 3	20 \pm 2	67 \pm 7	35 \pm 4	70 \pm 13	104 \pm 26	89 \pm 15	136 \pm 22
LeFb	44 \pm 2	16 \pm 5	84 \pm 10	49 \pm 26	59 \pm 15	95 \pm 5	78 \pm 3	134 \pm 8
LeGpFe	44 \pm 10	19 \pm 2	72 \pm 2	39 \pm 9	88 \pm 15	120 \pm 24	92 \pm 8	130 \pm 25
Field pea	47 \pm 8	18 \pm 2	59 \pm 3	44 \pm 5	73 \pm 22	76 \pm 13	93 \pm 4	118 \pm 27
Berseem clover	48 \pm 0.4	14 \pm 4	66 \pm 1	37 \pm 14	57 \pm 12	120 \pm 21	74 \pm 11	109 \pm 29
Common vetch	57 \pm 5	23 \pm 4	63 \pm 4	42 \pm 9	79 \pm 18	101 \pm 6	102 \pm 6	127 \pm 27
CvFbBc	52 \pm 8	21 \pm 3	68 \pm 7	37 \pm 7	80 \pm 10	103 \pm 20	85 \pm 8	125 \pm 15

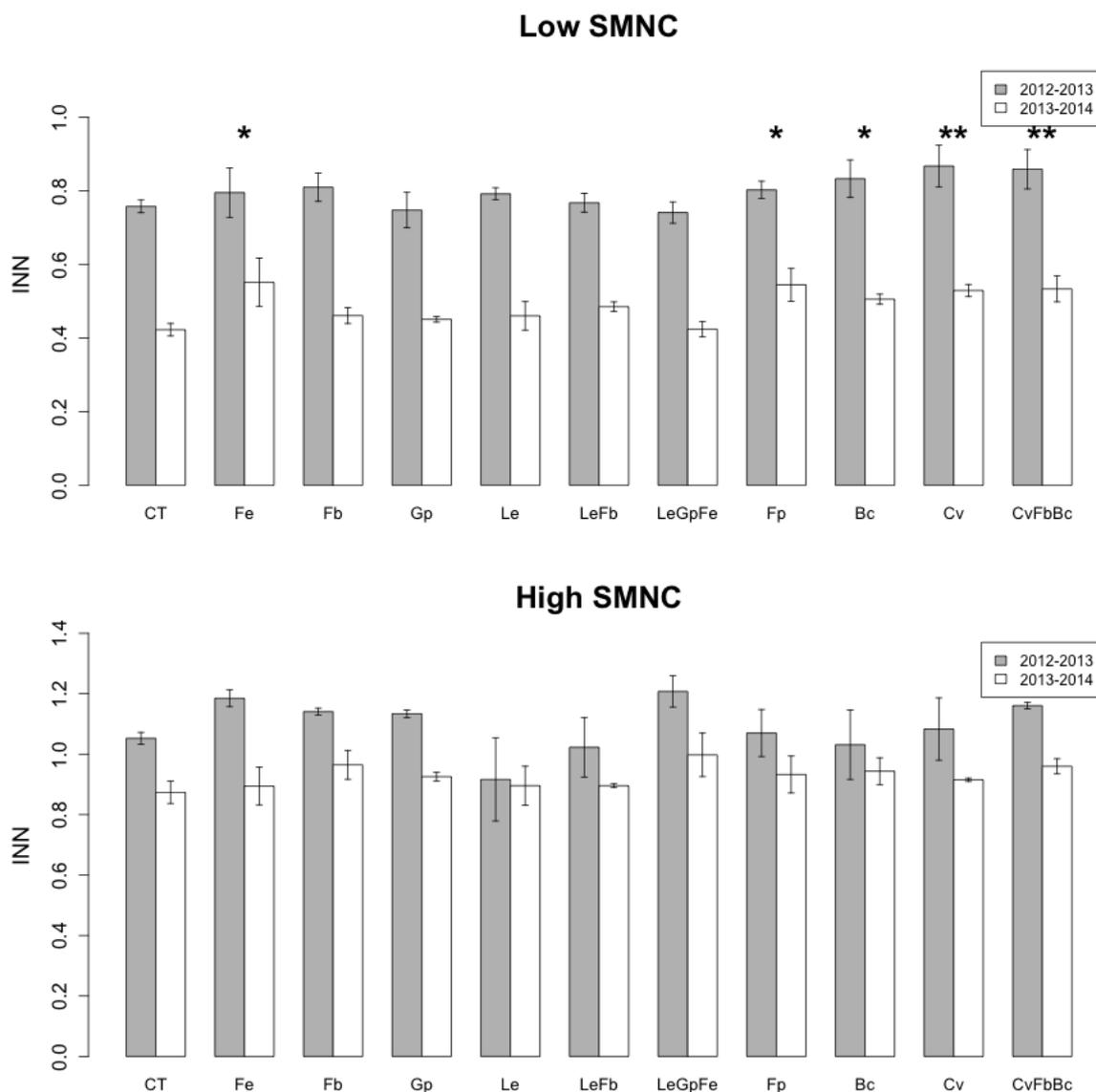


Figure 20 : Winter oilseed rape nitrogen nutrition index (NNI) before winter in conditions of low and high SMNC before sowing. The symbols above the bars indicate the treatments for which WOSR NNI was significantly higher than that for the control treatment: $p < 0.1$ (■), $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), and $p < 0.001$ (***). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

3.1.3 WOSR nitrogen nutrition index before winter

In conditions of low SMNC before winter, the NNI of WOSR ranged from 0.74 to 0.97 in 2012-2013 (when intercropped with lentil-grass pea-fenugreek and common vetch, respectively) and from 0.42 to 0.55 in 2013-2014 (for the control treatment and the intercrop with fenugreek, respectively; Figure 20). LLM treatment had a significant effect ($p=0.02$). Fenugreek, field pea, berseem clover, common vetch and the common vetch-faba bean-

berseem clover mixture treatments resulted in NNI values significantly higher than that for the control treatment ($p < 0.05$). In high SMNC conditions, the NNI of WOSR ranged from 0.92 to 1.21 in 2012-2013 (for intercrops with lentil and lentil-grass pea-fenugreek, respectively) and from 0.87 to 1 in 2013-2014 (for the control treatment and the intercrop with lentil-grass pea-fenugreek, respectively), but LLM treatment had no effect.

After winter, SMNC had a significant effect on the NNI of WOSR similar to that observed before winter ($p < 0.05$, data not shown). In conditions of low SMNC, the NNI of WOSR reached 1.09 in 2012-2013 and 0.63 in 2013-2014. In conditions of high SMNC, it reached 1.18 and 0.89 in 2012-2013 and 2013-2014, respectively, for the control treatment. LLM treatment had no effect on the NNI of WOSR after winter.

3.1.4 Soil mineral nitrogen content before and after winter

Soil mineral nitrogen content before winter reached 32 and 104 kgN.ha⁻¹ for low and high SMNC before sowing, respectively, in 2012-2013 and 17 and 21 kgN.ha⁻¹ for low and high SMNC before sowing, respectively, in 2013-2014, for the control treatment (Figure 21). The year x SMNC before sowing interaction had a significant effect on SMNC before winter. In 2012-2013, available SMNC before sowing had a significant effect on the SMNC before winter ($p < 10^{-16}$). On average, it reached 32 in low SMNC conditions and 51 kgN.ha⁻¹ in high SMNC conditions, but LLM treatment had no effect. In 2013-2014, SMNC before sowing also had a significant effect on SMNC before winter ($p = 1.5 \times 10^{-3}$), which reached 17 and 21 kgN.ha⁻¹ in low and high SMNC conditions, respectively. By contrast, LLM treatment had no significant effect.

After winter, soil mineral nitrogen content was also significantly affected by the interaction between year and SMNC before sowing. In 2012-2013, it reached 15 and 28 kgN.ha⁻¹ in low and high SMNC conditions, respectively (significant effect at $p = 6 \times 10^{-12}$). LLM treatment had no effect in 2012-2013. In 2013-2014, LLM treatment significantly affected the level of SMNC after winter ($p = 0.0273$). Faba bean ($p = 0.0256$), berseem clover ($p = 0.0449$) and field pea ($p = 0.0594$) yielded a higher SMNC after winter than the control treatment, with 15, 20 and 13 more kgN.ha⁻¹, respectively, in intercrops. SMNC after winter reached 28 and 22 kgN.ha⁻¹ in low and high SMNC conditions, respectively, for the control treatment, but SMNC before sowing had no effect.

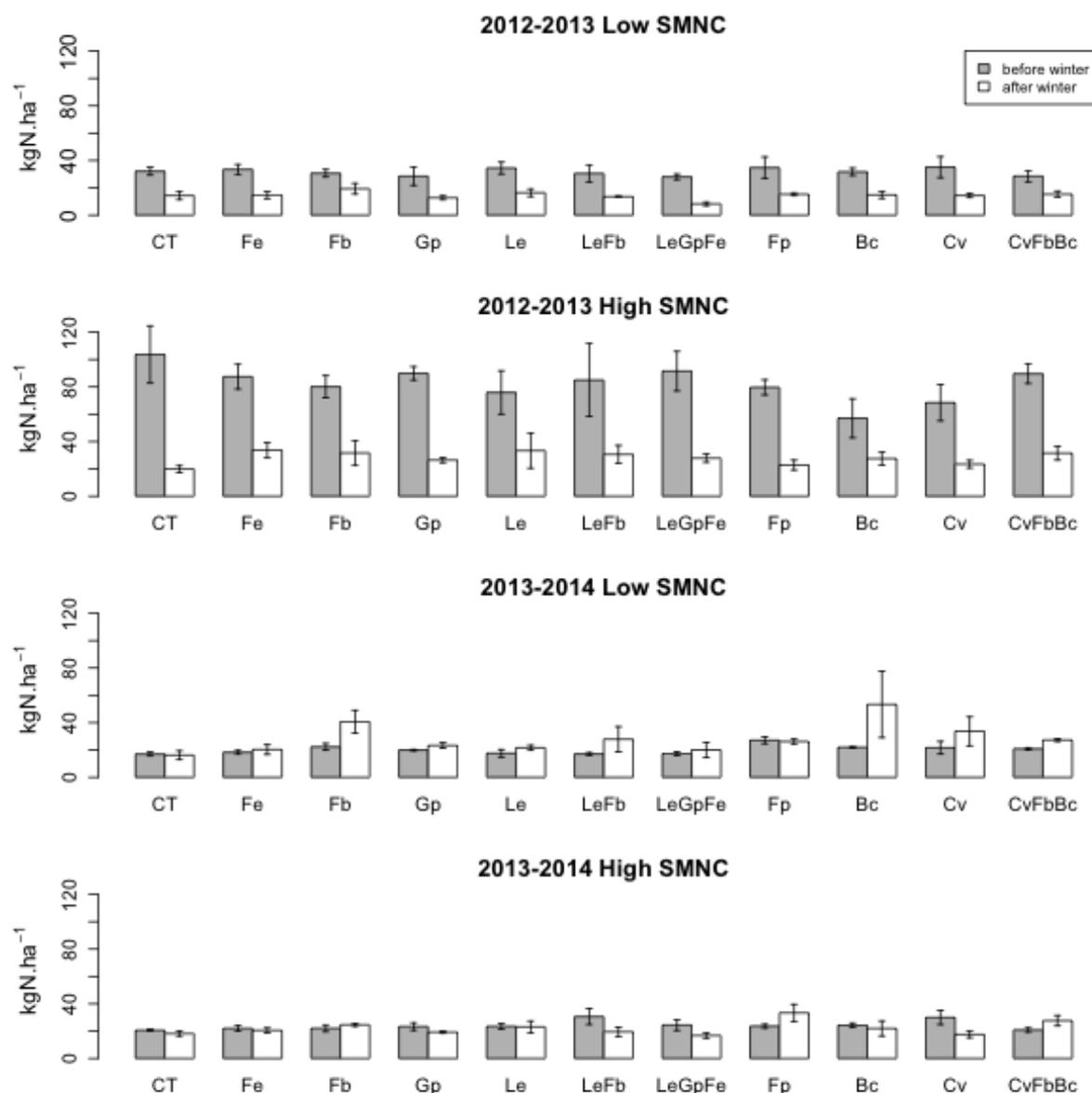


Figure 21 : Soil mineral nitrogen content before and after winter in the 0-90 cm layer for low and high SMNC before sowing, in 2012-2013 and 2013-2014. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

3.2 Consequences of the introduction of a LLM for the spring nitrogen uptake of WOSR

3.2.1 Nitrogen content in the aerial biomass at the end of flowering

SMNC before sowing had a significant effect on the difference in aerial biomass nitrogen content between intercrops and the sole crop (*i.e.* the nitrogen bonus) at the end of flowering ($p=0.027$). The bonus ranged from -5 to 45 kgN.ha⁻¹ in low SMNC conditions for lentil-faba

bean and lentil, respectively, and from -22 to 35 kgN.ha⁻¹, in high SMNC conditions, for faba bean and field pea, respectively. The mean bonus with respect to the control treatment was 19.5 kgN.ha⁻¹ for low SMNC and 0.5 kgN.ha⁻¹ for high SMNC (Figure 22). Year had no effect on the aerial nitrogen bonus.

LLM treatment also significantly affected the aerial nitrogen bonus ($p=0.043$). Significant differences were detected for common vetch-faba bean-berseem clover, lentil-grass pea-fenugreek, field pea, grass pea and common vetch ($p<0.05$), resulting in nitrogen bonuses of 39, 35, 34, 33 and 30 kgN.ha⁻¹ nitrogen on average. A significant difference was also detected for lentil if a threshold of $p=0.1$ was used (23 kgN.ha⁻¹ nitrogen bonus on average). The nitrogen bonus was small or negative for lentil-faba bean and faba bean.

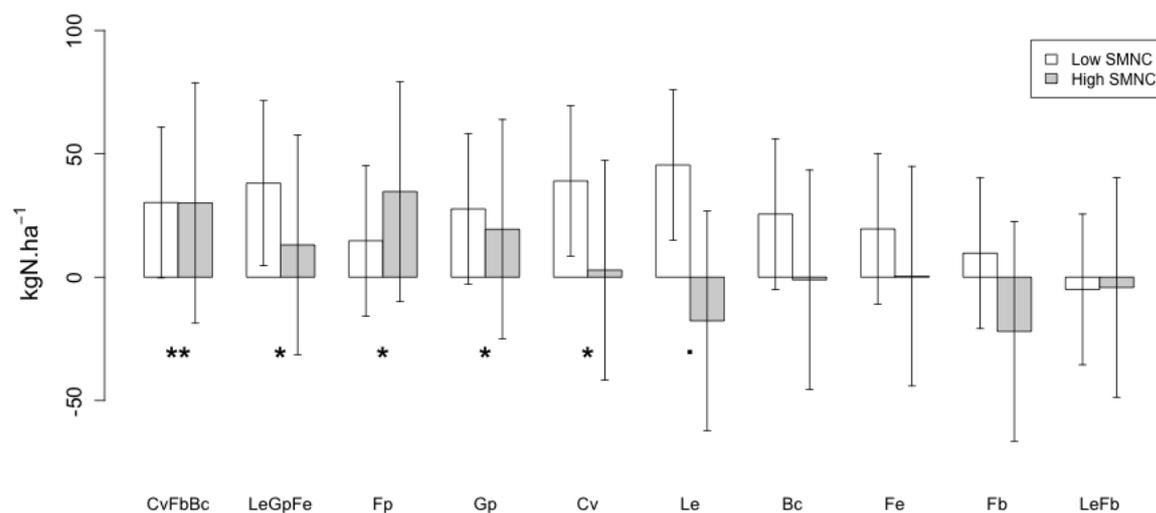


Figure 22 : Nitrogen uptake in aerial biomass at the end of flowering in conditions of low and high SMNC before sowing for the two years of experiment. The data shown are the differences between LLM treatments and the control treatment. The symbols below the histograms indicate treatments for which the difference in the amount of nitrogen is significantly different from 0 at $p<0.1$ (.), $p<0.05$ (*), $p<0.01$ () and $p<0.001$ (***). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover**

3.2.2 Nitrogen content of the other compartments at the end of flowering

LLM treatment had no significant effect on the nitrogen bonus in the root biomass or SMNC at the end of flowering. The nitrogen content of dead leaves was more variable, as it depended on both the growing conditions and LLM treatment. It reached 54 and 17 kgN.ha⁻¹ in 2012-

2013 and 2013-2014, respectively, for low SMNC, and 84 and 72 kgN.ha⁻¹ 2012-2013 and 2013-2014, respectively, for high SMNC conditions, for the control treatment (Table 8).

When the SMNC was low before sowing, LLM treatment had a significant effect ($p=4.9 \times 10^{-3}$) on the nitrogen bonus in dead leaves. Regardless of the LLM treatment considered, the intercrops systematically lost less nitrogen in dead leaves than the control crops. Faba bean and field pea ($p<0.05$), grass pea and lentil-grass pea-fenugreek ($p<0.1$) yielded nitrogen bonuses in dead leaves that were significantly different from zero (-4.9, -8, -4.5 and -4.4 kgN.ha⁻¹ on average, respectively).

In conditions of high SMNC before sowing, year ($p=2.1 \times 10^{-6}$) and LLM treatment ($p=0.045$) had significant effects on the difference in the amount of nitrogen lost in dead leaves. This difference reached 14.8 kgN.ha⁻¹ in 2012-2013 and -2.7 kgN.ha⁻¹ in 2013-2014, on average. The differences were significantly greater than zero for both fenugreek and lentil (14.8 and 13.2 kgN.ha⁻¹, respectively).

Table 8 : Nitrogen content of the winter oilseed rape (WOSR) of the control treatment at the end of flowering in each compartment, for the two different levels of soil mineral nitrogen content (SMNC) before sowing, in 2012-2013 and 2013-2014. The nitrogen content of dead leaves corresponds to the cumulative loss of nitrogen from the crop over the whole WOSR cycle (from October to the end of flowering)

	2012-2013		2013-2014	
	Low	High	Low	High
	SMNC	SMNC	SMNC	SMNC
Aerial biomass	176 ± 9	208 ± 24	105 ± 13	143 ± 14
Dead leaves accumulated	54 ± 4	84 ± 7	17 ± 2	72 ± 6
Root biomass	12 ± 2	15 ± 1	7 ± 1	8 ± 0
SMNC at end of flowering	20 ± 3	26 ± 4	26 ± 13	27 ± 4

3.3 Origin of the nitrogen taken up at the end of flowering

3.3.1 Mineralisation of organic nitrogen

The nitrogen content of the aerial parts of WOSR derived from mineralisation was 101 and 53 kgN.ha⁻¹ in 2012-2013 and 2013-2014, respectively, for low SMNC conditions, and 125 and 142 kgN.ha⁻¹ in 2012-2013 and 2013-2014, respectively, in high SMNC conditions (data not shown). LLM treatment and year had a significant effect on the aerial nitrogen bonus derived

from mineralisation ($p < 0.05$ for both factors), whereas SMNC had no effect. On average, the bonus was significantly higher in 2012-2013 than in 2013-2014, amounting to 17 and 2 $\text{kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$, respectively (Figure 23).

Field pea, grass pea, lentil-grass pea-fenugreek, common vetch and common vetch-faba bean-berseem clover ($p < 0.05$) contained significantly more nitrogen derived from mineralisation than the control treatment (the results for lentil and berseem clover were significant if a threshold of $p = 0.1$ was used). The nitrogen bonus derived from mineralisation was 38, 35, 33, 28 and 25 $\text{kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$ in 2012-2013 and 13, 10, 10, 7 and 5 $\text{kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$ in 2013-2014, for field pea, grass pea, lentil-grass pea-fenugreek, common vetch and common vetch-faba bean-berseem clover, respectively. Whatever the year, lentil-faba bean and faba bean differed very little from the control treatment.

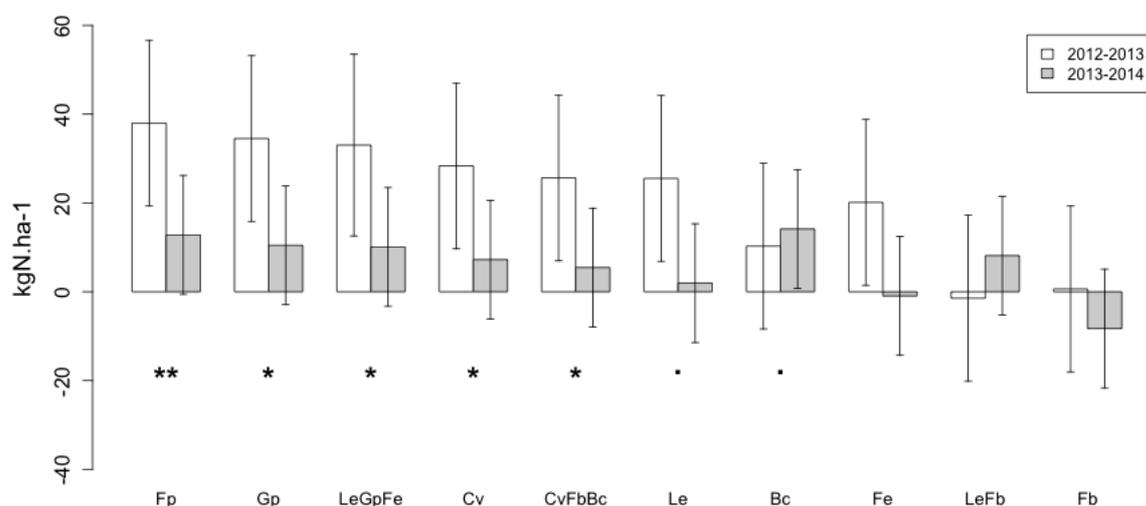


Figure 23 : Nitrogen taken up into the aerial parts of WOSR originating from soil + dead mulch mineralisation. The data shown are the differences between the intercrops and the corresponding control treatments. Each bar represents the mean difference per year (in low and high SMNC conditions). Symbols below the bars indicate the treatments for which the difference is significantly different from 0, for $p < 0.1$ (.), $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ () and $p < 0.001$ (***). Vertical bars indicate the standard deviation. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover**

There was no relationship between the aerial nitrogen bonus in WOSR due to mineralisation at the end of flowering and nitrogen uptake by the LLM before winter (Figure 24). There was also no relationship between the aerial and total nitrogen bonuses due to mineralisation (data

not shown). Regardless of the SMNC level before sowing or the year considered, the treatments able to absorb and/or fix large amounts of nitrogen did not necessarily result in the highest levels of nitrogen mineralisation. Finally, the nitrogen bonus derived from mineralisation was often larger than the amount of nitrogen taken up by legumes.

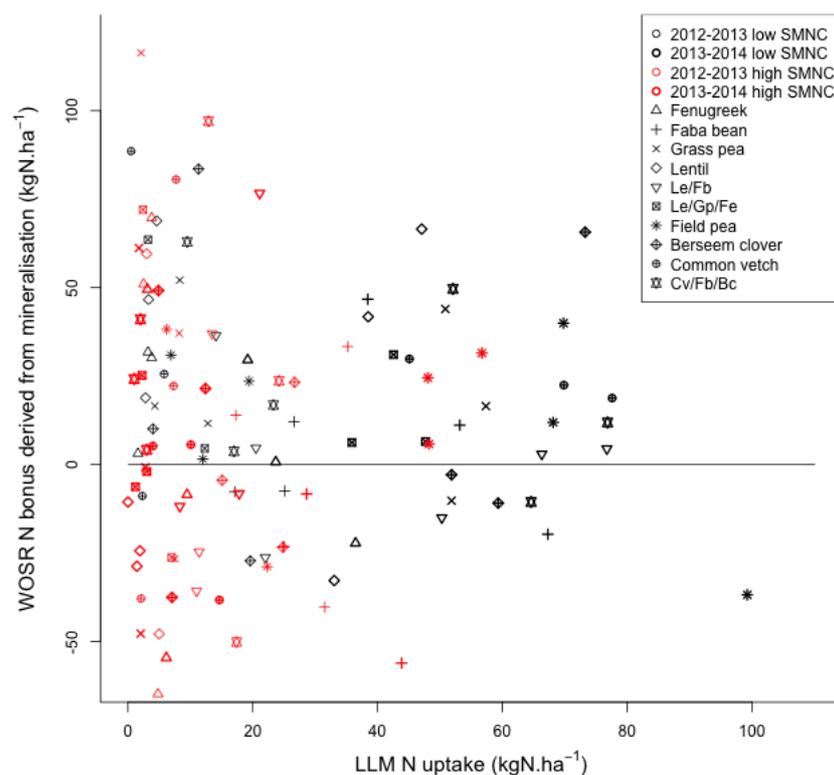


Figure 24 : WOSR aerial nitrogen bonus derived from mineralisation, at the end of flowering (expressed as a difference between intercrops and the control treatment), according to LLM nitrogen uptake before winter

3.3.2 Fertiliser nitrogen use efficiency

For the control treatment, fertiliser nitrogen use efficiency was very similar in 2012-2013 (NUE=0.58) and 2013-2014 (NUE=0.61) (Figure 25). Taking all treatments into account, year had a significant effect on nitrogen use efficiency ($p=0.003$), which was significantly higher in 2013-2014 (mean of 0.73) than in 2012-2013 (mean of 0.63). Lentil-grass pea-fenugreek ($p=0.01$) and common vetch ($p=0.09$) had higher nitrogen use efficiencies than the control treatment.

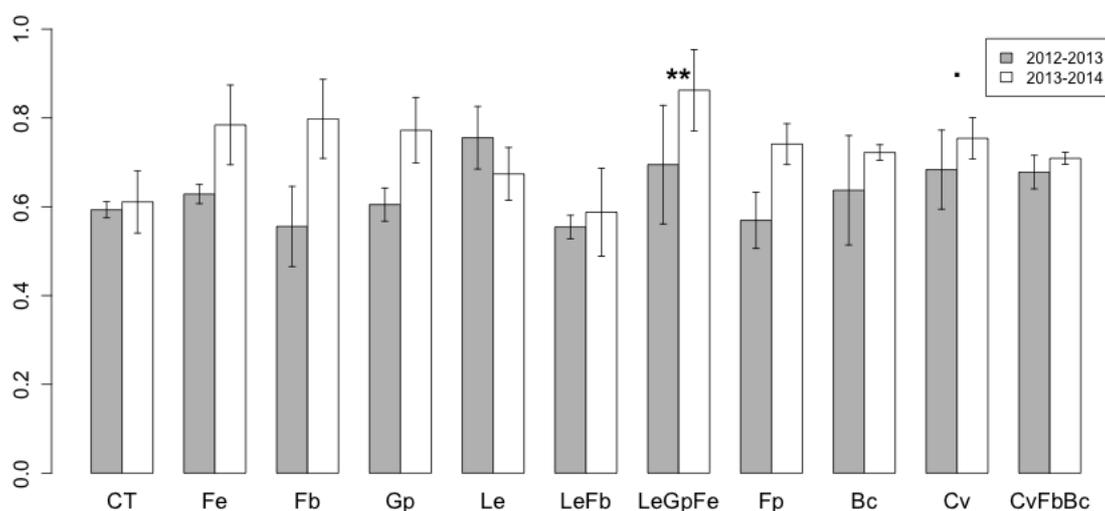


Figure 25 : Fertiliser nitrogen use (NUE) efficiency in conditions of low SMNC before sowing, as calculated at the end of flowering. The symbols above the bars indicate the treatments for which nitrogen use efficiency was significantly different from that of the control treatment: $p < 0.1$ (■), $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (), and $p < 0.001$ (***)**. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover

4. Discussion

4.1 Overview at the beginning/end of winter

Nitrogen uptake by legumes was strongly affected by the growing conditions. As demonstrated in other studies on the intercropping of legume and non-legume crops, higher SMNC was associated with lower levels of legume N uptake in the intercrop (Naudin *et al.* 2010; Corre-Hellou *et al.* 2006; Pelzer *et al.* 2014). Thus, in 2012-2013, the SMNC before sowing (in the 0-90 cm layer) was higher than that in 2013-2014, resulting in lower amounts of nitrogen uptake by legumes and small differences between low and high SMNC conditions (as shown in chapter 1).

The potential of the LLM to fix and/or absorb large amounts of nitrogen was also greatly influenced by the species considered, with faba bean, berseem clover and the common vetch-faba bean-berseem clover mixture most efficient in all growing conditions. In conditions in which the SMNC was high before sowing, fenugreek, grass pea, lentil and the lentil-grass

pea-fenugreek mixture competed particularly inefficiently with WOSR for mineral nitrogen and therefore did not catch significant amounts of mineral nitrogen.

In conditions of low SMNC before sowing, WOSR nitrogen uptake and SMNC before winter were not affected by LLM treatment. Thus, legume nitrogen uptake resulted mostly from symbiotic fixation (we assessed nitrogen derived from symbiotic fixation in 2012-2013, but the natural abundance method gave inconsistent results due to the presence of a large natural excess of ^{15}N in the soil). Moreover, in comparable situations of soil mineral nitrogen content, Amossé *et al.* (2014) showed that 71 to 96% of the nitrogen was derived from the atmosphere. Thus, in our experiment, the nitrogen taken up by the LLM mostly corresponds to an enrichment of the global organic nitrogen content of the system in low SMNC conditions. At high SMNC, legume nitrogen uptake probably results mostly from mineral nitrogen absorption, given that available mineral nitrogen levels exceeding $56 \text{ kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$ have been reported to inhibit peas symbiotic fixation strongly (Voisin *et al.* 2002).

Nitrogen uptake by WOSR was also greatly affected by SMNC before sowing. As reported by in chapter 1 and Dejoux *et al.* (2003), WOSR can absorb large amounts of nitrogen in the autumn when SMNC is high before sowing. Despite the uptake of very large amounts of nitrogen by the legumes (sometimes even greater than those taken up by the WOSR), particularly when the SMNC was low, LLM treatment had no effect on WOSR nitrogen uptake whatever the growing conditions. In chapter 1, we showed that intercropping with field pea resulted in the presence of smaller amounts of nitrogen in WOSR than for the control treatment, probably because of the presence of weeds, which increased the competition for mineral nitrogen in this study.

Moreover, before winter, the nitrogen nutrition index of WOSR was even higher for the fenugreek, field pea, berseem clover, common vetch and common vetch-faba bean-berseem clover treatments than for the sole crop in low SMNC conditions. The presence of a LLM tended to increase NNI, by up to 0.1 points with respect to the sole crop, in low SMNC conditions, but this increase did not attenuate nitrogen deficiencies in conditions of low SMNC.

During winter, whatever the SMNC before sowing, WOSR continued to absorb nitrogen, particularly in 2013-2014 when the winter was mild. Moreover, this increase in nitrogen uptake was generally greater for the LLM treatments than for the sole crop. Indeed, WOSR intercropped with LLM tended to lose smaller amounts of nitrogen in dead leaves, particularly

if SMNC was low before sowing, (the difference was particularly large during this period), probably due to a thermal protective effect of legume residues during winter.

Some authors have reported contrasting results in terms of the prevention of nitrate leaching for legumes used as living mulches and relay-intercropped legumes (Amossé *et al.* 2014; Sawyer *et al.* 2010; Oschner *et al.* 2010; Bergkvist *et al.* 2011). We found that the introduction of a LLM into WOSR crops never increased SMNC before winter, whatever the growing conditions. In high SMNC conditions, the presence of the legume even tended to decrease the SMNC before winter, although not significantly, probably by catching more soil mineral nitrogen. Thus, if large amounts of nitrogen are applied at the end of summer, a practice that should be avoided, to prevent leaching (Engstrom *et al.* 2014), then the introduction of LLM species able to catch mineral nitrogen may be one way to decrease SMNC before winter.

After winter, the presence of a LLM tended to increase SMNC, but this increase was significant only in 2013-2014, for field pea, berseem clover and faba bean. Field pea and berseem clover were totally or partially killed off by freezing temperatures in early December, suggesting a role for nitrogen residue mineralisation in the increase in SMNC, but faba bean continued to grow until the end of winter. Thus, other mechanisms, such as the regulation of soil temperature and a higher soil water content under legume mulches (Su *et al.* 2014), or the stimulation of microbial activity by the intercropped legume (Adamaviciene *et al.* 2012) may account for these findings.

4.2 The consequences of LLM introduction for nitrogen uptake by WOSR in the spring

4.2.1 Comparison of LLM species

The intercropping of WOSR with common vetch-faba bean-berseem clover, lentil-grass pea-fenugreek, field pea, grass pea, common vetch and lentil resulted in a significantly higher nitrogen content in the aerial biomass than for the control treatment at the end of flowering. Despite equivalent or positive differences with respect to the sole crop, fenugreek and berseem clover displayed no significant difference in nitrogen bonus at the end of flowering; for fenugreek, these results are probably largely accounted for by the rabbit damage that occurred during winter for this treatment.

Faba bean and the lentil-faba bean mixture generally yielded a negative nitrogen bonus at the end of flowering, suggesting that faba bean had a depressive effect. No such effect was observed for the common vetch-faba bean-berseem clover mixture, but the density of faba bean in this combination was only a third of that for faba bean alone. With the exception of fenugreek, faba bean and the lentil-faba bean mixture, all LLM treatments resulted in a significant positive nitrogen bonus at the end of flowering, due principally to mineralisation.

4.2.2 Mechanisms underlying changes in nitrogen dynamics

The introduction of a LLM generally increased the WOSR nitrogen bonus at the end of flowering. We found that the nitrogen bonus derived from mineralisation at the end of flowering was not correlated with legume nitrogen uptake before winter (even if root nitrogen content was taken into account, data not shown). Other variables, such as the physical and chemical characteristics of legume residues, may account for these differences in mulch nitrogen mineralisation (Cadoux *et al.* 2015; Coppens *et al.* 2006; Garnier *et al.* 2008; Justes *et al.* 2009; Findelings *et al.* 2007; Wivstad *et al.* 1999; Redin *et al.* 2014).

Nitrogen mineralisation from legume residues was clearly not the only mechanism accounting for the nitrogen bonus in WOSR aerial biomass at the end of flowering. Firstly, as the nitrogen bonus derived from mineralisation often exceeded the total amount of nitrogen present in the legume at the beginning of winter (especially in the 2012-2013 growing season, figure 7), the presence of the legume must also have increased the mineralisation of soil organic nitrogen throughout the cycle. Secondly, the introduction of a LLM tended to increase fertiliser nitrogen use efficiency. Thus, the nitrogen bonus at flowering may also be accounted for partly by the absorption of a larger amount of nitrogen from fertiliser.

There are several possible reasons for this excess soil organic matter mineralisation and increase in nitrogen use efficiency. Firstly, the root architecture of the non-legume species may differ between intercropping and sole crops situations (Corre-Hellou and Crozat 2005; Hauggaard-Nielsen *et al.* 2001). In a case study of WOSR-faba bean intercropping, Jamont *et al.* (2013) demonstrated that 70% of the WOSR root system was located in the lower part of the rhizotron, suggesting that the presence of a LLM increases the depth to which WOSR roots penetrate. This might result in a higher nitrogen use efficiency for the nitrogen from mineralisation and fertiliser applications (Cadoux *et al.* 2015). However, these belowground interactions are probably highly dependent on the characteristics of the legume root system and further studies are required to improve our understanding of these interactions.

The LLM may also affect the WOSR microclimate. Indeed, some studies have reported an effect of mulches on soil water retention, through the limitation of water evaporation (Vial *et al.* 2015), increasing water use efficiency (Sarkar and Singh 2007) or water retention (Stagnari *et al.* 2014) and improving soil temperature regulation (Gill *et al.* 1996; Su *et al.* 2014). We obtained very similar NUE values for control treatment in the two years of the experiment, but the control value was generally lower than that of the LLM treatment, although not always significantly so. These results suggest that the presence of dead mulch at the soil surface, by improving nitrogen absorption conditions, tends to improve the efficiency with which nitrogen from fertiliser (Su *et al.* 2014) and also, probably from soil mineral nitrogen (derived from mineralisation) is used.

Finally, root and nodule senescence or the exudation of soluble compounds from legume species (Fustec *et al.* 2010) may increase nitrogen absorption by WOSR, although Jamont *et al.* (2013) showed that the rate of direct N-transfer from faba bean to WOSR was no higher than that from WOSR to faba bean. Other studies have also highlighted the complementary nature of mycorrhizal networks (Hauggaard-Nielsen and Jensen 2005) between species, potentially enhancing soil exploration and increasing nutrient absorption.

4.2.3 Experimental approach

As previous studies have reported that ¹⁵N-labelled mineral nitrogen recovery is very poor and that organic nitrogen content is almost constant in the top soil layer (Limaux *et al.* 1999; Recous and Machet 1999), we did not measure the organic and mineral soil nitrogen content derived from fertilisation at the end of flowering. Moreover, Limaux *et al.* (1999) and Recous and Machet (1999) also showed that there was no ¹⁵N-labelled nitrogen more than 30-40 cm below the soil surface. Thus, given the low levels of SMNC at the end of flowering in our study, we can consider that ¹⁵N-labelled nitrogen content of these compartments to make a negligible contribution to the nitrogen balance.

Using ¹⁵N-labelled fertiliser, we were unable to differentiate between the nitrogen derived from soil and legume residue mineralisation. It was therefore difficult to identify the facilitation phenomena at work, although our results did demonstrate their existence. One possible solution would have been to spread a legume residue enriched in ¹⁵N-labelled nitrogen (method used by Dejoux *et al.* (2000) to assess mineralisation from dead WOSR leaves). However, root nitrogen mineralisation would not have been taken into account, and the aerial architecture of the legume mulch, which is important for zymogen access to the biomass (Coppens *et al.* 2006), would have been strongly modified.

Further studies are required to measure the volatilization and denitrification of nitrogen from fertiliser more precisely. Indeed, these mechanisms probably account for the lower nitrogen use efficiency (Limaux *et al.* 1999). Moreover, Su *et al.* (2014) demonstrated that dead mulch could modify the mechanisms of ammonia volatilisation, positively or negatively, depending on the date of fertiliser application.

4.3 Effects of growing conditions on the nitrogen bonus at the end of flowering

The calculation of the amount of nitrogen fertiliser to be applied was used to generate different levels of nitrogen deficiency in the spring, so as to maximise nitrogen absorption. In 2013, nitrogen nutrition index reached 0.75 in low SMNC conditions and 0.81 in high SMNC conditions; in 2014, it reached 0.54 in low SMNC conditions and 0.53 in high SMNC conditions, for the control treatment. In terms of nitrogen uptake, for equivalent or higher levels of nitrogen fertilisation, the low-SMNC treatments never matched the high-SMNC treatments. Finally, the two levels of SMNC had a greater effect than the presence of a LLM on the nitrogen dynamics of WOSR, particularly in terms of nitrogen uptake before winter and the dynamics of dead leaf loss (Dejoux *et al.* 2000).

SMNC level also affected the nitrogen bonus at the end of flowering, with a larger bonus in low SMNC conditions than in high SMNC conditions, probably because the LLM biomass (and the proportion of LLM biomass in the intercrop) was generally lower, resulting in smaller potential mineralisation or facilitation effects at high SMNC. Nitrogen bonuses at the end of flowering were highest for field pea and common vetch-faba bean-berseem clover, which took up large amounts of nitrogen in high SMNC conditions. Therefore, SMNC had no effect on the nitrogen bonus derived from mineralisation.

The nitrogen bonus derived from mineralisation was strongly affected by year; it was much higher in 2012-2013 than in 2013-2014. This result is probably largely accounted for by the date on which the legume was destroyed. In 2013-2014, field pea was the only legume species totally killed off by low temperatures in December (frost during two consecutive nights), whereas common vetch and berseem clover were only partially killed off. The other species were destroyed at the beginning of March, by herbicide application, shortening the period available for nitrogen residue mineralisation (from the beginning of March until the end of April). WOSR nitrogen uptake did not differ between intercrops and the control treatment after winter. The surplus nitrogen from mineralisation observed at the end of flowering in 2014 was thus probably accumulated during a short period in the spring.

In 2012-2013, the early destruction of the legume and the mild and wet conditions from December to March probably resulted in an early initiation of nitrogen mineralisation from residues. Thus, WOSR nitrogen uptake after winter was higher in intercrops (particularly in high SMNC conditions) than in the control treatment, whereas no difference was observed before winter.

In view of the particular climatic conditions in the two experiments, with respect to the average data (very low temperatures in spring 2012-2013 and no frost and a dry spring in 2013-2014 creating unfavourable conditions for mineralisation (Findelings *et al.* 2007; Garnier *et al.* 2008), it would be reasonable to assume the mineralisation potential to be even higher in “normal” climatic conditions.

4.4 Benefits of introducing a legume living mulch to decrease nitrogen fertiliser inputs

Decreasing mineral nitrogen fertiliser inputs for winter oilseed rape is of particular interest, given the use of this crop as a biofuel (Schott *et al.* 2010; van Duren *et al.* 2015). This use as a biofuel can be called into question when considering energetic efficiency criteria, because this crop requires high levels of inputs (van Duren *et al.* 2015). Thus, as mineral nitrogen fertiliser production requires large amounts of energy (Nemecek *et al.* 2008), replacing a proportion of the crop’s nitrogen requirements by renewable sources of nitrogen may be a relevant solution, making it possible to maintain yields.

We found that the introduction of a LLM did not lead to a uniform decrease in the need for nitrogen fertiliser in winter oilseed rape. The nitrogen bonus in the aerial biomass (and the proportion of that bonus derived from mineralisation) was highly variable, depending on year (date of legume destruction, rainfall and temperature in winter and early spring), SMNC and legume species considered. Thus, a combination of factors should be taken into account when decreasing fertiliser application rates.

The physical and chemical characteristics of the legume species are key factors to be taken into account when trying to explain the differences between species and in precise determinations of the rates of nitrogen mineralisation from residues. We also found that other facilitation mechanisms partly accounted for the nitrogen bonus in WOSR at the end of flowering. These mechanisms should be investigated further to improve our understanding of the determinants of the supply of biological nitrogen, such that nitrogen fertiliser application rates can be decreased more precisely. Our results indicate that a potential decrease in nitrogen fertiliser inputs of 20 to 40 kgN.ha⁻¹ is feasible if the best legume living mulch

species is chosen, with no effect on WOSR performance. These results are consistent with those of Cadoux *et al.* (2015), who showed that decreasing the rate of mineral nitrogen fertiliser application (by 30 kgN.ha⁻¹ with respect to the sole crop), despite a lower nitrogen content in spring, had no effect on WOSR yield.

