Étude de l'impact des haies sur les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols de prairies du premier plateau du Doubs

SYNTHESE DES TRAVAUX REALISES DE 2021 A 2024



Séverine Le Bot Humblot - Emilie Gras - Didier Tourenne
CHAMBRE INTERDEPARTEMENTALE D'AGRICULTURE | 130 BIS RUE DE BELFORT 25000 - BESANÇON BP 939

Initiative « biodiversité »

de l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse

« Programme de restauration de la trame verte et bleue et évaluation du rôle des haies sur la biodiversité et la ressource en eau à l'échelle du département du Doubs, 2020-2024 »

Projet porté par la Fédération Départementale des Chasseurs du Doubs (FDC25) en partenariat le Parc Naturel Régional du Doubs horloger, le Laboratoire de Sociologie et d'Anthropologie, Interbio Franche Comté, la fondation Yves Rocher, l'Afac-Agroforesterie et la Chambre Inter-départementale d'Agriculture Doubs-Territoire de Belfort.

Remerciements

Les rédacteurs de l'étude tiennent à remercier particulièrement le docteur Armelle Golotte des laboratoires Lara-Spiral qui a largement contribué à la réflexion et à l'articulation des protocoles au cours des 4 ans d'études. Les nombreux échanges ont été extrêmement enrichissants et ont permis de mettre en forme des protocoles adaptés et d'avancer sur la compréhension du fonctionnement de nos sols. Merci pour sa disponibilité et sa capacité de partage, notamment avec notre stagiaire Margot Hiez. Ce fut une aventure humaine et scientifique passionnante.

Un grand merci aux agriculteurs, Emilien Claudepierre du Gaec des Chaudières, Gilles Maréchal du Gaec du Carrefour, Guillaume Grandjean du GAEC des Maisonnettes du Couchant et Manuel Canivarello du Gaec des Lancines qui nous ont accueillis sans restriction sur leurs parcelles et nous ont accordé leur confiance.

Un grand merci à nos collègues qui ont montré une grande disponibilité et un vrai enthousiasme lorsque nous les sollicitions pour les comptages de vers de terre. Leur dynamique et leur bonne humeur ont été la source de journées terrain bien remplies dans une ambiance studieuse et joyeuse.

Parmi les collègues associés à ce programme d'études, nous tenons à remercier plus particulièrement :

- Bénédicte Lunet, ingénieur forestier, qui a participé au relevé GPS des essences forestières des haies et a réalisé les travaux cartographie sous SIG des données de l'étude,
- Jean-Marie Curtil, référent fourrage, qui a participé aux relevés floristiques des prairies suivies en bordure des haies,
- Christian Barnéoud, pédologue à la Chambre Régionale d'Agriculture BFC, qui a réalisé les 4 fosses pédologiques et descriptions des profils des prairies suivies,

Cette étude a servi de support pédagogique pour l'accueil de stagiaires, notamment Margot Hiez étudiante à l'ENSAT agro Toulouse. Merci à Margot pour sa confiance, sa capacité à intégrer l'équipe et ses réflexions et son travail qui ont contribué à la rédaction du rapport final.

Cette étude a également servi de support pédagogique auprès d'une classe d'étudiants en BAC pro du Lycée Granvelle de Dannemarie sur Crête, encadrée par leur professeur d'agronomie, Monsieur Raphaël Samper. Ils ont apporté un appui précieux dans le cadre d'une journée de comptage de vers de terre.

Table des matières

I. Introduction 15
1. Contexte général 15
2. L'appel à projet initiative « Biodiversité » 15
II. Contexte de l'étude 17
3. Contexte géographique et agricole 17
a. Territoire de l'étude 17
b. Bassin versant 18
4. Contexte géologique 18
5. Contexte météorologique 20
a. Pluviométrie et températures 20
B. BILAN HYDRIQUE 23
III. Données générales 27
1. La haie, l'arbre, la flore 27
a. La Haie 27
b. L'arbre 29
c. La flore des prairies 31
2. La fertilité des sols 32
a. La fertilité physique 35
b. La fertilité chimique 35
c. La fertilité biologique 41
3. La conductivité électrique du sol (CE) : 47
4. Analyse et méthode 50
a. Critères de sélection des haies 50
b. Identification des parcelles et localisation des haies 51
c. Localisation des zones d'étude sur les 4 haies 52
d. Diagnostic agroforestier des haies 53
e. Méthodologie de collecte des données 68
f. Pratiques des éleveurs sur les prairies sélectionnées 69
g. Caractérisation floristique des prairies des zones étudiées 72
h. Caractérisation des sols des zones étudiées 77
IV. Résultats 86
1. Approche agronomique 86
a. Pousse de l'herbe 86
b. Analyses des indices de nutrition iP iK de l'herbe 92