Finally, as the recovery, by WOSR, of nitrogen from the legume was sometimes poor (particularly in low SMNC conditions in 2013-2014) and because some legume residues remained at the soil surface at the end of flowering, the introduction of a LLM into WOSR crops probably also improves the nitrogen supply for the next crop (Amossé *et al.* 2014) or soil fertility at the cropping system level (Nagumo and Nakamura 2013), making it possible to apply smaller amounts of nitrogen fertiliser to the next crop.

5. Conclusion

The introduction of a frost-sensitive legume living mulch modified the dynamics of nitrogen uptake in winter oilseed rape. WOSR nitrogen uptake before winter was not decreased by the period of simultaneous growth, but the amount of nitrogen lost in dead leaves, soil mineral nitrogen content after winter and nitrogen content at the end of flowering were modified, with respect to the sole crop, depending on the legume species and growing conditions.

The use of a LLM thus generally resulted in a significant positive nitrogen bonus at the end of flowering (except for faba bean and lentil-faba bean) with respect to the control treatment without LLM. This bonus, which amounted to 20 to 40 kgN.ha⁻¹ for the best legume species (common vetch-faba bean-berseem clover, lentil-grass pea-fenugreek, field pea, grass pea, common vetch and lentil), suggested that it would be possible to decrease the amount of nitrogen fertiliser applied significantly. The nitrogen bonus was significantly positive for these treatments, whatever the growing conditions, but the introduction of LLM appeared to be more relevant when soil mineral nitrogen content before sowing was low.

Nitrogen mineralisation from the legume mulch accounted for most of the nitrogen bonus at the end of flowering, but was not correlated with nitrogen uptake by the legume in the autumn. Moreover, the presence of the legume also resulted in other facilitation mechanisms, such as an improvement in nitrogen use efficiency, which in turn improved WOSR nitrogen nutrition.

Acknowledgements

This work was partly financed by Terres Inovia, CASDAR Alliance and Méta-programme SMaCH. This work was also performed, in partnership with the SAS PIVERT, within the frame of the French Institute for the Energy Transition (Institut pour la Transition Energétique (ITE) P.I.V.E.R.T. (www.institut-pivert.com) selected as an Investment for the Future (“Investissements d’Avenir”). This work was supported, as part of the Investments for the Future, by the French Government under the reference ANR-001-01.”

We would like to thank the Caussade Semences firm for providing legume seeds.

**CHAPITRE 4 : Legume dead mulch under winter oilseed rape:
ability of several species to provide biological nitrogen during
spring**

Ce chapitre correspond à un article en préparation pour une soumission dans la revue *Plant and Soil*

Legume dead mulch under winter oilseed rape: ability of several species to provide biological nitrogen during spring

LORIN M^{1,2*}, JEUFFROY M-H^{1,2}, BUTIER A^{1,2}, GARNIER P³, GAUDINAT G, VALANTIN-MORISON M.^{1,2}

¹ INRA, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

² AgroParisTech, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

³ INRA, UMR Ecosys, F-78850 Thiverval-Grignon, France

Abstract

The intercropping of frost-sensitive legumes with oilseed rape should provide several ecosystem services. After winter, N mineralisation from the dead mulch provides the oilseed rape with a source of biological N. The physicochemical characteristics of mulches play a key role in N mineralisation. We aimed to identify the characteristics of a range of legume species determining their N mineralisation dynamics in spring.

In a field experiment, we measured biochemical characteristics known to be determinant in mulch mineralisation processes, such as the percentage of soluble compounds and C/N ratio, in six legume species. We also determined changes in the percentage dry mass in contact with the soil over time, after the legume was killed off, and its water retention properties.

We showed that qualitative ranking in terms of the rapidity of mineralisation was globally consistent with the nitrogen bonus for oilseed rape crops derived from legume residues mineralisation. In addition to the nitrogen content of the mulch, the aerial dry mass of the legume initially in contact with the soil and biochemical fractionation were the main characteristics for the ranking of legume species and for determining nitrogen availability for oilseed rape.

We ranked the legume species in terms of their ability to release biological nitrogen, on the basis of their physicochemical profiles, which also provided insight into the mechanisms involved.

1. Introduction

Reducing applications of mineral nitrogen fertilisers, which may damage the environment (Cameron *et al.* 2013; Tilman *et al.* 2001), is a key challenge in efforts to increase the sustainability of food production. For winter oilseed rape (WOSR), which requires large amounts of mineral fertiliser (AGRESTE 2014), intercropping with frost-sensitive legumes is a promising way to provide the cash crop with biological nitrogen (Chapter 3). We showed, in this previous study, that the use of a legume dead mulch after the winter generally resulted in greater nitrogen uptake by the winter oilseed rape during the spring (*i.e.* a nitrogen “bonus”) than for the control treatment. Studies with ^{15}N -labelled fertiliser also indicated that this nitrogen bonus originated principally from nitrogen mineralisation from the soil and residues. However, regardless of the legume species or growing conditions considered, there was no relationship between the nitrogen bonus at the end of flowering and legume nitrogen content before intercrop destruction. Thus, other determinants must account for the potential nitrogen mineralisation.

An understanding of the mineralisation of nitrogen from legume residues is essential if we are to identify appropriate opportunities for using living mulches, to choose the most appropriate species and to adapt the calculation of nitrogen fertiliser applications in spring appropriately. In our system, the legume residues remain on the soil surface during the spring, constituting a non-mature mulch present from the winter to the end of the spring. Simple characteristics, such as legume nitrogen uptake or C/N ratio, are often used to compare the dead mulch nitrogen mineralisation potential of species (Damour *et al.* 2014; Bruun *et al.* 2006; Tribouillois *et al.* 2015b). The specific processes involved in mulch mineralisation are often difficult to measure in experimental field conditions because the mechanisms involved are complex and interact strongly. Other functional ecology studies have reported correlations between foliar traits (e.g. leaf dry matter content) and the decomposability of the species (Cornwell *et al.* 2008; Kazakou *et al.* 2006; Freschet *et al.* 2012). However, our results in field conditions (Chapter 3) showed that these simple variables could not explain the surplus nitrogen uptake by WOSR resulting from mineralisation from the legume in intercrops.

The mineralisation of carbon and nitrogen from non-mature residues incorporated into the soil by tillage is well documented. Incubations of crop residues in controlled conditions have improved our understanding of the kinetics of nitrogen mineralisation (Jensen *et al.* 2005; Justes *et al.* 2009; Wivstad 1999; Brandsaeter *et al.* 2008; Nicolardot *et al.* 2001). However, it has been shown that the degree of nitrogen mineralisation differs between incorporated and

mulched residues (Coppens *et al.* 2007; Garnier *et al.* 2003; Corbeels *et al.* 2003). Several studies using the PASTIS mechanistic model, and the “mulch” submodel for simulating water, carbon and nitrogen fluxes in soil in particular (Garnier *et al.* 2003; Findeling *et al.* 2007), have identified key characteristics of the process of mulch residue mineralisation. Physical characteristics, such as total mulch dry mass, the dry mass in contact with the soil (Findeling *et al.* 2007) and the maximum water content of the mulch (Findelings *et al.* 2007; Garnier *et al.* 2008; Coppens *et al.* 2007), have been shown to be positively correlated with the speed of mulch nitrogen mineralisation. Biochemical characteristics, such as the lignin, cellulose, hemicellulose and soluble compound fractions, also have a major impact on residue decomposition. Soluble compounds and C/N ratio significantly affect the processes involved in mulch decomposition: the larger the soluble fraction and the lower the C/N ratio, the faster the mulch decomposes (Coppens *et al.* 2007; Iqbal 2013). Furthermore, pedoclimatic conditions have also been shown to have an effect. Coppens *et al.* (2007) showed that water was an important factor limiting mulch residue degradation. Crop residues may dry out more rapidly when left on the soil surface than when incorporated, resulting in a slower rate of decomposition in “mulch” conditions.

The aim of this paper was, therefore, to identify the characteristics of various legumes intercropped with oilseed rape as mulches (faba bean, grass pea, lentil, field pea, common vetch and berseem clover), and to compare the potential of these candidate species to supply biological N to the oilseed rape crop during spring.

2. Materials and methods

2.1 Field experiment and experimental design

Seven frost-sensitive legume species intercropped with winter oilseed rape were compared in a field experiment. The experiment was carried out twice, in two successive years. We used a split-plot experimental design with three replicates, the details of which are provided elsewhere (Chapter 3). Soil mineral nitrogen content before sowing was low. We removed fenugreek from this study due to rabbit damage in both years. The final analysis thus included nine legume living mulch treatments: faba bean, grass pea, lentil, field pea, common vetch, berseem clover and three legume mixtures, lentil-grass pea-fenugreek, common vetch-faba bean-berseem clover and lentil-faba bean.

2.2 Plant sampling

The aerial dry mass of the legumes was assessed before winter, in each replicate (see Chapter 3). Root biomass was estimated from aerial biomass and the root/aerial biomass ratio. The proportion of roots was determined by sampling whole plants (considering the legume taproot in the top 0-20 cm layer) until at least 20 g of root dry matter had been harvested over the three replicates (the minimum required for Van Soest analysis). Root and aerial biomasses were separated and roots were washed to prevent contamination of the sample with soil. The samples were then oven-dried for 48 hours at 80°C and weighed. The root/aerial biomass ratio and the root biomass per square meter were then calculated. All physicochemical analyses were performed on the biomass sampled before winter (corresponding to a mixture of the three replicates).

Due to hail damage in autumn 2012, which greatly modified the architecture of the legume crop, the changes in the amount of dry mass in contact with the soil were recorded only in 2013-2014. The winter of 2013-2014 was particularly mild, with temperatures falling below 0°C on only a few days. As a result, only field pea was totally killed off during the winter. With the exception of berseem clover and common vetch, which stopped growing in the winter, the legume species (grass pea, lentil and faba bean) continued to accumulate biomass during winter and early spring. They were finally destroyed with an herbicide for broad-leaved weeds on March 5th (0.4 L.ha⁻¹ of Lontrel 100, clopyralid, Dow AgroSciences). We therefore chose to consider the legume biomass measured at the beginning of winter as the initial dry matter in our calculations.

We waited three weeks after the herbicide application before making the first measurement (to ensure that the legume had been completely destroyed). This first measurement was made on April 1st, just after the first rains following the herbicide application. Measurements were then repeated approximately twice monthly: April 15th, April 28th, May 16th, June 03rd and June 20th. Biomass was sampled from a microplot of 0.5 m² consisting of five inter-row widths, in each of the three replicates. We considered the legume biomass occupying the first centimetre above the soil to be in contact with the soil, whereas the biomass higher up was not. We carefully separated these two components, by cutting and collecting the biomass above the first centimetre and then collecting the biomass in contact with the soil surface. Legume residues were then washed to remove any contaminating soil, oven-dried for 48 hours at 80°C and weighed. This first measurement, performed on April 1st, was used to determine the dry mass initially in contact with the soil (DMic).

2.3 Physicochemical analysis

Due to the high cost of each analysis, we analysed only the samples obtained in 2012, as the variability between the two experimental years was low because the phenological stages of the legumes were similar. We used a proximate analysis (Goering and Van Soest 1970) to determine the soluble (NDS), hemicellulose (HCE), cellulose (CEL) and lignin fractions (LIG). The fraction soluble in cold water (SOL) was determined by stirring 1 gramme of dry matter (ground) in 100 mL of deionised water for 30 minutes. The rapidly decomposable material (RDM-fraction) was calculated as the difference between the NDS and SOL fractions. For each fraction, total carbon and nitrogen concentrations were determined with an elemental analyser (NA1500, Carlo Erba). The NDS fraction (*i.e.* SOL + RDM) corresponds to the soluble fraction, which decomposes readily.

We determined the maximum water content (WC_{max}) as described by Iqbal *et al.* (2013), by weighing out 10 g of dry matter for each legume species (after 48 hours at 80°C) and submerging it in water until it was completely saturated. Weight (after draining) was determined periodically and complete saturation was considered to have been achieved when the mass was maximal and stable. The maximum water content (WC_{max}) corresponded to the difference between the water-saturated mass and the initial dry mass. We then dried the saturated mass for 48 hours at 40°C and weighed it again. The difference between the value obtained and the initial dry mass was considered to correspond to the residual water content (WC_{res}).

We determined the density of legume residues by the hydrostatic weighing principle. Indeed, the non-geometric patterns of legume stems and leaves ruled out the use of geometric methods like those used by Iqbal *et al.* (2013). We thus placed a container of water on a balance, into which we submerged a box made of a fine mesh, to hold the residue samples. This box was held in place such that it did not touch the walls of the container during weighing. We first determined the initial mass of the container and the submerged box. We then placed the water-saturated residues (with an initial mass corresponding to about 10 g of dry matter) in the submerged box and determined the total mass. The difference between these two values indicated the mass (and, consequently, the volume of water displaced) of the residues submerged in the water. Finally, we divided the mass of the water-saturated residues by the mass of water displaced, to obtain the density of the residues added to the box.

2.4 Calculations

Nitrogen content was calculated by multiplying the dry mass of each replicate by its nitrogen concentration, determined by Van Soest analysis (one value for the three replicates). We used the proportion of aerial dry mass initially in contact with the soil to deduce the nitrogen content of the initial dry mass in contact with the soil.

For mixtures, we considered the proportion of the biomass corresponding to each species in 2013-2014 for calculation of the aggregate variables. Similar biochemical fractionation findings were obtained for analyses based on biomasses and proportions for 2012-2013 (data not shown). The physicochemical characteristics were thus deduced from measurements on the legume species grown alone with WOSR and from the proportion of each species in mixtures, in terms of dry mass.

2.5 Construction of physicochemical profiles

Finally, we performed a multicriteria assessment to compare the species simultaneously for the most explanatory variables selected, over the same scale. We thus transformed each variable into a number between 0 and 10, using the minimum and maximum observed values to designate the worst and best performances (0 for the worst and 10 for the best). We then applied the following formula to convert the total aerial dry mass (Aerial DM), the dry mass initially in contact with the soil (DM_{ic}), the NDS fraction, the N/C ratio and the maximum water content (WC_{max}) into scaled scores: $score = 10 \times (value - Min) / (Max - Min)$. Thus, regardless of the variable considered, higher scores were associated with more favourable characteristics. We considered the six legume species (faba bean, grass pea, lentil, field pea, berseem clover and common vetch) and the three legume mixtures when constructing the scale. For the fenugreek data in the lentil-grass pea-fenugreek mixture, we used the results for berseem clover, which had similar architectural characteristics and biomass fractionation data.

2.6 Nitrogen bonus derived from mineralisation

At the end of WOSR flowering, we measured the WOSR aerial nitrogen bonus due to intercropping, by comparing WOSR nitrogen uptake in intercrops and in WOSR grown as a sole crop (for more detail, see Chapter 3). Thus, the bonus derived from mineralisation

presented here did not directly represent the amount of nitrogen mineralised from legume residues. However, it provided a general trend, making it possible to compare species.

3. Results

3.1 Initial biochemical characteristics of the legume residues

Regardless of the legume species considered, the proportion of soluble matter in the aerial biomass (NDS, soluble in hot water and/or in neutral detergent) per biomass unit was high, between 54.1%, for field pea, and 69.1%, for lentil (Figure 26). The proportion of NDS was lower in the root biomass than in the aerial biomass, ranging from 42.9% to 57.9%, for lentil and common vetch, respectively. There was no relationship between the biochemical fractioning results obtained for the aerial and root biomasses. In analyses of the aerial and root biomasses, field pea contained much lower proportions of soluble fraction (54.1 and 47.6%, respectively) than any of the other species. Biochemical fractionation results for lentil were very different for aerial and root biomass: this species had the highest proportion of soluble fraction in aerial biomass (69.1%) and the lowest (42.9%) in root biomass.

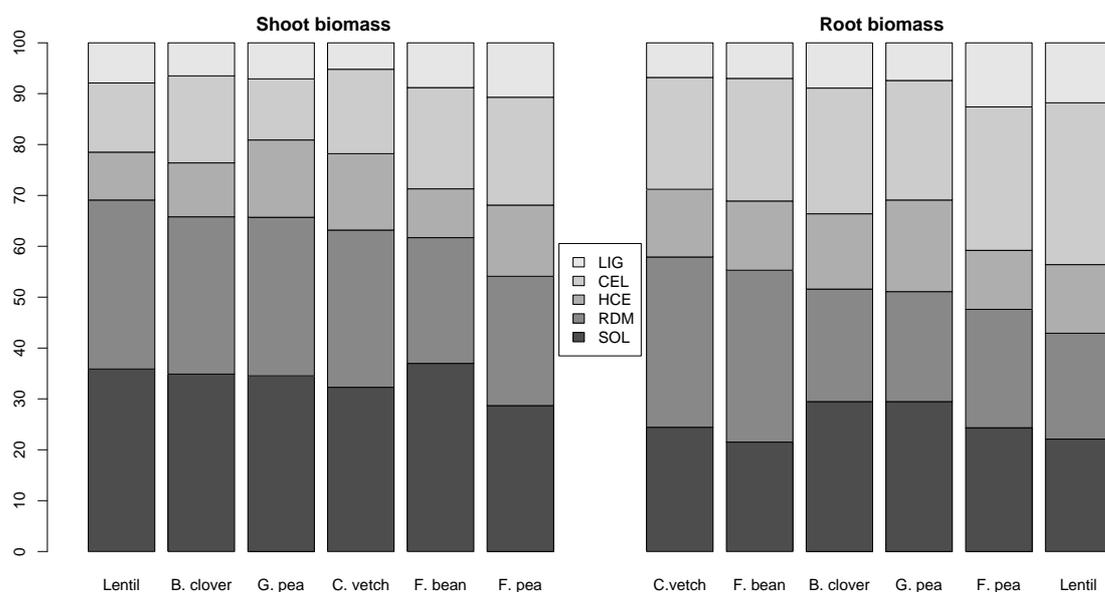


Figure 26 : Biochemical fractionation of the aerial and root dry mass, represented as the percentage of the aerial biomass. Species are ranked in descending order of soluble fraction (NDS=SOL+RDM) content. SOL: cold water-soluble fraction; RDM: rapidly decomposable material; HCE: hemicellulose; CEL: cellulose; LIG: lignin

Nitrogen levels ranged from 3.1 to 4.0 g N/100 g DM in aerial biomass (for faba bean and grass pea, respectively) and from 2.8 to 4.0 g N/100 g DM in root biomass (for lentil and berseem clover, respectively) (Figure 27). Nitrogen levels were thus similar in root and aerial biomass. Grass pea and field pea, with 4 and 3.6 g N/100 g DM in shoot biomass, and 3.8 and 3.6 g N/100g DM in root biomass, respectively, had the highest proportions of nitrogen in total biomass. Faba bean, with 3.1 g N/100g DM in shoot biomass and 3.1 g N/100g DM in root biomass, appeared to be the species with the lowest nitrogen level. Nitrogen fractionation between compartments differed between species. For instance, the nitrogen level of the soluble fraction of the aerial biomass reached 1.35 g N/100 g DM for faba bean and 2.2 g N/100 g DM for grass pea, corresponding to 44 and 55% of total nitrogen content, respectively.

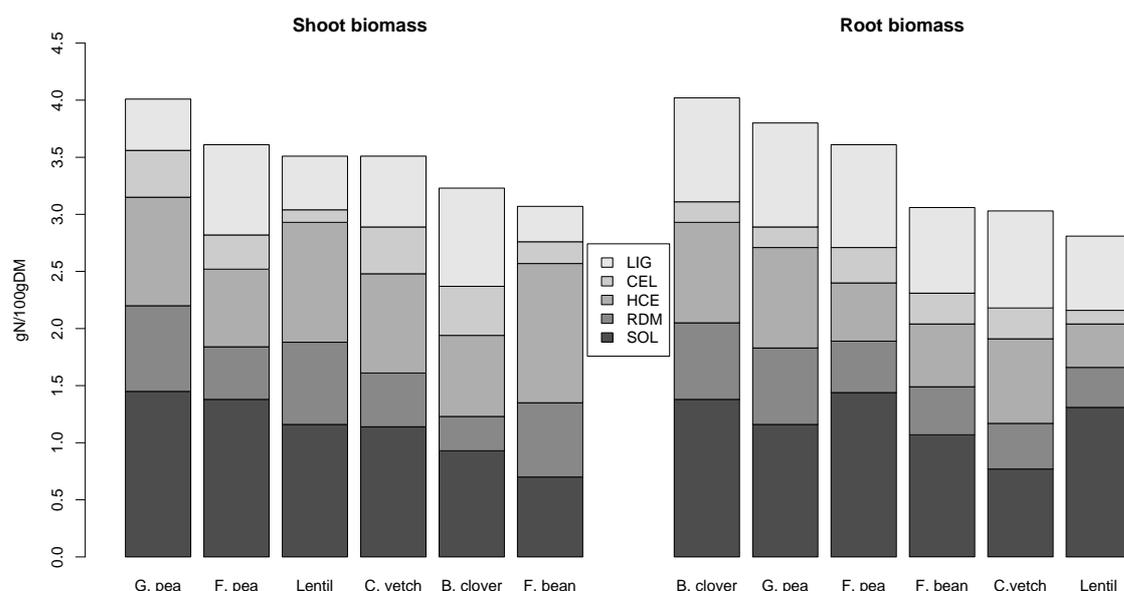


Figure 27 : Biochemical fractionation of the aerial and root dry mass, represented as the nitrogen content per dry mass unit. SOL: cold water-soluble fraction; RDM: rapidly decomposable material; HCE: hemicellulose; CEL: cellulose; LIG: lignin

Depending on the species considered, nitrogen uptake by the legume crops at the beginning of winter ranged from 41 to 87 kg N.ha⁻¹ in aerial dry mass and from 5 to 19 kg N.ha⁻¹ in root dry mass (Figure 28). Field pea and berseem clover, each of which had 103 kg N.ha⁻¹ in total biomass, had the highest nitrogen contents, whereas lentil, with 46 kg N.ha⁻¹, had the lowest nitrogen content. The proportion of whole-plant nitrogen present in the root biomass ranged

from 10% for common vetch to 19% for berseem clover and field pea. The amount of nitrogen in the soluble fraction (SOL+RDM) of total biomass amounted to 25 to 52 kg N.ha⁻¹ for lentil and field pea, respectively.

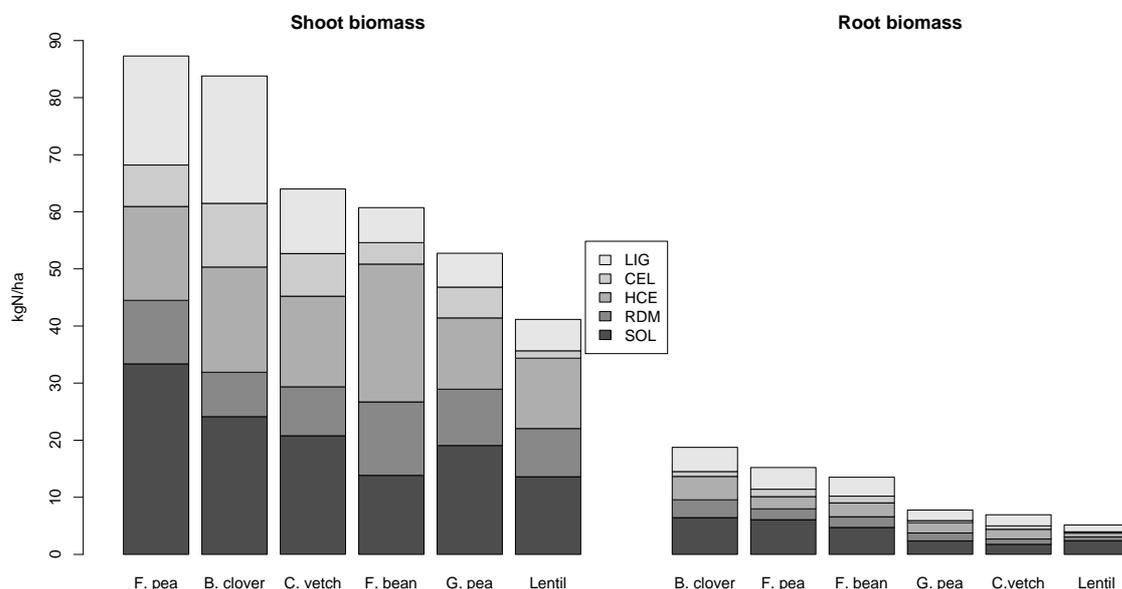


Figure 28 : Nitrogen uptake in each biochemical compartment of the aerial and root biomass of the legume species at the beginning of winter in 2014. SOL: cold water-soluble fraction; RDM: rapidly decomposable material; HCE: hemicellulose; CEL: cellulose; LIG: lignin

The C/N ratios of the shoot and root biomass were 9.8 and 10.8, respectively, for grass pea, 11.2 and 13.6 for common vetch, 11.7 and 15.2 for lentil, 11.8 and 11.4 for field pea, 12.4 and 11 for berseem clover and 13.3 and 12.7 for faba bean. Grass pea was thus the species with the lowest C/N ratio in both the aerial and root biomasses. Other than in lentil and common vetch, C/N ratio differed little between the aerial and root biomass.

3.2 Physical characteristics of the mulches

The changes in the dry mass in contact with the soil differed considerably between species (Figure 29). The amounts of dry mass in contact with the soil changed over time for lentil, common vetch and field pea. The dry mass in contact with the soil initially increased, until the end of April, while total dry matter remained approximately stable. The dry masses in contact with the soil and not in contact with the soil then decreased simultaneously. At the end of June, all of the dry mass was in contact with the soil for lentil and common vetch.

By contrast, for faba bean, grass pea and berseem clover, the dry mass not in contact with the soil fed the dry mass in contact with the soil, which did not fluctuate to such a great extent during this period, subsequently decreasing during the spring. However, the decrease in dry mass not in contact with the soil (and thus in total dry mass) differed considerably between these three species. For grass pea, more than 80% of the total dry mass was in contact with the soil on April 28th, whereas this percentage was not reached until June 6th for berseem clover. For faba bean, the percentage of dry matter in contact with the soil never exceeded 30%. The proportion of the dry mass in contact with the soil on April 1st reached 66% for lentil, 57% for grass pea, 48% for common vetch, 27% for berseem clover, 24% for faba bean and 24% for field pea. There was no generic relationship between total dry mass and dry mass in contact with the soil, with this characteristic differing considerably between species.

The proportion of the total initial dry mass on April 1st that had not decomposed on June 26th also differed considerably between the species considered. For faba bean and field pea, the proportion of dry mass remaining in the mulch on June 26th was 75 and 69%, respectively, whereas this proportion was 20% for grass pea, 29% for lentil, 31% for berseem clover and 32% for common vetch.

The maximum water content ranged from 1.93 g H₂O/g DM for lentil to 4.28 g H₂O/g DM for field pea (Table 9). Residual water content ranged from 0.01 (for field pea and berseem clover) to 0.05 g (for common vetch) H₂O/g DM. The species were thus ranked very differently on the basis of residual and maximum water contents. Indeed, except for common vetch, higher values of maximum water content were associated with lower values of residual water content. The density of the legume residues ranged from 0.15 to 0.40 for field pea and lentil, respectively (Table 9). Species with a low density (with hollow stems, as in field pea, for instance) contained larger amounts of water, but their residual water content was generally very low. Species with high tissue densities could not absorb large amounts of water, but they retained larger amounts of residual water in dry conditions.

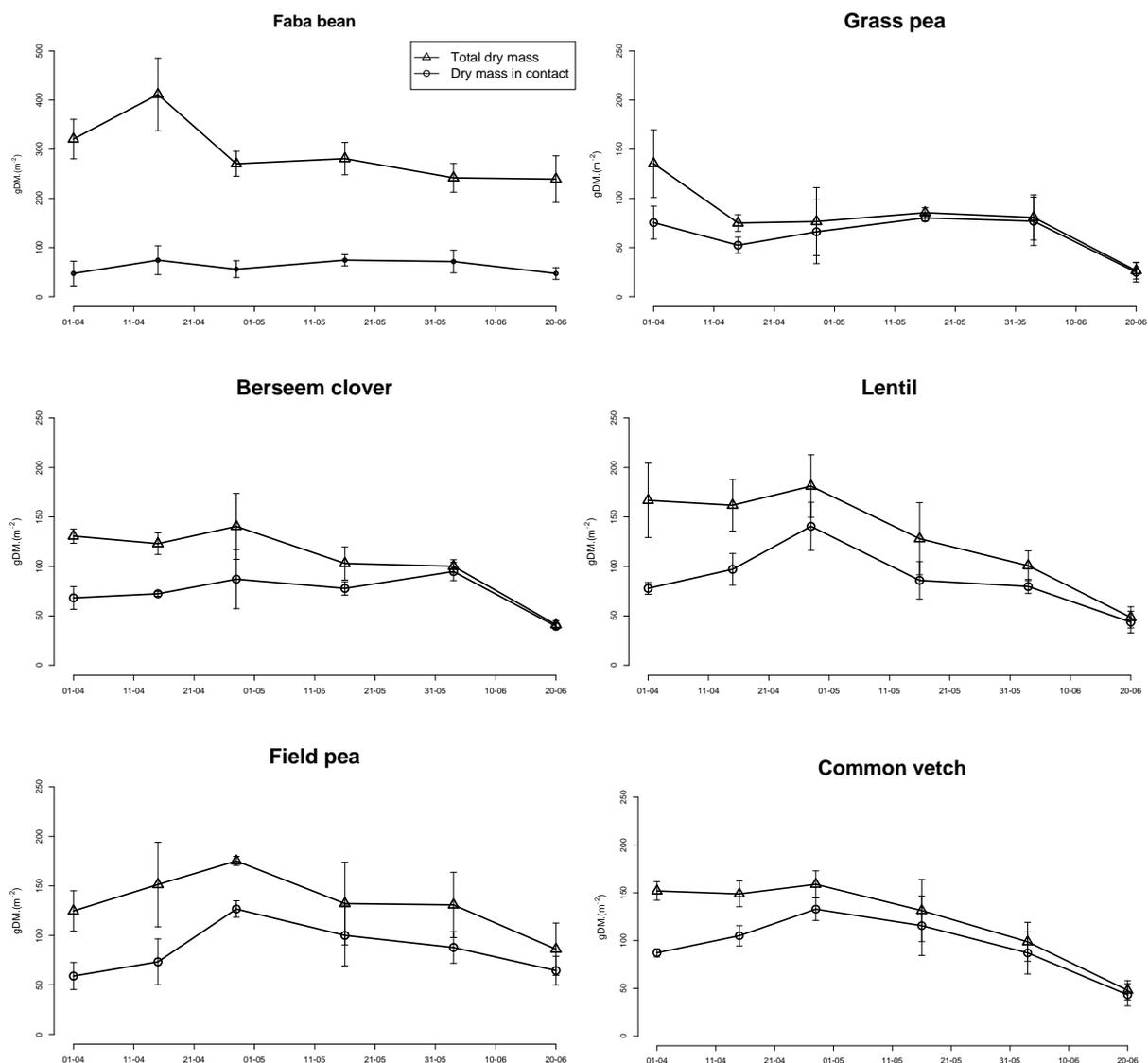


Figure 29 : Changes in total dry mass and dry mass in contact with the soil for the legume mulches. The difference between the two points for any given time point corresponds to the dry mass not in contact with the soil

Table 9 : Water retention properties and densities of the legume residues. WCmax= maximum water retention, WCres= residual water retention

	F. bean	G. pea	Lentil	F. pea	B. clover	C. vetch
WCmax (gH ₂ O/gDM)	2.11	2.88	1.93	4.28	2.63	2.96
WCres (gH ₂ O/gDM)	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01	0.05
Density	0.26	0.25	0.40	0.15	0.22	0.26

3.3 Initial state before spring mineralisation

The amount of nitrogen in the aerial dry mass initially in contact with the soil ranged from 14 to 31 kg N.ha⁻¹ for faba bean and common vetch, respectively (Figure 30). The ranking of species was thus very different from that for nitrogen accumulation in the legume before winter. Lentil and grass pea, which contained small amounts of nitrogen in total aerial biomass (41 and 53 kg N.ha⁻¹, on average, respectively), had higher nitrogen contents than other species for the aerial biomass in contact with the soil (27 and 30 kg N.ha⁻¹, respectively). These two species also had the largest amounts of nitrogen in the soluble fraction (17 and 15 kg N.ha⁻¹, respectively). For berseem clover and field pea, which had the largest total amounts of nitrogen in the aerial dry mass (84 and 87 kg N.ha⁻¹), the dry mass initially in contact with the soil contained only 22 and 21 kg N.ha⁻¹, respectively. Faba bean, which had a high DM and low nitrogen concentration, also had a particularly low nitrogen content in the part of its aerial biomass in contact with the soil (15 kg N.ha⁻¹ on average).

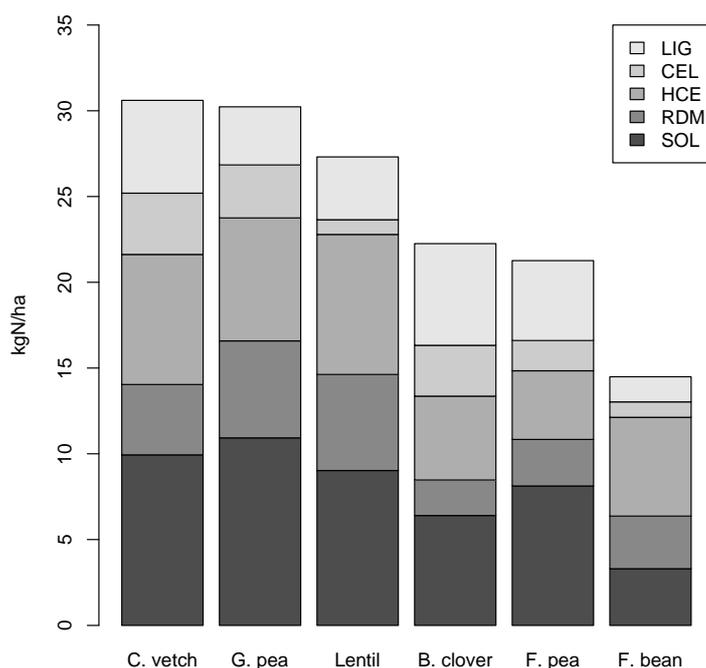


Figure 30 : Nitrogen content in each compartment of the aerial dry mass initially in contact with the soil. SOL: cold water-soluble fraction, RDM: rapidly decomposable material, HCE: hemicellulose, CEL: cellulose, LIG: lignin

3.4 Physicochemical profiles of legumes

The physicochemical profiles of the various species, shown as radar plots, differed considerably (Figure 31). Different categories of species can be distinguished. Grass pea, lentil, and common vetch had a high dry mass initially in contact with the soil and interesting chemical characteristics (as did berseem clover, to a lesser extent) in terms of the NDS fraction and/or N/C ratio. The nitrogen present in these residues (despite the small amounts present) therefore probably became available rapidly after the destruction of the legume.

Field pea and faba bean had high aerial dry masses, but low nitrogen contents and dry masses initially in contact with the soil. Despite the accumulation of large amounts of nitrogen during the autumn, the potential for rapid nitrogen mineralisation was low for these two species.

For the legume mixtures, radar plots indicated that the use of mixtures of species attenuated the physicochemical profiles of the residues of the various legume species included in the mixture. The lentil-faba bean mixture had the poorest potential for nitrogen mineralisation during the spring of any of the mixtures tested. The promising profile of lentil was not sufficient to balance the overall physicochemical profile of this mixture. The lentil-grass pea-fenugreek mixture had a good rapid mineralisation profile, whereas the common vetch-faba bean-berseem clover mixture had an intermediate and more balanced profile, with no major drawback.

3.5 Physicochemical profiles and the nitrogen bonus derived from mineralisation

Regardless of the year in which the experiment was performed, the ranking of legume living mulch treatments in terms of the bonus derived from mineralisation (Table 10) followed a pattern similar to that for the typology based on physicochemical profiles. The two species and the legume mixture found to have unfavourable physicochemical profiles (field pea, faba bean and lentil-faba bean) presented the lowest nitrogen bonus derived from mineralisation (below the mean in both years).

The other legume species (lentil, grass pea, common vetch and berseem clover) and legume mixtures (lentil-grass pea-fenugreek and common vetch-faba bean-berseem clover), which had physicochemical characteristics favouring more rapid mineralisation, yielded greater nitrogen bonuses. In both years, lentil and common vetch yielded the largest nitrogen bonuses from mineralisation.

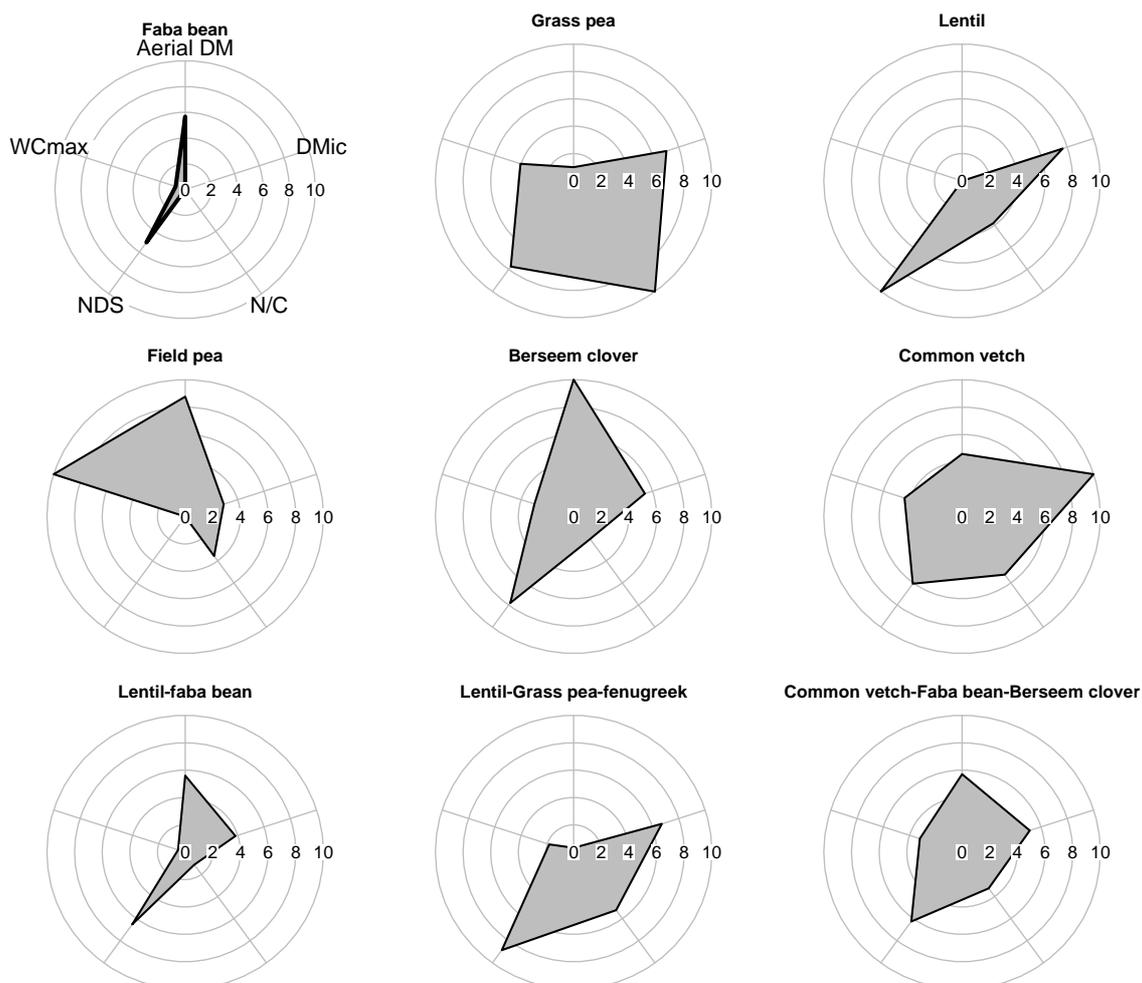


Figure 31 : Legume physicochemical profiles. Aerial DM: aerial dry mass, Aerial DMic: Aerial dry mass initially in contact with the soil, N/C: ratio nitrogen/carbon, % NDS: soluble fraction, WCmax: maximum water content

Table 10 : Nitrogen bonus derived from mineralisation at the end of flowering, corresponding to the difference in nitrogen uptake by WOSR between the intercrop and the control treatment, from the soil and mineralised residues (in kg N.ha⁻¹)

	2012-2013	2013-2014
Lentil	44.8	25.2
Common vetch	35.1	23.7
LeGpFe	34.1	14.6
CvFbBc	27.8	17
Grass pea	26.8	16.7
Berseem clover	22.1	17.3
Field pea	18.7	5
Faba bean	-1	12.7
LeFb	4.9	-2.6
	Average: 23.7	Average: 14.4

4. Discussion

4.1 Using physicochemical characteristics to assess the nitrogen mineralisation potential of legume residues

The C/N ratio is often considered a good indicator for assessing the degradability of crop residues (Damour *et al.* 2014; Tribouillois *et al.* 2015b). The values obtained were similar for the six legume species studied and were low, consistent with the lowest values recorded for non-mature legume residues in other studies (Tribouillois 2015b; Wivstad 1999; Jensen *et al.* 2005; Justes *et al.* 2009, Cassigneul *et al.* 2015). The biochemical fractionation of the six candidate species was also consistent with the lowest values recorded by Justes *et al.* (2009), Iqbal 2013, Cassigneul *et al.* (2015) and Birouste *et al.* (2012) for the same types of non-mature residues. Generally speaking, legume dead mulches had high nitrogen contents, mostly in the form of the soluble fraction. Thus, the nitrogen content of legumes appeared to be easily and rapidly decomposable, and the biochemical characteristics of field pea and faba bean appeared to be less favourable than those of the other species when considering the soluble fraction.

One important source of variability to be taken into account in legume-winter oilseed rape intercrops is the phenological stage of the legume when it is killed off. Indeed, although identical in the two years of our experiment (early-flowering legumes), differences in terms of phenological stage (due to dry conditions after sowing delaying emergence, for example) may modify physicochemical characteristics. However, regardless of the growing conditions, legume living mulches are always killed off long before maturity, when the C/N ratio and lignin and cellulose fractions increase (Nicolardot *et al.* 2001). Moreover, Wivstad (1999) showed that C/N and N content varied little during vegetative stages, depending on the species and the plant organ considered. Thus, delayed emergence would probably decrease the amount of biomass produced, but would have a much lesser effect on its biochemical characteristics.

When considering the potential nitrogen mineralisation of the legume dead mulches at the cash crop scale, the dry mass initially in contact with the soil appeared to be a variable of fundamental importance. As demonstrated by Findelings *et al.* (2007), the larger the amount of biomass in contact with the soil, the faster nitrogen mineralisation can occur. The period available for the simultaneous mineralisation of the nitrogen in legume residues and WOSR nitrogen uptake is very short in spring, thus, this variable appears to be highly important. We

found large differences between legume species: those with a high aerial dry mass initially in contact with the soil (common vetch, lentil, grass pea and berseem clover) yielded the largest nitrogen bonus derived from mineralisation at the end of WOSR flowering, in both years of the experiment ($R^2=0.58$ for the correlation between these variables, considering both years of the experiment, data not shown). By contrast, species with small amounts of dry mass initially in contact with the soil yielded a low nitrogen bonus derived from mineralisation, even in 2012-2013, when early destruction led to a longer period of legume collapse onto the soil. This characteristic probably played an even greater role than the total nitrogen content of the aerial biomass in conditioning the amount of nitrogen readily available for mineralisation.

Like Iqbal *et al.* (2013), we found that tissue density and maximum water content were negatively correlated and the data shown in Table 9 are consistent with the relationship reported by Iqbal *et al.* (2013). Interestingly, the percentage of dry mass in contact with the soil tended to be correlated with residue density. Higher residue densities were associated with a higher proportion of the dry mass initially in contact with the soil. For instance, lentil and field pea, with densities of 0.4 and 0.15, respectively, 66 and 24%, respectively, of their dry mass initially in contact with the soil. The densest species tended to collapse more rapidly. Thus, higher plant tissue densities were associated with a greater accessibility to the zymogenous biomass (due to the higher proportion of the dry matter initially in contact with the soil) and a greater sensitivity of mineralisation processes to water stress. Tissue density has not previously been identified as an explanatory variable, but these results suggest that it should be considered an interesting integrative physical characteristic. More studies (on a larger number of species) are required to refine these relationships.

Contrary to our initial assumptions, the results provided no clear evidence of an impact of water retention properties on the bonus derived from mineralisation ($R^2=0.06$ for the correlation between these variables), despite below-average levels of precipitation in March and April (Figure 18). Species able to retain large amounts of water, such as field pea in particular, did not yield greater nitrogen bonuses, but this species also had poor biochemical characteristics. Moreover, field pea was the only species tested for which the maximum water content was high in the residues.

4.2 Use of this set of characteristics for the technical management of LLM-WOSR intercrops

The ranking of species in terms of the bonus derived from nitrogen mineralisation was highly stable in the two years of the experiment, despite considerable differences in nitrogen uptake between legume species. The ranking of the species in terms of their nitrogen mineralisation potential was undoubtedly related to their physicochemical characteristics to an even greater extent than their initial dry mass. Thus, by carrying out qualitative studies of a set of characteristics, we showed that faba bean, field pea and lentil-faba bean were the least interesting species for intercropping with WOSR in terms of the rapidity of nitrogen mineralisation after their destruction. The nitrogen bonuses for these crops were the lowest of any of the species and mixtures considered here, even being negative in some cases (*i.e.* inducing nitrogen remobilization), a phenomenon already reported by Corbeels *et al.* (2003). By contrast, the other legume species and mixtures were more able to mineralise large amounts of nitrogen rapidly. However, the high level of variability and the relatively small differences observed in the field experiment (chapter 3) made it difficult to develop a more precise explanation.

Our results also suggest that the use of legume mixtures might buffer the physicochemical characteristics of very different species, as found for intercrops of legume and non-legume species (Tribouillois *et al.* 2015b). None of the physicochemical profiles of the legume mixtures were more favourable than the best legume in the mixture concerned, but mixtures may nevertheless be a useful solution when various services are expected to be delivered at the same time, with the species best able to deliver the service concerned differing between services (chapter 1; Tribouillois *et al.* 2015b).

We were unable to use the physicochemical profiles obtained here to predict potential decreases in fertiliser application rates, as our conclusions were qualitative. Indeed, the total nitrogen bonus in intercrops depends heavily on the growing conditions and is the result of interactions between many other mechanisms (chapter 3). We therefore focused on identifying several decisive characteristics determining the ability of the legume to release large amounts of nitrogen.

4.3 Improving the method

The main limitation to the use of this method is the difficulty in measuring the dry mass initially in contact with the soil. It was difficult and time-consuming to separate the two components (biomasses in contact with and not in contact with the soil), but this variable was found to be particularly useful for estimating the short-term mineralisation potential. As tissue density tended to be positively correlated with the percentage of dry mass initially in contact with the soil, it may be better to consider this variable as a means of assessing the proportion of the initial dry mass available for rapid mineralisation. This characteristic would be more generic and would be easier to measure, particularly when assessing the potential mineralisation of new candidate species.

It would also be of particular interest to take into account the different patterns of change in the amount of dry mass in contact with the soil. Indeed, we hypothesised that the proportion of dry mass initially in contact with the soil would be the most interesting variable because the nitrogen in this compartment is more directly and rapidly available to the zymogenous biomass (Henriksen and Breland 2002; Ambus and Jensen 1997) and the period for WOSR nitrogen absorption in the spring is short. Nevertheless, the ability of a species to increase rapidly the amount of dry mass in contact with the soil in the first few weeks after it is killed off (as for lentil and field pea) and the distribution of litter (Magid *et al.* 2006) may also help to explain the pattern of nitrogen mineralisation in the first few weeks after its destruction. Moreover, environmental conditions that could interfere with these patterns are also key factors to consider. For instance, snowfall after the legume is killed off might favour the collapse of the residues, thereby increasing the percentage of dry mass in contact with the soil.

Another way of increasing the precision of the assessment would be to distinguish between the biochemical characteristics of stems and leaves reaching the ground with different kinetics. Indeed, Wiwstad (1999) and Freschet *et al.* (2012) demonstrated that stems and leaves decompose with different kinetics and large differences in nitrogen content and C/N ratio, resulting in contrasting performances. However, it would be highly difficult and time-consuming to separate these two components in the dry mass in contact with the soil.

Another way to improve the assessment of legume mineralisation potential would be to take the root biomass nitrogen supply into account. Indeed, as the proportions of stems and leaves have been shown to be an important driver, the proportion of the biomass present as root biomass in a particular species also makes a major contribution to the decomposability of the

litter (Freschet *et al.* 2012 & 2013). We found that the taproot nitrogen content of the legumes accounted for less than 20% of the total legume dry mass but was similar to the nitrogen content of the aerial dry mass in contact with the soil. However, few *in situ* studies have been performed on the determinants of root biomass nitrogen mineralisation. Birouste *et al.* (2012) and Freschet *et al.* (2012) carried out litter incubation studies and compared the decomposition rates of several species; they identified contrasting characteristics. They demonstrated that chemical composition accounted for a large proportion of the difference in root potential decomposition rate. By contrast, morphological traits, such as root length, volume, diameter and density had a more variable impact. However, only a few Fabaceae species were included in these studies and the ecosystems studied differed considerably from that in our experiment. Thus, further studies are required to investigate the mechanisms and determinants of mineralisation kinetics of legume species in farmer's field conditions, through precise measurements of legume belowground biomass (including fine roots) and architecture.

It would also be interesting to investigate the physicochemical characteristics of legume residues in situations in which soil mineral nitrogen content was high before sowing. Indeed, we showed in chapter 3 that the ranking of species differed considerably in conditions of low soil mineral nitrogen content before sowing, in terms of the nitrogen bonus derived from mineralisation and legume nitrogen uptake. These results are probably due to the large differences in the amount of legume dry mass produced (for instance, lentil, grass pea, berseem clover and common vetch produced less than 10 kg N.ha⁻¹ in 2013-2014). However, Kazakou *et al.* (2009) and Justes *et al.* (2009) showed that nitrogen availability affected the physicochemical characteristics of residues, and it would be interesting to investigate these differences in our conditions.

5. Conclusion

The dry mass of residues initially in contact with the soil appeared to be the key characteristic to consider, as it conditioned the amount of nitrogen available for rapid mineralisation. Field pea and faba bean thus presented physicochemical profiles unfavourable for rapid nitrogen mineralisation after their destruction, despite having a high initial aerial dry mass. By contrast, the other species, lentil, grass pea, common vetch and berseem clover, had more promising profiles for rapid nitrogen release, thanks to high proportions of dry mass initially

in contact with the soil and of soluble compounds. The typology we deduced from this set of physicochemical characteristics thus appeared to be consistent with the ranking of the various legume species on the basis of the WOSR nitrogen bonus derived from mineralisation of their residues.

The original method used here to assess the ability of legume species to release biological nitrogen rapidly after their destruction appears to be complementary to the field experiment method used in our previous studies. As some of the characteristics identified are generic and easy to measure, at least in principle, this qualitative ranking method could potentially be used to assess new legume species without the need to carry out a field experiment.

CHAPITRE 5 : Profils fonctionnels des légumineuses introduites en tant que plantes de service

Profils fonctionnels des légumineuses introduites en tant que plantes de service

Résumé

Au cours des chapitres précédents, nous avons classé les légumineuses du point de vue de leur capacité à délivrer les services écosystémiques escomptés (chapitres 1 et 3) et identifié les traits et les fonctions permettant de comprendre les performances obtenues (chapitres 2 et 4). Toutefois, le choix de l'espèce la plus appropriée pour obtenir les services escomptés est délicat du fait de la diversité des fonctions et traits impliqués et des antagonismes entre services.

L'objectif de ce chapitre est donc de dresser les profils fonctionnels des légumineuses candidates en représentant de manière simultanée l'ensemble des traits identifiés comme explicatifs afin i) de visualiser clairement les corrélations et les antagonismes entre les fonctions et les traits identifiés, et ii) de caractériser le potentiel des légumineuses candidates pour délivrer les services étudiés.

Nos résultats montrent que les traits fonctionnels liés à la compétitivité des légumineuses durant l'automne (vitesses de croissance en hauteur, surface foliaire unitaire) s'opposent aux traits physico-chimiques déterminant le potentiel de minéralisation rapide de l'azote contenu dans le mulch. La construction des profils fonctionnels des légumineuses a également permis de comparer, de manière qualitative, le potentiel de chaque espèce candidate pour remplir les fonctions et fournir les services écosystémiques étudiés. Ces profils permettent ainsi clairement d'opposer les espèces les plus adaptées à une croissance rapide (pois fourrager et féverole) mais dont les résidus présentent des profils physico-chimiques peu favorables à une minéralisation rapide, aux espèces dont le potentiel de croissance est plus faible (lentille, gesse et vesce) mais qui présentent des profils physico-chimiques adaptés à une restitution rapide de l'azote contenu dans le mulch. La construction de mélanges d'espèces dont les profils fonctionnels sont très complémentaires constitue finalement un moyen intéressant d'atteindre un compromis entre les fonctions et les services recherchés.

1. Introduction

Nous avons précédemment identifié les fonctions à remplir par les sept espèces de légumineuses candidates pour obtenir les services escomptés. Au cours de l'automne, les vitesses de croissance en biomasse (et en surface foliaire) des légumineuses constituent ainsi des fonctions explicatives du service de régulation des adventices mais également du risque de dis-service vis-à-vis des performances automnales du colza (chapitre 2). Les vitesses de croissance en hauteur durant les phases d'établissement et de consolidation ainsi que la surface foliaire unitaire constituent des traits particulièrement explicatifs de ces fonctions. Après la destruction des légumineuses au cours de l'hiver, nous avons également identifié et mesuré (chapitre 4) les traits physico-chimiques des mulchs explicatifs du potentiel de minéralisation rapide de l'azote qu'ils contiennent. Ce potentiel correspond ainsi à une fonction déterminante pour comprendre les performances mesurées à la fin de la floraison du colza en terme de bonus azoté issu de la minéralisation.

Une fois sélectionnés les traits fonctionnels explicatifs des fonctions et services recherchés, l'un des enjeux consiste à dresser les profils fonctionnels (Damour *et al.* 2014) de ces légumineuses candidates, afin de caractériser leur potentiel pour remplir simultanément plusieurs fonctions et fournir plusieurs services. L'approche basée sur les traits fonctionnels est en effet particulièrement utile lorsqu'on étudie une diversité de services écosystémiques (Storkey *et al.* 2015). La caractérisation du potentiel des espèces candidates à remplir les fonctions nécessaires à la fourniture des services recherchés constitue ainsi un moyen d'aider au choix de l'espèce ou des espèces les plus appropriées suivant les usages recherchés (Tardy *et al.* 2015 ; Damour *et al.* 2014 ; Tribouillois *et al.* 2015a ; den Hollander *et al.* 2007a). En effet, bien souvent la volonté de maximiser un service en particulier se fait au détriment des autres (Bennett *et al.* 2009). Le choix d'une espèce candidate relève ainsi du compromis à trouver entre chacun des services et/ou dis-services potentiellement rendus (Tixier *et al.* 2011 ; den Hollander *et al.* 2007b), une espèce n'étant bien souvent pas capable de remplir toutes les fonctions nécessaires pour un usage donné (Damour *et al.* 2014).

L'une des caractéristiques importantes du concept de trait fonctionnel réside dans le fait qu'ils sont définis indépendamment du milieu dans lequel ils sont mesurés (Violle *et al.* 2007 ; Garnier et Navas 2013). Malgré la variabilité des attributs de ces traits (Garnier et Navas 2013), le classement des espèces ne diffère que très peu d'un milieu à un autre (Lavorel *et al.* 2007). Or, nous avons montré que les conditions de milieu influaient très fortement sur les performances des légumineuses et sur le fonctionnement du couvert. La prise en compte de la

variabilité des traits retenus comme étant explicatifs et la comparaison des classements des espèces suivant les conditions de milieu sont donc des questionnements prégnants pour juger de l'opportunité d'utiliser ces traits.

L'utilisation de mélanges d'espèces pourrait constituer un compromis afin de pouvoir remplir les fonctions nécessaires à l'obtention d'une diversité de services écosystémiques (Tribouillois *et al.* 2015b ; Damour *et al.* 2014 ; Storkey *et al.* 2015). Toutefois, la prise en compte des traits fonctionnels à l'échelle de cette communauté d'espèce nécessite de décrire la structure fonctionnelle de ce mélange, c'est à dire la distribution des traits au sein de cette communauté (Garnier et Navas 2013 ; Díaz *et al.* 2007) et de définir des modes de calcul ou d'agrégation de ces traits pour les mélanges d'espèces.

L'objectif de ce chapitre est donc tout d'abord de dresser les profils fonctionnels des espèces de légumineuses candidates et de comparer leur potentiel pour fournir les services et éviter le dis-service étudié: réguler les adventices sans exercer de compétition vis-à-vis du colza durant l'automne et fournir de l'azote au colza *via* la minéralisation de leurs résidus sous forme de mulch au printemps. En tenant compte simultanément de l'ensemble des traits, fonctions et services étudiés, notre but est également de déceler et de comprendre les antagonismes et de discuter des moyens de gérer les compromis (*i.e.* trade-offs, Bennett *et al.* 2009) entre ces services. Le dernier objectif est enfin de discuter des profils fonctionnels des mélanges de légumineuses par rapport à ceux des espèces qui les composent afin de comprendre si ces mélanges peuvent constituer, comme on en a fait l'hypothèse, un moyen de maximiser les bénéfices de chaque espèce et ainsi de gérer les compromis entre les différents services étudiés.

2. Matériels et méthodes

2.1 Traits fonctionnels et physico-chimiques mobilisés

2.1.1 Compétitivité des légumineuses à l'automne

Trois traits fonctionnels ont été identifiés comme particulièrement explicatifs des fonctions d'accroissement de biomasse et de surface foliaire des légumineuses durant l'automne (chapitre 2). Les vitesses de croissance durant la phase d'établissement (HGR_{estab}) et de consolidation (HGR_{consol}) ont été mesurées au cours des deux années, pour l'ensemble des modalités sur les légumineuses associées au colza, nous disposons ainsi pour chaque modalité

de trois répétitions. La surface foliaire unitaire (LA, leaf area) a été mesurée conformément aux protocoles de Cornelissen *et al.* (2003) au cours de l'automne 2013 sur les parcelles de légumineuses pures, pour les modalités faible et forte disponibilité en azote (une seule valeur par modalité).

2.1.2 Traits physico-chimiques relatifs à la minéralisation du mulch de légumineuses

Les traits physico-chimiques explicatifs du potentiel de minéralisation de l'azote contenu dans les résidus de légumineuses ont été identifiés dans le chapitre 4 : le ratio azote/carbone (N/C) et la proportion de fraction soluble (% NDS) ont été mesurés à partir d'échantillons issus du dispositif de 2012-2013 sur les modalités faible et forte disponibilité en azote, nous disposons ainsi d'une valeur par modalité (excepté pour le fenugrec). La capacité maximale de rétention en eau des résidus (WCmax) et la biomasse du mulch initialement en contact avec le sol (Aerial DMic) ont été mesurées uniquement sur les modalités faible disponibilité initiale en azote (low SMNC). Nous utiliserons néanmoins ces mêmes valeurs pour la modalité forte disponibilité en azote, considérant que la dynamique d'évolution de la biomasse en contact ne diffère pas.

La biomasse totale produite par les légumineuses avant leur destruction a également été identifiée comme une des variables potentiellement explicatives. Nous utiliserons donc les traits fonctionnels explicatifs de la compétitivité des légumineuses durant l'automne, présentés ci-avant, pour appréhender les différences entre espèces en terme de potentiel de production de biomasse.

2.2 Mélanges d'espèces : agrégation des traits à l'échelle de la communauté

Pour déterminer les traits fonctionnels à l'échelle des mélanges d'espèces, nous avons utilisé la méthode présentée dans le chapitre 4 pour les traits physico-chimiques (WCmax, N/C, Aerial DMic et % NDS) consistant à pondérer les traits mesurés sur les légumineuses pures par le pourcentage de biomasse respective de chacune des espèces composant le mélange. Pour les vitesses de croissance en hauteur, nous avons utilisé les mesures réalisées directement au sein des mélanges, sur chacune des espèces de légumineuses qui les composent.

Pour le fenugrec, du fait de l'absence de certaines données (notamment Aerial DMic que nous n'avons pas pu mesurer) nous avons choisi de ne pas tenir compte de cette espèce dans cette analyse. Toutefois, pour le mélange lentille/gesse/fenugrec, nous avons utilisé les valeurs mesurées pour le trèfle d'Alexandrie pour remplacer celles qui manquaient pour le fenugrec.

Ces deux espèces présentent en effet des architectures aériennes et des dynamiques d'évolution de la biomasse en contact très voisines (d'un point de vue qualitatif). De plus, le fenugrec ne représente qu'une faible proportion de l'azote total contenu dans la biomasse aérienne du mélange (en moyenne 12 et 20% en 2012 et 2013, respectivement).

2.3 Traitement statistique

Une analyse en composantes principales a été réalisée afin de représenter simultanément l'ensemble des traits fonctionnels et physico-chimiques, sélectionnés comme étant explicatifs des fonctions et services étudiés, et de comprendre les liaisons entre ces variables (Table 11). Seuls les traits mesurés sur les légumineuses seules associées au colza ont été utilisés pour construire le plan factoriel. Les individus (*i.e.* les modalités de légumineuses seules) ont ensuite été projetés suivant les deux axes factoriels de l'ACP et les moyennes des coordonnées ont été calculées par espèce afin de comparer les différentes stratégies fonctionnelles.

Les coordonnées des modalités correspondant aux mélanges d'espèces sur ce plan factoriel ont ensuite été calculées, puis ces points ont été projetés en tant qu'individus supplémentaires. Les variables utilisées dans les chapitres précédents pour juger du potentiel de chaque espèce à délivrer certains services écosystémiques, l'abondance d'adventices en entrée d'hiver (weed abundance), la quantité d'azote absorbé par le colza en entrée d'hiver (WOSR N uptake) et le bonus issu de la minéralisation mesuré à la fin de la floraison (N bonus min), ont également été projetées suivant le plan factoriel en tant que variable supplémentaire.

Nous avons également effectué des analyses de variance (fonction aov, logiciel r) afin de déterminer l'effet de la disponibilité initiale en azote et de l'année sur les vitesses de croissance en hauteur des légumineuses. Pour les autres traits, nous ne disposons pas de mesures répétées pour effectuer ces analyses.

Table 11 : Intitulé des variables utilisées pour construire les profils fonctionnels

Traits fonctionnels retenus / variables principales	Fonctions concernées	Critère d'évaluation des services / variables supplémentaires
<p>LA - Leaf area <i>surface foliaire unitaire</i></p> <p>HGRRestab - Height growth rate establishment phase vitesse d'accroissement de la hauteur phase d'établissement</p> <p>HGRconcol - Height growth rate consolidation phase vitesse d'accroissement de la hauteur phase de consolidation</p> <p>N/C - nitrogen/carbon ratio ratio azote/carbone</p> <p>%NDS - soluble fraction fraction soluble</p> <p>Aerial DMic - aerial dry matter initially in contact biomasse aérienne du mulch initialement en contact avec le sol</p> <p>WCmax - maximum water content teneur en eau maximale</p>	<p>Vitesse d'accroissement de la biomasse et du LAI</p> <p>Potentiel de minéralisation rapide du mulch</p>	<p>Weed abundance & WOSR N uptake Abondance des adventices & azote absorbé par le colza</p> <p>N bonus min Nitrogen bonus derived from mineralisation bonus azoté issu de la minéralisation</p>

3. Résultats

3.1 Variabilité explorée par notre gamme d'espèces pour les traits retenus

3.1.1 Traits fonctionnels relatifs aux performances des légumineuses en automne

Les vitesses d'accroissement en hauteur mesurées sur les légumineuses seules associées au colza durant les phases d'établissement et de consolidation sont présentées sur la Figure 32. Durant la phase d'établissement, les résultats indiquent que les attributs de ce trait varient assez fortement d'une année à l'autre (effet significatif, $p = 3 \cdot 10^{-3}$), la vitesse de croissance en hauteur étant plus importante en 2013 qu'en 2012. En revanche, les attributs de ce trait ne sont pas significativement modifiés par le niveau de disponibilité en azote. Le classement de ces espèces du point de vue de leur vitesse de croissance en hauteur varie très peu suivant l'année ou le niveau de disponibilité en azote considéré. Ainsi, dans tous les cas, le pois fourrager et la féverole présentent les vitesses d'accroissement en hauteur les plus importantes de la

gamme d'espèce considérée tandis que le fenugrec, la lentille et le trèfle d'Alexandrie présentent les valeurs les plus faibles.

Durant la phase de consolidation, les vitesses de croissance en hauteur diffèrent significativement suivant l'année considérée ($p = 7.9 \cdot 10^{-4}$) et le niveau de disponibilité en azote ($p = 1.7 \cdot 10^{-2}$), les valeurs mesurées étant significativement plus élevées en 2013 et pour le niveau de forte disponibilité initiale en azote. A l'instar de la phase d'établissement du couvert, le classement des espèces suivant leur vitesse d'accroissement en hauteur durant la phase de consolidation varie peu dans des conditions de milieu données. La lentille présente ainsi la vitesse de croissance la plus faible tandis que les valeurs les plus élevées ont été mesurées sur la féverole et le pois fourrager.

Les mesures des surfaces foliaires unitaires des légumineuses (leaf area, LA) sont présentées sur la Figure 33. Les résultats indiquent que les valeurs mesurées ne diffèrent pas suivant le niveau de disponibilité initiale en azote. De la même façon, le classement des espèces suivant ce trait fonctionnel ne diffère que très peu d'un milieu à un autre. Le pois et la féverole présentent ainsi des surfaces foliaires unitaires bien plus importantes que toutes les autres espèces.

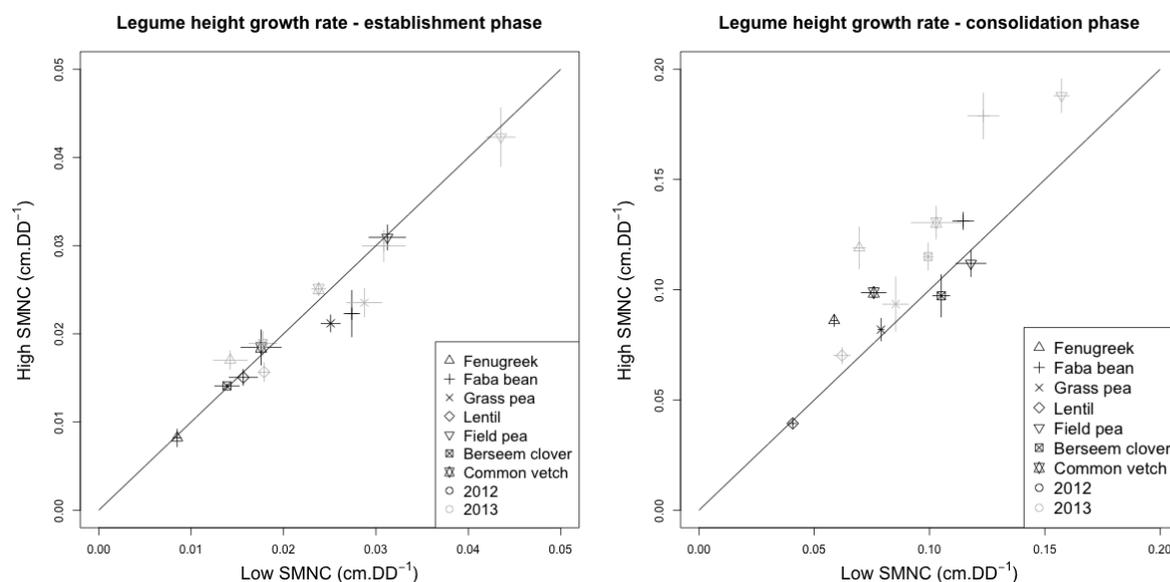


Figure 32 : Comparaison des vitesses de croissance en hauteur des légumineuses (durant les phases d'établissement et de consolidation), mesurées en situation de faible (axe des abscisses) et de forte (axe des ordonnées) disponibilité initiale en azote et pour les deux années. Chaque point correspond à la moyenne des trois répétitions, les barres verticales et horizontales représentent les écarts-types. La droite représente la première bissectrice

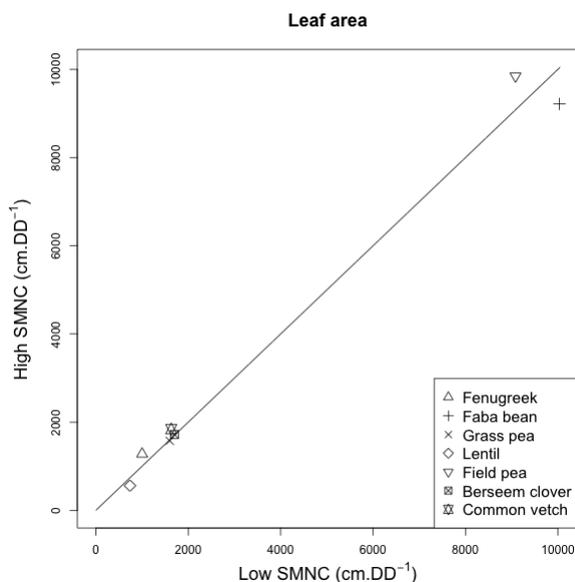


Figure 33 : Comparaison des surfaces foliaires unitaires (Leaf area), mesurées en situation de faible (axe des abscisses) et de forte (axe des ordonnées) disponibilité initiale en azote (chaque point correspond à une mesure unique effectuée en 2013 suivant le protocole de Cornelissen et al. 2003). La droite représente la première bissectrice

3.1.2 Traits physico-chimiques relatifs au potentiel de minéralisation des légumineuses

Le ratio azote/carbone et le pourcentage de fraction soluble mesurés sur les résidus de légumineuses en entrée d'hiver (Figure 34) indiquent que les valeurs sont globalement peu impactées par le niveau de disponibilité initiale en azote. De la même façon les classements des espèces candidates suivant ces deux traits ne sont que très peu modifiés par le niveau de disponibilité initiale en azote. La biomasse initialement en contact avec le sol et la teneur maximale en eau (Aerial DM_{ic} et WC_{max}) n'ont pu être mesurées qu'en situation de faible disponibilité initiale en azote.

Le classement des espèces suivant les traits physico-chimiques est discuté dans le chapitre 4.

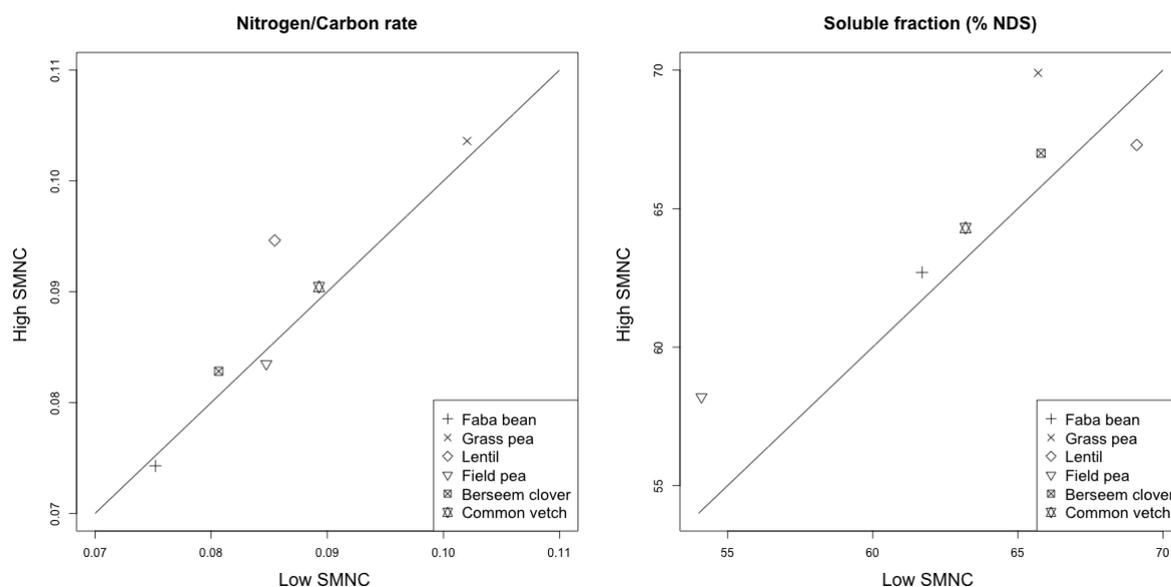


Figure 34 : Comparaison entre les attributs des légumineuses pour le taux C/N et la fraction soluble, mesurés en situation de faible (axe des abscisses) et de forte disponibilité initiale en azote (axe des ordonnées). La droite représente la première bissectrice

3.2 Corrélations entre traits

L'analyse en composantes principales indique que les deux premiers axes permettent à eux deux de représenter 84.2% de la variabilité (62.5% et 21.7% pour les axes 1 et 2 respectivement), Figure 35. L'axe 1 oppose très fortement la surface foliaire unitaire (LA) et les vitesses d'accroissement de hauteur (HGR_{Restab} et HGR_{consol}) d'une part et la biomasse aérienne initialement en contact avec le sol (Aerial DM_{ic}) et la fraction soluble (% NDS) d'autre part. Les coefficients de corrélation entre l'axe 1 et ces 5 traits s'élèvent à -0.95, -0.83, -0.85, 0.78 et 0.89 pour respectivement la surface foliaire, les vitesses d'accroissement en hauteur durant les phases d'établissement et de consolidation, la biomasse initiale en contact et la fraction soluble (corrélations significatives, $p < 0.01$). Dans une moindre mesure, le premier axe est également significativement corrélé avec le ratio N/C ($p < 0.01$, coefficient de corrélation = 0.59) et le contenu maximal en eau ($p < 0.01$, coefficient de corrélation = 0.57). Ainsi, de manière générale, le premier axe de l'ACP oppose clairement les traits identifiés comme étant bien corrélés avec les fonctions d'accumulation de biomasse et de surface foliaire avec ceux qui sont corrélés avec la qualité physico-chimique du mulch.

Le second axe est fortement corrélé avec le ratio N/C (coefficient de corrélation = -0.70, $p < 0.01$) et le contenu maximal en eau (coefficient de corrélation = -0.75, $p < 0.01$). Ces deux traits contribuent ainsi à eux seuls pour respectivement 32 et 37% de la construction de cet

axe. Dans une moindre mesure, la biomasse aérienne initialement en contact avec le sol (coefficient de corrélation = -0.50) et la vitesse d'accroissement en hauteur en début de cycle (coefficient de corrélation = -0.37) sont également significativement corrélés avec l'axe 2 ($p < 0.01$).

Il apparaît ainsi clairement que les espèces les plus compétitives et les plus efficaces pour accumuler une biomasse et une surface foliaire importantes (situées le plus à gauche du plan factoriel) ne présentent pas des qualités physico-chimiques adaptées à une minéralisation rapide de l'azote qu'elles contiennent. À l'inverse, les espèces qui regroupent des traits physico-chimiques favorables à une minéralisation rapide de l'azote qu'elles contiennent (situées plutôt dans la partie inférieure droite du plan factoriel) sont peu compétitives vis-à-vis des ressources et accumulent une biomasse assez faible (les quantités d'azote total en jeu sont donc restreintes).

La projection des variables permettant de juger des performances des espèces pour les services ou dis-services étudiés en tant que variables supplémentaires (l'abondance d'adventices et la quantité d'azote absorbé par le colza en entrée d'hiver ainsi que le bonus azoté issu de la minéralisation des résidus et de la matière organique du sol) confirme bien les stratégies évoquées précédemment. Les deux premières variables (qui se superposent sur le plan factoriel, Figure 35) rendant compte des effets de la compétition exercée par les légumineuses sur les autres espèces composant le couvert (colza et adventices), sont ainsi positivement corrélées avec l'axe 1. La projection du bonus d'azote mesuré à la fin de la floraison et issu de la minéralisation de l'azote du sol et des résidus de légumineuses sur ce plan factoriel, renforce également le fait que les espèces situées dans le quart inférieur droit sont les plus à même d'accroître la quantité d'azote minéralisé pour le colza.

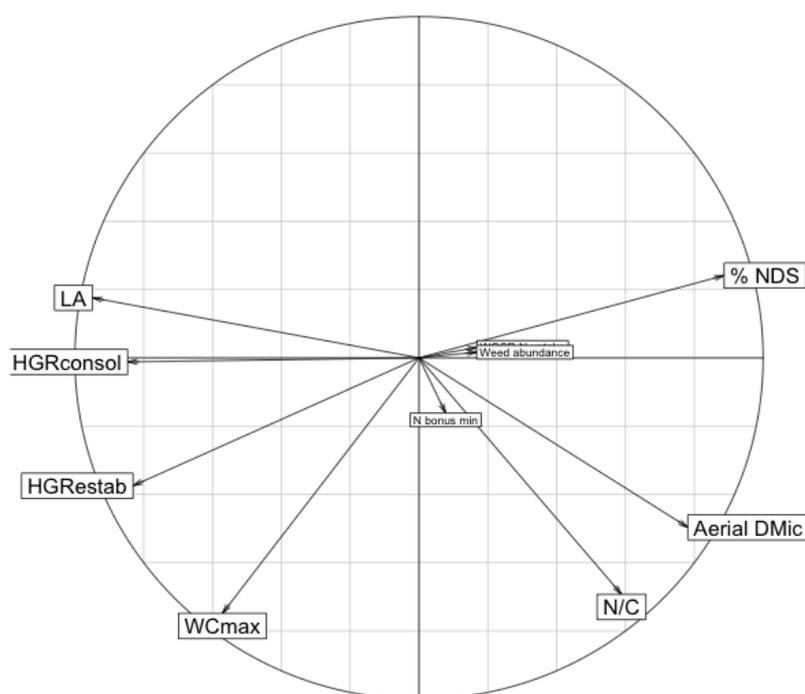


Figure 35 : Cercle des corrélations (plan FI/F2). *LA*: Leaf area - surface foliaire unitaire ; *HGRestab*: Height growth rate during the establishment phase - Vitesse d'accroissement de hauteur au cours de la phase d'établissement ; *HGRconsol*: Height growth rate during the consolidation phase - Vitesse d'accroissement de hauteur au cours de la phase de consolidation ; *WCmax*: Maximum water content - contenu maximum en eau des résidus ; *N/C*: Nitrogen/carbon ratio - ratio azote/carbone ; *Aerial DMic*: Aerial dry matter initially in contact with the soil - biomasse aérienne initialement en contact avec le sol ; *%NDS*: Soluble fraction proportion - % de fraction soluble. *N bonus min*: Nitrogen bonus derived from mineralisation at the end of flowering - Bonus azoté issu de la minéralisation du sol et des résidus de légumineuses mesuré à fin floraison ; *Weed abundance*: abondance des adventices entrée d'hiver ; *WOSR N uptake*: Azote absorbé par le colza en entrée d'hiver

3.3 Profils fonctionnels des espèces candidates

La projection des individus sur le plan factoriel permet de caractériser les différents profils fonctionnels des six espèces de légumineuses pures en tenant compte de leur positionnement suivant les axes de spécialisation décrits précédemment (Figure 36).

Le pois fourrager présente ainsi une forte capacité à croître en hauteur ainsi qu'une surface foliaire unitaire élevée lui conférant une aptitude importante à accumuler rapidement une biomasse et une surface foliaire (totale) élevées. Cette espèce apparaît ainsi comme la plus compétitive vis-à-vis des adventices et du colza. En revanche, son profil physico-chimique n'est pas favorable à une disponibilité élevée et rapide de l'azote absorbé. Le profil fonctionnel de la féverole est assez voisin de celui du pois fourrager du point de vue de sa capacité à accumuler une biomasse importante mais avec une qualité physico-chimique des résidus plus médiocre, notamment du fait d'une corrélation très négative avec le taux N/C et la biomasse initiale en contact. Cette espèce apparaît ainsi comme étant la moins favorable à une minéralisation rapide de l'azote absorbé, contenu dans le mulch.

La lentille présente un profil physico-chimique assez favorable (malgré une faible capacité de rétention en eau maximale) mais une faible capacité à accumuler rapidement une biomasse élevée et donc à se montrer compétitive vis-à-vis des adventices et du colza. Le profil fonctionnel du trèfle d'Alexandrie est assez voisin de celui de la lentille mais avec une capacité à accumuler de la biomasse plus importante et un profil physico-chimique plus défavorable. La gesse et la vesce, enfin, présentent les profils fonctionnels les plus propices à une disponibilité élevée de l'azote absorbé au cours de l'automne pour une minéralisation rapide après leur destruction (*a fortiori* pour la gesse). Toutefois, du fait d'une faible capacité à accumuler une biomasse importante, les quantités d'azote en jeu sont assez limitées.

La classification par dendrogramme effectuée en tenant compte uniquement des légumineuses seules permet de distinguer de façon très nette cinq groupes fonctionnels homogènes: pois, féverole, lentille, trèfle d'Alexandrie et un groupe composé de la gesse et de la vesce (données non présentées).

La projection des individus suivant leur appartenance à la modalité faible ou forte disponibilité initiale en azote ne montre pas de différences entre les deux groupes (données non présentées).

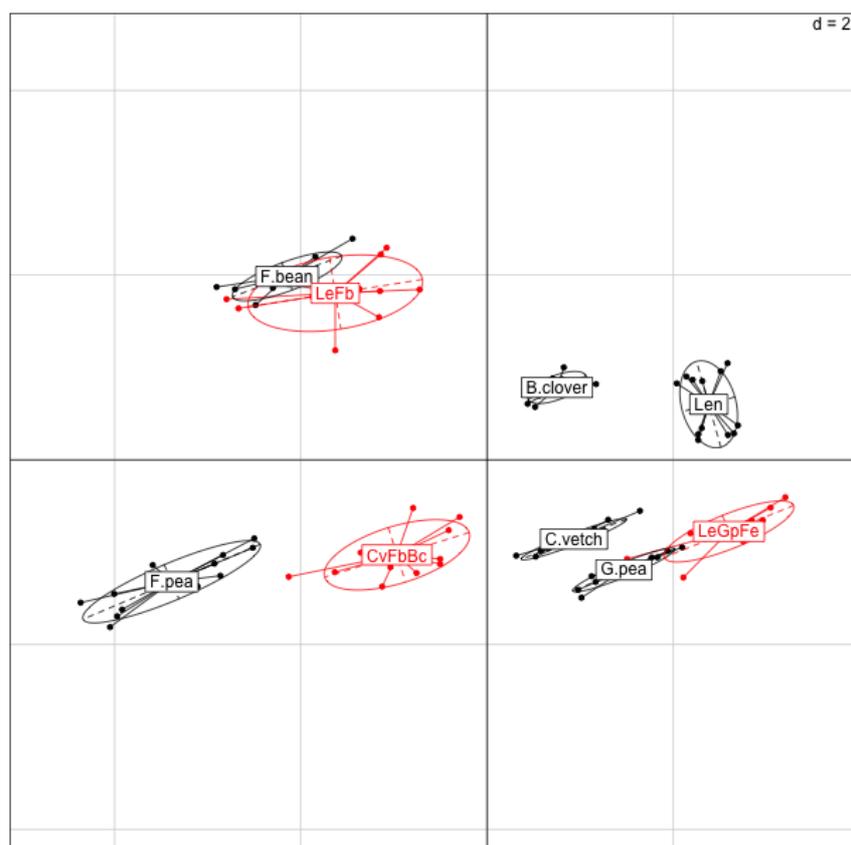


Figure 36 : Projection des individus sur le plan factoriel F1/F2. F.pea: Pois fourrager ; F.bean: féverole ; LeFb: mélange lentille/féverole; CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle A ; B.clover: trèfle d'Alexandrie; C.vetch: vesce commune; G.pea: gesse; Len: lentille; LeGpFe: mélange lentille/gesse/fenugrec

3.4 Mélanges d'espèces

En projetant les mélanges d'espèces (en tant qu'individus supplémentaires) sur ce plan factoriel, la modalité lentille/gesse/fenugrec présente, à l'instar des espèces qui la composent, un profil fonctionnel adapté à une restitution rapide de l'azote contenu dans les résidus mais une faible capacité à accumuler une biomasse importante. Cette modalité apparaît ainsi comme la moins compétitive vis-à-vis du colza et des adventices. Du fait de la forte prédominance de la féverole vis-à-vis de la lentille dans la modalité féverole/lentille, le profil fonctionnel obtenu pour cette modalité est très voisin de celui de la féverole, caractérisé par un potentiel d'accumulation de biomasse élevé ainsi que des traits physico-chimiques peu favorables à une minéralisation rapide. Le profil fonctionnel de la modalité vesce/féverole/trèfle d'Alexandrie est le plus équilibré parmi les mélanges d'espèces. En effet, il présente une capacité d'accumulation de biomasse et des caractéristiques physico-chimiques relativement intéressantes.