2. Approche physico chimique 96
a. Humidité du sol 96
b. Analyses de la matière organique, de la biomasse microbienne et de la minéralisation du carbone et de l'azote 101
3. Approche biologique et écologique 109
a. Identification et quantification des vers de terre 109
b. Mycorhizes et microbiome 114
V. Synthèse des résultats 122
1. Principaux résultats de la mycorhization et microbiome 122
2. Principaux résultats de la partie agronomique 125
VI. Conclusion générale 133
1. Potentiels et enjeux des haies pour les prairies 133
2. Vers un modèle agroforestier cohérent : recommandations 134
3. Perspectives 135
VII. Bibliographie 137
VIII. Annexes 141
1. Tableau de synthèse des analyses réalisées 141
2. Analyses réalisées et organismes liés 142
3. Les services rendus par la haie 144
4. Etudes de conductivité 146
a. Bolandoz 146
b. Lizine Grand 147
c. Lizine Petit 148
d. Cademène 149
5. Synthèse du bilan agroforestier 150
6. Profils pédologiques 151
7. Boîte à outil pour réussir sa Haie 155
8. Plan de Gestion Durable des Haies 157
9. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes, Laboratoires Spiral (2021) 159
10. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes, Laboratoires Spiral (2022). 170
..... 170
11. Rapport annuel : synthèse des résultats des analyses de 2021 et 2022, Laboratoires Spiral. 176
12. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes, Laboratoires Spiral (2023). 185
13. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes, Laboratoires Spiral (2023). 195
..... 195

14. Rapport d’analyses portant sur le microbiome Laboratoires Spiral (2023). 201
15. Rapport d’analyses portant sur les mycorhizes , Laboratoires Spiral (2024).....211
16. Rapport microbiome Laboratoires Spiral 2024..... 217
17. Rapport annuel, Laboratoires Spiral (2024)..... 224