4. Discussion

4.1 Quels classements obtenus à partir de ces profils fonctionnels ?

La comparaison du positionnement des espèces suivant les axes de spécialisation du plan factoriel avec les résultats mesurés en termes de régulation des adventices (abondance en entrée d'hiver), de compétition exercée vis-à-vis du colza durant l'automne (azote absorbé par le colza en entrée d'hiver) et de fourniture d'azote durant le printemps (bonus azoté issu de la minéralisation, mesurés à la fin de la floraison) indique que les profils fonctionnels des modalités de légumineuses pures (et des mélanges) rendent globalement compte des grandes tendances en termes de performances enregistrées. Du point de vue de la compétitivité des légumineuses en automne, le pois fourrager et la lentille qui présentent des profils opposés (suivant l'axe 1) ont également été identifiés comme étant respectivement fortement et faiblement compétitifs vis-à-vis des adventices et du colza (chapitre 1). De la même manière, la féverole et la gesse qui présentent des profils opposés en terme de potentiel de minéralisation s'opposent également en terme de bonus azoté issu de la minéralisation, mesuré à la fin de la floraison.

Toutefois, à la seule lumière de ces profils fonctionnels, il est délicat de pouvoir effectuer un classement très fin de l'ensemble des espèces du point de vue de leur capacité à fournir les services étudiés. Ainsi, si l'objectif est de comparer la capacité des légumineuses à réguler les adventices (on s'intéresse donc au positionnement suivant l'axe 1), il est difficile de déterminer qui de la vesce, du trèfle d'Alexandrie ou de la gesse est l'espèce la plus intéressante. En effet, ces dernières présentent des traits fonctionnels explicatifs des fonctions recherchés pour ce service qui ne diffèrent que très peu. Pourtant les performances mesurées en terme de régulation des adventices sont assez contrastées pour ces modalités (chapitre 1).

Du point de vue du potentiel de minéralisation de l'azote contenu dans les résidus de légumineuses, les profils fonctionnels des différentes espèces sont également globalement cohérents avec les performances mesurées. Ils permettent ainsi clairement d'opposer la féverole et le mélange féverole/lentille aux autres modalités de légumineuses testées, cette tendance étant en accord avec les résultats obtenus en terme de bonus azoté issu de la minéralisation mesuré sur le colza à la fin de la floraison.

Toutefois, et *a fortiori* lorsqu'on considère la fonction de minéralisation de l'azote contenu dans les mulchs de légumineuses, ces profils ne correspondent qu'à des potentiels de fourniture des services "toutes choses égales par ailleurs" ; la prise en compte des conditions

de milieu doit ainsi permettre d'affiner le classement des espèces suivant les services escomptés.

4.2 Prise en compte du filtre environnemental pour interpréter ces profils

Le niveau de disponibilité initiale en azote n'a pas induit de modification majeure du classement des espèces suivant les traits fonctionnels explicatifs des fonctions et services recherchés. On a également démontré (chapitre 2 et Annexe 7) que les mêmes traits étaient explicatifs des performances des légumineuses en termes de vitesse d'accroissement de biomasse et de surface foliaire. Afin d'affiner le classement des potentiels des espèces candidates à fournir les fonctions et services escomptés, on peut néanmoins considérer, de manière qualitative, les effets de ce filtre environnemental. Ainsi, en cas de forte disponibilité en azote, nous avons précédemment démontré que la phase d'établissement des légumineuses était particulièrement importante, ce qui revient à accorder plus de poids aux traits explicatifs des performances des légumineuses à cette période (HGRestab et LA). Toutefois, la prise en compte de ces traits ne modifie pas profondément le classement des espèces. En revanche, lorsqu'on s'intéresse au service de fourniture d'azote liée à la minéralisation des mulchs de légumineuses, la prise en compte des conditions de milieu, et notamment des conditions climatiques (date de destruction des légumineuses, pluviométrie printanière), permet de préciser les classements entre espèces. Par exemple, en cas de destruction précoce, on accordera un poids supplémentaire à la capacité des espèces à produire une biomasse importante du fait d'une période disponible pour la minéralisation plus longue. Cela constitue d'ailleurs une des raisons pour laquelle le pois fourrager (détruit très précocement au cours des deux années d'expérimentation) figure parmi les espèces pour lesquelles la minéralisation a été importante (chapitre 3).

L'ensemble des relations présentées a été identifié sur un seul site pour deux niveaux de disponibilité initiale en azote. Or, les relations entre traits, fonctions et services qui en découlent sont parfois difficilement transposables d'un pédoclimat ou d'une année à l'autre du fait de l'impact très important des conditions environnementales (Duru *et al.* 2010). Ces traits fonctionnels doivent donc être mesurés dans une gamme la plus diversifiée possible d'environnements et de systèmes de culture (Wood *et al.* 2015) ce qui peut nécessiter de ré-évaluer certaines relations trait-fonction (Damour *et al.* 2014). En comparant la stabilité de certains traits fonctionnels dans une large gamme de conditions de milieu, Kazakou *et al.* (2014) ont ainsi identifié certains traits comme étant particulièrement variables d'un milieu à

l'autre (notamment les traits décrivant la qualité chimique des tissus végétaux). Dans le cas des colzas associés, les mesures de traits des légumineuses, qui seront réalisés dans le cadre des essais multi-locaux du CASDAR Alliance (dans une gamme diversifiée de pédoclimats), permettront de mieux appréhender cette variabilité intra-spécifique.

4.3 Utiliser des mélanges d'espèces: une solution pour gérer les compromis entre services ?

Aucune espèce ne peut *a priori* satisfaire l'ensemble des services écosystémiques recherchés (Damour *et al.* 2014 ; Tribouillois *et al.* 2015b). De plus, l'évaluation de l'opportunité d'utiliser des plantes de service doit considérer la totalité des services mais également les dis-services potentiels (Wood *et al.* 2015), la gestion des compromis entre ces externalités positives et négatives constitue donc un enjeu majeur. L'utilisation de mélanges d'espèces, dont les stratégies fonctionnelles en termes de niche exploitée et de phénologie diffèrent fortement, constitue ainsi une voie possible afin d'optimiser la fourniture simultanée de plusieurs services écosystémiques et de gérer ces compromis (Storkey *et al.* 2015 ; Tribouillois *et al.* 2015b).

Dans notre cas d'étude, nous avons ainsi testé des mélanges de deux ou trois espèces de légumineuses en réduisant les densités des semis au prorata du nombre d'espèces. Les résultats obtenus montrent que l'utilisation d'espèces dont les profils fonctionnels diffèrent fortement (cas des mélanges lentille/féverole et vesce/féverole/trèfle en particulier) ne conduisait pas forcément à l'obtention d'un profil fonctionnel "moyen". En effet, pour les traits et la méthode d'agrégation que nous avons sélectionnés, le mélange lentille/féverole présente ainsi un profil très voisin de celui de la féverole seule, ce qui se vérifie au niveau des performances enregistrées en terme de minéralisation de l'N contenu dans le mulch (chapitre 3). En revanche, le niveau de compétitivité élevé durant la phase automnale suggéré par le profil fonctionnel de ce mélange n'est pas en accord avec les résultats observés en termes de régulation des adventices et de compétition exercée sur le colza (chapitre 1). Le profil fonctionnel obtenu pour le mélange vesce/féverole/trèfle diffère également d'un profil qu'on aurait pu déterminer en considérant le barycentre des espèces pures qui le composent. A l'instar du mélange lentille/féverole, les proportions de biomasse des espèces très variables mais également les relations de compétition qui s'exercent entre les légumineuses (conduisant notamment à des vitesses de croissance en hauteur différentes de celles de légumineuses conduites seules, en association avec le colza) expliquent en partie ce phénomène. Enfin, le

mélange lentille/gesse/fenugrec, construit à partir d'espèces peu ou moyennement compétitives durant l'automne, présentant des profils fonctionnels voisins, et relativement bien adaptées à une minéralisation rapide de l'azote qu'elles contiennent, présente un profil qui ne diffère que très peu de ceux des espèces pures. Ainsi, comme suggéré dans Litrico et Violle (2015), le mélange d'espèces dont les profils fonctionnels sont redondants n'induit pas une amélioration importante des performances du mélange.

La construction de mélanges d'espèces à partir des profils fonctionnels des espèces pures constitue finalement une méthode intéressante pour gérer les compromis entre services, uniquement lorsqu'on choisit des espèces dont les profils sont différents. Toutefois, une attention particulière doit être portée aux mélanges mettant en oeuvre des espèces dont les niveaux de compétitivité divergent très fortement. En effet, si une des espèces présente un avantage compétitif trop important vis-à-vis des autres, des phénomènes "d'exclusion compétitive" (Litrico et Violle 2015) peuvent survenir, conduisant par exemple à la disparition d'une des espèces, ce qui est contre-productif au sein d'un mélange d'espèces. Le profil fonctionnel obtenu peut ainsi fortement différer du profil moyen attendu. La prise en compte de ses mécanismes est ainsi fondamentale pour proposer des mélanges d'espèces plus efficaces (Damour *et al.* 2014).

La gestion différenciée des densités de semis respectives (augmentation de la densité de semis de l'espèce la moins compétitive par exemple) et de l'arrangement spatial de ces espèces constituent probablement des leviers techniques intéressants pour gérer ces compromis, en fonction des effets attendus.

4.4 Méthode de construction des profils fonctionnels

D'un point de vue qualitatif, les profils fonctionnels que nous avons dressés apparaissent intéressants pour appréhender les fonctions remplies par les légumineuses et les niveaux de performances obtenus pour les services étudiés. En effet, bien que nous n'ayons qu'une vision non-exhaustive des mécanismes en jeu et des fonctions explicatives, les corrélations entre les traits sélectionnés et les services sont cohérentes. La prise en compte de nouveaux traits, identifiés comme étant explicatifs de ces mécanismes et fonctions non encore étudiés tels que la compétitivité sur le plan racinaire, ou encore les déterminants des "effets mulch" (chapitre 3) favorisant l'efficacité d'utilisation de l'azote par le colza au printemps, ou bien de nouveaux services écosystémiques (régulation des insectes ravageurs par exemple) permettra

d'affiner encore ces profils fonctionnels et ainsi d'avoir une vision plus précise des potentialités offertes par chaque espèce.

La démarche que nous avons mobilisée pour aboutir à ces profils fonctionnels diffère fortement d'autres études analogues à la nôtre dont l'objectif était d'effectuer une caractérisation fonctionnelle d'espèces candidates pour une utilisation en tant que couvert végétal ou plante de service (Damour *et al.* 2014 ; Tardy *et al.* 2015 ; Tribouillois *et al.* 2015a). En effet, ces derniers ont tout d'abord déterminé, *a priori*, les fonctions des espèces candidates susceptibles de leur permettre de rendre les services escomptés puis dans un second temps, ils ont identifié les traits fonctionnels des espèces explicatifs de ces fonctions, à partir de mesures effectuées sur les plantes cultivées en pur. Ainsi, dans ces cas de figure, la prise en compte de mécanismes de compétition interspécifiques (vis-à-vis de la culture de vente ou d'autres plantes de service utilisées en mélange) ou intra-spécifique (car ces traits sont parfois mesurés sur des plantes isolées (Tardy *et al.* 2015 ; Damour *et al.* 2014)) ne se fait qu'une fois sélectionnées les espèces les plus intéressantes et introduites en situation de compétition.

Inversement, considérant que les mécanismes de compétition interspécifiques sont primordiaux dans le cas des colzas-associés et que notre connaissance initiale des fonctions déterminantes n'était pas suffisante, nous avons fait le choix de mesurer tout d'abord le potentiel des légumineuses pour fournir les services étudiés puis de comprendre les mécanismes et les fonctions des légumineuses explicatives de ces performances. Enfin, nous avons identifié des traits fonctionnels explicatifs de ces fonctions. Ainsi, bien que le nombre d'espèces candidates étudié soit plus restreint dans notre cas d'étude (les mesures effectuées sont en effet plus chronophages), les relations que nous avons identifiées entre les services, les fonctions et les traits fonctionnels présentent l'avantage d'être obtenus en situation d'association et adaptées spécifiquement au contexte des colzas associés.

5. Conclusion

La construction des profils fonctionnels des légumineuses candidates a permis de comparer, de manière qualitative, les potentiels offerts par ces espèces pour fournir les différents services écosystémiques étudiés. Pour un service écosystémique donné, nous avons ainsi pu identifier les espèces les plus et les moins à-même de remplir les fonctions nécessaires. Toutefois, pour les autres espèces, "non-spécialisées", leur classement du point de vue de leur aptitude à remplir ces fonctions demeure délicat, tant leurs profils fonctionnels sont proches. Cette méthode nous a également permis de mettre en évidence les antagonismes importants entre les fonctions des légumineuses permettant de rendre les services escomptés. Les légumineuses les plus compétitives au cours de l'automne présentent ainsi les profils physico-chimiques les plus défavorables à une minéralisation rapide de l'azote contenu dans le mulch. La construction de mélanges d'espèces dont les profils fonctionnels diffèrent est une des voies possibles permettant d'aboutir à un compromis entre ces fonctions et services. Cependant, la prise en compte préalable des phénomènes de compétition entre espèces est nécessaire afin d'optimiser le fonctionnement de ces mélanges.

SYNTHESE DES PRINCIPAUX RESULTATS DE LA THESE

1. Effets des plantes de service sur la régulation des adventices

1.1 Capacité des colzas associés à réguler les adventices

Les travaux conduits au cours de cette thèse ont tout d'abord permis de démontrer que l'insertion de légumineuses gélives, associées à une culture de colza, conduisait, dans la majorité des situations étudiées, y compris certaines caractérisées par de très fortes infestations en adventices, à une réduction de la biomasse et de l'abondance des adventices en entrée d'hiver par rapport à un colza seul (chapitre 1). Nous avons également observé un effet important de l'espèce de légumineuse sur l'efficacité de réduction des quantités d'adventices, les plus efficaces (trèfle d'Alexandrie, pois fourrager, vesce commune, mélange vesce/féverole/trèfle, et féverole dans une moindre mesure) pouvant conduire à des réductions de l'abondance en adventices de plus de 70% par rapport à celle observée sur le témoin sans légumineuse en entrée d'hiver. D'autres espèces (gesse, fenu grec, lentille, et les mélanges qui en sont composés), en revanche, n'ont pas permis de réduire significativement l'infestation en adventices.

Nous avons également démontré que la présence de légumineuses associées au colza n'induit généralement pas de réduction significative de la quantité d'azote absorbé en entrée d'hiver par le colza. En effet, seule l'association avec du pois fourrager a conduit à une réduction significative de l'absorption d'azote par le colza, et ceci uniquement en 2013 dans une situation à très haute infestation en adventices (effet plus marqué en cas de forte disponibilité en azote dans le sol), (chapitre 1). Dans des conditions plus classiques de culture (partie azote), nous n'avons pas observé d'effet dépressif des plantes de service sur la culture de vente, ce qui confirme le risque limité de compétition exercée par les légumineuses sur le colza (chapitre 3).

Les phénomènes de compétition qui s'exercent entre les différentes espèces au cours de la phase automnale concernent différentes ressources (rayonnement, éléments minéraux, eau). Dans le cadre de ce travail, nous avons plus particulièrement étudié la compétition pour le rayonnement et pour l'azote. Nos résultats suggèrent que la compétition pour le rayonnement constitue un mécanisme déterminant pour comprendre la capacité des associations colza-légumineuses à réguler les adventices. Ainsi, l'accroissement de surface foliaire du couvert lié à l'introduction de plantes de service conduit à une augmentation de l'interception du rayonnement par le couvert colza-légumineuse et une réduction par les adventices (voir également l'Annexe 9). La phase de croissance simultanée étant très courte en automne, les

vitesse d'accroissement de la surface foliaire constituent ainsi des caractéristiques déterminantes pour expliquer les performances enregistrées, en termes de régulation des adventices mais aussi de compétition exercée sur le colza.

Contrairement à l'hypothèse initialement formulée (hypothèse 2), l'intensité des phénomènes de compétition qui interviennent au cours de la phase de croissance initiale entre les différentes espèces est relativement faible et impacte peu le niveau des performances du colza enregistrées en entrée d'hiver. En situation de faible disponibilité en azote, nous n'avons ainsi pas mis en évidence d'effet significatif de tels mécanismes intervenant au cours de cette période sur la capacité finale du couvert à contrôler les adventices ou sur celle des légumineuses à exercer un effet dépressif sur l'absorption d'azote par le colza. En revanche, en situation de forte disponibilité en azote, le début du cycle de croissance constitue une période plus déterminante car il conditionne en partie les performances de régulation des adventices et d'absorption d'azote par le colza. Ainsi, dans ces conditions, seules les légumineuses dont la vitesse de croissance initiale est élevée sont susceptibles de se montrer compétitives vis-à-vis des adventices et du colza. En effet, la capacité importante d'absorption d'azote par le colza lui confère une vitesse de croissance très élevée ainsi qu'une compétitivité accrue vis-à-vis des autres espèces. Le filtre environnemental dans ces conditions est ainsi bien plus fort pour les légumineuses.

Enfin, quelles que soient les conditions de milieu, la seconde partie du cycle automnal (phase de consolidation) constitue la phase de croissance la plus importante pour comprendre les relations de compétition entre espèces et les performances enregistrées, en termes de régulation des adventices et d'azote absorbé par la culture de vente en entrée d'hiver.

1.2 Impact de la disponibilité initiale en azote sur les performances automnales

Le fonctionnement des associations colza-légumineuses a été très influencé par la disponibilité initiale en azote dans le sol. En effet, le niveau de disponibilité, pour une année donnée, a significativement modifié la structure de l'association, malgré des biomasses totales maximales voisines pour l'ensemble du couvert colza-légumineuses. Ainsi, à la fin de la période de croissance simultanée, la proportion de légumineuses composant le couvert était nettement plus importante en situation de faible disponibilité en azote, la biomasse de légumineuse pouvant même être jusqu'à trois à quatre fois supérieure à celle du colza (en 2013-2014). Dans ces situations, la contribution des légumineuses à la régulation des adventices est ainsi très forte.

Lorsque le niveau d'azote minéral disponible est élevé, les légumineuses participent de façon plus marginale à la biomasse et à la surface foliaire du couvert, mais leur présence influence significativement le niveau de régulation des adventices et, de façon plus importante encore, le risque de compétition automnale vis-à-vis de la culture de vente. Le colza se révèle capable d'absorber de grandes quantités d'azote minéral au cours de l'automne (Dejoux *et al.* 2003) et apparaît, dans ces situations, très compétitif vis-à-vis des autres espèces. Ainsi deux cas de figures se présentent. Lorsque les plantes de service choisies sont très compétitives, c'est-à-dire capables d'accumuler rapidement une quantité de biomasse importante (pois fourrager ou féverole par exemple), la croissance des légumineuses se fait généralement au détriment de la culture de vente, la biomasse produite ayant tendance à se substituer à celle du colza. Néanmoins la concentration en azote dans le colza n'induit que des différences limitées en terme de quantités d'azote absorbé pour ces modalités. En revanche si les espèces choisies sont peu compétitives (gesse, lentille, fenugrec), la biomasse produite par ces légumineuses est faible et n'exerce aucun impact négatif vis-à-vis du colza.

2. Effets des plantes de service sur la dynamique d'absorption de l'azote par le colza

A la fin de la floraison du colza, la quantité d'azote absorbé par les colzas associés était généralement supérieure à celle du colza seul, quels que soient l'année ou le niveau de disponibilité initiale en azote. Ainsi, les colzas associés aux mélanges vesce/féverole/trèfle d'Alexandrie et lentille/gesse/fenugrec, au pois fourrager, à la gesse, à la vesce ou à la lentille ont accumulé une quantité d'azote significativement supérieure à celle du colza seul, ce surplus s'élevant en moyenne à 20 à 30 kgN.ha⁻¹ environ. Pour ces mêmes espèces, le surplus d'azote issu de la minéralisation des légumineuses associées s'élevait en moyenne à 15 à 25 kgN.ha⁻¹. L'augmentation des quantités d'azote issu de la minéralisation des résidus de légumineuses et de la matière organique du sol constitue ainsi la principale source de cet accroissement des quantités d'azote accumulé dans la biomasse aérienne du colza. La minéralisation des résidus de légumineuses constitue donc une source d'azote pour le colza pour la majorité des espèces. Seuls le fenugrec, la féverole et le mélange lentille/féverole n'ont pas montré de différences significatives par rapport au colza seul, ces deux dernières modalités pouvant même présenter des quantités d'azote absorbé légèrement inférieures à celles du colza seul.

Les niveaux de bonus azoté mesurés dans le cadre de notre expérimentation se sont révélés plus importants que ceux mesurés au cours d'expérimentations antérieures (Cadoux *et al.* 2015 ; Valantin-Morison *et al.* 2012). Cette différence s'explique en partie par le fait que nous nous sommes volontairement placés dans des situations de carence azotée assez marquée au printemps, ce qui a probablement eu pour effet d'accroître les différences par rapport au colza seul. Cette hypothèse est en effet cohérente avec les résultats de Cadoux *et al.* (2015), qui ont montré que le surplus d'azote absorbé dans les colzas associés était globalement plus important lorsque l'INN était inférieur à 1.

Nos résultats montrent également que le bonus d'azote issu de la minéralisation n'est pas corrélé avec la quantité d'azote contenu dans les légumineuses avant leur destruction, comme observé dans un réseau plus large (Cadoux *et al.* 2015 ; Valantin-Morison *et al.* 2012). Pour certaines modalités, le bonus issu de la minéralisation est ainsi parfois supérieur à la quantité d'azote accumulé par les légumineuses (mais la variabilité est importante), ce qui indique que la présence du mulch de légumineuses accroît également la quantité d'azote issu de la minéralisation de la matière organique du sol (phénomène connu sous le nom de "priming effect", Kuzyakov 2010). Ce résultat nécessite d'être confirmé, mais il pourrait constituer un des phénomènes de facilitation en jeu, comme déjà observé pour d'autres associations d'espèces (Cong *et al.* 2015).

Le bonus d'azote issu de la minéralisation des légumineuses était également plus élevé au cours de la saison 2012-2013, alors que les quantités d'azote cumulé par les légumineuses au cours de l'automne étaient plus faibles. En effet, plus que la quantité d'azote contenu dans les résidus de légumineuses, la date de destruction est apparue importante pour expliquer le niveau du surplus d'azote minéralisé en 2012-2013 par rapport à 2013-2014. De la même façon, les conditions climatiques au cours de cet hiver (précipitations de neige et de grêle) ont probablement accéléré la mise en contact du mulch avec le sol, ce qui a accru la vitesse de minéralisation.

Nous avons également montré que la présence des légumineuses avait conduit à améliorer l'efficacité d'utilisation de l'azote issu de la fertilisation par rapport au colza seul, de façon plus importante pour la deuxième année d'expérimentation (au cours de laquelle les légumineuses ont produit plus de biomasse et ont été détruites plus tard). Plusieurs mécanismes sont susceptibles d'expliquer ce phénomène. Parmi eux, l'amélioration de l'efficacité d'absorption de l'azote par le système racinaire du colza, les effets du mulch sur la régulation de la température et l'humidité au niveau du sol ou encore la stimulation de l'activité microbienne sont autant d'hypothèses explicatives potentielles à investiguer.

D'autres phénomènes de facilitation interviennent également plus tôt dans le cycle. En effet, nous avons montré que les flux d'azote étaient modifiés par la présence des légumineuses, notamment en accroissant la quantité d'azote absorbé par le colza durant la phase hivernale (par rapport au colza sans légumineuse) ainsi que les reliquats en sortie d'hiver (pour certaines modalités seulement) ou en réduisant les pertes d'azote sous forme de feuilles mortes. Plusieurs hypothèses sont susceptibles d'expliquer ces mécanismes: i) l'effet des légumineuses sur le micro-climat dans le couvert pourrait expliquer un moindre risque de gel du colza (conduisant à des pertes d'azote sous forme de feuilles mortes moins importantes ou améliorant les conditions d'absorption d'azote au cours de l'hiver), ii) l'effet des légumineuses sur le système racinaire du colza et sur la structure du sol (conduisant par exemple à une moindre sensibilité à l'excès d'eau durant l'hiver). En effet, comme évoqué par Carof *et al.* (2007c), la présence de plante de service peut conduire à une augmentation de la porosité fonctionnelle du sol par rapport à une culture pure.

L'Annexe 10 qui présente le suivi photographique de deux parcelles (témoin colza sans légumineuse et association colza-pois) au cours de la campagne culturale permet d'illustrer ces phénomènes de facilitation, notamment en comparant la vigueur du colza associé au pois (modalité pour laquelle la compétition automnale était la plus importante) au colza seul en sortie d'hiver.

Notre travail a donc permis de mettre en évidence certains mécanismes de facilitation (amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'engrais azoté notamment), mais de nouvelles investigations sont nécessaires pour comprendre l'ensemble des phénomènes impliqués.

3. Utilisation des traits fonctionnels des légumineuses pour comprendre les mécanismes et les performances

3.1 Traits fonctionnels impliqués dans les mécanismes en jeu

La capacité des légumineuses à réguler les populations d'adventices dépend largement de leur capacité à produire une biomasse et une surface foliaire élevées. Ces deux fonctions dépendent de traits fonctionnels caractéristiques des espèces. Ainsi, la capacité des légumineuses à croître très rapidement en hauteur (que ce soit durant la phase d'établissement ou de consolidation) constitue une caractéristique fondamentale pour expliquer l'accumulation d'une surface foliaire et d'une biomasse importantes. La surface foliaire unitaire (leaf area)

constitue également un trait fonctionnel explicatif des performances enregistrées, particulièrement durant la phase d'établissement du couvert. Ces résultats indiquent donc que la capacité d'accès à la ressource lumineuse constitue un critère fondamental pour comprendre les performances des légumineuses et classer les espèces. Toutefois, la démarche que nous avons mobilisée n'a permis d'expliquer qu'une part relativement limitée de la variabilité constatée en termes de performances des légumineuses et de leurs effets sur les services ou dis-services. Le caractère explicatif de la combinaison de traits retenus paraît donc insuffisant pour faire de la prédiction de performances, par exemple pour évaluer l'opportunité d'introduire de nouvelles espèces candidates à partir d'une mesure *a priori* de ces traits.

Bien qu'ils ne correspondent pas à proprement parler à la définition de traits fonctionnels (car non directement reliés aux performances des légumineuses), les traits physico-chimiques des mulchs que nous avons mobilisés ont permis de comprendre les déterminants de la minéralisation de l'azote qu'ils contiennent. Ainsi, plus que le contenu total en azote des résidus de légumineuses, leurs traits biochimiques (fraction soluble, rapport azote/carbone) et physiques (pourcentage de biomasse en contact avec le sol, capacité de rétention en eau) nous ont permis d'appréhender, de manière qualitative, les différences observées entre les espèces en terme de surplus d'azote mesuré à la fin de la floraison dans les modalités associées par rapport au colza seul. Toutefois, il serait nécessaire de valider cette approche dans une gamme de milieux plus variée (notamment en terme de pédoclimat), et de proposer des relations quantitatives entre traits et cinétique de minéralisation de cet azote.

Finalement, l'identification de fonctions et de mécanismes non étudiés dans le cadre de la thèse et potentiellement explicatives du service de régulation des adventices et de fournitures d'azote au cours du printemps et de leurs déterminants (compétition et facilitation au niveau racinaire, effets allélopathique, effets mulchs) pourrait permettre d'améliorer la précision des profils fonctionnels des espèces candidates et relier de manière plus précise leur performances.

3.2 Etablissement des profils fonctionnels des espèces candidates

La prise en compte de l'ensemble des traits fonctionnels impliqués dans l'obtention des services et dis-services étudiés a permis de dresser les profils fonctionnels de chacune des espèces candidates et de comparer, de manière qualitative, leur aptitude à les délivrer. La majorité des espèces présente ainsi des profils fonctionnels "spécialisés", c'est à dire adaptés à la fourniture d'un service en particulier. En effet, nos résultats mettent en évidence l'existence

d'antagonismes importants entre les différentes fonctions et services recherchés. Les traits fonctionnels explicatifs des performances des légumineuses en automne s'opposent ainsi, pour la plupart, à ceux qui décrivent les traits physico-chimiques des mulchs favorables à une minéralisation rapide de l'azote qu'ils contiennent. Cela suggère qu'aucune des légumineuses testées ne présente l'ensemble des caractéristiques favorables à l'obtention simultanée des deux services écosystémiques recherchés tout en évitant le risque de compétition vis-à-vis du colza.

Ces profils fonctionnels constituent un moyen efficace pour identifier ou sélectionner de nouvelles espèces candidates (ou de nouvelles variétés), susceptibles de fournir les services escomptés, ou bien encore pour construire des mélanges d'espèces permettant de gérer les compromis lorsque plusieurs services écosystémiques sont recherchés (Storkey *et al.* 2015 ; Tribouillois *et al.* 2015b). Toutefois, cette approche nécessite également d'appréhender les mécanismes de compétition/facilitation entre les légumineuses. En effet, les résultats obtenus pour les mélanges testés dans le cadre de notre travail indiquent que leurs profils fonctionnels diffèrent parfois fortement des profils fonctionnels "moyens" que l'on aurait pu construire à partir des légumineuses pures, notamment du fait des contributions très différentes de chaque espèce à la biomasse totale du mélange.

Les profils fonctionnels que nous avons établis ne permettent toutefois pas de prendre directement en compte les effets des conditions de milieu (disponibilité en azote ou climat par exemple) sur l'aptitude des espèces à délivrer les services écosystémiques étudiés. La prise en compte de ces interactions nécessite en effet de pondérer, de manière qualitative, l'importance accordée à chaque trait suivant notre connaissance des interactions entre les mécanismes en jeu et les conditions de milieu.

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

1. Protocole expérimental mis en place et la démarche analytique utilisée

1.1 Approche fonctionnelle pour étudier les mécanismes de compétition entre espèces au sein d'associations colza-légumineuses

1.1.1 Intérêt de mobiliser ce cadre conceptuel pour les associations colza-légumineuses

Dans le cadre de ce travail, nous avons fait le choix de recourir à une démarche fonctionnelle, cadre conceptuel permettant de structurer l'analyse du fonctionnement des associations colza-légumineuses et des mécanismes de compétition/facilitation mis en jeu. Comme explicité sur la Figure 7, nous avons ainsi tout d'abord basé notre démarche sur une analyse comparative des capacités des différentes espèces de légumineuses testées à délivrer les services escomptés via des mesures effectuées sur des colzas associés (chapitre 1 et 3). Puis, nous avons cherché à expliquer le niveau de satisfaction de ces services à la lumière des performances obtenues par les légumineuses au sein de ces associations. Enfin seulement, nous avons identifié des traits fonctionnels ou physico-chimiques permettant de comprendre les performances enregistrées par les légumineuses et les mécanismes mis en jeu (chapitres 2 et 4). Nous avons ainsi explicité la chaîne des relations entre services, fonctions et traits, plutôt que de comparer *a priori* les différences entre espèces en terme de stratégie d'acquisition de ressources en nous basant sur des matrices et des classifications déjà existantes (Pierce *et al.* 2013 ; Grime 1974 ; Westoby 1998) et de sélectionner les espèces qui paraissent les plus appropriées, à l'instar de ce qui est fréquemment pratiqué (Damour *et al.* 2014 ; den Hollander *et al.* 2007a ; Tardy *et al.* 2015).

En effet, comme supposé initialement, les traits fonctionnels couramment utilisés en écologie fonctionnelle (SLA, LDMC, LA) n'ont pas permis, à eux seuls, d'aboutir à une compréhension suffisante des mécanismes et à distinguer des stratégies différentes parmi les espèces testées dans notre cas d'étude, d'autant que les espèces candidates appartiennent à la même famille botanique. De plus, les résultats obtenus par Tribouillois *et al.* (2015a) sur l'utilisation d'une approche fonctionnelle pour caractériser les stratégies d'acquisition de ressources confirment que ces traits fonctionnels foliaires ne sont pas suffisants pour comparer des espèces cultivées, utilisées en tant que couverts végétaux, et comprendre la variabilité de leurs performances (une partie des espèces testées est d'ailleurs commune à celles que nous avons comparées dans le cadre de ce travail).

Les effets de la compétition interspécifique (en premier lieu celle exercée par le colza) et de la disponibilité en azote sur les performances des légumineuses se sont ainsi révélés plus explicatifs des performances des légumineuses que les différences en terme de stratégie d'acquisition des ressources entre les espèces candidates, particulièrement au cours de la phase de consolidation (lorsque la compétition interspécifique est la plus intense). Les corrélations plus fines entre certains traits fonctionnels (LDMC, masse d'une graine, LA) et les vitesses d'accroissement de la biomasse et de la surface foliaire des légumineuses au cours de la phase d'établissement suggèrent d'ailleurs que lorsque la compétition interspécifique est faible, les différences en terme de stratégie d'acquisition de ressources s'expriment d'avantage. L'un des principaux avantages liés à l'utilisation du concept de trait fonctionnel pour notre cas d'étude a enfin résidé dans la possibilité de considérer une pluralité de services écosystémiques, de fonctions et de traits associés de manière simultanée, sous forme de profils fonctionnels. Ainsi, cette méthode a permis de comprendre les potentialités offertes et les risques inhérents à l'introduction de chacune des espèces pour les services étudiés. La compréhension de nouveaux mécanismes ou bien la prise en compte de nouveaux services écosystémiques permettront d'affiner ces profils fonctionnels et ainsi d'affiner le choix de l'espèce ou du mélange d'espèces à utiliser.

Parallèlement, le concept de filtre environnemental (Lavorel et Garnier 2002 ; Garnier et Navas 2012) a également permis de structurer notre raisonnement et de distinguer les réponses des légumineuses à ces perturbations. Dans ce travail, nous avons fait l'hypothèse, et démontré, que le niveau de disponibilité initiale en azote était un filtre environnemental majeur. La connaissance des réponses des légumineuses à une diversité de filtres environnementaux potentiels concourt en effet fortement à l'accroissement de la généricité de la compréhension du fonctionnement et des mécanismes mis en jeu.

1.1.2 Choix des traits mobilisés et protocole de mesure

Nous avons utilisés deux types de traits fonctionnels pour comprendre les performances des légumineuses en automne. En nous basant sur la bibliographie, nous avons tout d'abord sélectionné quatre "soft" traits (*i.e.* facilement mesurables, Lavorel et Garnier 2002) parmi les plus couramment utilisés et dont les relations avec les stratégies d'acquisition de ressources des espèces sont connues: SLA, LA et LDMC (Pierce *et al.* 2013 ; Westoby 1998) et la masse des graines (Gardarin *et al.* 2010 ; Fayaud *et al.* 2014). Conformément aux protocoles standardisés issus de la bibliographie (Cornelissen *et al.* 2003), nous avons mesuré ces traits sur les légumineuses cultivées en couverts purs, dans les deux niveaux de disponibilité en

azote. Nous avons également choisi des traits mesurés à l'échelle de la plante et qui nous apparaissaient comme particulièrement intéressants pour comprendre les relations de compétition au sein de ce type d'associations (vitesse d'accroissement de la hauteur, ratio de biomasse tige/feuille). Ces caractéristiques ont été mesurées sur des parcelles de légumineuses associées. En effet, sous l'effet de la compétition entre espèces, ces traits sont susceptibles de varier fortement (par rapport à une culture pure de légumineuse). C'est notamment le cas de la vitesse d'accroissement de la hauteur pour laquelle, suivant la disponibilité en azote et l'espèce considérée, les valeurs peuvent varier fortement entre les situations associées ou pures, *a fortiori* durant la phase de consolidation durant laquelle la compétition interspécifique est intense (Annexe 11).

Nous avons également considéré des variables de performance dynamiques (vitesse d'accroissement de la biomasse et de la surface foliaire des légumineuses) en séparant deux phases de croissance distinctes (établissement et consolidation) plutôt que de raisonner en terme de biomasse maximale produite. En effet, du fait du pas de temps très court durant lesquelles les phénomènes de compétition s'exercent, et de la forte anthropisation du milieu (disponibilité en azote notamment), les relations de compétition et de dominance entre espèces sont exacerbées. Nous avons donc fait l'hypothèse que les dynamiques de croissance durant des phases clés étaient des variables plus explicatives et plus génériques des services rendus.

1.2 Boucler le bilan azoté de manière plus précise

La compréhension des dynamiques des flux d'azote au sein des associations colza-légumineuses a constitué une des difficultés majeures lors de la construction du protocole expérimental. Les mesures effectuées en entrée et en sortie d'hiver ainsi qu'au printemps sur la partie azote ont tout d'abord permis d'effectuer des bilans des quantités d'azote contenu dans les biomasses aériennes et racinaires, dans les feuilles mortes ainsi que sous forme d'azote minéral dans le sol. Cependant, afin de boucler le bilan azoté de manière plus précise et avant de pouvoir effectuer une évaluation environnementale des effets de l'introduction de légumineuses gélives en tant que plante de service, il est nécessaire de procéder à une évaluation des pertes d'azote potentielle. En effet, plusieurs mécanismes peuvent conduire à des pertes d'azote au cours du cycle cultural dans de tels systèmes.

De manière générale, l'introduction de légumineuses dans les systèmes de culture peut conduire à une augmentation du risque de lixiviation (Plazza-Bonilla *et al.* 2015). Dans le cas

des associations colza-légumineuses, ces phénomènes peuvent survenir principalement au cours de l'hiver, après la destruction des légumineuses. Toutefois, les bilans azotés effectués en entrée et en sortie d'hiver (chapitre 3) indiquent tout d'abord que la présence de légumineuse n'a pas d'impact significatif sur le niveau de reliquat azoté en entrée d'hiver, voire même tend à réduire les niveaux de reliquats azotés lorsque que la disponibilité initiale est élevée (données 2012). En effet, en cas de forte disponibilité initiale en azote, la fixation symbiotique est réduite, les légumineuses favorisant l'absorption de l'azote minéral disponible, ce qui réduit d'autant la quantité d'azote minéral en entrée d'hiver¹. En sortie d'hiver, seule la présence de pois fourrager, de trèfle d'Alexandrie et de féverole a conduit à une augmentation des reliquats azotés sur l'horizon 0-90 cm (de manière significative pour l'année 2013-2014 uniquement). Bien que ces données ne permettent pas de quantifier de manière directe le risque de lixiviation de nitrates sous ces modalités associées par rapport à la référence colza seul, elles suggèrent néanmoins que ce risque ne semble pas accru de manière significative lorsqu'on introduit des légumineuses gélives (y compris en cas de destruction et de début de minéralisation précoce des légumineuses, données 2012-2013). De plus, nos résultats ont également montré que sur cette même période, le colza avait tendance à perdre moins d'azote sous forme de feuilles mortes et à continuer d'absorber de l'azote de manière plus importante lorsqu'il était associé, réduisant d'autant le risque de lessivage. Enfin, une dernière hypothèse susceptible d'expliquer ce risque limité de lessivage hivernal consiste à penser que la présence de légumineuses jusqu'au début, voire jusqu'à la fin de l'hiver conduit à une augmentation de l'évapotranspiration durant cette période et donc à une réduction de la teneur en eau du sol et de la lame drainante durant l'hiver.

Le risque le plus important de pertes en azote liées à l'introduction de légumineuses dans une culture de colza réside probablement dans les phénomènes de volatilisation et de dénitrification inhérents à la minéralisation de l'azote contenu dans les résidus de légumineuses. En effet, dans des conditions analogues, Dejoux *et al.* (2000) ont démontré que les pertes d'azote sous formes gazeuses au cours de la minéralisation de feuilles mortes de colza (sous forme de mulch) pouvaient atteindre 40% de leur contenu en azote total. La mesure *in situ* des phénomènes de volatilisation et de dénitrification ou le recours à la modélisation pour en évaluer les quantités et les déterminants apparaissent ainsi

¹ Dans le cadre de cette thèse, nous avons cherché à évaluer les différences entre espèces en terme de capacité de fixation symbiotique (Ndfa: nitrogen derived from atmosphere) afin notamment de comprendre la compétitivité des légumineuses en terme d'absorption d'azote minéral. Toutefois, l'abondance naturelle des sols de Grignon n'a pas permis d'interpréter ces résultats de manière fiable

fondamentales pour évaluer l'opportunité d'introduire des légumineuses en tant que plantes de service. En effet, ces émissions de gaz à effet de serre constituent un enjeu particulièrement prégnant pour la culture de colza, du fait des objectifs affichés de réduction des émissions de gaz à effet de serre pour la filière biodiesel (Le Gall *et al.* 2015).

De façon générale, une évaluation du bilan entre les pertes d'azote potentiellement dues à la présence du mulch de légumineuses et les gains issus d'une réduction de la fertilisation minérale (et de l'accroissement de l'efficacité d'utilisation de cet azote) est nécessaire pour évaluer les conséquences environnementales globales de l'introduction de légumineuses gélives en tant que plantes de service. Cette évaluation doit également être effectuée en prenant en compte d'éventuels effets précédents et/ou cumulatifs liés à la présence des légumineuses sur les cultures suivantes (niveau de reliquats azotés post-récolte, effets des légumineuses sur le stockage de matières organiques, etc).

2. Explorer des nouveaux mécanismes, tester une plus large gamme de conditions de milieu, quantifier de nouveaux services écosystémiques

2.1 Comprendre les effets des légumineuses sur le rendement du colza

Notre dispositif analytique n'avait pas pour objectif de quantifier les impacts des plantes de service sur le rendement en grain du colza. En effet, les pratiques techniques mises en place visaient à faciliter la compréhension des mécanismes étudiés et la compréhension de leurs déterminants et n'étaient donc pas optimisées. Il aurait ainsi été délicat de différencier, d'une part, ce qui tient de l'effet des légumineuses sur le rendement (phénomènes de compétition/facilitation) et, d'autre part, ce qui est dû aux conséquences des choix techniques liés au protocole (semis des adventices sans désherbage ou carence azotée volontaire). Néanmoins, l'explicitation des conséquences de l'introduction des plantes de service sur le rendement en grains du colza constitue une donnée très importante. En effet, compte-tenu de l'impact très important du rendement sur le bilan économique et énergétique de la culture, ce dernier conditionne ainsi de manière déterminante l'évaluation économique et environnementale de l'insertion de légumineuses gélives en tant que plante de service. Ainsi, les pertes de rendement, si elles existent, doivent être relativement faibles pour que les bénéfices agronomiques, économiques et environnementaux de l'introduction des légumineuses (liés à la réduction potentielle des intrants) compensent ces pertes.