Tables des illustrations

Figure 1 : localisation des 4 parcelles retenues pour l'étude de l'impact des haies. 17
Figure 2 : localisation, altitude et photographie des 4 haies de l'étude. 17
Figure 3: couches géologiques présentes à Lizine et Cademène 19
Figure 4: couches géologiques présentes sur le site d'étude à Bolandoz 19
Figure 5 : pluviométrie et températures moyennes mensuelles à Coulans-sur-Lison en 2021 et données historiques disponibles. 20
Figure 6 : pluviométrie et températures moyennes mensuelles à Coulans-sur-Lison en 2022 et données historiques disponibles. 21
Figure 7 : pluviométrie et températures moyennes mensuelles à Coulans-sur-Lison en 2023 et données historiques disponibles. 22
Figure 8 : pluviométrie et températures moyennes mensuelles à Coulans-sur-Lison en 2024 et données historiques disponibles. 22
Figure 9 : bilan hydrique simplifié (P-ETP appliqué à un sol de 90 cm avec une RU de 120 mm) pour Coulans-sur-Lison pour le cycle hydrologique du 01/09/2020 au 31/08/2021. 23
Figure 10 : bilan hydrique simplifié (P-ETP appliqué à un sol de 90 cm avec une RU de 120 mm) pour Coulans-sur-Lison pour le cycle hydrologique du 01/09/2021 au 31/08/2022. 24
Figure 11 : bilan hydrique simplifié (P-ETP appliqué à un sol de 90 cm avec une RFU de 120 mm) pour Coulans-sur-Lison pour le cycle hydrologique du 01/09/2022 au 31/08/2023. 25
Figure 12 : bilan hydrique simplifié (P-ETP appliqué à un sol de 90 cm avec une RFU de 120 mm) pour Coulans-sur-Lison pour le cycle hydrologique du 01/09/2023 au 31/08/2024. 26
Figure 13: les services écosystémiques rendus par les haies (source : « Haie Hop je Plante » Collectif Conseillers agroforestiers des Chambres d'Agriculture de BFC 29
Figure 14: Différence anatomique entre le chêne et le hêtre, Anatomie du bois » MC Trouy Editions QUAE 30
Figure 15: saisonnalité du fonctionnement physiologique de l'arbre (source : SLBH, CIA 25/90) 30
Figure 16 : photosynthèse et interactions mycorhiziennes de l'arbre (source : SLBH) 31
Figure 17: les piliers de la fertilité des sols et rôle de la MO (source : https://www.terreom.fr/post/mesurer-fertilite-sol) 33
Figure 18: La matière organique et le sol (source : Chenu et Banabane, 2011, https://www.terreom.fr/post/mesurer-fertilite-sol) 34
Figure 19: Fonctionnement des sols prairiaux (source : CIA 25/90) 35
Figure 20 : le cycle de l'azote à l'échelle de la parcelle agricole (source : site internet de l'UNIFA). . 37
Figure 21: cycle de l'azote dans un système forestier, Dynamiques saisonnières des réserves carbonées et azotées chez le chêne sessile (Quercus petraea) et le hêtre (Fagus sylvatica) adultes. Rana EL ZEIN (Rennenberg et al. 2010) 39
Figure 22: cycle de l'azote dans un système agroforestier, Dynamiques saisonnières des réserves carbonées et azotées chez le chêne sessile (Quercus petraea) et le hêtre (Fagus sylvatica) adultes. Rana EL ZEIN (Rennenberg et al. 2010) 40
Figure 23 : classification de la faune du sol selon sa taille (source : https://www.encyclopedie-environnement.org/sol/biodiversite-sols/) 41
Figure 24 : les trois catégories de vers de terre (illustration : EcoBioSoil Rennes). 42
Figure 25 : Schéma et photographie à la loupe binoculaire de la structure des endomycorhizes ou mycorhizes à arbuscules (B) et des ectomycorhizes (C). D'après « Les mycètes dans les écosystèmes » (https://www.svt-tanguy-jean.com). 44

Figure 26 Rôle des microorganismes et de la faune du sol dans les cycles géochimiques et la nutrition des plantes. Source : https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/nourrir-plantes-polluant-moins/ 45
Figure 27: interactions au sein du microbiome du sol (Impacts directs et indirects de la faune du sol sur la production primaire dans les agroécosystèmes (Zwicke,n 2021). 47
Figure 28 : carte de la conductivité à Bolandoz. 48
Figure 29 : carte de la conductivité à Lizine Grand. 48
Figure 30 : carte de la conductivité à Lizine Petit. 49
Figure 31 : carte de la conductivité à Cademène. 49
Figure 32 Localisation des zones d'étude des 4 haies 51
Figure 33 : carte de localisation de la zone d'étude Bolandoz 52
Figure 34 : carte de localisation de l'étude Lizine Grand 52
Figure 35 : carte de localisation zone d'étude Lizine Petit 53
Figure 36 : carte de localisation zone d'étude Cademène 53
Figure 37 : carte de relevé des essences de la haie de Bolandoz (extrait). 54
Figure 38 : Bolandoz - répartition des plants par essence 55
Figure 39 : photographie de la haie de Bolandoz en mars 2021 55
Figure 40 : carte de relevé des essences de la haie de Lizine Grand (extrait). 56
Figure 41 : Lizine Grand- répartition des plants par essence 56
Figure 42 : photographie haie de Lizine Grand mai 2021 57
Figure 43 : carte de relevé des essences de la haie de Lizine Petit (extrait) 57
Figure 44 Lizine Petit-répartition des plants par essence 58
Figure 45 : photographie de la haie de Lizine Petit en septembre2021 58
Figure 46 : carte de localisation des essences Cademène (extrait) 59
Figure 47Cademène-répartition des plants par essence 59
Figure 48 : photographie de la haie de Cademène en juillet 2024 60
Figure 49 : Bolandoz - répartition hauts jets, cépées/fruitiers, buissonnants, semi-ligneux 61
Figure 50 : Lizine Grand répartition hauts jets, cépées/fruitiers, buissonnants, semi-ligneux 61
Figure 51 : Lizine Petit répartition hauts jets, cépées/fruitiers, buissonnants, semi-ligneux 62
Figure 52 : Cademène répartition hauts jets, cépées/fruitiers, buissonnants, semi-ligneux 62
Figure 53 : carte de la localisation des types de mycorhize des ligneux et des zones de prélèvements à Bolandoz 63
Figure 54 Bolandoz répartition types de mycorhizes des essences de la haie 64
Figure 55 : carte de la localisation des types de mycorhize des ligneux et des zones de prélèvements à Lizine Grand 64
Figure 56 : Lizine Grand répartition types de mycorhizes des essences de la haie 65
Figure 57 : carte de la localisation des types de mycorhize des ligneux et des zones de prélèvements à Lizine Petit 65
Figure 58 : Lizine petit - répartition types de mycorhizes des essences de la haie 66
Figure 59 : carte de la localisation des types de mycorhize des ligneux et des zones de prélèvements à Cademène 66
Figure 60 : Cademène - répartition types de mycorhizes des essences de la haie 67
Figure 61: schéma de localisation des transects de mesure. 69
Figure 62 : proportion des espèces prairiales présentes à Bolandoz selon la distance à la haie 73
Figure 63 : composition relative des espèces présentes à Bolandoz selon la distance à la haie 73
Figure 64 : proportion des espèces prairiales présentes à Lizine Grand selon la distance à la haie 74
Figure 65 : composition relative des espèces présentes à Lizine Grand selon la distance à la haie 74