Les essais pour lesquels les itinéraires techniques du colza seul et des modalités associées ont été conduits de manière optimisée (programme de désherbage réduit et compatibles avec la présence des légumineuses et dose d'azote réduite de manière forfaitaire de 30 kgN.ha⁻¹ pour les modalités associées) montrent un rendement au moins équivalent voire supérieur des colzas associés par rapport à la référence colza seul (Cadoux *et al.* 2015). Pourtant, au stade G4, la présence de résidus de légumineuses avait permis de ne compenser que la moitié environ de la réduction de la dose d'azote par rapport au colza seul (15 kgN.ha⁻¹ en moyenne). Ainsi, ces résultats suggèrent, à l'instar des conclusions que nous avons formulées précédemment, l'existence de nombreux phénomènes de facilitation, autres que les effets "directs" de la fourniture d'azote, qui induisent une amélioration des performances agronomiques des colzas associés conduits avec des doses d'azote réduites. L'amélioration de la compréhension de ces autres phénomènes de compétition potentiels que nous avons listés précédemment (effet sur l'architecture racinaire, structuration du sol, "effet mulch", etc) et l'analyse fine des composantes du rendement des colzas seuls et associés dans ces situations, paraissent donc déterminantes pour appréhender les conséquences de l'introduction des légumineuses sur les performances de la culture et ainsi ajuster au mieux son itinéraire technique.

2.2 Comprendre les mécanismes de compétition racinaire

Différentes ressources (eau, minéraux) peuvent faire l'objet d'une compétition intense au niveau racinaire au sein d'associations d'espèces (Malézieux *et al.* 2009 ; Thorsted *et al.* 2006a). De nombreux effets de facilitation peuvent également s'exercer entre espèces. Parmi eux la complémentarité des systèmes racinaires en termes d'architecture et de profondeur d'enracinement, ou bien les interactions entre les systèmes racinaires des espèces (via l'exsudation de composés ou la complémentarité des systèmes mycorhiziens, Hauggaard-Nielsen and Jensen 2005) sont autant de mécanismes de facilitation qui peuvent s'exercer au sein d'associations colza-légumineuses.

Au cours de l'automne 2013, nous avons ajouté au protocole un certain nombre de mesures sur la partie azote afin d'appréhender les effets de la compétition interspécifique sur le système racinaire du colza. Les résultats (présentés en

Annexe 12) montrent que la compétition qui s'exerce entre le colza et les légumineuses pouvait conduire à un fort effet dépressif en termes de longueur et de biomasse du pivot, d'autant plus important que la disponibilité en azote était faible. Pourtant, au niveau aérien, à l'exception du pois d'hiver, pour lequel les quantités d'azote contenu dans la biomasse aérienne en entrée d'hiver (partie azote, 2013) étaient légèrement inférieures à celles du colza seul (mais de façon non significative), les performances du colza ne sont pas altérées par la présence des légumineuses. De plus, les résultats observés au printemps (en terme d'azote absorbé par le colza) montrent également que les colzas associés sont globalement plus performants dans le cas d'une faible disponibilité en azote (relativement aux témoins sans légumineuses correspondants).

L'une des hypothèses pour expliquer ces résultats consiste à penser que la présence des légumineuses conduit à une modification de l'architecture racinaire du colza. Ainsi que l'ont suggéré Li *et al.* (2005) ou Hauggard-Nielsen *et al.* (2001), en situation d'association, la croissance latérale des racines a tendance à être augmentée sous l'effet de la compétition entre les espèces. L'augmentation de la densité racinaire (Li *et al.* 2005), constitue une autre hypothèse pour expliquer ces résultats. Enfin, lorsqu'une légumineuse et une non-légumineuse sont associées, le système racinaire des non-légumineuses a tendance à être concentré dans des horizons inférieurs à ceux colonisés par la légumineuse, comme montré par Li *et al.* (2005), Hauggard-Nielsen *et al.* (2001), Gao *et al.* (2010) ou encore plus spécifiquement Jamont *et al.* (2013) pour des associations colza-légumineuses. Or, nos mesures effectuées uniquement sur le pivot n'ont probablement pas pu capter les conséquences de ces mécanismes. De plus, les différences importantes constatées au niveau aérien entre nos deux années d'expérimentation illustrent la nécessité de répéter ces mesures dans le temps afin de mieux appréhender cette variabilité.

Au cours de cette expérimentation, nous avons également, en nous basant sur la méthode d'injection d'herbicide, d'après le protocole mis en place par Corre-Hellou et Crozat (2005), mesuré des vitesses de pénétration du front racinaire du colza à différentes profondeurs (20, 40 et 60 cm). Contrairement à l'hypothèse formulée initialement et suggérée dans la littérature (Corre-Hellou et Crozat 2005 ; Hauggard-Nielsen *et al.* 2001), selon laquelle la vitesse de pénétration du front racinaire est supérieure en situation d'association par rapport à une culture pure, nos résultats (non présentés) suggèrent que la compétition entre le colza et les légumineuses n'induit pas une augmentation de la vitesse de pénétration du front racinaire de la culture de vente au cours de la phase initiale de croissance. La tendance semble ensuite s'inverser, le colza seul étant l'une des modalités les plus lentes pour atteindre la profondeur

maximale testée. Cependant, cette expérimentation, du fait de la difficulté à mesurer les symptômes foliaires et à injecter avec précision l'herbicide dans une zone suffisamment large pour que les racines du colza soient touchées avec certitude, devrait être reconduite pour améliorer le protocole de mesure et affiner les conclusions. Toutefois, les tendances suggérées par l'analyse de ces données laissent une fois de plus penser que l'hypothèse selon laquelle la compétition exercée par les légumineuses au niveau racinaire modifie plutôt la croissance latérale ou encore la densité racinaire semble donc crédible et à approfondir.

De manière générale, l'approfondissement des mesures visant à comprendre les mécanismes de compétition au niveau racinaire et les ressources qui sont concernées (eau, azote, autres minéraux) ainsi que les conséquences de cette compétition sur l'architecture racinaire apparaissent constituer un front de recherche prégnant pour améliorer notre compréhension du fonctionnement des associations colza-légumineuses. En effet, une part significative des mécanismes de facilitation et de leurs effets positifs sur les performances du colza (effet positif ou nul sur le rendement malgré des quantités d'N absorbé inférieures (Cadoux *et al.* 2015), mécanismes impliqués dans l'amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'azote) demeure inexplicée.

L'un des moyens pour comprendre les mécanismes de compétition au niveau racinaire pourrait consister à établir une cartographie des systèmes racinaires du colza et des différentes légumineuses candidates (densité et biomasse racinaire respectives) à la fois sur le plan vertical, comme chez Shili-Touzi (2009), mais aussi latéral afin notamment de comprendre l'influence des différents modes d'implantation (semis en ligne, en rangs espacés, à la volée). En effet, la complémentarité des systèmes racinaires sur le plan horizontal peut également conditionner en partie les mécanismes de compétition entre les espèces (Célette *et al.* 2005 ; Thorsted *et al.* 2006b).

A cette fin, l'utilisation de traits fonctionnels racinaires (déjà mobilisés, notamment dans les travaux de Fort *et al.* 2014 & 2015) pourrait également, comme dans la démarche que nous avons mobilisée dans cette thèse pour étudier les mécanismes de compétition au niveau aérien, permettre d'améliorer la compréhension des interactions entre espèces, des stratégies d'acquisition des ressources et enfin de compléter et de préciser les profils fonctionnels des espèces candidates en prenant en compte une plus grande diversité de fonctions et/ou de services rendus. Plusieurs traits pourraient ainsi être utilisés, parmi eux le RLD (root length density) correspondant à la longueur des racines par unité de volume de sol ou encore le SRL (specific root length) correspondant à la longueur de racines produites par unité de masse,

permettent de comparer les stratégies d'acquisition des ressources des espèces (Fort *et al.* 2014) et pourraient constituer des traits fonctionnels racinaires intéressants à mesurer.

2.3 Prendre en compte une plus grande diversité de filtres environnementaux et considérer les traits de réponse qui sont associés

La prise en compte d'une plus large diversité de conditions de milieu (pédoclimat, système de culture) constitue également une voie d'amélioration fondamentale pour accroître la généralité de nos résultats. Dans ce travail, nous avons ainsi démontré que le niveau de disponibilité initiale en azote constituait un filtre environnemental majeur pour comprendre les performances enregistrées. D'autres conditions limitantes pourraient ainsi être prises en compte pour accroître la généralité des mécanismes présentés.

Parmi elles, la disponibilité en eau au moment du semis paraît être une condition de milieu importante à considérer, la culture étant implantée à une période et dans des régions pour lesquelles cette ressource fait fréquemment défaut. En effet, en cas de levée retardée, la période disponible pour la croissance des légumineuses, et ainsi pour la mise en place des mécanismes conduisant à la fourniture des services escomptés, sera d'autant plus courte. Ainsi, dans ces situations, la prise en compte plus fine des caractéristiques fonctionnelles qui déterminent la faculté de germination, notamment certains traits des graines (Gardarin *et al.* 2010), pourrait être une voie possible. Il y a fort à parier également que dans les cas où la période de croissance est plus limitée (levée tardive ou gel précoce), les traits fonctionnels que nous avons identifiés et qui sont explicatifs de la capacité des légumineuses à croître rapidement en début de cycle seront d'autant plus importants.

Une autre composante du filtre environnemental qui pourrait être importante à considérer concerne l'historique de la pression des adventices sur la parcelle. En effet, au cours de nos prélèvements d'entrée hiver, nous avons dénombré les abondances et mesuré les biomasses spécifiques des adventices (mesures effectuées sur la partie adventices). A l'instar de ce qui a déjà été démontré pour d'autres exemples d'association culture de vente-plante de service (Hiltbrunner *et al.* 2007b), nos résultats (Annexe 13) suggèrent l'existence d'interactions importantes entre les abondances de chaque espèce d'adventices en entrée d'hiver (et l'efficacité de contrôle de ces espèces par les modalités associées par rapport au colza seul), les modalités de légumineuses associées et les conditions de milieu (notamment la disponibilité initiale en azote). Dans le temps de la thèse, nous n'avons pas été en mesure de procéder à une analyse fine de ces interactions et de leurs déterminants. Toutefois, ces

résultats laissent à penser que l'adéquation entre la prise en compte *a priori* des adventices susceptibles d'être présentes sur la parcelle et le choix la plante de service la plus à même de réguler ces espèces pourrait permettre d'améliorer le service de régulation des adventices. Dans cet objectif, l'utilisation d'analyse multivariées permettant à la fois de faire le lien entre les abondances spécifiques de chaque modalité de légumineuses ainsi que les traits fonctionnels des adventices et des légumineuses pourrait permettre de comprendre les déterminants de la pression de sélection des adventices pour chaque modalité de plante de service.

Ainsi, si cette hypothèse s'avérait, le choix de la légumineuse à associer pourrait être ajusté à la parcelle, en fonction de la flore adventice dominante. La construction du programme de désherbage chimique pourrait également être effectuée en se basant sur la complémentarité entre la faculté des légumineuses à contrôler telle ou telle espèce de légumineuse et l'efficacité des herbicides choisis sur la flore adventice.

De nombreuses autres composantes du filtre environnemental sont susceptibles d'intervenir et de modifier la réponse de la communauté d'espèces au sein des associations colza-légumineuses. Il est difficile de les traiter toutes de manière exhaustive. Une possibilité, pour les prendre en compte, serait d'appréhender la variabilité des traits déjà identifiés dans une large gamme de conditions de milieu afin de tester leur robustesse. Au cours de ce travail, nous n'avons pas mis en évidence de modifications importantes des traits de réponse, que nous avons identifiés comme étant explicatifs des performances des légumineuses, suivant les deux conditions de milieu que nous avons testées (faible et forte disponibilité en azote), à l'instar de ce qui a été démontré pour une plus large gamme de conditions de milieu pour les traits foliaires (Wright *et al.* 2004). L'utilisation de réseaux de parcelles multi-locales (en cours dans le projet CASDAR Alliance) et la mesure sur ces dispositifs des traits que nous avons identifiés permettront de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse. La possibilité d'appréhender la variabilité des traits de réponse de ces espèces permettra probablement d'aider à la compréhension des déterminants de la variabilité de ces performances.

Ce réseau de parcelles multi-locales permettra enfin de mesurer les performances des légumineuses suivant un gradient de disponibilité initiale en azote. En effet, dans le cadre du dispositif conduit à Grignon dans le cadre de cette thèse, nous avons testé deux niveaux de disponibilité initiale en azote très différents, nous permettant de mettre en évidence des mécanismes de compétition/facilitation différents. La prise en compte de niveaux de disponibilité "intermédiaires" dans le cadre de ces essais nous permettra ainsi d'affiner et

d'extrapoler les tendances que nous avons identifiées pour des niveaux de disponibilité initiale très différents.

2.4 Prendre en compte les techniques mises en oeuvre comme partie intégrante du filtre environnemental et comprendre ses interactions avec les performances des légumineuses.

Une autre valorisation possible de l'utilisation de ces réseaux de parcelles agricoles pourrait également résider dans la possibilité d'améliorer notre compréhension des interactions entre les performances des légumineuses et la variabilité des techniques mises en oeuvre en parcelles agricoles. Ainsi, i) la nature du travail du sol (et notamment ses effets sur la dynamique de levée des adventices), ii) le programme de désherbage utilisé (éventuelle phytotoxicité sur les légumineuses, niveau de réduction possible du recours aux herbicides) et éventuellement iii) le recours au désherbage (chimique ou mécanique) localisé ou encore iv) l'utilisation de régulateurs de croissance du colza en automne constituent autant d'éléments susceptibles de modifier fortement le fonctionnement de l'association, les performances des légumineuses et *in fine* les services écosystémiques rendus. Certaines de ces interactions ont déjà fait l'objet d'essais, notamment pour étudier la complémentarité entre légumineuses de service et semis direct pour gérer des flores adventices délicates (Landé et Sauzet 2011), ou encore de l'adéquation entre le programme de désherbage et l'utilisation de légumineuses gélives (Sauzet et Landé 2012 ; Terres Inovia 2015). La prise en compte de ces premiers résultats ainsi qu'une analyse des pratiques et des observations des agriculteurs qui mettent déjà en oeuvre ces associations permettraient probablement d'améliorer notre compréhension de ces interactions.

2.5 Evaluer de nouveaux services écosystémiques

Nous avons fait le choix de centrer ce travail sur l'étude du potentiel de régulation des adventices et de fourniture d'azote à la culture de vente. D'autres services écosystémiques, non étudiés dans le cadre de cette thèse, sont susceptibles d'être délivrés par les plantes de service dans le cas des colzas associés, c'est notamment le cas de la régulation des insectes automnaux du colza. Parmi les hypothèses évoquées, la perturbation de la reconnaissance de la plante-hôte notamment par effet dilution, l'émission de composés volatiles ou la capacité

des plantes de service à constituer des plantes-piège sont autant de mécanismes mis en avant dans la bibliographie (Finch 1978 ; Morley *et al.* 2005 ; Finch et Collier 2012).

Plusieurs essais ont ainsi déjà été mis en oeuvre pour étudier ces mécanismes (Landé *et al.* 2012 ; CA Poitou Charentes 2012 ; Cadoux *et al.* 2014), sur trois bioagresseurs du colza : la mouche du chou, la grosse altise et le charançon du bourgeon terminal. La présence de légumineuses en tant que plantes de service a ainsi globalement montré des réductions de la sévérité des attaques de grosses altises (CA Poitou-Charentes 2012 ; Landé *et al.* 2012 ; Cadoux *et al.* 2014) et du charançon du bourgeon terminal (Landé *et al.* 2012 ; Cadoux *et al.* 2014 & 2015). Plusieurs caractéristiques du couvert ont été mises en avant comme explicatives de ces mécanismes, notamment la hauteur relative des plantes de service par rapport au colza, la quantité de biomasse produite ainsi que leur capacité à couvrir le sol (CA Poitou-Charentes 2012 ; Landé *et al.* 2012) : on retrouve ici en partie les performances des légumineuses et les traits fonctionnels que nous avons étudiés au cours de cette thèse. Toutefois, d'autres investigations sont nécessaires pour confirmer ces hypothèses.

3. Vers une optimisation de la conduite technique des colzas associés pour améliorer les performances agro-environnementales de la culture

3.1 Fertilisation azotée des colzas associés

La gestion de la fertilisation azotée des colzas associés constitue une des difficultés techniques liées à l'introduction des plantes de service. Ainsi, si la méthode du bilan (basée sur un état des lieux des quantités d'azote absorbé par le colza en entrée et en sortie d'hiver et sur une évaluation des besoins de la culture suivant l'objectif de rendement) ne semble pas remise en cause, l'application d'une réduction forfaitaire de la dose bilan de 30 à 40 kgN.ha⁻¹ du fait de l'utilisation de légumineuses gélives, telle qu'elle est fréquemment conseillée (Terres Inovia 2015) et bien qu'elle semble constituer un compromis intéressant pour beaucoup de modalités de légumineuses associées que nous avons testées, ne constitue probablement pas la solution adaptée à toutes les situations. Ainsi, compte-tenu de la variabilité importante du bonus azoté à fin floraison, entre les espèces (mélange lentille/féverole versus mélange vesce/féverole/trèfle d'Alexandrie par exemple), entre les années et suivant les modalités de disponibilité en azote, il semblerait judicieux d'adapter le

calcul de la quantité d'azote à soustraire à la dose bilan en tenant compte à la fois des conditions de milieu et des spécificités des légumineuses associées.

Bien que notre dispositif n'ait pas été adapté à l'objectif d'améliorer le conseil en fertilisation azotée des colzas associés, il nous semble judicieux de considérer plusieurs pistes de réflexion. Ainsi, en plus de l'évaluation des quantités d'azote absorbé par le colza en entrée et en sortie d'hiver, l'ajustement de la dose d'azote à soustraire à la dose bilan pourrait se baser sur un état des lieux du mulch de légumineuses en sortie d'hiver. Cette évaluation pourrait viser à i) estimer avec précision la date de destruction des légumineuses, ii) faire un état des lieux "architectural" du mulch (état inchangé par rapport aux légumineuses "vivantes", mulch plaqué au sol si précipitations importantes durant l'hiver), et iii) quantifier la biomasse des légumineuses, en faisant l'hypothèse que les effets de facilitation (au niveau aérien et racinaire) sont probablement liés à la biomasse produite par les légumineuses, ainsi que la proportion de chacune des espèces en cas de mélange. A partir de cet état des lieux et en prenant en compte les profils physico-chimiques des légumineuses que nous avons présentées, la dose bilan pourrait être ajustée autour de cette proposition de réduction forfaitaire de 30 kgN.ha⁻¹ soustraits à la dose bilan.

3.2 Mode d'implantation

L'arrangement spatial des espèces lorsqu'elles sont associées conditionne fortement les phénomènes de compétition/facilitation qui interviennent et les performances obtenues (Thorsted *et al.* 2006b ; Midmore 1993). Plus précisément, à l'instar de ce qui a été démontré pour une culture pure (Weiner *et al.* 2001), l'arrangement spatial des espèces conditionne en partie la capacité du couvert à concurrencer les adventices, une répartition homogène permettant de maximiser la compétition exercée.

L'adaptation de la structure spatiale des associations constitue ainsi un levier technique important pour gérer les phénomènes de compétition interspécifiques (Thorsted *et al.* 2006b). Dans le cas des colzas associés, une diversité de possibilités est offerte quant à la structure spatiale. En effet, le colza peut être implanté en ligne avec un écartement réduit ou à l'aide d'un semoir monograine à des écartements supérieurs à 50 cm. De la même façon, les légumineuses peuvent également être semées sur la même ligne que le colza, en ligne dans l'inter-rang ou bien à la volée. Suivant ces différentes configurations, qui peuvent obéir à plusieurs objectifs (maximisation de la couverture du sol pour le semis à la volée, possibilité de recourir au désherbage localisé pour le semis simultané des espèces avec inter-rang

espace), les effets des légumineuses sur les performances du colza et les services rendus différeront. Dans le cadre de notre travail, dans l'objectif de maximiser la compétition exercée sur les adventices, nous avons fait le choix de semer les légumineuses à la volée et le colza à écartement réduit afin de maximiser la compétition exercée sur les adventices. Pour des modes d'implantation différents, la prise en compte de nouvelles caractéristiques fonctionnelles des espèces de légumineuses, en cohérence avec la modalité d'implantation de semis, pourrait constituer un moyen intéressant pour optimiser le choix des espèces les plus appropriées. Ainsi, par exemple, si les légumineuses et le colza sont semés sur un même rang avec un écartement important, l'envergure des légumineuses (distance maximale entre les extrémités de la plante sur le plan horizontal) qui traduit la capacité à coloniser l'inter-rang pourrait être un trait important à considérer.

3.3 Evaluation des services écosystémiques rendus

Au cours de ce travail nous nous sommes intéressés à deux services écosystémiques en particulier, la régulation des adventices et l'amélioration de la nutrition azotée du colza, correspondant respectivement à des services intrants de régulation et de ressources, d'après la classification de Lavorel et Sarthou (2008). Notre dispositif, basé sur l'étude des mécanismes de compétition/facilitation mis en jeu, nous a permis d'évaluer les potentialités offertes par différentes espèces de légumineuses gélives pour l'obtention de ces services écosystémiques mais n'était toutefois pas adapté pour discuter de l'obtention des services à proprement parler. En effet, celle-ci dépend avant tout des objectifs des agriculteurs quant à l'insertion de ces plantes de service, et donc du niveau d'acceptabilité de la réussite ou de l'échec propre à chacun. La quantification des services intrants de ressources ou de régulation doit donc être évaluée au regard de critères propres à chaque agriculteur.

Par exemple, pour un même objectif général de régulation des adventices, les services écosystémiques potentiellement rendus par les légumineuses sont donc multiples (réduction de l'IFT herbicides, amélioration de l'efficacité de la lutte contre une espèce en particulier, etc) tout comme les critères pour objectiver le niveau à partir duquel on juge atteinte l'obtention de ces services (abondance nulle des adventices, pression des adventices n'induisant pas de compétition vis-à-vis de la culture de vente, pression n'induisant pas de risque à l'échelle du système de culture, etc). Lorsque plusieurs services écosystémiques sont recherchés simultanément, *a fortiori* lorsque les fonctions et leurs déterminants sont

antagonistes, la définition des objectifs recherchés et des critères d'objectivation des services apparaît d'autant plus importante.

CONCLUSION

L'introduction de légumineuses gélives en tant que plantes de service offre des perspectives intéressantes pour améliorer les performances agronomiques et environnementales du colza d'hiver. En choisissant les espèces ou les mélanges d'espèces les plus efficaces pour les services escomptés, on peut espérer réduire le recours aux herbicides et à la fertilisation azotée minérale sans obérer les performances de la culture, en mobilisant plusieurs mécanismes de compétition et de facilitation. En ce sens, cette innovation constitue un levier agroécologique, permettant de conserver un niveau élevé de production, en favorisant les processus écologiques et les services écosystémiques, tout en réduisant le recours aux intrants chimiques.

Ce travail a également permis d'améliorer la compréhension des mécanismes mis en jeu au sein de ces associations et *in fine* de caractériser les profils fonctionnels de plusieurs légumineuses candidates, permettant notamment de donner des clés de choix des espèces les plus aptes à rendre les services visés, en se basant sur certains traits fonctionnels. Nous avons aussi démontré l'utilité de prendre en compte les services écosystémiques escomptés, non pas de manière isolée, mais en les considérant comme des bouquets de services, parfois antagonistes.

Toutefois, la promotion de cette innovation à plus large échelle nécessite d'effectuer une analyse fine des conséquences économiques et environnementales de l'introduction des légumineuses en tant que plantes de service, dans une large gamme de conditions de milieu, afin d'en évaluer l'opportunité. Cette étape présuppose de prototyper des itinéraires techniques mettant en oeuvre des associations colza-légumineuses, en se basant sur les mécanismes et les traits que nous avons identifiés pour choisir l'espèce et la conduite technique la plus appropriée, mais également en identifiant des critères d'évaluation des services écosystémiques escomptés mobilisables par les agriculteurs eux-mêmes. L'opportunité d'insérer ces plantes de service doit finalement être discutée à l'échelle du système de culture, en tenant compte d'éventuels effets précédents et cumulatifs.

BIBLIOGRAPHIE

- 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.-Z. Acker Pflanzenbau* 179, 19–27. doi:10.1111/j.1439-037X.1997.tb01143.x
- Abdin, O.A., Zhou, X.M., Cloutier, D., Coulman, D.C., Faris, M.A., Smith, D.L., 2000. Cover crops and interrow tillage for weed control in short season maize (*Zea mays*). *Eur. J. Agron.* 12, 93–102. doi:10.1016/S1161-0301(99)00049-0
- Adamaviciene, A., Romaneckas, K., Pilipavicius, V., Avizienyte, D., Sarauskis, E., Sakalauskas, A., 2012. Interaction of maize and living mulch: Soil chemical properties and bioactivity. *J. Food Agric. Environ.* 10, 1219–1223
- AGRESTE., 2013. Les indicateurs de fréquence de traitement (IFT) en 2011. *AGRESTE Les dossiers*, 18, 5-9
- AGRESTE., 2014. La fertilisation. *AGRESTE Les dossiers*, 21, 27–47
- Altieri, M.A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 74, 19–31. doi:10.1016/S0167-8809(99)00028-6
- Ambus, P., Jensen, E.S., 1997. Nitrogen mineralization and denitrification as influenced by crop residue particle size. *Plant and Soil* 197, 261–270. doi:10.1023/A:1004276631914
- Amossé, C., 2013. Analyse expérimentale de l'effet de couverts de légumineuses associés en relais à un blé d'hiver, conduit en agriculture biologique. Thèse de doctorat AgroParisTech. 135p
- Amossé, C., Jeuffroy, M.-H., David, C., 2013a. Relay intercropping of legume cover crops in organic winter wheat: Effects on performance and resource availability. *Field Crop. Res.* 145, 78–87. doi:10.1016/j.fcr.2013.02.010
- Amossé, C., Jeuffroy, M.-H., Celette, F., David, C., 2013b. Relay-intercropped forage legumes help to control weeds in organic grain production. *Eur. J. Agron.* 49, 158–167. doi:10.1016/j.eja.2013.04.002
- Amossé, C., Jeuffroy, M.-H., Mary, B., David, C., 2014. Contribution of relay intercropping with legume cover crops on nitrogen dynamics in organic grain systems. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 98, 1–14. doi:10.1007/s10705-013-9591-8
- Ansquer, P., Theau, J.P., Cruz, P., Viegas, J., Al Haj Khaled., Duru, M., 2004. Caractérisation de la diversité fonctionnelle des prairies à flore complexe: Vers le construction d'outils de gestion. *Fourrages* 179, 353-368
- Baldé, A.B., Scopel, E., Affholder, F., Corbeels, M., Da Silva, F.A.M., Xavier, J.H.V., Wery, J., 2011. Agronomic performance of no-tillage relay intercropping with maize under smallholder conditions in Central Brazil. *Field Crop. Res.* 124, 240–251. doi:10.1016/j.fcr.2011.06.017

- Bedoussac, L., Justes, E., 2010. Dynamic analysis of competition and complementarity for light and N use to understand the yield and the protein content of a durum wheat-winter pea intercrop. *Plant Soil* 330, 37–54. doi:10.1007/s11104-010-0303-8
- Bennett, E.M., Peterson, G.D., Gordon, L.J., 2009. Understanding relationships among multiple ecosystem services. *Ecol. Lett.* 12, 1394–1404. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01387.x
- Bergkvist, G., 2003. Influence of white clover traits on biomass and yield in winter wheat- or winter oilseed rape-clover intercrops. *Biol. Agric. Hortic.* 21, 151–164
- 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. doi:10.1016/j.fcr.2010.11.001
- Bilalis, D., Papastylianou, P., Konstantas, A., Patsiali, S., Karkanis, A., Efthimiadou, A., 2010. Weed-suppressive effects of maize-legume intercropping in organic farming. *Int. J. Pest Manage.* 56, 173–181. doi:10.1080/09670870903304471
- Birouste, M., Kazakou, E., Blanchard, A., Roumet, C., 2012. Plant traits and decomposition: are the relationships for roots comparable to those for leaves? *Ann. Bot.* 109, 463–472. doi:10.1093/aob/mcr297
- Blackshaw, R.E., Molnar, L.J., Moyer, J.R., 2010. Suitability of legume cover crop-winter wheat intercrops on the semi-arid Canadian prairies. *Can. J. Plant Sci.* 90, 479–488
- Bommarco, R., Kleijn, D., Potts, S.G., 2013. Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends Ecol. Evol.* 28, 230–238. doi:10.1016/j.tree.2012.10.012
- Brandsaeter, L.O., Heggen, H., Riley, H., Stubhaug, E., Henriksen, T.M., 2008. Winter survival, biomass accumulation and N mineralization of winter annual and biennial legumes sown at various times of year in Northern Temperate Regions. *Eur. J. Agron.* 28, 437–448. doi:10.1016/j.eja.2007.11.013
- Bruun, S., Luxhoi, J., Magid, J., de Neergaard, A., Jensen, L.S., 2006. A nitrogen mineralization model based on relationships for gross mineralization and immobilization. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2712–2721. doi:10.1016/j.soilbio.2006.04.023
- Brooker, R.W., Bennett, A.E., Cong, W.-F., Daniell, T.J., George, T.S., Hallett, P.D., Hawes, C., Iannetta, P.P.M., Jones, H.G., Karley, A.J., Li, L., McKenzie, B.M., Pakeman, R.J., Paterson, E., Schöb, C., Shen, J., Squire, G., Watson, C.A., Zhang, C., Zhang, F., Zhang, J., White, P.J., 2015. Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. *New Phytol* 206, 107–117. doi:10.1111/nph.13132
- Cadoux, S., Sauzet, G., Baillet, A., Champolivier, L., Pontet, C., Robert, C., Lieven, J., Mangenot, O., Fauvin, P., Wagner, D., Flénet, F., 2014. Synthèse technique "Colza d'hiver associé à un couvert automnal"
- Cadoux, S., Sauzet, G., Valantin-Morison, M., Pontet, C., Champolivier, L., Robert, C., Lieven, J., Flénet, F., Mangenot, O., Fauvin, P., Landé, N., 2015. Intercropping frost-sensitive legume

crops with winter oilseed rape reduces weed competition, insect damage, and improves nitrogen use efficiency. OCL 22, D302. doi:10.1051/ocl/2015014

CA Poitou-Charentes., 2012. Cultiver du colza d'hiver en association avec des plantes de service - Bilan de 3 années de références Chambres d'Agriculture de Poitou-Charentes et de Vendée. 20p

Cameron, K.C., Di, H.J., Moir, J.L., 2013. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. Ann. Appl. Biol. 162, 145–173. doi:10.1111/aab.12014

Carof, M., 2006. Fonctionnement de peuplements en semis direct associant du blé tendre d'hiver (*Triticum aestivum* L.) à différentes plantes de couverture en climat tempéré. Thèse de doctorat INA-PG. 115p

Carof, M., Tourdonnet, S. de, Saulas, P., Floch, D.L., Roger-Estrade, J., 2007a. Undersowing wheat with different living mulches in a no-till system. I. Yield analysis. Agron. Sustain. Dev. 27, 347–356. doi:10.1051/agro:2007016

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. II. Competition for light and nitrogen. Agron. Sustain. Dev. 27, 357–365. doi:10.1051/agro:2007017

Carof, M., de Tourdonnet, S., Coquet, Y., Hallaire, V., Roger-Estrade, J., 2007c. 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. doi:10.1111/j.1475-2743.2007.00085.x

Cassigneul, A., Alletto, L., Benoit, P., Bergheaud, V., Etievant, V., Dumény, V., Le Gac, A., Chuette, D., Rumpel, C., Justes, E., 2015. Nature and decomposition degree of cover crops influence pesticide sorption: Quantification and modelling. Chemosphere 119, 1007–1014. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.08.082

Célette, F., Wery, J., Chantelot, E., Célette, J., Gary, C., 2005. Belowground interactions in a vine (*Vitis vinifera* L.)-tall fescue (*Festuca arundinacea* Shreb.) intercropping system: Water relations and growth. Plant Soil 276, 205–217. doi:10.1007/s11104-005-4415-5

Célette, 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. doi:10.1016/j.eja.2008.07.003

CETIOM, 2005. Mesure de l'élongation de l'épicotyle en fin de cycle. Guide expérimentateur colza. 43-44

CETIOM, 2012. Enquête 2012 sur les pratiques culturales en colza. 15p

Cohan, J-P., Corre-Hellou, G., Naudin, C., Bédoussac, L., 2012. Associer une légumineuse à un blé ne favorise au mieux que la protéine. Perspectives Agricoles 391, 56-60

- Colnenne, C., Meynard, J.M., Reau, R., Justes, E., Merrien, A., 1998. Determination of a critical nitrogen dilution curve for winter oilseed rape. *Ann. Bot.* 81, 311–317. doi:10.1006/anbo.1997.0557
- Colnenne, C., Meynard, J.M., Roche, R., Reau, R., 2002. Effects of nitrogen deficiencies on autumnal growth of oilseed rape. *Eur. J. Agron.* 17, 11–28. doi:10.1016/S1161-0301(01)00140-X
- Cong, W.-F., Hoffland, E., Li, L., Janssen, B.H., Werf, W. van der, 2015. Intercropping affects the rate of decomposition of soil organic matter and root litter. *Plant Soil* 391, 399–411. doi:10.1007/s11104-015-2433-5
- Connolly, J., Goma, H.C., Rahim, K., 2001. The information content of indicators in intercropping research. *Agric. Ecosyst. Environ.* 87, 191–207. doi:10.1016/S0167-8809(01)00278-X
- Coppens, F., Garnier, P., De Gryze, S., Merckx, R., Recous, S., 2006. Soil moisture, carbon and nitrogen dynamics following incorporation and surface application of labelled crop residues in soil columns. *Eur. J. Soil Sci.* 57, 894–905. doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00783.x
- Coppens, F., Garnier, P., Findeling, A., Merckx, R., Recous, S., 2007. Decomposition of mulched versus incorporated crop residues: Modelling with PASTIS clarifies interactions between residue quality and location. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2339–2350. doi:10.1016/j.soilbio.2007.04.005
- Corbeels, M., O’Connell, A.M., Grove, T.S., Mendham, D.S., Rance, S.J., 2003. Nitrogen release from eucalypt leaves and legume residues as influenced by their biochemical quality and degree of contact with soil. *Plant Soil* 250, 15–28. doi:10.1023/A:1022899212115
- Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., ter Steege, H., Morgan, H.D., van der Heijden, M.G.A., Pausas, J.G., Poorter, H., 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 51, 335–380. doi:10.1071/BT02124
- Cornwell, W.K., Cornelissen, J.H.C., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V.T., Godoy, O., Hobbie, S.E., Hoorens, B., Kurokawa, H., Pérez-Harguindeguy, N., Queded, H.M., Santiago, L.S., Wardle, D.A., Wright, I.J., Aerts, R., Allison, S.D., Van Bodegom, P., Brovkin, V., Chatain, A., Callaghan, T.V., Díaz, S., Garnier, E., Gurvich, D.E., Kazakou, E., Klein, J.A., Read, J., Reich, P.B., Soudzilovskaia, N.A., Vaieretti, M.V., Westoby, M., 2008. Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology Letters* 11, 1065–1071. doi:10.1111/j.1461-0248.2008.01219.x
- Corre-Hellou, G., Crozat, Y., 2005. Assessment of Root System Dynamics of Species Grown in Mixtures under Field Conditions using Herbicide Injection and ^{15}N Natural Abundance Methods: A Case Study with Pea, Barley and Mustard. *Plant and Soil* 276, 177–192. doi:10.1007/s11104-005-4275-z
- Corre-Hellou, G., Fustec, J., Crozat, Y., 2006. Interspecific competition for soil N and its interaction with N_2 fixation, leaf expansion and crop growth in pea-barley intercrops. *Plant Soil* 282, 195–208. doi:10.1007/s11104-005-5777-4

- Costello, M., 1994. Broccoli Growth, Yield and Level of Aphid Infestation in Leguminous Living Mulches. *Biol. Agric. Hortic.* 10, 207–222
- Cruz P., Duru M; Therond O; Theau J.P., Ducourtieux C., Jouany C., Al Haj Khaled R., Ansquer P., 2002. Une nouvelle approche pour caractériser les prairies naturelles et leur valeur d'usage. *Fourrages* 172, 335-354
- Damour, G., Dorel, M., Quoc, H.T., Meynard, C., Risède, J.-M., 2014. A trait-based characterization of cover plants to assess their potential to provide a set of ecological services in banana cropping systems. *Eur. J. Agron.* 52, Part B, 218–228. doi:10.1016/j.eja.2013.09.004
- de Bello, F., Lavorel, S., Diaz, S., Harrington, R., Cornelissen, J.H.C., Bardgett, R.D., Berg, M.P., Cipriotti, P., Feld, C.K., Hering, D., da Silva, P.M., Potts, S.G., Sandin, L., Sousa, J.P., Storkey, J., Wardle, D.A., Harrison, P.A., 2010. Towards an assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits. *Biodivers. Conserv.* 19, 2873–2893. doi:10.1007/s10531-010-9850-9
- Dejoux, J-F., 1999. Evaluation agronomique, environnementale et économique d'itinéraires techniques du colza d'hiver en semis très précoces. Analyse agronomique, conséquences environnementales et économiques. Thèse de doctorat INA-PG, 244p
- Dejoux, J.F., Recous, S., Meynard, J.M., Trinsoutrot, I., Leterme, P., 2000. The fate of nitrogen from winter-frozen rapeseed leaves: mineralization, fluxes to the environment and uptake by rapeseed crop in spring. *Plant Soil* 218, 257–272. doi:10.1023/A:1014934924819
- Dejoux, J.F., Meynard, J.M., Reau, R., Roche, R., Saulas, P., 2003. Evaluation of environmentally-friendly crop management systems based on very early sowing dates for winter oilseed rape in France. *Agronomie* 23, 725–736. doi:10.1051/agro:2003050
- den Hollander, N.G., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2007a. Clover as a cover crop for weed suppression in an intercropping design: I. Characteristics of several clover species. *Eur. J. Agron.* 26, 92–103. doi:10.1016/j.eja.2006.08.011
- den Hollander, N.G., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2007b. Clover as a cover crop for weed suppression in an intercropping design: II. Competitive ability of several clover species. *Eur. J. Agron.* 26, 104–112. doi:10.1016/j.eja.2006.08.005
- Díaz, S., Noy-Meir, I., Cabido, M., 2001. Can grazing response of herbaceous plants be predicted from simple vegetative traits? *J. Appl. Ecol.* 38, 497–508. doi:10.1046/j.1365-2664.2001.00635.x
- Díaz, S., Hodgson, J.G., Thompson, K., Cabido, M., Cornelissen, J.H.C., Jalili, A., Montserrat-Marti, G., Grime, J.P., Zarrinkamar, F., Asri, Y., Band, S.R., Basconcelo, S., Castro-Diez, P., Funes, G., Hamzehee, B., Khoshnevi, M., Perez-Harguindeguy, N., Perez-Rontome, M.C., Shirvany, F.A., Vendramini, F., Yazdani, S., Abbas-Azimi, R., Bogaard, A., Boustani, S., Charles, M., Dehghan, M., de Torres-Espuny, L., Falczuk, V., Guerrero-Campo, J., Hynd, A., Jones, G., Kowsary, E., Kazemi-Saeed, F., Maestro-Martinez, M., Romo-Diez, A., Shaw, S., Siavash, B., Villar-Salvador, P., Zak, M.R., 2004. The plant traits that drive ecosystems:

- Evidence from three continents. *J. Veg. Sci.* 15, 295–304. doi:10.1111/j.1654-1103.2004.tb02266.x
- Díaz, S., Lavorel, S., de Bello, F., Quetier, F., Grigulis, K., Robson, M., 2007. Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 20684–20689. doi:10.1073/pnas.0704716104
- Doisy, D., Colbach, N., Roger-Estrade, J., Mediene, S., 2014. Weed seed rain interception by grass cover depends on seed traits. *Weed Res.* 54, 593–602. doi:10.1111/wre.12106
- Doré, T., Makowski, D., Malezieux, E., Munier-Jolain, N., Tchamitchian, M., Tittone, P., 2011. Facing up to the paradigm of ecological intensification in agronomy: Revisiting methods, concepts and knowledge. *Eur. J. Agron.* 34, 197–210. doi:10.1016/j.eja.2011.02.006
- Duarte, C., Sandjensen, K., Nielsen, S., Enriquez, S., Agusti, S., 1995. Comparative Functional-Plant Ecology - Rationale and Potentials. *Trends Ecol. Evol.* 10, 418–421. doi:10.1016/S0169-5347(00)89163-6
- Dumas, J.B.A., 1831. Procédés de l'analyse organique. *Ann. Chim. Phys.* 2, 198–2013
- Duru, M., Cruz, P., Theau, J.P., 2010. A simplified method for characterising agronomic services provided by species-rich grasslands. *Crop Pasture Sci.* 61, 420–433. doi:10.1071/CP09296
- Duru, M., Jouany, C., Theau, J.P., Granger, S., Cruz, P., 2015. A plant-functional-type approach tailored for stakeholders involved in field studies to predict forage services and plant biodiversity provided by grasslands. *Grass Forage Sci.* 70, 2–18. doi:10.1111/gfs.12129
- Engstrom, L., Stenberg, M., Wallenhammar, A.-C., Stahl, P., Gruvæus, I., 2014. Organic winter oilseed rape response to N fertilisation and preceding agroecosystem. *Field Crop. Res.* 167, 94–101. doi:10.1016/j.fcr.2014.07.011
- Fayaud, B., Coste, F., Corre-Hellou, G., Gardarin, A., Duerr, C., 2014. Modelling early growth under different sowing conditions: A tool to predict variations in intercrop early stages. *Eur. J. Agron.* 52, 180–190. doi:10.1016/j.eja.2013.09.009
- Feil, B., Liedgens, M., 2001. Crop Production in Living Mulches – a Review *Pflanzenbauwissenschaften*, 5 (1), 15 – 23
- Finch, S., 1978. Volatile Plant Chemicals and Their Effect on Host Plant Finding by the Cabbage Root Fly (*delia Brassicae*). *Entomol. Exp. Appl.* 24, 350–359. doi:10.1111/j.1570-7458.1978.tb02793.x
- Finch, S., Collier, R.H., 2012. The influence of host and non-host companion plants on the behaviour of pest insects in field crops. *Entomol. Exp. Appl.* 142, 87–96. doi:10.1111/j.1570-7458.2011.01191.x
- Findeling, A., Garnier, P., Coppens, F., Lafolie, F., Recous, S., 2007. Modelling water, carbon and nitrogen dynamics in soil covered with decomposing mulch. *Eur. J. Soil Sci.* 58, 196-206 doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00826.x

- Flynn, E.S., Moore, K.J., Singer, J.W., Lamkey, K.R., 2013. Evaluation of Grass and Legume Species as Perennial Ground Covers in Corn Production. *Crop Science* 53, 611. doi:10.2135/cropsci2011.06.0306
- Fort, F., Cruz, P., Jouany, C., 2014. Hierarchy of root functional trait values and plasticity drive early-stage competition for water and phosphorus among grasses. *Funct. Ecol.* 28, 1030–1040. doi:10.1111/1365-2435.12217
- Fort, F., Cruz, P., Jouany, C., 2015. Hierarchical traits distances explain grassland Fabaceae species' ecological niches distances. *Frontiers in Plant Science* 6, 1-11 doi:10.3389/fpls.2015.00063
- Freschet, G.T., Aerts, R., Cornelissen, J.H.C., 2012. A plant economics spectrum of litter decomposability. *Funct. Ecol.* 26, 56–65. doi:10.1111/j.1365-2435.2011.01913.x
- Freschet, G.T., Cornwell, W.K., Wardle, D.A., Elumeeva, T.G., Liu, W., Jackson, B.G., Onipchenko, V.G., Soudzilovskaia, N.A., Tao, J., Cornelissen, J.H.C., 2013. Linking litter decomposition of above- and below-ground organs to plant–soil feedbacks worldwide. *J Ecol* 101, 943–952. doi:10.1111/1365-2745.12092
- Fried, G., Reboud, X., 2007. Evolution de la composition des communautés adventices des cultures de colza sous l'influence des systèmes de culture. *OCL* 14 (2), 130-138
- Fujiyoshi, P.T., Gliessman, S.R., Langenheim, J.H., 2007. Factors in the suppression of weeds by squash interplanted in corn. *Weed Biology and Management* 7, 105–114. doi:10.1111/j.1445-6664.2007.00242.x
- Fustec, J., Lesuffleur, F., Mahieu, S., Cliquet, J.-B., 2010. Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 57–66. doi:10.1051/agro/2009003
- Gaba, S., Lescourret, F., Boudsocq, S., Enjalbert, J., Hinsinger, P., Journet, E.-P., Navas, M.-L., Wery, J., Louarn, G., Malézieux, E., Pelzer, E., Prudent, M., Ozier-Lafontaine, H., 2014. Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services: from concepts to design. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 607–623. doi:10.1007/s13593-014-0272-z
- Gao, Y., Duan, A., Qiu, X., Liu, Z., Sun, J., Zhang, J., Wang, H., 2010. Distribution of roots and root length density in a maize/soybean strip intercropping system. *Agricultural Water Management* 98, 199–212. doi:10.1016/j.agwat.2010.08.021
- Gardarin, A., Duerr, C., Colbach, N., 2010. Effects of seed depth and soil aggregates on the emergence of weeds with contrasting seed traits. *Weed Res.* 50, 91–101. doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00757.x
- Garnier, E., Navas, M.-L., 2012. A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 365–399. doi:10.1007/s13593-011-0036-y
- Garnier, E., Navas, M.-L., 2013. Diversité fonctionnelle des plantes. Eds De Boeck, Bruxelles

- Garnier, P., Néel, C., Aita, C., Recous, S., Lafolie, F., Mary, B., 2003. Modelling carbon and nitrogen dynamics in a bare soil with and without straw incorporation. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 555–568. doi:10.1046/j.1365-2389.2003.00499.x
- Garnier, P., Cambier, C., Bousso, M., Masse, D., Chenu, C., Recous, S., 2008. Modeling the influence of soil-plant residue contact on carbon mineralization: Comparison of a compartmental approach and a 3D spatial approach. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2754–2761. doi:10.1016/j.soilbio.2008.07.032
- Gill, K.S., Gajri, P.R., Chaudhary, M.R., Singh, B., 1996. Tillage, mulch and irrigation effects on corn (*Zea mays* L) in relation to evaporative demand. *Soil Tillage Res.* 39, 213–227. doi:10.1016/S0167-1987(96)01061-6
- Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1970. Forage fibre analyses. US Government Printing Office, Washington DC, Agric Handb No 379, USDA-ARS
- Grime, J.P., 1974. Vegetation classification by reference to strategies. *Nature* 250, 26–31. doi:10.1038/250026a0
- Grime, J.P., 1979. Plant strategies and vegetation process. Wiley, London, UK. 456p
- Hartwig, N.L., Ammon, H.U., 2002. 50th Anniversary - Invited article - Cover crops and living mulches. *Weed Sci.* 50, 688–699. doi:10.1614/0043-1745(2002)050[0688:AIACCA]2.0.CO;2
- Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P., Jensen, E.S., 2001. Temporal and spatial distribution of roots and competition for nitrogen in pea-barley intercrops - a field study employing P-32 technique. *Plant Soil* 236, 63–74. doi:10.1023/A:1011909414400
- Hauggaard-Nielsen, H., Jensen, E.S., 2005. Facilitative root interactions in intercrops. *Plant Soil* 274, 237–250. doi:10.1007/s11104-004-1305-1
- Heap, I., 2014. Global perspective of herbicide-resistant weeds. *Pest. Manag. Sci.* 70, 1306–1315. doi:10.1002/ps.3696
- Henriksen, T.M., Breland, T.A., 2002. Carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities as affected by contact between crop residues and soil. *Biol. Fertil. Soils* 35, 41–48. doi:10.1007/s00374-001-0438-0
- Hiltbrunner, J., Liedgens, M., Bloch, L., Stamp, P., Streit, B., 2007a. Legume cover crops as living mulches for winter wheat: Components of biomass and the control of weeds. *Eur. J. Agron.* 26, 21–29. doi:10.1016/j.eja.2006.08.002
- Hiltbrunner, J., Jeanneret, P., Liedgens, M., Stamp, P., Streit, B., 2007b. Response of weed communities to legume living mulches in winter wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 193, 93–102. doi:10.1111/j.1439-037X.2007.00250.x
- Hutchinson, G.E., 1957. Concluding remarks. Cold spring harbor symp. *Quant. Biol.* 22, 415-427
- Ilnicki, R.D., Enache, A.J., 1992. Subterranean clover living mulch: an alternative method of weed control. *Agric. Ecosyst. Environ.* 40, 249–264. doi:10.1016/0167-8809(92)90096-T

- Iqbal, A., 2013. Effets de la nature et décomposition des mulchs de résidus végétaux sur les services assurés par les sols en agriculture de conservation. Thèse de doctorat Université de Reims Champagne-Ardenne. 225p
- Iqbal, A., Beaugrand, J., Garnier, P., Recous, S., 2013. Tissue density determines the water storage characteristics of crop residues. *Plant Soil* 367, 285-299
- Isbell, F., Calcagno, V., Hector, A., Connolly, J., Harpole, W.S., Reich, P.B., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Tilman, D., van Ruijven, J., Weigelt, A., Wilsey, B.J., Zavaleta, E.S., Loreau, M., 2011. High plant diversity is needed to maintain ecosystem services. *Nature* 477, 199–U96. doi:10.1038/nature10282
- Jamont, M., Piva, G., Fustec, J., 2013. Sharing N resources in the early growth of rapeseed intercropped with faba bean: does N transfer matter? *Plant Soil* 371, 641–653. doi:10.1007/s11104-013-1712-2
- Jensen, E.S., 1996. Grain yield, symbiotic N₂ fixation and interspecific competition for inorganic N in pea-barley intercrops. *Plant Soil* 182, 25–38. doi:10.1007/BF00010992
- Jensen, E.S., Peoples, M.B., Hauggaard-Nielsen, H., 2010. Faba bean in cropping systems. *Field Crop. Res.* 115, 203–216. doi:10.1016/j.fcr.2009.10.008
- Jensen, E.S., Peoples, M.B., Boddey, R.M., Gresshoff, P.M., Hauggaard-Nielsen, H., Alves, B.J.R., Morrison, M.J., 2011. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 329–364. doi:10.1007/s13593-011-0056-7
- Jensen, L.S., Salo, T., Palmason, F., Breland, T.A., Henriksen, T.M., Stenberg, B., Pedersen, A., Lundstrom, C., Esala, M., 2005. Influence of biochemical quality on C and N mineralisation from a broad variety of plant materials in soil. *Plant Soil* 273, 307–326. doi:10.1007/s11104-004-8128-y
- Justes, E., Mary, B., Nicolardot, B., 2009. Quantifying and modelling C and N mineralization kinetics of catch crop residues in soil: parameterization of the residue decomposition module of STICS model for mature and non mature residues. *Plant Soil* 325, 171–185. doi:10.1007/s11104-009-9966-4
- Kazakou, E., Vile, D., Shipley, B., Gallet, C., Garnier, E., 2006. Co-variations in litter decomposition, leaf traits and plant growth in species from a Mediterranean old-field succession. *Funct. Ecol.* 20, 21–30. doi:10.1111/j.1365-2435.2006.01080.x
- Kazakou, E., Violle, C., Roumet, C., Pintor, C., Gimenez, O., Garnier, E., 2009. Litter quality and decomposability of species from a Mediterranean succession depend on leaf traits but not on nitrogen supply. *Ann. Bot.* 104, 1151–1161. doi:10.1093/aob/mcp202
- Kazakou, E., Violle, C., Roumet, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kattge, J., Garnier, E., 2014. Are trait-based species rankings consistent across data sets and spatial scales? *J. Veg. Sci.* 25, 235–247. doi:10.1111/jvs.12066

- Keddy, P., 1992. A Pragmatic Approach to Functional Ecology. *Funct. Ecol.* 6, 621–626. doi:10.2307/2389954
- Kuzyakov, Y., 2010. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1363–1371. doi:10.1016/j.soilbio.2010.04.003
- Landé, N., Sauzet, G., 2011. Associer son colza : pourquoi ? comment ? [Présentation PowerPoint]
- Landé, N., Sauzet, G., Planche, R., 2012. Insectes et colza associé, premiers résultats, premières analyses, premières pistes. [Présentation PowerPoint]. Réunion technique régionale. Orléans
- Lavorel, S., McIntyre, S., Landsberg, J., Forbes, D., 1997. Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends Ecol. Evol.* 12, 474–478
- Lavorel, S., Garnier, E., 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Funct. Ecol.* 16, 545–556. doi:10.1046/j.1365-2435.2002.00664.x
- Lavorel, S., Díaz, S., Cornelissen, J.H.C., Garnier, E., Harrison, S.P., McIntyre, S., Pausas, J.G., Pérez-Harguindeguy, N., Roumet, C., Urcelay, C., 2007. Plant Functional Types: Are We Getting Any Closer to the Holy Grail?, in: Canadell, J.G., Pataki, D.E., Pitelka, L.F. (Eds.), *Terrestrial Ecosystems in a Changing World, Global Change — The IGBP Series*. Springer Berlin Heidelberg, 149–164
- Lavorel, S., Sarthou, J-P., 2008. Intérêts de la biodiversité pour les services rendus par les écosystèmes. ESCO "Agriculture et biodiversité" - Chapitre 2. 266p
- Lavorel, S., Grigulis, K., 2012. How fundamental plant functional trait relationships scale-up to trade-offs and synergies in ecosystem services. *J. Ecol.* 100, 128–140. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01914.x
- Leach, J., Darby, R., Williams, I., Fitt, B., Rawlinson, C., 1994. Factors Affecting Growth and Yield of Winter Oilseed Rape (brassica-Napus), 1985-89. *J. Agric. Sci.* 122, 405–413
- Le Gall, C., Chevron, G., Groleau, C., 2015. Engrais organiques et GES sur colza - Des émissions nettement impactées. *Perspectives agricoles* 420, 29-32
- Lescourret, F., Magda, D., Richard, G., Adam-Blondon, A.-F., Bardy, M., Baudry, J., Doussan, I., Dumont, B., Lefèvre, F., Litrico, I., Martin-Clouaire, R., Montuelle, B., Pellerin, S., Plantegenest, M., Tancoigne, E., Thomas, A., Guyomard, H., Soussana, J.-F., 2015. A social-ecological approach to managing multiple agro-ecosystem services. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, Open Issue 14, 68–75. doi:10.1016/j.cosust.2015.04.001
- Li, L., Sun, J., Zhang, F., Guo, T., Bao, X., Smith, F.A., Smith, S.E., 2005. Root distribution and interactions between intercropped species. *Oecologia* 147, 280–290. doi:10.1007/s00442-005-0256-4
- Liebman, M., Dyck, E., 1993. Crop-Rotation and Intercropping Strategies for Weed Management. *Ecol. Appl.* 3, 92–122. doi:10.2307/1941795

- Liebman, M., Graef, R.L., Nettleton, D., Cambardella, C.A., 2012. Use of legume green manures as nitrogen sources for corn production. *Renew. Agr. Food Syst.* 27, 180–191. doi:10.1017/S1742170511000299
- Liedgens, M., Soldati, A., Stamp, P., 2004a. Interactions of maize and Italian ryegrass in a living mulch system: (1) Shoot growth and rooting patterns. *Plant Soil* 262, 191–203. doi:10.1023/B:PLSO.0000037041.24789.67
- Liedgens, M., Frossard, E., Richner, W., 2004b. Interactions of maize and Italian ryegrass in a living mulch system: (2) Nitrogen and water dynamics. *Plant Soil* 259, 243–258. doi:10.1023/B:PLSO.0000020965.94974.21
- Limaux, F., Recous, S., Meynard, J.M., Guckert, A., 1999. Relationship between rate of crop growth at date of fertiliser N application and fate of fertiliser N applied to winter wheat. *Plant Soil* 214, 49–59. doi:10.1023/A:1004629511235
- Litrico, I., Violle, C., 2015. Diversity in Plant Breeding: A New Conceptual Framework. *Trends Plant Sci* 20, 604–613. doi:10.1016/j.tplants.2015.07.007
- Lutman, P., Dixon, F., 1990. The Competitive Effects of Volunteer Barley (*hordeum-Vulgare*) on the Growth of Oilseed Rape (*brassica-Napus*). *Ann. Appl. Biol.* 117, 633–644. doi:10.1111/j.1744-7348.1990.tb04829.x
- Magid, J., De Neergaard, A., Brandt, M., 2006. Heterogeneous distribution may substantially decrease initial decomposition, long-term microbial growth and N-immobilization from high C-to-N ratio resources. *Eur. J. Soil Sci* 57, 517–529. doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00805.x
- Makowski, D., Maltas, A., Morison, M., Reau, R., 2005. Calculating N fertilizer doses for oil-seed rape using plant and soil data. *Agron. Sustain. Dev.* 25, 159–161. doi:10.1051/agro:2004052
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., de Tourdonnet, S., Valantin-Morison, M., 2009. Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 29, 43–62. doi:10.1051/agro:2007057
- Malézieux, E., 2012. Designing cropping systems from nature. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 15–29. doi:10.1007/s13593-011-0027-z
- Mauromicale, G., Occhipinti, A., Mauro, R.P., 2010. Selection of shade-adapted subterranean clover species for cover cropping in orchards. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 473–480. doi:10.1051/agro/2009035
- Mendham, N., Shipway, P., Scott, R., 1981. The Effects of Delayed Sowing and Weather on Growth, Development and Yield of Winter Oil-Seed Rape (*brassica-Napus*). *J. Agric. Sci.* 96, 389–416
- Merrien, A., Palleau, J-P., Maisonneuve, C., Besoins en éléments minéraux du colza cultivé en France. In : *Colza Physiologie et élaboration du rendement*. CETIOM 1988, 34-46

- Merrien, A., Pouzet, A., Principaux facteurs limitant les rendements du colza d'hiver dans les conditions françaises. In : *Colza Physiologie et élaboration du rendement*. CETIOM 1988, 16-22
- Merrien., A., Jung, L., Maisonneuve, C., 1997. Fertilisation azotée du colza d'hiver. *Oléoscope* numéro spécial, 9-16
- Merrien, A., Landé, N., 2008. Physiologie du colza: mise en place du rendement. Disponible sur http://www.terresinovia.fr/fileadmin/cetiom/regions/Est/2009/RTR2008-R_unions/3-Croissance_du_colza_RTR-2008-2009.pdf
- Midmore, D., 1993. Agronomic Modification of Resource Use and Intercrop Productivity. *Field Crop. Res.* 34, 357–380. doi:10.1016/0378-4290(93)90122-4
- Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*, in: Island Press (Ed.), Washignton, DC
- Morley, K., Finch, S., Collier, R.H., 2005. Companion planting-behaviour of the cabbage root fly on host plants and non-host plants. *Entomol. Exp. Appl.* 117, 15–25. doi:10.1111/j.1570-7458.2005.00325.x
- Nagumo, F., Nakamura, K., 2013. Nitrogen balance under non-tillage maize (*Zea mays* L.) cultivation after hairy vetch (*Vicia villosa* Roth.) cropping at sloping fields. *Soil Sci. Plant Nutr.* 59, 249–261. doi:10.1080/00380768.2013.771539
- 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. doi:10.1016/j.fcr.2010.06.002
- Naudin, C., Corre-Hellou, G., Voisin, A.-S., Oury, V., Salon, C., Crozat, Y., Jeuffroy, M.-H., 2011. Inhibition and recovery of symbiotic N₂ fixation by peas (*Pisum sativum* L.) in response to short-term nitrate exposure. *Plant Soil* 346, 275–287. doi:10.1007/s11104-011-0817-8
- Nemecek, T., von Richthofen, J.-S., Dubois, G., Casta, P., Charles, R., Pahl, H., 2008. Environmental impacts of introducing grain legumes into European crop rotations. *Eur. J. Agron.* 28, 380–393. doi:10.1016/j.eja.2007.11.004
- Nicolardot, B., Recous, S., Mary, B., 2001. Simulation of C and N mineralisation during crop residue decomposition: A simple dynamic model based on the C:N ratio of the residues. *Plant and Soil* 228, 83–103. doi:10.1023/A:1004813801728
- Ochsner, T.E., Albrecht, K.A., Schumacher, T.W., Baker, J.M., Berkevich, R.J., 2010. Water Balance and Nitrate Leaching under Corn in Kura Clover Living Mulch. *Agron. J.* 102, 1169–1178. doi:10.2134/agronj2009.0523
- Parr, M., Grossman, J.M., Reberg-Horton, S.C., Brinton, C., Crozier, C., 2011. Nitrogen Delivery from Legume Cover Crops in No-Till Organic Corn Production. *Agron. J.* 103, 1578–1590. doi:10.2134/agronj2011.0007

- Paulsen, H.M., Schochow, M., 2006. Anbau von Mischkulturen mit Ölpflanzen zur Verbesserung der Flächenproduktivität im ökologischen Landbau: Nährstoffaufnahme, Unkrautunterdrückung, Schaderregerbefall und Produktqualitäten (Report). Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Westerau
- Pedersen, P., Bures, E.J., Albrecht, K.A., 2009. Soybean Production in a Kura Clover Living Mulch System. *Agron. J.* 101, 653–656. doi:10.2134/agronj2008.0073x
- Pelzer, E., Bazot, M., Makowski, D., Corre-Hellou, G., Naudin, C., Al Rifai, M., Baranger, E., Bedoussac, L., Biarnès, V., Boucheny, P., Carrouée, B., Dorvillez, D., Foissy, D., Gaillard, B., Guichard, L., Mansard, M.-C., Omon, B., Prieur, L., Yvergnaux, 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. doi:10.1016/j.eja.2012.01.010
- Pelzer, E., Hombert, N., Jeuffroy, M.-H., Makowski, D., 2014. Meta-Analysis of the Effect of Nitrogen Fertilization on Annual Cereal-Legume Intercrop Production. *Agron. J.* 106, 1775–1786. doi:10.2134/agronj13.0590
- Picard, D., Ghiloufi, M., Saulas, P., de Tourdonnet, S., 2010. Does undersowing winter wheat with a cover crop increase competition for resources and is it compatible with high yield? *Field Crop. Res.* 115, 9–18. doi:10.1016/j.fcr.2009.09.017
- Pierce, S., Brusa, G., Vagge, I., Cerabolini, B.E.L., 2013. Allocating CSR plant functional types: the use of leaf economics and size traits to classify woody and herbaceous vascular plants. *Funct. Ecol.* 27, 1002–1010. doi:10.1111/1365-2435.12095
- Plaza-Bonilla, D., Nolot, J.-M., Raffaillac, D., Justes, E., 2015. Cover crops mitigate nitrate leaching in cropping systems including grain legumes: Field evidence and model simulations. *Agric. Ecosyst. Environ.* 212, 1–12. doi:10.1016/j.agee.2015.06.014
- Poorter, H., Garnier, E., 2007. Ecological significance of inherent variation in relative growth rate and its components, In: Pugnaire F.I., Valladares F. (Eds.), *Functional Plant Ecology* (2nd Edition). CRC Press, Boca Raton
- Primot, S., Valantin-Morison, M., Makowski, D., 2006. Predicting the risk of weed infestation in winter oilseed rape crops. *Weed Res.* 46, 22–33. doi:10.1111/j.1365-3180.2006.00489.x
- Ratnadass, A., Fernandes, P., Avelino, J., Habib, R., 2012. Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 273–303. doi:10.1007/s13593-011-0022-4
- R Core., 2006. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Reau, R., Jung, L., Wagner, D., 1997. Prévoir la dose à apporter au printemps, les bases de la fertilisation azotée prévisionnelle. *Oléoscope*, 20, 29-37
- Reau, R., Wagner, D., 1998. Fertilisation azotée du colza: Les préconisations du CETIOM. *Oléoscope*, 48, 10-13

- Recous, S., Machet, J.M., 1999. Short-term immobilisation and crop uptake of fertiliser nitrogen applied to winter wheat: effect of date of application in spring. *Plant Soil* 206, 137–149
- Redin, M., Recous, S., Aita, C., Dietrich, G., Skolaude, A.C., Ludke, W.H., Schmatz, R., Giacomini, S.J., 2014. How the chemical composition and heterogeneity of crop residue mixtures decomposing at the soil surface affects C and N mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 78, 65–75. doi:10.1016/j.soilbio.2014.07.014
- Ripoche, A., Achard, R., Laurens, A., Tixier, P., 2012. Modeling spatial partitioning of light and nitrogen resources in banana cover-cropping systems. *Eur. J. Agron.* 41, 81–91. doi:10.1016/j.eja.2012.04.001
- Robertson, G.P., Swinton, S.M., 2005. Reconciling agricultural productivity and environmental integrity: a grand challenge for agriculture. *Front. Ecol. Environ.* 3, 38–46. doi:10.2307/3868443
- Rossato, L., Laine, P., Ourry, A., 2003. Nitrogen storage of rape seeds and siliquae (*Brassica napus* L.): Flow estimation by isotope and characterization of proteins involved in storage. *OCL* 10, 226–231
- Sarkar, S., Singh, S.R., 2007. Interactive effect of tillage depth and mulch on soil temperature, productivity and water use pattern of rainfed barley (*Hordium vulgare* L.). *Soil Tillage Res.* 92, 79–86. doi:10.1016/j.still.2006.01.014
- Sausse, C., Cerrutti, N., Hebinger, H., 2012. Impact du colza sur l'environnement : évaluation et limites méthodologiques. *OCL* 19, 155–163. doi:10.1051/ocl.2012.0454
- Sauzet, G., Landé, N., 2012. Conduire un colza avec un couvert associé. *Oléotech*, 2, 1-12
- Sawyer, J.E., Pedersen, P., Barker, D.W., Diaz, D.A.R., Albrecht, K., 2010. Intercropping Corn and Kura Clover: Response to Nitrogen Fertilization. *Agron. J.* 102, 568–574. doi:10.2134/agronj2009.0392
- Schmidt, A., Guichard, L., Reau, R., 2010. Le colza est très dépendant des pesticides dans les rotations courtes sans labour. *Agreste Synthèse*, 121, 7p
- Schott, C., Mignolet, C., Meynard, J.M., 2010. Les oléoprotéagineux dans les systèmes de culture : évolution des assolements et des successions culturales depuis les années 1970 dans le bassin de la Seine. *OCL* 17 (5), 276-291
- Seavers, G.P., Wright, K.J., 1999. Crop canopy development and structure influence weed suppression. *Weed Res.* 39, 319–328. doi:10.1046/j.1365-3180.1999.00148.x
- Shili-Touzi, I., 2009. Analyse du fonctionnement d'une association de blé d'hiver (*Triticum aestivum* L.) et d'une plante de couverture sur une échelle annuelle par modélisation et expérimentation. Thèse de doctorat AgroPariTech. 147p
- 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. doi:10.1016/j.fcr.2009.11.007
- Sim, L.C., Froud-Williams, R.J., Gooding, M.J., 2007. The influence of winter oilseed rape (*Brassica napus* ssp *oleifera* var. *biennis*) canopy size on grass weed growth and grass weed seed return. *J. Agric. Sci.* 145, 313–327. doi:10.1017/S0021859606006721
- Stagnari, F., Galieni, A., Speca, S., Cafiero, G., Pisante, M., 2014. Effects of straw mulch on growth and yield of durum wheat during transition to Conservation Agriculture in Mediterranean environment. *Field Crop. Res.* 167, 51–63. doi:10.1016/j.fcr.2014.07.008
- Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S.E., Fetzer, I., Bennett, E.M., Biggs, R., Carpenter, S.R., Vries, W. de, Wit, C.A. de, Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G.M., Persson, L.M., Ramanathan, V., Reyers, B., Sörlin, S., 2015. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science* 347, 1259855. doi:10.1126/science.1259855
- Storkey, J., Döring, T., Baddeley, J., Collins, R., Roderick, S., Jones, H., Watson, C., 2015. Engineering a plant community to deliver multiple ecosystem services. *Ecological Applications* 25, 1034–1043. doi:10.1890/14-1605.1
- Su, W., Lu, J., Wang, W., Li, X., Ren, T., Cong, R., 2014. Influence of rice straw mulching on seed yield and nitrogen use efficiency of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) in intensive rice-oilseed rape cropping system. *Field Crop. Res.* 159, 53–61. doi:10.1016/j.fcr.2014.01.007
- Tancoigne, E., Barbier, M.M., Cointet, J.-P., Richard, G., Les services écosystémiques dans la littérature scientifique : démarche d’exploration et résultats d’analyse. [Research Report] Institut National de la Recherche Agronomique. 2014, 69p <hal- 01157253>
- Tardy, F., Moreau, D., Dorel, M., Damour, G., 2015. Trait-based characterisation of cover plants’ light competition strategies for weed control in banana cropping systems in the French West Indies. *Eur. J. Agron.* 71, 10–18. doi:10.1016/j.eja.2015.08.002
- Teasdale, J.R., 1996. Contribution of cover crops to weed management in sustainable agricultural systems. *J. Prod. Agric.* 9, 475–479
- Terres Inovia 2015. Guide de culture colza 2015 p1-37. Disponible sur <http://www.terresinovia.fr/publications/guides-de-culture/guide-de-culture-colza-2015/>
- Theunissen, J., Booij, C., Lotz, L., 1995. Effects of Intercropping White Cabbage with Clovers on Pest Infestation and Yield. *Entomol. Exp. Appl.* 74, 7–16
- Thorsted, M.D., Olesen, J.E., Weiner, J., 2006a. Width of clover strips and wheat rows influence grain yield in winter wheat/white clover intercropping. *Field Crop. Res.* 95, 280–290. doi:10.1016/j.fcr.2005.04.001
- Thorsted, M.D., Weiner, J., Olesen, J.E., 2006b. Above- and below-ground competition between intercropped winter wheat *Triticum aestivum* and white clover *Trifolium repens*. *J. Appl. Ecol.* 43, 237–245. doi:10.1111/j.1365-2664.2006.01131.x

- Tilman, D., Mechanisms of plant competition for nutrients: The elements of a predictive theory of competition. In *Perspective on plant competition*. J. Grace and D. Tilman, Eds, 1990. 435-459
- Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., Schindler, D., Schlesinger, W.H., Simberloff, D., Swackhamer, D., 2001. Forecasting Agriculturally Driven Global Environmental Change. *Science* 292, 281–284. doi:10.1126/science.1057544
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671–677. doi:10.1038/nature01014
- Tixier, P., Lavigne, C., Alvarez, S., Gauquier, A., Blanchard, M., Ripoche, A., Achard, R., 2011. Model evaluation of cover crops, application to eleven species for banana cropping systems. *Eur. J. Agr.* 34, 53–61. doi:10.1016/j.eja.2010.10.004
- Topinka, A.K.C., Downey, R.K., Rakow, G.F.W., 1991. Effect of agronomic practices on the overwintering of winter canola in southern alberta. GCIRC 1991 Congress, Agronomy: Production Factors, 665-670
- Tribouillois, H., 2014. Caractérisation fonctionnelle d'espèces utilisées en cultures intermédiaires et analyse de leurs performances en mélanges bispécifiques pour produire des services écosystémiques de gestion de l'azote. Thèse de doctorat Université de Toulouse. 215p
- Tribouillois, H., Fort, F., Cruz, P., Charles, R., Flores, O., Garnier, E., Justes, E., 2015a. A Functional Characterisation of a Wide Range of Cover Crop Species: Growth and Nitrogen Acquisition Rates, Leaf Traits and Ecological Strategies. *PLoS ONE* 10, e0122156. doi:10.1371/journal.pone.0122156
- Tribouillois, H., Cruz, P., Cohan, J.-P., Justes, E., 2015b. Modelling agroecosystem nitrogen functions provided by cover crop species in bispecific mixtures using functional traits and environmental factors. *Agric. Ecosyst. Environ.* 207, 218–228. doi:10.1016/j.agee.2015.04.016
- Tsubo, M., Walker, S., Mukhala, E., 2001. Comparisons of radiation use efficiency of mono-/inter-cropping systems with different row orientations. *Field Crop. Res.* 71. doi:10.1016/S0378-4290(01)00142-3
- Tsubo, M., Walker, S., 2004. Shade effects on *Phaseolus vulgaris* L. intercropped with *Zea mays* L. under well-watered conditions. *J. Agron. Crop Sci.* 190, 168-176 doi:10.1111/j.1439-037X.2004.00089.x
- 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. doi:10.1016/j.fcr.2009.06.013
- 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. doi:10.1626/pp.s.14.75

- UNESCO., 2009. Proposition d'un nouveau thème dans le contexte du Programme MAB: Les agroécosystèmes. International Coordinating Council of the Man and the Biosphere (MAB) Programme 21st session. Jeju, 24-29 May. Disponible à l'adresse http://www.unesco.org/mab/doc/icc/2009/f_agroecosystems.pdf
- Valantin-Morison, M., Ferré, F., 2004. Améliorer la compétitivité du colza vis-à-vis des adventices et réduire l'utilisation d'herbicides. *Oléoscope* 77, 17–19
- Valantin-Morison, M., Butier, A., Berder, J., 2011. Mixing Winter oilseed rape (WOSR) and legume to smother weeds, disturb insects and reduce nitrogen use in spring: possible or not? 13th International Rapeseed Congress June 5 – 9, 2011 in Prague, Czech Republic
- Valantin-Morison, M., Butier, A., Berder, J., 2012. Crop growth and nitrogen utilisation of a Mixture of Winter oilseed rape (*Brassica napus*-WOSR) and legume in multi-local trials. 12th Congress of European Society of Agronomy, 23-26 August 2012, Helsinki
- van Der Heijden, M.G.A., Horton, T.R., 2009. Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. *J. Ecol.* 97, 1139–1150. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01570.x
- Vandermeer, J., *The ecology of intercropping*. Cambridge university press 1989. 237p
- Vandermeer, J., van Noordwijk, M., Anderson, J., Ong, C., Perfecto, I., 1998. Global change and multi-species agroecosystems: Concepts and issues. *Agric. Ecosyst. Environ.* 67, 1–22. doi:10.1016/S0167-8809(97)00150-3
- van Duren, I., Voinov, A., Arodudu, O., Firrisa, M.T., 2015. Where to produce rapeseed biodiesel and why? Mapping European rapeseed energy efficiency. *Renewable Energy* 74, 49–59. doi:10.1016/j.renene.2014.07.016
- Vial, L.K., Lefroy, R.D.B., Fukai, S., 2015. Application of mulch under reduced water input to increase yield and water productivity of sweet corn in a lowland rice system. *Field Crop. Res.* 171, 120–129. doi:10.1016/j.fcr.2014.11.008
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., Garnier, E., 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116, 882–892. doi:10.1111/j.2007.0030-1299.15559.x
- Voisin, A.S., Salon, C., Munier-Jolain, N.G., Ney, B., 2002. Quantitative effects of soil nitrate, growth potential and phenology on symbiotic nitrogen fixation of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Soil* 243, 31–42. doi:10.1023/A:1019966207970
- Voisin, A.-S., Gueguen, J., Huyghe, C., Jeuffroy, M.-H., Magrini, M.-B., Meynard, J.-M., Mougél, C., Pellerin, S., Pelzer, E., 2014. Legumes for feed, food, biomaterials and bioenergy in Europe: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 361–380. doi:10.1007/s13593-013-0189-y
- Volaire, F., 2008. Plant traits and functional types to characterise drought survival of pluri-specific perennial herbaceous swards in Mediterranean areas. *Eur. J. Agron.* 29, 116–124. doi:10.1016/j.eja.2008.04.008

- Wallace, J., Batchelor, C., Dabeesing, D., Teeluck, M., Soopramanien, G., 1991. A comparison of the light interception and water-use of plant and 1st ratoon sugar-cane intercropped with maize. *Agric. For. Meteorol.* 57, 85–105. doi:10.1016/0168-1923(91)90080-A
- Weiner, J., Griepentrog, H.W., Kristensen, L., 2001. Suppression of weeds by spring wheat *Triticum aestivum* increases with crop density and spatial uniformity. *J. Appl. Ecol.* 38, 784–790. doi:10.1046/j.1365-2664.2001.00634.x
- Westoby, M., 1998. A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant Soil* 199, 213–227. doi:10.1023/A:1004327224729
- Westoby, M., Falster, D.S., Moles, A.T., Vesk, P.A., Wright, I.J., 2002. PLANT ECOLOGICAL STRATEGIES: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33, 125–159. doi:10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150452
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., Peigne, J., 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 1–20. doi:10.1007/s13593-013-0180-7
- White, J., Scott, T., 1991. Effects of Perennial Forage-Legume Living Mulches on No-Till Winter-Wheat and Rye. *Field Crop. Res.* 28, 135–148. doi:10.1016/0378-4290(91)90079-B
- Wilke, B.J., Snapp, S.S., 2008. Winter cover crops for local ecosystems: linking plant traits and ecosystem function. *J. Sci. Food Agric.* 88, 551–557. doi:10.1002/jsfa.3149
- Wivstad, M., 1999. Nitrogen mineralization and crop uptake of N from decomposing N-15 labelled red clover and yellow sweetclover plant fractions of different age. *Plant Soil* 208, 21–31. doi:10.1023/A:1004407119638
- Wood, S.A., Karp, D.S., DeClerck, F., Kremen, C., Naeem, S., Palm, C.A., 2015. Functional traits in agriculture: agrobiodiversity and ecosystem services. *Trends Ecol. Evolut.* 30, 531–539. doi:10.1016/j.tree.2015.06.013
- Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J.J., Navas, M.L., Niinemets, U., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V.I., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J., Villar, R., 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428, 821–827. doi:10.1038/nature02403
- Yamawaki, K., Matsumura, A., Hattori, R., Tarui, A., Hossain, M.A., Ohashi, Y., Daimon, H., 2014. Possibility of Introducing Winter Legumes, Hairy Vetch and Faba Bean, as Green Manures to Turmeric Cropping in Temperate Region. *Plant. Prod. Sci.* 17, 173–184
- Zhang, W., Ricketts, T.H., Kremen, C., Carney, K., Swinton, S.M., 2007. Ecosystem services and dis-services to agriculture. *Ecol. Econ.* 64, 253–260. doi:10.1016/j.ecolecon.2007.02.024
- Zhang, L., van der Werf, W., Bastiaans, L., Zhang, S., Li, B., Spiertz, J.H.J., 2008. Light interception and utilization in relay intercrops of wheat and cotton. *Field Crop. Res.* 107, 29–42. doi:10.1016/j.fcr.2007.12.01

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma conceptuel de l'organisation des services des agroécosystèmes présenté dans Lavorel et Sarthou (2008), adapté de Zhang <i>et al.</i> (2007).....	10
Figure 2 : Modalités d'insertion des plantes de services du point de vue temporel	13
Figure 3 : Elaboration des composantes du rendement du colza (Terres Inovia). Les stades repères sont présentés en Annexe 1	21
Figure 4 : Représentation de la matrice espèces X traits permettant de comparer les approches d'autoécologie et d'écologie comparative (Garnier et Navas 2013, d'après Keddy 1992).....	29
Figure 5 : Schéma de fonctionnement des associations colzas-légumineuses.....	35
Figure 6 : Classement qualitatif des espèces de légumineuses candidates suivant plusieurs caractéristiques jugées intéressantes <i>a priori</i> (effectué à dire d'experts)	41
Figure 7 : Démarche générale adoptée au cours de la thèse et organisation du manuscrit	46
Figure 8 : Cumulative biomass of WOSR, LLM (for the LLM mixtures, the species are not separated) and weeds for each treatment. Vertical bars indicate the standard deviation of each compartment. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover	56
Figure 9 : Weed abundance before the winter in 2012 and 2013. The numbers within the bars are the ratios of weed abundance between the sole crop and the LLM treatment considered (this ratio was calculated per combination year*SMNC*treatment (for example, a ratio of 0.4 indicates that weed abundance was 60% lower than in the sole crop). The symbols above the bars indicate the treatments for which weed abundance was significantly lower than for the control treatment: p<0.1 (.), p<0.05 (*), p<0.01 (**), and p<0.001 (***). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover	58
Figure 10 : WOSR nitrogen uptake before the winter, in 2012 and 2013, in low and high soil mineral nitrogen content conditions. The numbers within the bars indicate the difference in WOSR nitrogen uptake between the intercrop and the sole crop (calculated per year*SMNC*treatment combination. ***, ** or * indicates that this difference is significantly different from zero at p=0.001, 0.01 and 0.05, respectively. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover.....	60
Figure 11 : Relationship between weed abundance and WOSR+LLM biomass. Each point represents the mean of the three replicates (R ² =0.49, p≤0.05). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover	62
Figure 12 : Relationship between weed abundance and LLM/WOSR biomass ratio, plotted with fitted regression functions, from τ=0.5 (lowest values of weed abundance) to τ=0.95 (highest values of weed abundance), in increments of 0.05. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover	63
Figure 13 : Distribution of weed abundance for five different LLM/WOSR ratios: 0 (circle), 0.5 (triangle), 1 (cross), 2 (star) and 4 (diamond).....	64

Figure 14 : Relationships between weed abundance before winter and intercrop performance during the establishment phase (figure a) and the consolidation phase (figure b)78

Figure 15 : Relationships between intercrop performance and WOSR (figure a) and legume (figure b) performances during the establishment and consolidation phases (figure c and d, respectively). Performances (corresponding to species biomass growth rate) are expressed in $\text{kgDM}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{DD}^{-1}$ 80

Figure 16 : Relationships between WOSR nitrogen uptake before winter and legume performance during the establishment phase (figure a) and the consolidation phase (figure b).....82

Figure 17 : Relationships between legume performance, during the establishment (figure a b) and consolidation (Figure c) phases, and explanatory functional traits. Height growth rates were calculated for each of the growth phases considered84

Figure 18 : Rainfall and temperature at the Grignon station in the growing seasons of 2012-2013 and 2013-2014, as compared with average data (1993-2013). The bars indicate the cumulative monthly rainfall (white: average for 1993-2013; light grey: 2012-2013, dark grey: 2013-2014). The symbols above the bars indicate the mean temperature of the corresponding growing season (\bullet : 1993-2013, \square 2012-2013, Δ : 2013-2014).....93

Figure 19 : Legume nitrogen uptake before winter in conditions of low and high soil mineral nitrogen content (SMNC) before sowing in 2012 and 2013. Letters indicate significant mean differences between LLM treatments for each year x SMNC combination in Student-Newman-Keuls tests, with a significance threshold of $p=0.05$. Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover98

Figure 20 : Winter oilseed rape nitrogen nutrition index (NNI) before winter in conditions of low and high SMNC before sowing. The symbols above the bars indicate the treatments for which WOSR NNI was significantly higher than that for the control treatment: $p<0.1$ (\blacksquare), $p<0.05$ (*), $p<0.01$ (**), and $p<0.001$ (***). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover100

Figure 21 : Soil mineral nitrogen content before and after winter in the 0-90 cm layer for low and high SMNC before sowing, in 2012-2013 and 2013-2014. CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover.....102

Figure 22 : Nitrogen uptake in aerial biomass at the end of flowering in conditions of low and high SMNC before sowing for the two years of experiment. The data shown are the differences between LLM treatments and the control treatment. The symbols below the histograms indicate treatments for which the difference in the amount of nitrogen is significantly different from 0 at $p<0.1$ (.), $p<0.05$ (*), $p<0.01$ (**), and $p<0.001$ (***). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover.....103

Figure 23 : Nitrogen taken up into the aerial parts of WOSR originating from soil + dead mulch mineralisation. The data shown are the differences between the intercrops and the corresponding control treatments. Each bar represents the mean difference per year (in low and high SMNC conditions). Symbols below the bars indicate the treatments for which the difference is significantly different from 0, for $p<0.1$ (.), $p<0.05$ (*), $p<0.01$ (**), and $p<0.001$ (***). Vertical bars indicate the standard deviation. CT: control

treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover.....	105
Figure 24 : WOSR aerial nitrogen bonus derived from mineralisation, at the end of flowering (expressed as a difference between intercrops and the control treatment), according to LLM nitrogen uptake before winter	106
Figure 25 : Fertiliser nitrogen use (NUE) efficiency in conditions of low SMNC before sowing, as calculated at the end of flowering. The symbols above the bars indicate the treatments for which nitrogen use efficiency was significantly different from that of the control treatment: $p < 0.1$ (■), $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**) and $p < 0.001$ (***). CT: control treatment, Fe: fenugreek, Fb: faba bean, Gp: grass pea, Le: lentil, LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, Fp: field pea, Bc: berseem clover, Cv: common vetch, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover.....	107
Figure 26 : Biochemical fractionation of the aerial and root dry mass, represented as the percentage of the aerial biomass. Species are ranked in descending order of soluble fraction (NDS=SOL+RDM) content. SOL: cold water-soluble fraction; RDM: rapidly decomposable material; HCE: hemicellulose; CEL: cellulose; LIG: lignin	123
Figure 27 : Biochemical fractionation of the aerial and root dry mass, represented as the nitrogen content per dry mass unit. SOL: cold water-soluble fraction; RDM: rapidly decomposable material; HCE: hemicellulose; CEL: cellulose; LIG: lignin	124
Figure 28 : Nitrogen uptake in each biochemical compartment of the aerial and root biomass of the legume species at the beginning of winter in 2014. SOL: cold water-soluble fraction; RDM: rapidly decomposable material; HCE: hemicellulose; CEL: cellulose; LIG: lignin.....	125
Figure 29 : Changes in total dry mass and dry mass in contact with the soil for the legume mulches. The difference between the two points for any given time point corresponds to the dry mass not in contact with the soil	127
Figure 30 : Nitrogen content in each compartment of the aerial dry mass initially in contact with the soil. SOL: cold water-soluble fraction, RDM: rapidly decomposable material, HCE: hemicellulose, CEL: cellulose, LIG: lignin.....	128
Figure 31 : Legume physicochemical profiles. Aerial DM: aerial dry mass, Aerial DMic: Aerial dry mass initially in contact with the soil, N/C: ratio nitrogen/carbon, % RDS: soluble fraction, WCmax: maximum water content	130
Figure 32 : Comparaison des vitesses de croissance en hauteur des légumineuses (durant les phases d'établissement et de consolidation), mesurées en situation de faible (axe des abscisses) et de forte (axe des ordonnées) disponibilité initiale en azote et pour les deux années. Chaque point correspond à la moyenne des trois répétitions, les barres verticales et horizontales représentent les écarts-types. La droite représente la première bissectrice	144
Figure 33 : Comparaison des surfaces foliaires unitaires (Leaf area), mesurées en situation de faible (axe des abscisses) et de forte (axe des ordonnées) disponibilité initiale en azote (chaque point correspond à une mesure unique effectuée en 2013 suivant le protocole de Cornelissen et al. 2003). La droite représente la première bissectrice	145
Figure 34 : Comparaison entre les attributs des légumineuses pour le taux C/N et la fraction soluble, mesurés en situation de faible (axe des abscisses) et de forte disponibilité initiale en azote (axe des ordonnées). La droite représente la première bissectrice	146
Figure 35 : Cercle des corrélations (plan FI/F2). LA: Leaf area - surface foliaire unitaire ; HGR _{Restab} : Height growth rate during the establishment phase - Vitesse d'accroissement de hauteur au cours de la phase d'établissement ; HGR _{consol} : Height growth rate during the consolidation phase - Vitesse d'accroissement de hauteur au cours de la phase de	

consolidation ; <i>WCmax</i> : Maximum water content - contenu maximum en eau des résidus ; <i>N/C</i> : Nitrogen/carbon ratio - ratio azote/carbone ; <i>Aerial DMic</i> : Aerial dry matter initially in contact with the soil - biomasse aérienne initialement en contact avec le sol ; <i>%NDS</i> : Soluble fraction proportion - % de fraction soluble. <i>N bonus min</i> : Nitrogen bonus derived from mineralisation at the end of flowering - Bonus azoté issu de la minéralisation du sol et des résidus de légumineuses mesuré à fin floraison ; <i>Weed abundance</i> : abondance des adventices entrée d'hiver ; <i>WOSR N uptake</i> : Azote absorbé par le colza en entrée d'hiver	148
Figure 36 : Projection des individus sur le plan factoriel F1/F2. F.pea: Pois fourrager ; F.bean: féverole ; LeFb: mélange lentille/féverole; CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle A ; B.clover: trèfle d'Alexandrie; C.vetch: vesce commune; G.pea: gesse; Len: lentille; LeGpFe: mélange lentille/gesse/fenugrec	150
Figure 37 : Plan du dispositif expérimental mis en place en 2013-2014.....	210
Figure 38 : Relation entre l'abondance des adventices et la surface foliaire totale du couvert mesurées en entrée d'hiver (données 2013). Chaque point correspond à la moyenne des trois répétitions	215
Figure 39 : Relations entre la vitesse d'accroissement de la surface foliaire des légumineuses et les traits fonctionnels explicatifs durant la phase d'établissement (figure 5a et 5b) et durant la phase de consolidation (figure 5c)	218
Figure 40 : Elongation de l'épicotyle mesurée pour les campagnes 2012-2013 et 2013-2014	220
Figure 41 : Evolution de l'efficacité d'interception du PAR en fonction de la somme de degrés-jour depuis le semis jusqu'en entrée d'hiver, en situation de faible (low SMNC) et de forte (high SMNC) disponibilité en azote. Du fait de problème technique sur la modalité lentille en faible disponibilité en azote, cette modalité a été retirée de l'analyse	222
Figure 42 : Relations entre l'abondance en adventices mesurée en entrée d'hiver en 2013 et les trois indicateurs d'efficacité d'interception du rayonnement: Y_{max} (efficacité maximale d'interception du rayonnement), $X_{0.33}$ (somme de degrés-jour nécessaire pour intercepter 33% du rayonnement incident), $X_{0.66}$ (somme de degrés-jour nécessaire pour intercepter 66% du rayonnement incident).....	224
Figure 43 : Relations entre le nombre de degrés-jour nécessaire pour atteindre 33% (et 66%) d'interception du rayonnement incident et la vitesse d'accroissement de la surface foliaire totale durant la phase d'établissement (et la phase de consolidation). Les vitesses de croissance en surface foliaire correspondent aux moyennes des trois répétitions.....	225
Figure 44 : Relations entre les vitesses d'accroissement en hauteur des légumineuses mesurées en situation d'association avec le colza (axe des ordonnées) ou en culture pure (axe des abscisses) durant la phase d'établissement (graphique du haut) ou de consolidation (graphique du bas). La droite correspond à la première bissectrice	227
Figure 45 : Diamètre du collet du colza mesuré en entrée d'hiver. CT: témoin colza seul, Fe: fenugrec, Fb: féverole, Gp: gesse, Le: lentille, LeFb: lentille/féverole, LeGpFe: lentille/gesse/fenugrec, Fp: pois fourrager, Bc: trèfle d'Alexandrie, Cv: vesce, CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle	228
Figure 46 : Longueur du pivot du colza mesuré en entrée d'hiver. CT: témoin colza seul, Fe: fenugrec, Fb: féverole, Gp: gesse, Le: lentille, LeFb: lentille/féverole, LeGpFe: lentille/gesse/fenugrec, Fp: pois fourrager, Bc: trèfle d'Alexandrie, Cv: vesce, CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle. *** indique que la modalité est significativement différente du colza seul ($p < 0.01$).....	229
Figure 47 : Biomasse sèche du pivot du colza mesuré en entrée d'hiver. CT: témoin colza seul, Fe: fenugrec, Fb: féverole, Gp: gesse, Le: lentille, LeFb: lentille/féverole, LeGpFe:	

lentille/gesse/fenugrec, Fp: pois fourrager, Bc: trèfle d'Alexandrie, Cv: vesce, CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle. *** indique que la modalité est significativement différente du colza seul (p<0.01).....	230
Figure 48 : Quantité d'azote contenu dans le pivot du colza mesuré en entrée d'hiver. CT: témoin colza seul, Fe: fenugrec, Fb: féverole, Gp: gesse, Le: lentille, LeFb: lentille/féverole, LeGpFe: lentille/gesse/fenugrec, Fp: pois fourrager, Bc: trèfle d'Alexandrie, Cv: vesce, CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle. *** indique que la modalité est significativement différente du colza seul (p<0.01)	230
Figure 49 : Abondances spécifiques mesurées sur les modalités associées (axe des ordonnées) par rapport à celles mesurées sur le témoin colza seul (axe des abscisses) en situation de faible (graphique du haut) et de forte (graphique du bas) disponibilité initiale en azote. La droite représentée correspond à la première bissectrice. Les couleurs représentent quatre espèces d'adventices parmi celles qui ont été semées (véronique, matricaire, géranium, vulpin).....	233

LISTE DES TABLEAUX

Table 1 : Correspondance entre la dose de semis recommandée et la densité de semis des légumineuses	44
Table 2 : Climatic and soil (for the 0-30 cm at the top of the soil) characteristics at the Grignon experimental station, for the two experiments, in 2012-2013 and 2013-2014. The climatic variables were recorded between September 1 st and November 15 th . SMNC: soil mineral nitrogen content; CDD: cumulative degree-days; PAR: photosynthetically active radiation	52
Table 3 : Regression parameters for weed abundance against intercrop performance and SMNC	79
Table 4 : Regression parameters for intercrop performance against WOSR or legume performance and SMNC for the two growth phases considered	80
Table 5 : Regression parameters for WOSR nitrogen uptake before winter against intercrop performance and SMNC	82
Table 6 : Pearson's correlation between legume performances during the establishment and consolidation phases and functional traits. SLA: Specific leaf area, LDMC: Leaf dry matter content, LA: Leaf size	83
Table 7 : WOSR nitrogen content before and after winter for the two growing seasons, 2012-2013 and 2013-2014 (kgN.ha ⁻¹), for the two levels of soil mineral nitrogen content (SMNC). The data shown are the means of the three replicates (\pm the standard deviation). LeFb: lentil-faba bean, LeGpFe: lentil-grass pea-fenugreek, CvFbBc: common vetch-faba bean-berseem clover.....	99
Table 8 : Nitrogen content of the winter oilseed rape (WOSR) of the control treatment at the end of flowering in each compartment, for the two different levels of soil mineral nitrogen content (SMNC) before sowing, in 2012-2013 and 2013-2014. The nitrogen content of dead leaves corresponds to the cumulative loss of nitrogen from the crop over the whole WOSR cycle (from October to the end of flowering)	104
Table 9 : Water retention properties and densities of the legume residues. WCmax= maximum water retention, WCres= residual water retention	127
Table 10 : Nitrogen bonus derived from mineralisation at the end of flowering, corresponding to the difference in nitrogen uptake by WOSR between the intercrop and the control treatment, from the soil and mineralised residues (in kg N.ha ⁻¹)	130
Table 11 : Intitulé des variables utilisées pour construire les profils fonctionnels	143
Table 12 : Récapitulatif des interventions culturales réalisées sur les dispositifs expérimentaux de Grignon.....	214
Table 13 : Corrélations de Pearson entre les performances des légumineuses en terme de vitesse d'accroissement de la surface foliaire durant les phases d'établissement et de consolidation. SLA: surface foliaire spécifique, LDMC: Taux de matière sèche des feuilles, LA: surface foliaire unitaire.....	217
Table 14 : Indicateurs d'efficacité d'interception du rayonnement. Ymax = asymptote, efficacité maximale d'interception du rayonnement ; X _{0,33} = somme de degrés jour pour atteindre 33% d'interception ; X _{0,66} = somme de degrés-jour pour atteindre 67% d'interception.....	222

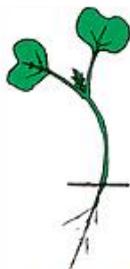
TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Stades repères du colza d'hiver.....	208
Annexe 2 : Mode de calcul du bilan azoté.....	209
Annexe 3 : Plan du dispositif expérimental (2013-2014).....	210
Annexe 4 : Modalités étudiées sur le dispositif expérimental de Grignon.	211
Annexe 5 : Interventions réalisées sur les dispositifs expérimentaux	214
Annexe 6 : Effet de la surface foliaire totale (colza + légumineuses) sur la régulation des adventices.....	215
Annexe 7 : Traits fonctionnels explicatifs de la vitesse d'accroissement de la surface foliaire	216
Annexe 8 : Elongation de l'épicotyle: mesure au stade G2-G3	219
Annexe 9 : Evolution de l'efficacité de l'interception du rayonnement au cours de l'automne	221
Annexe 10 : Suivi photographique de deux modalités étudiées : colza seul et association colza - pois fourrager (en situation de faible disponibilité initiale en azote, 2013-2014).....	226
Annexe 11 : Comparaison des hauteurs mesurées sur les légumineuses pures et sur les légumineuses associées	227
Annexe 12 : Expérimentation "compétition racinaire" mise en place au cours de l'automne 2013	228
Annexe 13 : Abondances spécifiques des adventices en entrée d'hiver	232

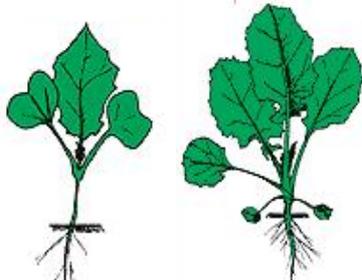
Annexe 1 : Stades repères du colza d'hiver

(d'après Terres Inovia, www.terresinovia.fr)

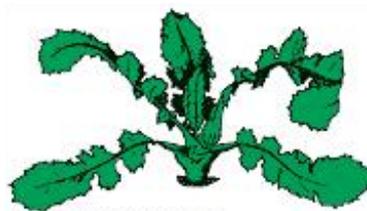
Du semis..... à la sortie de l'hiver



Stade A : stade cotylédonaire



Stade B1 à Bn : formation de la rosette, 1 à n vraies feuilles étalées.



C : Montaison.

De la reprise de végétation.....



Stade D1 : Boutons accolés.



Stade D2 : Inflorescence principale dégagée



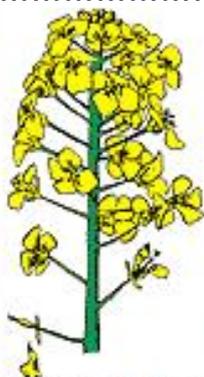
Stade E : Boutons séparés

.....au remplissage des grains



Floraison

Stade F1 : premières fleurs ouvertes **F2**, allongement de la hampe florale, nombreuses feuilles sont ouvertes.



Stades G1.....G2.....G3.....G4.....G5

G1 Chute des premiers pétales, **G2** les 10 premières siliques mesurent 2 à 4 cm. **G3** 1à premières siliques supérieures à 4 cm. **G4** les 10 premières siliques sont bosselées. **G5** grains colorés

Annexe 2 : Mode de calcul du bilan azoté

Le mode de calcul de la fertilisation azotée du colza repose sur la méthode du bilan (réglette azote) adaptée pour le colza par Reau et Wagner (1998). Cette méthode est basée sur une évaluation des besoins en azote de la parcelle (déterminés en considérant un objectif de rendement, un besoin unitaire en azote et des reliquats post-récolte) et des fournitures (azote absorbé et reliquats à la reprise de végétation, minéralisation printanière). La différence entre ces deux termes constitue ainsi la dose d'azote à apporter. Les modalités de fractionnement et les dates d'apport dépendent ensuite de la dose totale et de l'état du peuplement en entrée d'hiver (une faible biomasse de colza conduisant par exemple à fractionner en 2 ou 3 apports et à apporter le premier apport dès la reprise de végétation).

La disponibilité initiale en azote (avant le semis) constitue un élément majeur vis-à-vis de la dynamique d'absorption de l'azote. En effet, le colza est une espèce particulièrement nitrophile, capable d'absorber de grandes quantités d'azote au cours de l'automne (Dejoux *et al.* 2003). Or, considérant le mode de calcul de la fertilisation, qui repose sur la mesure des quantités d'azote absorbé en entrée et sortie d'hiver par la culture, la maximisation de l'absorption de l'azote au cours de l'automne est donc de première importance dans l'optique de limiter le recours à la fertilisation minérale au printemps.

Annexe 3 : Plan du dispositif expérimental (2012-2013 & 2013-2014)

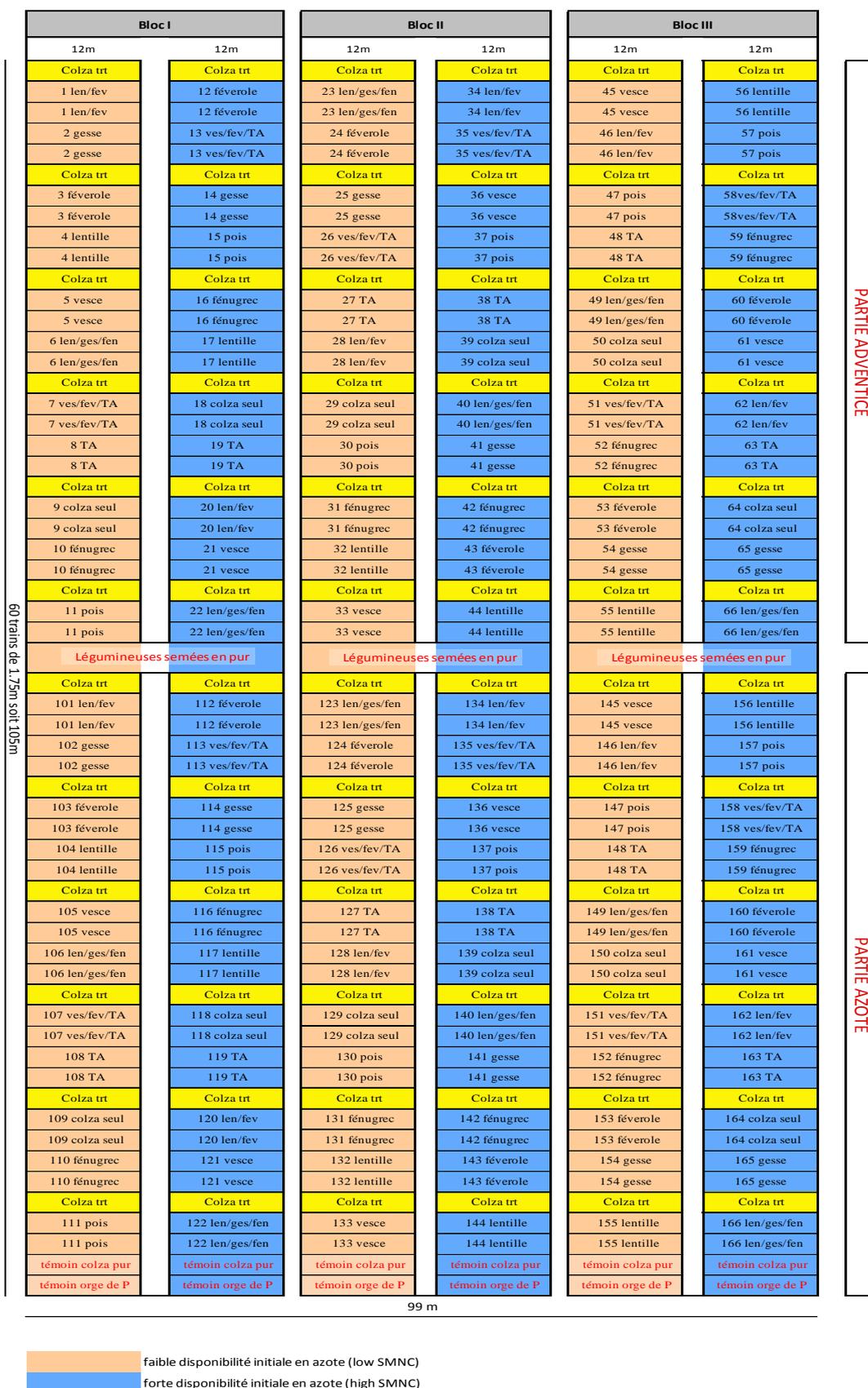


Figure 37 : Plan du dispositif expérimental

Annexe 4 : Modalités étudiées sur le dispositif expérimental de Grignon.

Photographies réalisées sur la partie "azote" du dispositif le 31 octobre 2013. Pour chaque modalité de légumineuse, la photographie de gauche correspond à la modalité "low SMNC", celle de droite à la modalité "high SMNC"

Colza - fenugrec



Colza - trèfle d'Alexandrie



Colza - vesce



Colza - lentille



Colza - pois fourrager



Colza - gesse



Colza - féverole



Colza - lentille/féverole



Colza - Lentille/gesse/fenugrec



Colza - vesce/féverole/trèfle d'Alexandrie



Annexe 5 : Interventions réalisées sur les dispositifs expérimentaux**Table 12 : Récapitulatif des interventions culturales réalisées sur les dispositifs expérimentaux de Grignon**

	2012-2013		2013-2014	
Irrigation	28-août 05-sept	25 mm.ha ⁻¹ 20 mm.ha ⁻¹	27-août	20 mm.ha ⁻¹
Lutte contre les ravageurs				
Molluscicide : limaces	30-août	mesuroi pro 3 kgN.ha ⁻¹	28-août	mesuroi pro 3 kgN.ha ⁻¹
insecticides : altises/CBT	19-sept	clameur 0.05 kgN.ha ⁻¹	27-sept	proteus 0.625 L.ha ⁻¹
Insecticide: Charançon de la tige	15-avr	karaté zéon 0.075 L.ha ⁻¹	06-mars	karaté zéon 0.075 L.ha ⁻¹
Lutte contre les maladies				
Fongicide: Phoma, cylindrosporiose	15-avr	caramba star 0.6 L.ha ⁻¹	06-mars	caramba star 0.6 L.ha ⁻¹
Fongicide: sclérotinia	03-mai	pictor pro 0.5 kg.ha ⁻¹		
Lutte contre les adventices				
Herbicide: graminée (parties azote seulement)	27-nov	kerb flo 1.5 L.ha ⁻¹		
Herbicide: dicotylédones (parties azote seulement)			05-mars	Lontrel 0.4 L.ha ⁻¹
Fertilisation				
Phosphore et potassium Soufre	08-août	400 kg de 0-20-30 kieserite 70 kgS.ha ⁻¹	09-août 05-mars	400 kg de 0-20-30 kieserite 70 kgS.ha ⁻¹
	05-mars	Parties azote et adventices (totalité des essais) : Ammonitrate 33.5%, 60 kgN.ha ⁻¹	06-mars	Partie adventices (low SMNC) 70 kgN.ha ⁻¹ Partie azote (low SMNC) 90 kgN.ha ⁻¹
Azote	04-avr	Partie azote (essai en totalité) et partie adventices (low SMNC uniquement) : Ammonitrate 33.5%, 70 kgN.ha ⁻¹		

Annexe 6 : Effet de la surface foliaire totale (colza + légumineuses) sur la régulation des adventices

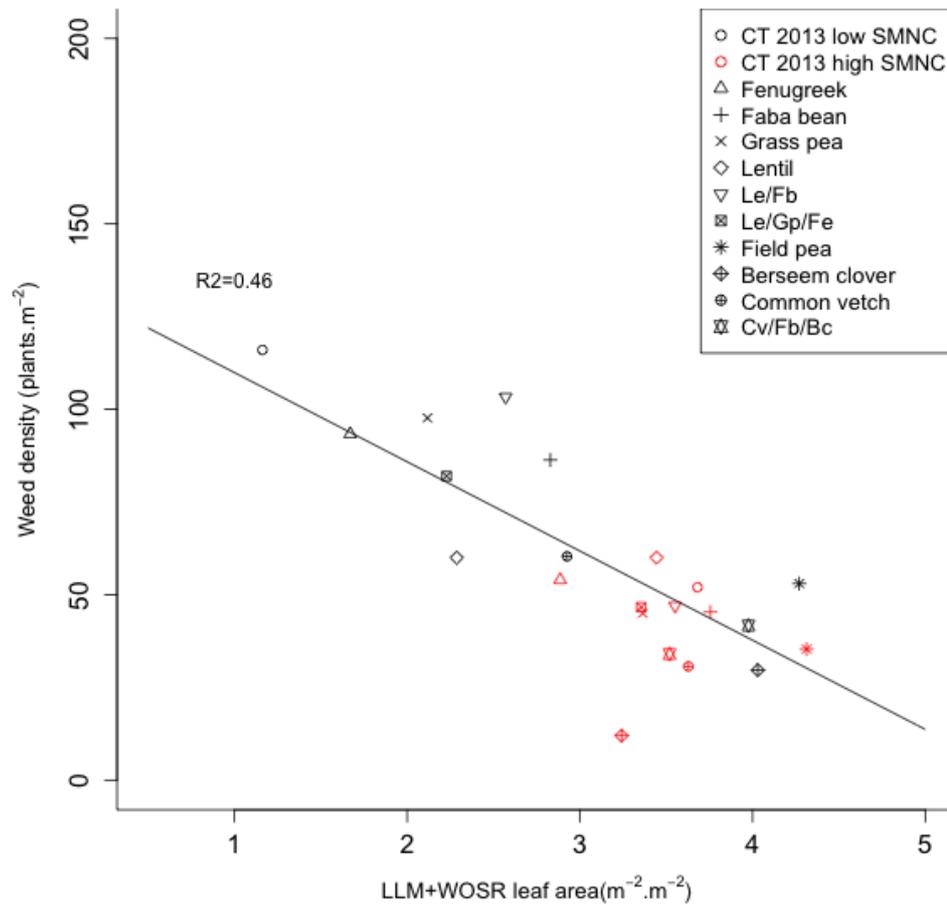


Figure 38 : Relation entre l'abondance des adventices et la surface foliaire totale du couvert mesurées en entrée d'hiver (données 2013). Chaque point correspond à la moyenne des trois répétitions

En raison d'un épisode de grêle survenu au début du mois de novembre 2012, seules les données mesurées au cours du prélèvement d'entrée d'hiver 2013 ont pu être intégrées à l'analyse.

Annexe 7 : Traits fonctionnels explicatifs de la vitesse d'accroissement de la surface foliaire

Nota bene

Le dernier prélèvement de surface foliaire en entrée d'hiver n'ayant pas pu être effectué du fait des dégâts occasionnés par la grêle sur les plantes en 2012, nous avons donc fait le choix de ne pas inclure ces données dans les analyses présentées dans le chapitre 2, du fait de leur manque de représentativité. Nous présentons toutefois quelques résultats des analyses, dont la méthodologie est analogue à celle utilisée dans le chapitre 2, qui s'appuient sur les vitesses de croissance en surface foliaire au cours de l'automne. Du fait de l'absence de données d'entrée d'hiver en 2012, nous avons donc considéré les prélèvements réalisés le 22 octobre 2012 et le 14 octobre 2013 comme correspondant à la fin de la période de croissance pour calculer les vitesses de croissance durant la phase de consolidation.

Les mesures de surface foliaire ont été effectuées au cours des prélèvements automnaux (cf chapitres 1 et 2). Une fois les plantes prélevées sur une surface de 1m² (légumineuses et colza), un sous-échantillonnage correspondant à au moins 10% de la matière verte (et un minimum de 3 plantes par sous-échantillon) a été effectué pour le colza ainsi que les légumineuses. Les surfaces foliaires ont ensuite été mesurées à l'aide d'un planimètre (LI-3100 Area meter, LI-COR Inc., NE, USA) et ramenées en m².m⁻².

Les résultats obtenus sont globalement conformes à ceux issus de l'analyse des vitesses de croissance de la biomasse. Toutefois, contrairement à ce qu'on a observé dans le chapitre 2, nous n'avons pas mis en évidence d'interactions significatives entre le niveau de disponibilité initiale en azote et les vitesses d'accroissement de la surface foliaire. Ainsi, quel que soient le niveau de disponibilité initiale en azote et la période de croissance considérée, la vitesse de croissance en surface foliaire du couvert (ou des légumineuses) a toujours été identifiée comme étant explicative de l'abondance en adventices (ou de la vitesse de croissance de la surface foliaire du couvert).

A l'instar de ce que nous avons démontré dans le chapitre 2, les modalités dont les vitesses d'accroissement de la surface foliaire sont les plus importantes tendent à exercer une compétition importante vis-à-vis du colza. Celle-ci se manifeste principalement durant la phase d'établissement lorsque le niveau de disponibilité initiale en azote est élevé et durant la phase de consolidation lorsque le niveau de disponibilité en azote est faible.

Les mêmes traits fonctionnels significatifs ont été identifiés pour expliquer les différences en

terme de vitesse d'accroissement de la surface foliaire des légumineuses durant les deux phases de croissance (Table 13 ; Figure 39).

Table 13 : Corrélations de Pearson entre les performances des légumineuses en terme de vitesse d'accroissement de la surface foliaire durant les phases d'établissement et de consolidation. SLA: surface foliaire spécifique, LDMC: Taux de matière sèche des feuilles, LA: surface foliaire unitaire

Performances des légumineuses - Phase d'établissement

	Coefficients de Pearson	P-value
SLA	0.0145	0.8958
LDMC	-0.42	6.710^{-5}
LA	0.69	3.810^{-13}
Ratio tige/feuille	0.35	$1.5 \cdot 10^{-2}$
Masse d'une graine	0.397	$1.9 \cdot 10^{-4}$
Vitesse d'accroissement de la hauteur	0.75	$4.4 \cdot 10^{-16}$

Performances des légumineuses - Phase de consolidation

	Coefficients de Pearson	P-value
SLA	0.12	0.27
LDMC	-0.32	$2.8 \cdot 10^{-3}$
LA	0.28	$9.9 \cdot 10^{-3}$
Ratio tige/feuille	0.23	0.03976
Masse d'une graine	0.116	0.29
Vitesse d'accroissement de la hauteur	0.519	$4.91 \cdot 10^{-7}$

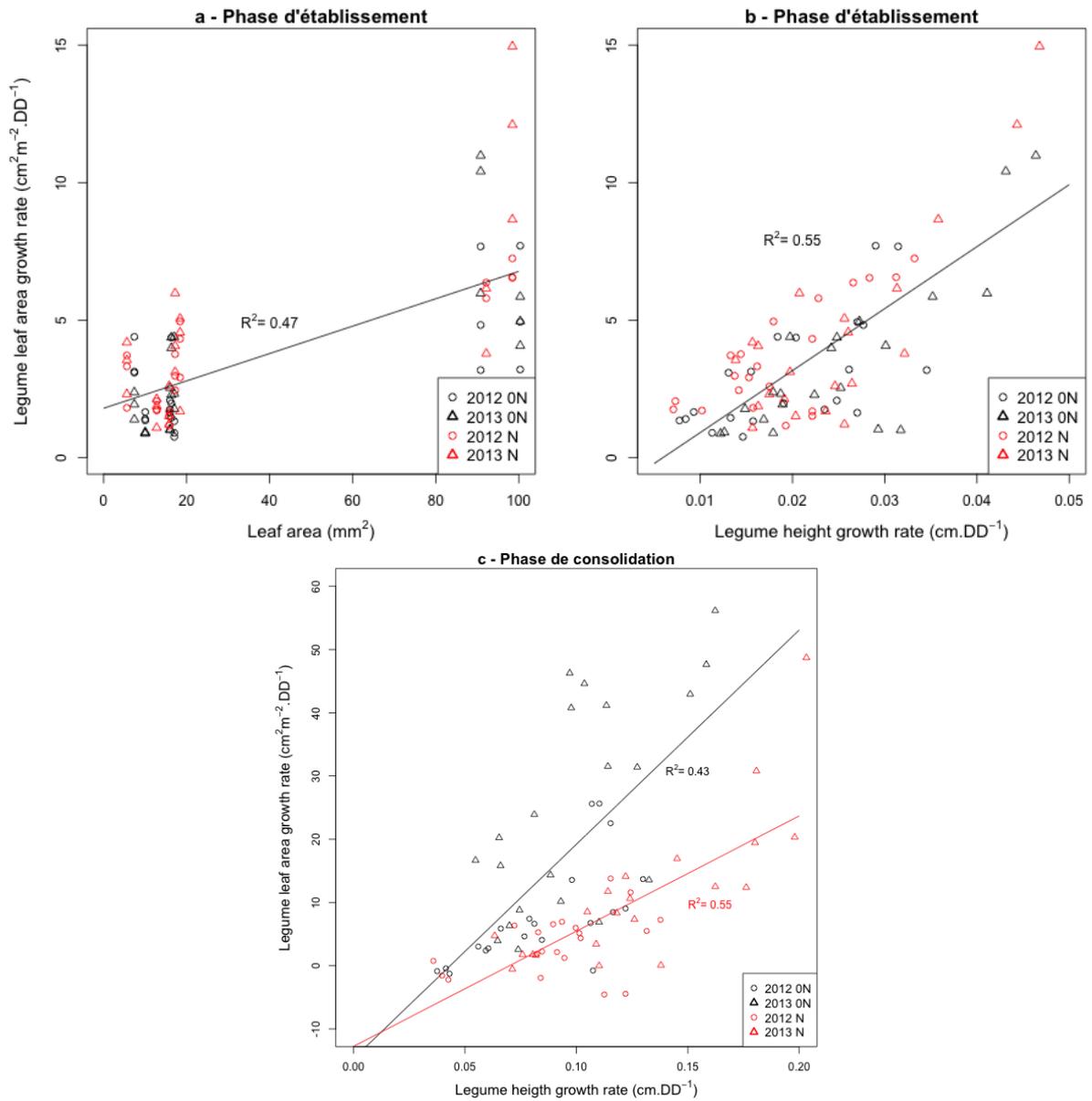


Figure 39 : Relations entre la vitesse d'accroissement de la surface foliaire des légumineuses et les traits fonctionnels explicatifs durant la phase d'établissement (figure 5a et 5b) et durant la phase de consolidation (figure 5c)

Annexe 8 : Elongation de l'épicotyle: mesure au stade G2-G3

Les mesures d'élongation de l'épicotyle ont été réalisées au cours des deux années d'expérimentation (suivant le protocole détaillé dans CETIOM 2005).

Au cours de la campagne 2012-2013, les facteurs "légumineuses associées" ($p = 0.0205$) et le niveau de disponibilité initiale en azote ($p < 2 \cdot 10^{-16}$) ont présenté un effet significatif sur l'élongation de l'épicotyle du colza (Figure 40). Ainsi, les colzas associés à la féverole ($p = 0.026$), à la lentille ($p = 0.015$), au mélange lentille-féverole ($p = 0.096$), au pois ($p = 0.006$) au trèfle d'Alexandrie ($p = 0.045$) et au mélange vesce/féverole/trèfle d'Alexandrie ($p = 0.011$) présentaient des élongations de l'épicotyle significativement supérieures à celle mesurée sur le colza seul. Toutefois, l'accroissement de l'élongation demeure relativement faible pour ces modalités, l'introduction du pois fourrager, qui induit les dommages les plus importants, conduisait ainsi à un accroissement de l'élongation de 0.57 cm par rapport au colza seul (moyenne de 1.03 cm pour le témoin). Le niveau de disponibilité en azote présente également un effet hautement significatif sur l'élongation de l'épicotyle ($p < 2 \cdot 10^{-16}$), les valeurs mesurées étant plus importantes en cas de forte disponibilité que de faible disponibilité (2.2 cm contre 1.3 cm en moyenne, respectivement).

Au cours de la campagne 2013-2014, seul le niveau de disponibilité initiale en azote présentait un effet significatif sur l'élongation de l'épicotyle ($p < 2 \cdot 10^{-16}$). En présence de forts reliquats d'azote minéral avant le semis, l'élongation de l'épicotyle s'élevait ainsi en moyenne à 6.3 cm (contre 1.4 cm en cas de faible niveau de disponibilité en azote). Aucune différence significative n'est apparue entre le colza seul et les modalités associées.

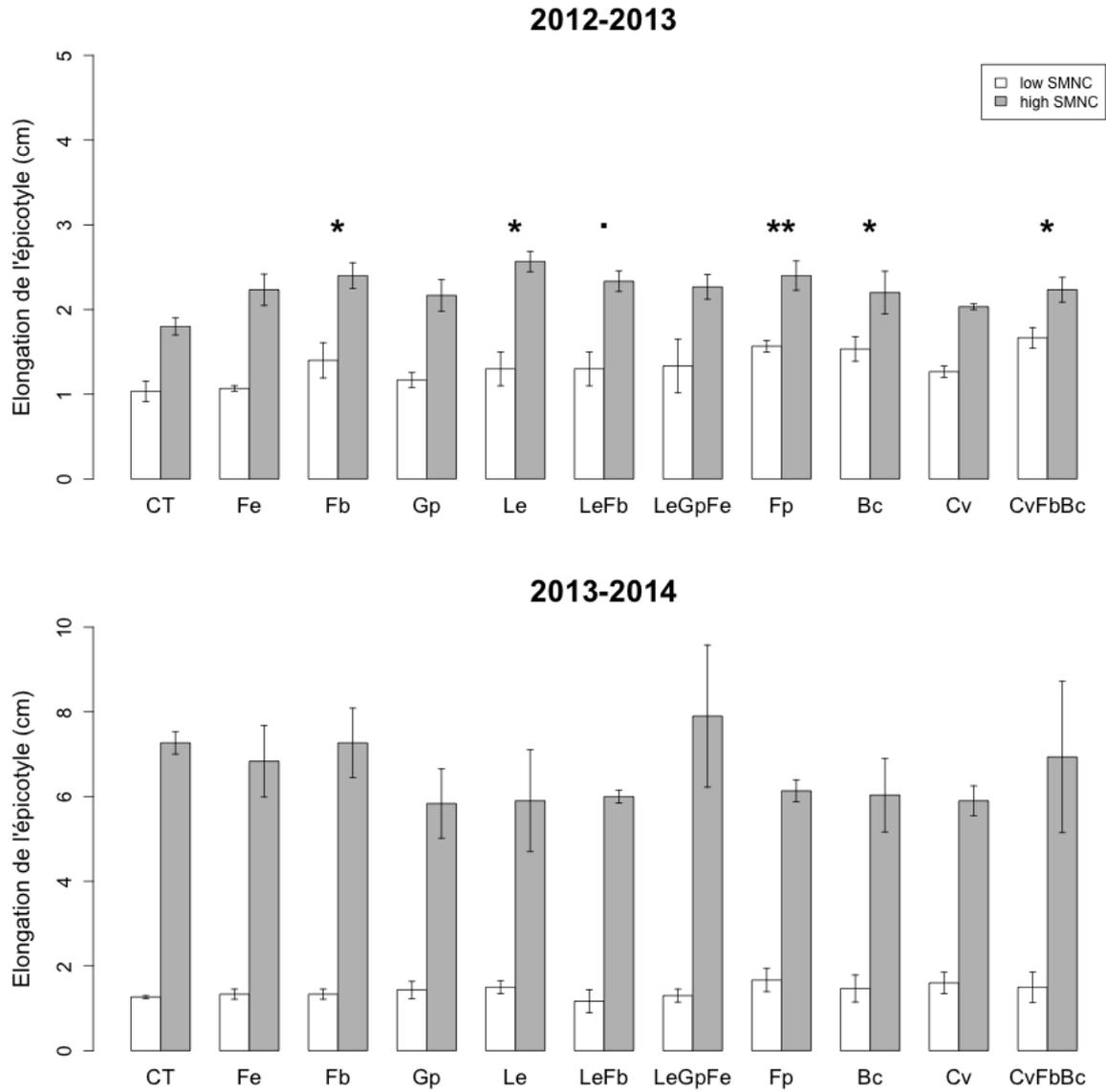


Figure 40 : Elongation de l'épicotyle mesurée pour les campagnes 2012-2013 et 2013-2014

Annexe 9 : Evolution de l'efficience de l'interception du rayonnement au cours de l'automne

Nota Bene

Le protocole de mesures initial prévoyait d'effectuer un suivi dynamique de la surface foliaire du colza et des légumineuses ainsi qu'un suivi dynamique de l'efficience d'interception du rayonnement par le couvert (colza + légumineuse) au cours de l'automne. En 2012-2013, en raison de problèmes techniques liés à l'utilisation des capteurs PAR qui ont retardé leur installation, ainsi que d'un épisode de grêle survenu au début du mois de novembre, nous n'avons pas pu exploiter ces données pour la première année d'expérimentation. Les données présentées ne concernent donc que la campagne 2012-2013.

Pour suivre l'efficience d'interception du rayonnement par le couvert colza-légumineuses, nous avons placé deux capteurs PAR/LE par modalité (sur un bloc uniquement), perpendiculairement au sens du semis, à la surface du sol. Les données ont ensuite été collectées toutes les 30 secondes, moyennées tous les 15 minutes et stockées sur une centrale d'acquisition Campbell CR10X (Campbell Scientific Inc., Shepshed, UK). Les zones autour des capteurs ont été régulièrement désherbées à la main de façon à ce que la mesure ne tienne compte que de l'interception du rayonnement par le colza et les légumineuses. En considérant le rayonnement incident photosynthétiquement actif (PAR) disponible sur la station météorologique de Grignon, nous avons ainsi pu (en moyennant les valeurs des deux capteurs par modalité) déterminer l'efficience journalière d'interception du rayonnement incident (le rayonnement non intercepté étant considéré disponible pour les adventices). Les dynamiques d'évolution de l'efficience de l'interception en fonction de la somme de degrés-jour (base 0) ont ensuite été ajustées à un modèle logistique de croissance de la forme :

$$Y = Y_{\max} / (1 + \exp((x_{\text{mid}} - x) / \text{scale}))$$

où :

Y_{\max} = efficience d'interception maximale

X_{mid} = somme de degrés-jour nécessaire pour atteindre 50% de l'efficience maximale

Scale = somme de degrés-jour nécessaire pour passer de 50% à 75% d'efficience d'interception

Nous avons également déterminé, à partir de ces modèles les sommes de degrés-jour nécessaires pour atteindre 1/3 et 2/3 d'interception du PAR incident. Ces indicateurs permettent d'évaluer la capacité du couvert à intercepter le rayonnement incident, approximativement pendant les phases d'établissement et de consolidation.

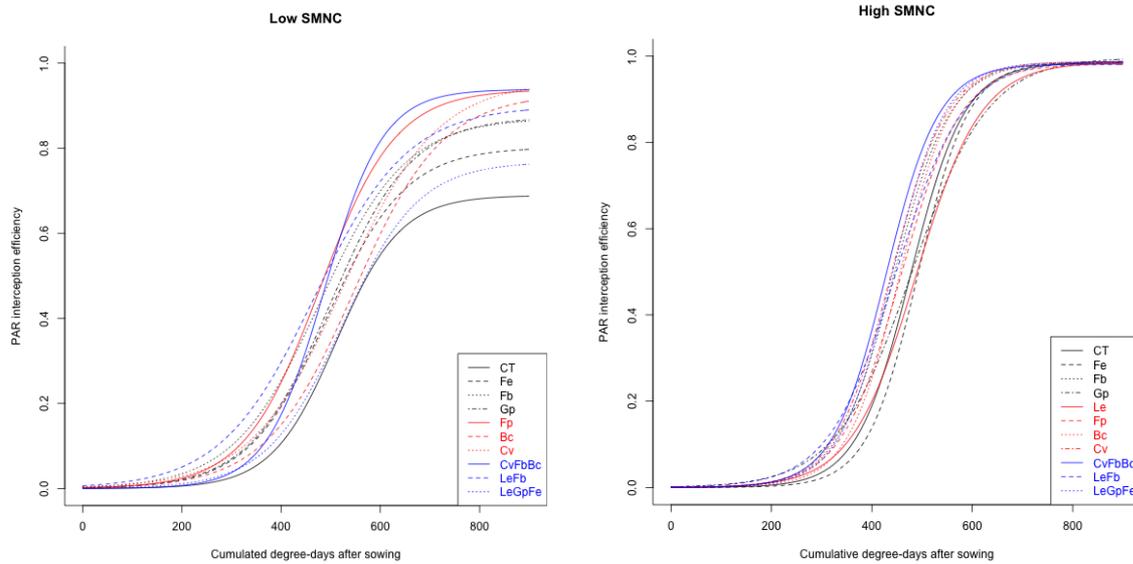


Figure 41 : Evolution de l'efficacité d'interception du PAR en fonction de la somme de degrés-jour depuis le semis jusqu'en entrée d'hiver, en situation de faible (low SMNC) et de forte (high SMNC) disponibilité en azote. Du fait de problème technique sur la modalité lentille en faible disponibilité en azote, cette modalité a été retirée de l'analyse

Table 14 : Indicateurs d'efficacité d'interception du rayonnement. Y_{max} = asymptote, efficacité maximale d'interception du rayonnement ; X_{0,33} = somme de degrés jour pour atteindre 33% d'interception ; X_{0,66} = somme de degrés-jour pour atteindre 67% d'interception

	Low SMNC			High SMNC		
	Y _{max}	X _{0,33}	X _{0,66}	Y _{max}	X _{0,33}	X _{0,66}
CT	0.69	506	733	0.98	441	516
Fenugreek	0.80	465	620	0.99	457	529
F. bean	0.87	436	581	0.99	407	486
G. pea	0.87	460	596	1.00	427	533
Lentil				0.99	445	536
F. pea	0.94	432	547	0.98	418	502
B. clover	0.93	495	631	0.99	420	493
C. vetch	0.96	468	605	0.99	401	479
CvFbBc	0.94	452	541	0.98	393	467
LeFb	0.90	417	567	0.99	402	496
LeGpFe	0.77	503	668	0.99	405	479

L'évolution de l'efficacité d'interception du rayonnement incident montre des résultats qui diffèrent fortement suivant le niveau de disponibilité initiale en azote (Figure 41 et Table 14). Ainsi, en cas de forte disponibilité le couvert se ferme bien plus rapidement (65 et 217 degrés-jours de moins pour atteindre 33% et 66% d'efficacité d'interception sur la modalité colza seul) et de façon plus totale (efficacité maximale de 0.98 contre 0.69 pour le colza seul en forte disponibilité par rapport à la situation de faible disponibilité initiale en azote, respectivement).

En situation de faible disponibilité en azote, quelle que soit la légumineuse utilisée, l'efficacité d'interception du rayonnement incident est toujours améliorée par rapport au colza seul, quel que soit l'indicateur considéré. En situation de forte disponibilité en azote, l'ensemble des modalités permet d'aboutir à une interception totale du couvert. Exceptés pour le fenugrec, la gesse et la lentille, l'introduction de légumineuses permet d'atteindre 33 et 66% d'efficacité d'interception du rayonnement plus tôt que pour le colza seul. Toutefois, contrairement à ce qu'on a constaté en situation de faible disponibilité en azote, les différences entre modalités sont faibles. On atteint une efficacité d'interception du rayonnement incident de 33% après en moyenne 440 degrés-jour depuis le semis), suggérant, à l'instar des résultats présentés dans le chapitre 2, que la phase d'établissement de couvert (entre 0 et 500 degrés-jour environ) est déterminante en situation de forte disponibilité en azote.

De façon générale, les mêmes modalités qui ont été identifiées dans le chapitre 1 comme étant particulièrement efficaces vis-à-vis de la régulation des adventices (pois, trèfle d'Alexandrie, vesce, mélange vesce/féverole/trèfle) permettent également d'aboutir à une interception du rayonnement incident plus efficace. Les coefficients de corrélations des régressions simples entre l'abondance en adventices en entrée d'hiver et les trois indicateurs de description de l'efficacité d'interception du rayonnement incident suggèrent ainsi que la capacité du couvert à intercepter le rayonnement (et donc à en priver les adventices) semblent bien être corrélés avec la quantité d'adventices mesurée en entrée d'hiver (Figure 42).

Les relations entre les sommes de degrés-jour nécessaires pour atteindre 33 et 66% d'interception du rayonnement incident et les vitesses d'accroissement de la surface foliaire durant les phases d'établissement et de consolidation montrent également des corrélations significatives, $p < 0.01$ (Figure 43). Ainsi, plus les couverts accumulent rapidement une surface foliaire élevée, plus l'efficacité d'interception du rayonnement est élevée.

Toutefois, d'autres mesures sont nécessaires pour affiner ces relations construites uniquement à partir des données d'une seule année d'expérimentation.

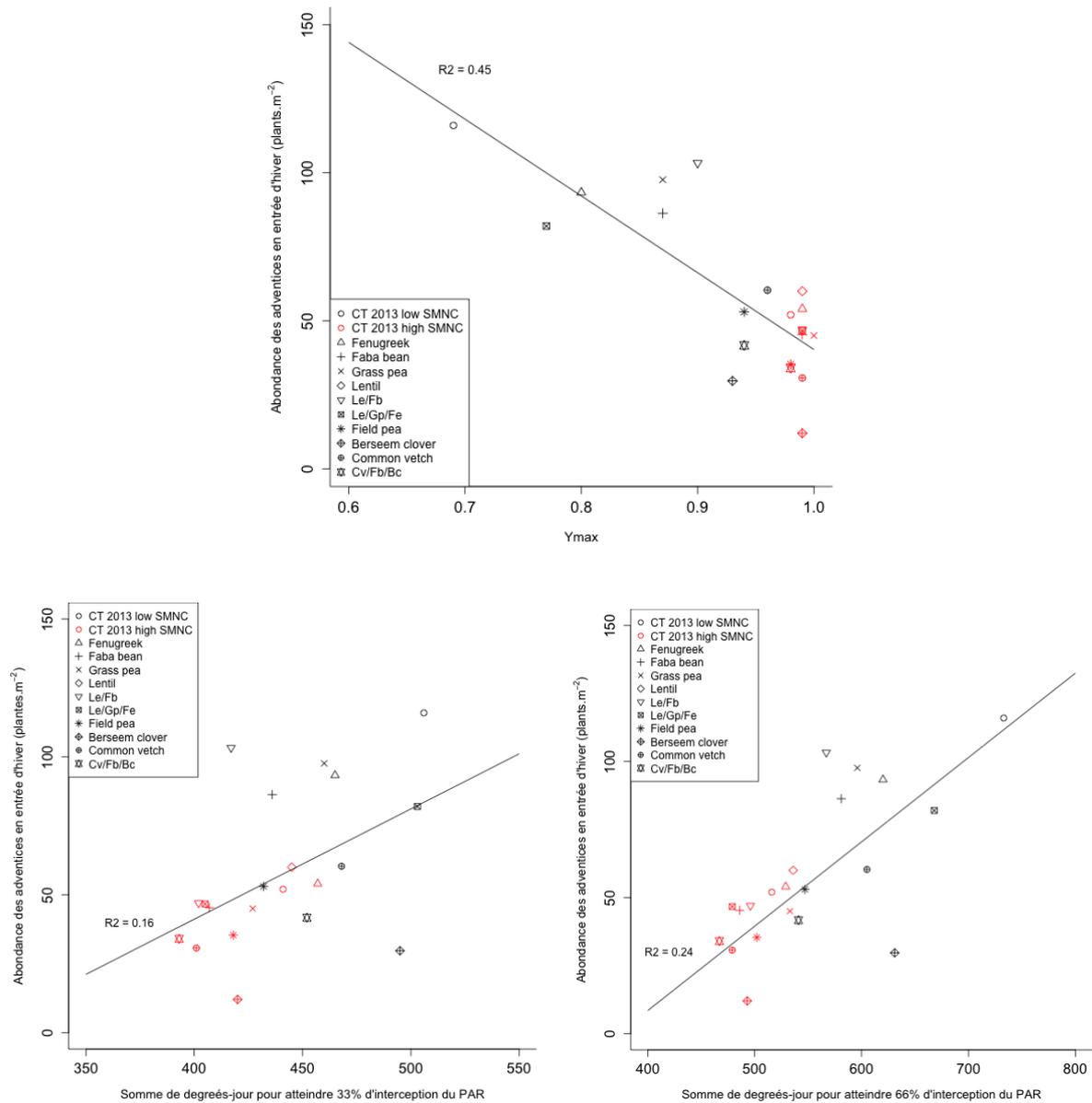


Figure 42 : Relations entre l'abondance en adventices mesurée en entrée d'hiver en 2013 et les trois indicateurs d'efficacité d'interception du rayonnement: Ymax (efficacité maximale d'interception du rayonnement), X_{0.33} (somme de degrés-jour nécessaire pour intercepter 33% du rayonnement incident), X_{0.66} (somme de degrés-jour nécessaire pour intercepter 66% du rayonnement incident)

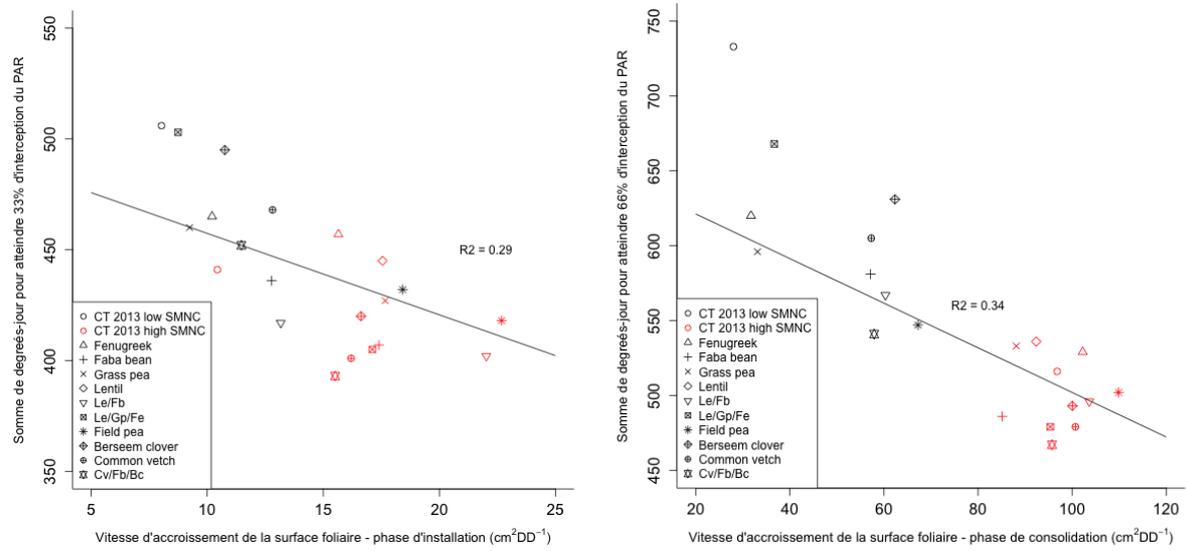


Figure 43 : Relations entre le nombre de degrés-jour nécessaire pour atteindre 33% (et 66%) d'interception du rayonnement incident et la vitesse d'accroissement de la surface foliaire totale durant la phase d'établissement (et la phase de consolidation). Les vitesses de croissance en surface foliaire correspondent aux moyennes des trois répétitions

Annexe 10 : Suivi photographique de deux modalités étudiées : colza seul et association colza - pois fourrager (en situation de faible disponibilité initiale en azote, 2013-2014)

Colza seul

Colza- pois



23/10



03/12



27/02



11/04



Annexe 11 : Comparaison des hauteurs mesurées sur les légumineuses pures et sur les légumineuses associées

Au cours de l'automne 2013, nous avons mesuré des vitesses d'accroissement en hauteur des légumineuses sur les modalités associées (3 répétitions de 5 mesures par modalité) ainsi que sur les parcelles de légumineuses pures (1 série de 5 mesures par modalité).

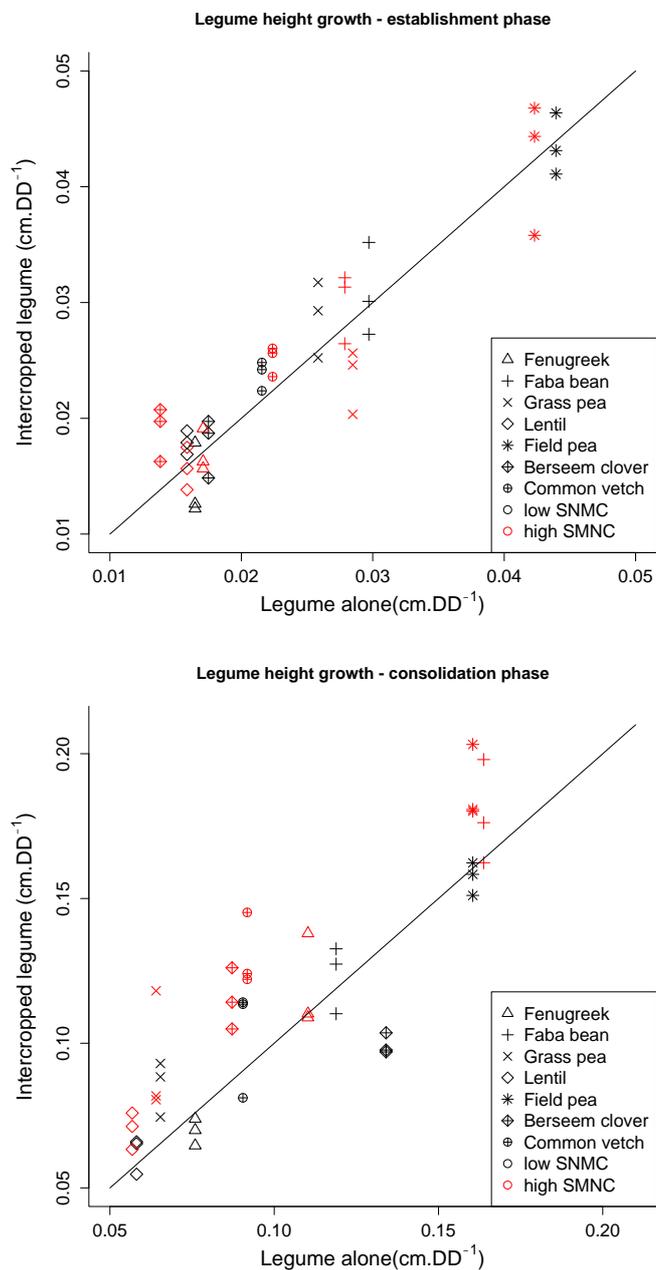


Figure 44 : Relations entre les vitesses d'accroissement en hauteur des légumineuses mesurées en situation d'association avec le colza (axe des ordonnées) ou en culture pure (axe des abscisses) durant la phase d'établissement (graphique du haut) ou de consolidation (graphique du bas). La droite correspond à la première bissectrice

Annexe 12 : Expérimentation "compétition racinaire" mise en place au cours de l'automne 2013

Les mesures qui concernent l'architecture racinaire du colza ont été ajoutées au protocole en 2013 et effectuées sur la partie azote de l'expérimentation. Au cours du prélèvement d'entrée hiver, nous avons ainsi arraché précautionneusement les pieds de colza, prélevés sur une surface de 1m², à l'aide d'une bêche, de façon à conserver le pivot du colza intact. Après lavage des échantillons, nous avons mesuré la longueur et la biomasse totale (sèche) du pivot ainsi que le diamètre au collet. Nous avons également calculé la quantité d'azote contenu dans les pivots de colza (ramené en kgN.ha⁻¹) en analysant leur teneur en azote.

Les analyses statistiques présentées ci-dessous ont visé à comprendre l'effet de l'introduction des légumineuses sur ces variables décrivant l'architecture racinaire du colza par rapport à la modalité colza seul. En raison d'interactions entre les effets du niveau de disponibilité en azote et des espèces de légumineuses associées, les analyses statistiques (non paramétriques) ont été effectuées par niveau de disponibilité en azote grâce à la fonction nparcomp du logiciel r. L'utilisation de cette fonction permet de déterminer si la valeur mesurée pour la modalité associée diffère significativement de celle du témoin colza seul.

1- Diamètre du collet

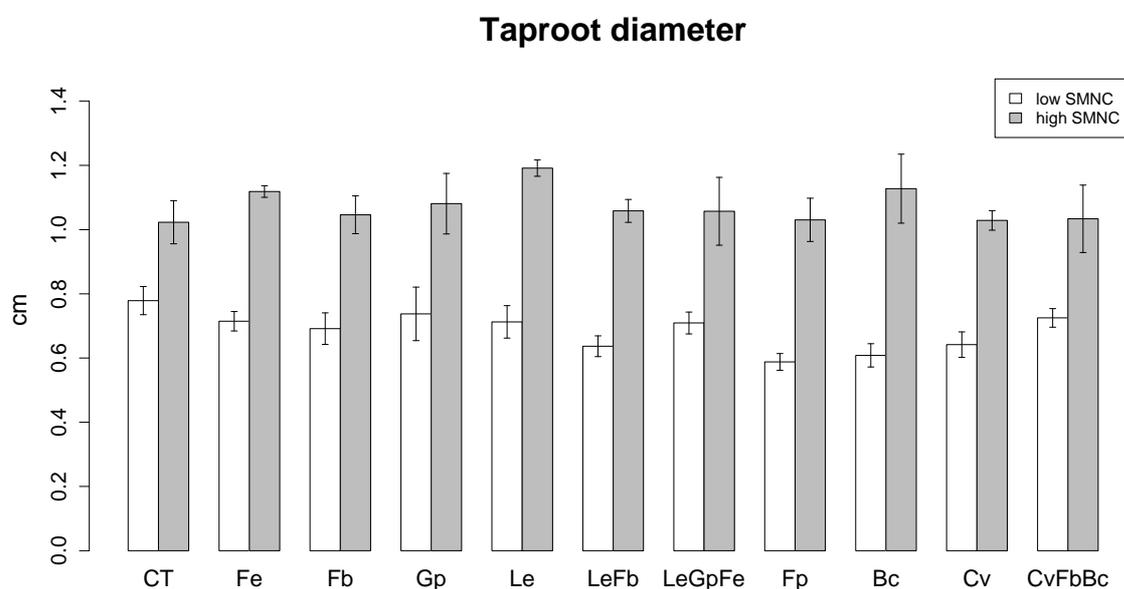


Figure 45 : Diamètre du collet du colza mesuré en entrée d'hiver. CT: témoin colza seul, Fe: fenugrec, Fb: féverole, Gp: gesse, Le: lentille, LeFb: lentille/féverole, LeGpFe: lentille/gesse/fenugrec, Fp: pois fourrager, Bc: trèfle d'Alexandrie, Cv: vesce, CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle

Les mesures de diamètre du collet (Figure 45) ne montrent pas d'effet significatif des modalités de légumineuses sur cette variable. Le niveau de disponibilité initiale en azote présente un effet significatif sur le diamètre du collet ($p < 2 \cdot 10^{-16}$), celui-ci est plus important lorsque la disponibilité initiale en azote est importante.

2- Longueur du pivot

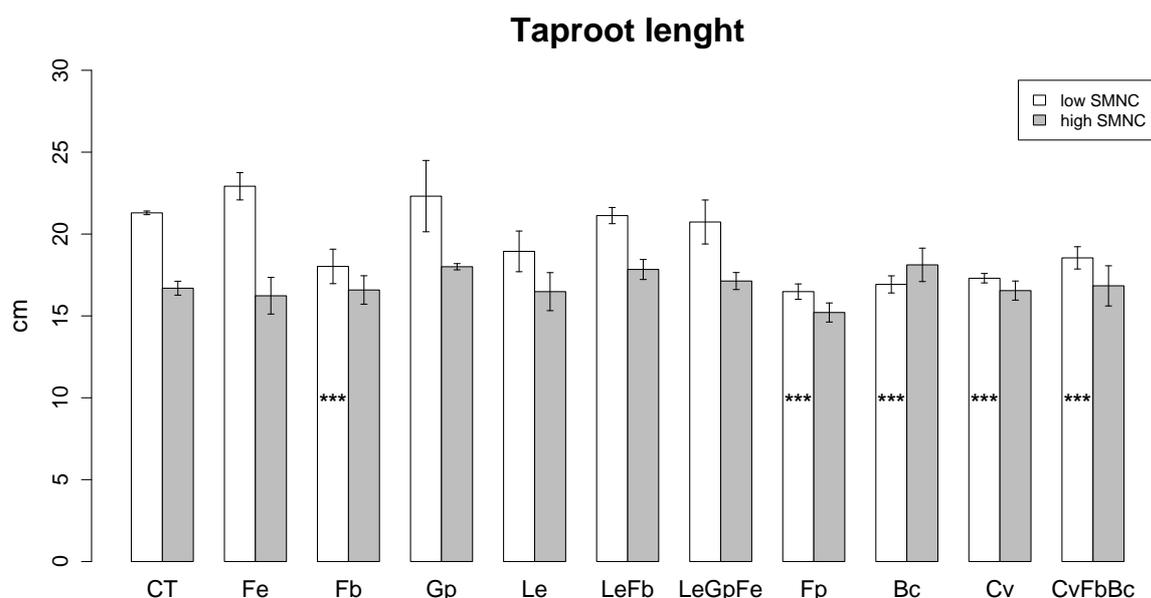


Figure 46 : Longueur du pivot du colza mesuré en entrée d'hiver. CT: témoin colza seul, Fe: fenugrec, Fb: féverole, Gp: gesse, Le: lentille, LeFb: lentille/féverole, LeGpFe: lentille/gesse/fenugrec, Fp: pois fourrager, Bc: trèfle d'Alexandrie, Cv: vesce, CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle. * indique que la modalité est significativement différente du colza seul ($p < 0.01$)**

Les résultats obtenus pour la longueur du pivot (Figure 46) indiquent que les mesures effectuées sur les colzas associés ne différaient pas significativement par rapport au colza seul lorsque le niveau de disponibilité initiale en azote était élevé. En revanche, en cas de faible disponibilité initiale en azote, la longueur du pivot du colza associé à la féverole, au pois, au trèfle d'Alexandrie, à la vesce et au mélange vesce/féverole/trèfle était significativement inférieure à celle du colza seul ($p < 0.01$).

3- Biomasse et quantité d'azote contenu dans le pivot

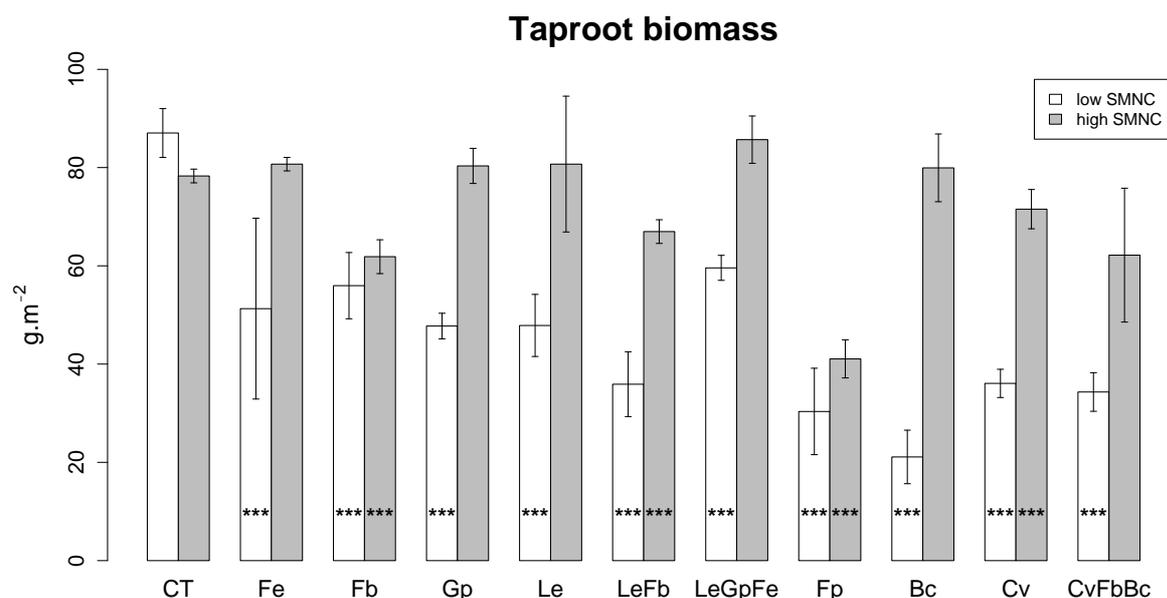


Figure 47 : Biomasse sèche du pivot du colza mesuré en entrée d'hiver. CT: témoin colza seul, Fe: fenugrec, Fb: féverole, Gp: gesse, Le: lentille, LeFb: lentille/féverole, LeGpFe: lentille/gesse/fenugrec, Fp: pois fourrager, Bc: trèfle d'Alexandrie, Cv: vesce, CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle. * indique que la modalité est significativement différente du colza seul ($p < 0.01$)**

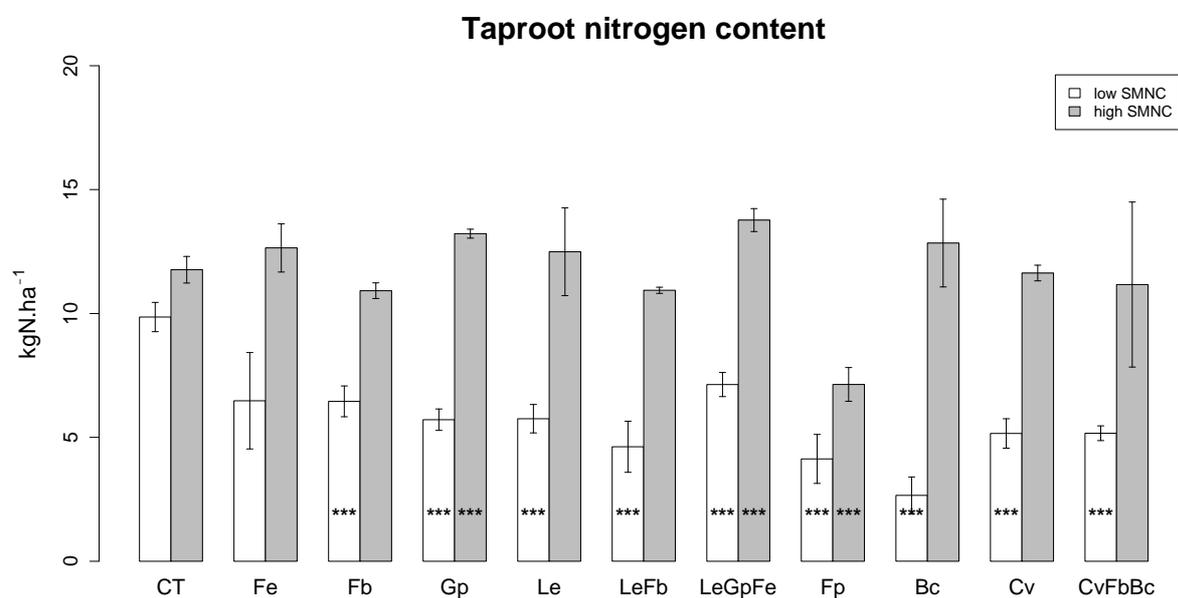


Figure 48 : Quantité d'azote contenu dans le pivot du colza mesuré en entrée d'hiver. CT: témoin colza seul, Fe: fenugrec, Fb: féverole, Gp: gesse, Le: lentille, LeFb: lentille/féverole, LeGpFe: lentille/gesse/fenugrec, Fp: pois fourrager, Bc: trèfle d'Alexandrie, Cv: vesce, CvFbBc: mélange vesce/féverole/trèfle. * indique que la modalité est significativement différente du colza seul ($p < 0.01$)**

En cas de forte disponibilité initiale en azote, les biomasses des pivots de colza étaient significativement plus faibles que celle du colza seul pour les modalités féverole, lentille/féverole, pois et vesce ($p < 0.01$), Figure 47. Toutefois, en considérant la quantité d'azote contenu dans ces pivots (Figure 48), seule la modalité pois fourrager présentait des valeurs significativement inférieures à celles du colza seul, les modalités gesse et lentille/gesse/fenugrec présentant même des quantités d'azote supérieures à celles du colza seul.

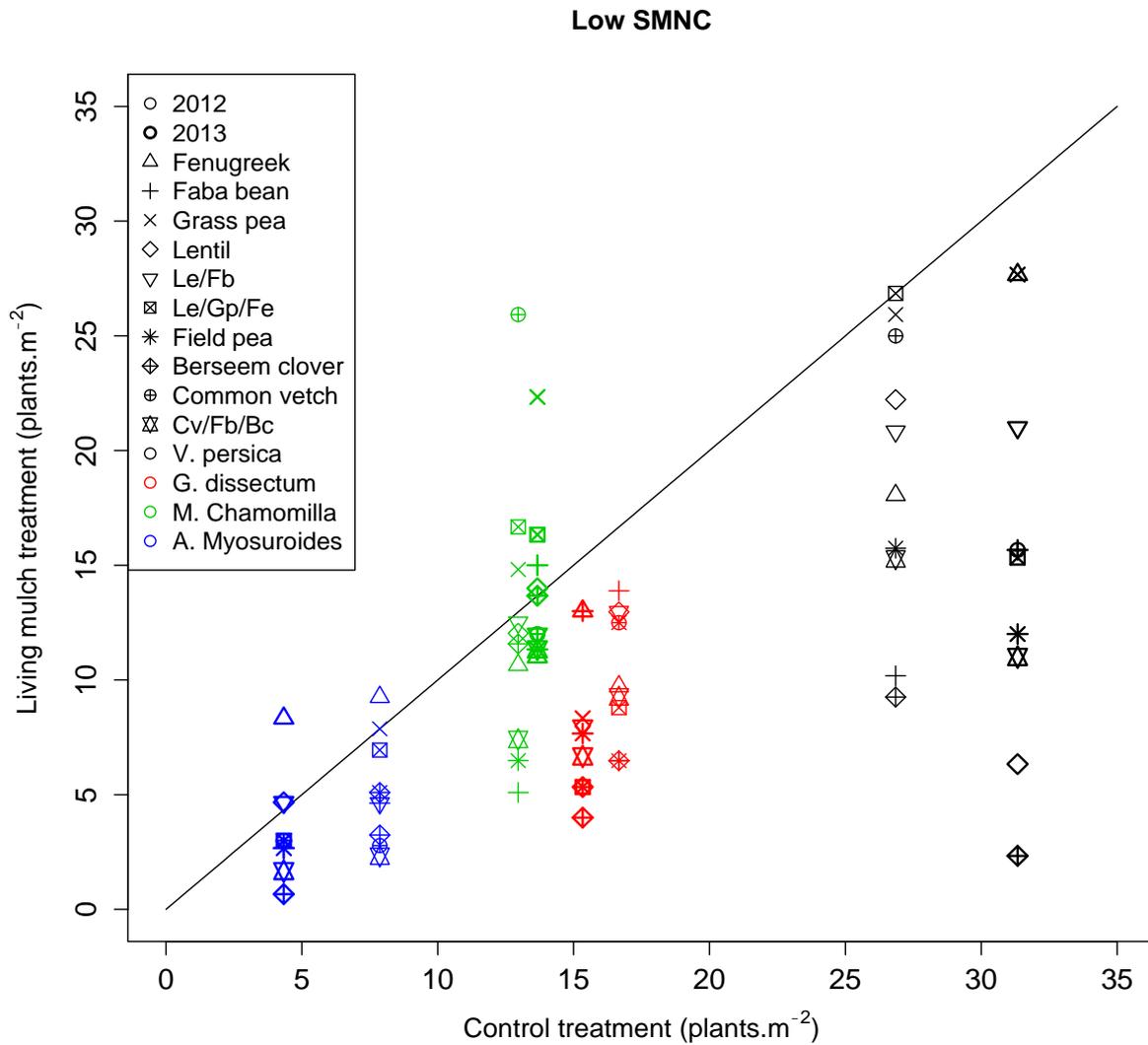
En situation de faible disponibilité en azote, l'introduction des légumineuses, quelle que soit l'espèce, a conduit à une réduction significative de la biomasse du pivot du colza en entrée d'hiver atteignant jusqu'à 75% de celle du colza seul (pour la modalité trèfle d'Alexandrie). Les résultats obtenus en terme de quantité d'azote contenu dans le pivot montrent également un fort effet dépressif de la présence des légumineuses (seul le fenugrec n'induit pas de réduction significative).

L'introduction de légumineuses gélives en tant que plantes de service conduit généralement à un effet dépressif sur la biomasse et la quantité d'azote contenu dans le pivot ainsi que sur la longueur du pivot, dans une moindre mesure. Nos résultats ont également montré que cet effet dépressif était bien plus marqué en cas de faible disponibilité initiale en azote. La diminution de la biomasse du pivot et de son contenu en azote, observée sur certaines modalités associées par rapport au colza seul, est ainsi proportionnellement bien plus importante que celle constatée au niveau aérien (chapitre 1). Les mêmes espèces identifiées comme étant les plus compétitives au niveau aérien conduisent également aux plus fortes réductions de biomasse, de quantité d'azote et de longueur du pivot (de diamètre également même si ça n'est pas significatif): féverole, pois fourrager, trèfle d'Alexandrie, vesce commune et aux mélanges qui en sont composés.

Contrairement à ce qu'on observe au niveau aérien (notamment du point de vue de l'azote absorbé), la compétition au niveau racinaire apparaît bien plus importante en situation de faible disponibilité initiale en azote.

Annexe 13 : Abondances spécifiques des adventices en entrée d'hiver

Au cours des prélèvements d'entrée d'hiver réalisés sur la partie adventices au cours des deux années d'expérimentation, nous avons procédé à l'identification et au dénombrement des espèces d'adventices. Nous présentons dans cette partie quelques résultats marquants.



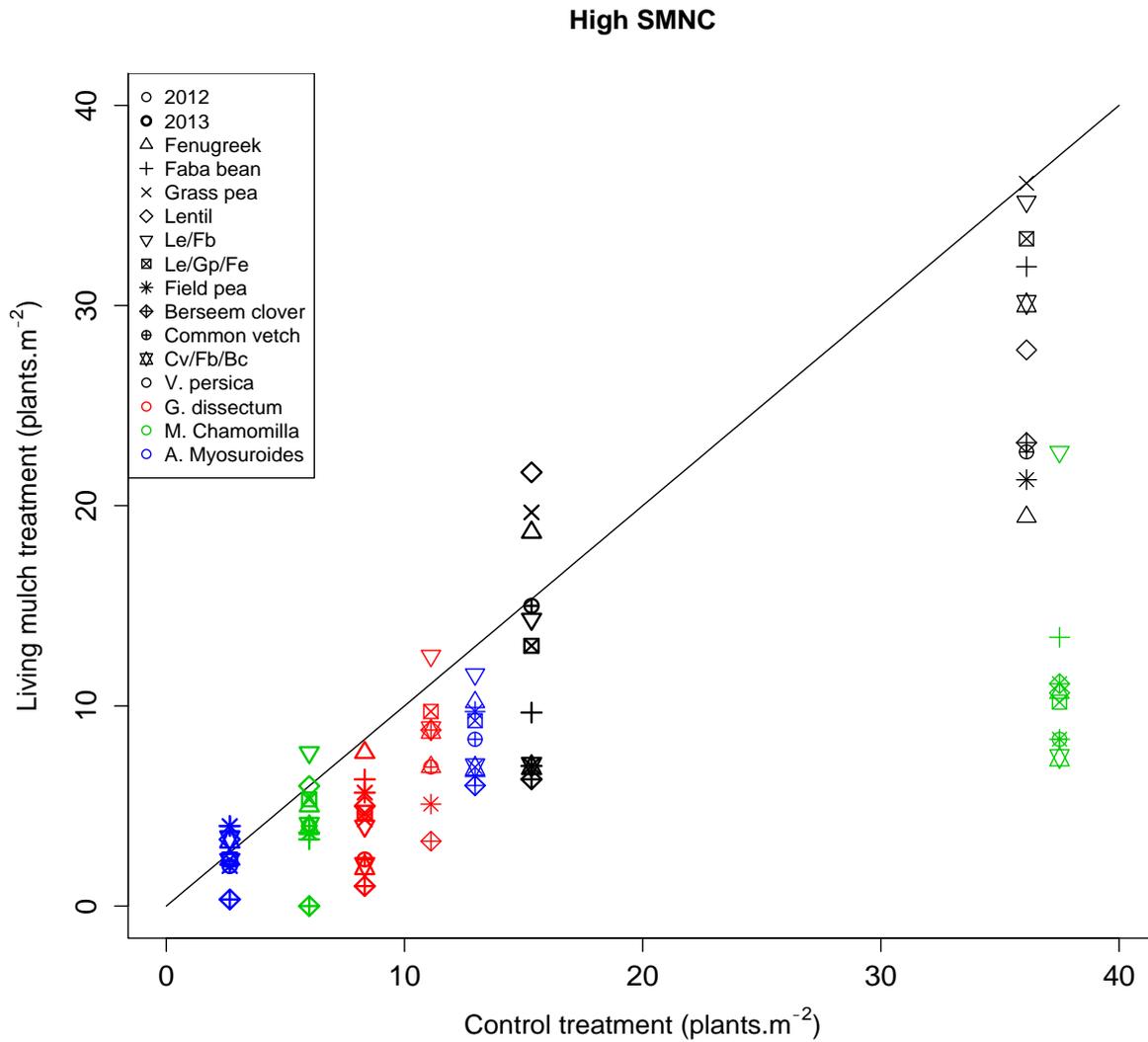


Figure 49 : Abondances spécifiques mesurées sur les modalités associées (axe des ordonnées) par rapport à celles mesurées sur le témoin colza seul (axe des abscisses) en situation de faible (graphique du haut) et de forte (graphique du bas) disponibilité initiale en azote. La droite représentée correspond à la première bissectrice. Les couleurs représentent quatre espèces d'adventices parmi celles qui ont été semées (véronique, matricaire, géranium, vulpin)

Services écosystémiques rendus par des légumineuses gélives introduites en tant que plantes de service dans du colza d'hiver : évaluation expérimentale et analyse fonctionnelle

Résumé

Le colza d'hiver est une culture emblématique de la simplification des systèmes de culture pour laquelle la consommation d'intrants est très importante. L'introduction de légumineuses gélives en tant que plantes de service pourrait constituer une voie d'amélioration possible des performances de la culture via la fourniture de deux services écosystémiques : la régulation des adventices et la fourniture d'azote (N) au colza au printemps. Cependant, l'insertion de plantes supplémentaires dans le couvert pourrait accroître la compétition et affecter les performances du colza.

Ce travail de thèse a ainsi visé à i) quantifier les potentialités offertes par ces plantes de service pour fournir ces deux services écosystémiques, dans une diversité de situations culturales, en relation avec les performances du colza, ii) analyser les mécanismes mis en jeu, et iii) identifier les traits fonctionnels des légumineuses qui les déterminent. Grâce à une expérimentation factorielle mise en place au cours de deux campagnes culturales, nous avons ainsi comparé sept espèces de légumineuses candidates et trois mélanges de légumineuses, associés au colza, dans des situations contrastées de disponibilité initiale du sol en azote.

Nos résultats montrent que l'introduction des légumineuses a conduit à une réduction de la quantité d'adventices au cours de l'automne, qui peut atteindre 75% pour les espèces les plus efficaces, sans toutefois dégrader les performances du colza en terme d'azote absorbé pendant l'automne. Au cours du printemps suivant la destruction des légumineuses, les colzas associés à des légumineuses ont absorbé plus d'azote en moyenne (jusqu'à 40 kgN.ha⁻¹ en plus par rapport au colza non associé). La minéralisation de l'azote contenu dans le mulch de légumineuses a constitué la source majeure de ce bonus d'N absorbé. Toutefois, d'autres mécanismes de facilitation (amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'N notamment) ont été observés. Enfin, des traits fonctionnels simples traduisant la compétitivité des légumineuses vis-à-vis de l'interception du rayonnement durant l'automne ainsi que des traits caractérisant les propriétés physico-chimiques des mulchs ont été identifiés et permettent de comprendre les performances obtenues pour chaque espèce et chaque service ainsi que certains mécanismes de compétition/facilitation mis en jeu.

Mots-clés: plante de service, légumineuses, agroécologie, approche fonctionnelle, service écosystémique, colza d'hiver

Ecosystem services provided by frost-sensitive legumes introduced as living mulches in winter oilseed rape: experimental assessment and functional analysis

Abstract

The simplification of cropping systems has led to an increase in the consumption of chemical inputs, winter oilseed rape being one of the most emblematic crop of this trend. The introduction of frost-sensitive legume living mulches would potentially improve the crop performances by providing two ecosystem services: weed regulation and biological nitrogen supply to the cash crop during spring. However, the introduction of these species could increase the interspecific competition, leading to a decrease in winter oilseed rape performances.

The aims of this work were i) to quantify the ability of legume living mulches to supply these ecosystem services, in various environmental conditions, in relation to the oilseed rape performances ii) to analyse the mechanisms involved and iii) to identify the explicative legume functional traits. From a two-years experimental assessment, we compared seven candidate legume species (and three legume mixtures), intercropped with winter oilseed rape, in contrasted levels of soil mineral nitrogen availability.

Results show that the presence of legume living mulch generally led to a significant decrease in the weed abundance and biomass in autumn to up to 75% for the most efficient species, without damaging the rape performances. The presence of the legume dead mulch during the following spring led to higher amount of nitrogen uptake in the winter oilseed rape (until 40 kgN.ha⁻¹ more in comparison to the sole crop). This nitrogen bonus was mainly explained by higher mineralisation from legume residues but also by other facilitation mechanisms such as a better nitrogen use efficiency. Finally, simple functional traits, related to the legume radiation interception ability during the autumn and some mulch physico-chemical traits were identified and led to a better understanding of the legume performances and the competition/facilitation mechanisms involved.

Keywords: living mulch, legume, agroecology, functional approach, ecosystem service, winter oilseed rape