Figure 66 : proportion des espèces prairiales présentes à Lizine Petit selon la distance à la haie..... 75
Figure 67 : composition relative des espèces présentes à Lizine Petit selon la distance à la haie..... 75
Figure 68 proportion des espèces prairiales présentes à Cademène selon la distance à la haie 76
Figure 69 : composition relative des espèces présentes à Cademène selon la distance à la haie 76
Figure 70 : Prélèvement des échantillons de sol pour mesure de la densité apparente, avec la méthode des cylindres à Cademène le 8 juillet 2021 80
Figure 71 : densité apparente et porosité des sols par site d'étude et par distance à la haie en 2021.... 81
Figure 72 : densité apparente et porosité des sols par site d'étude et par distance à la haie en 2024.... 82
Figure 73 : reliquats azotés par site, par date et par distance à la haie des 4 prairies étudiées..... 83
Figure 74 : part de l'azote minéral sous forme de nitrates ou d'ammonium selon les sites et la distance à la haie, en moyenne sur toutes des données des reliquats azotés. 84
Figure 75 gradients des pousses de l'herbe..... 86
Figure 76 : évolution mensuelle des hauteurs d'herbe (en cm) à Bolandoz de 2021 à 2024. 86
Figure 77 : hauteur d'herbe (en cm) moyenne annuelle à Bolandoz, orientation SO (gauche) et NE (droite)..... 87
Figure 78 : évolution mensuelle des hauteurs d'herbe (en cm) à Lizine Grand de 2021 à 2024..... 87
Figure 79 : hauteur d'herbe (en cm) moyenne annuelle à Lizine Grand, orientation SO (gauche) et NE (droite)..... 88
Figure 80 : évolution mensuelle des hauteurs d'herbe (en cm) à Lizine Petit de 2021 à 2024. 88
Figure 81 : hauteur d'herbe (en cm) moyenne annuelle à Lizine Petit, orientation SO (gauche) et NE (droite)..... 89
Figure 82 : évolution mensuelle des hauteurs d'herbe (en cm) à Cademène de 2021 à 2024..... 89
Figure 83 : hauteur d'herbe (en cm) moyenne annuelle à Cademène, orientation SO (gauche) et NE (droite)..... 90
Figure 84 : distances et hauteurs d'herbe influencées par une prairie d'orientation Ouest-Est à Montmahoux, mesurées le 14 septembre 2020. 91
Figure 85 : évolution des indices de nutrition phospho-potassique à Bolandoz, mesurés dans la prairie, côté Sud-Ouest. 93
Figure 86 : évolution des indices de nutrition phospho-potassique à Bolandoz, mesurés dans la prairie, côté Sud-Ouest. 93
Figure 87 : évolution des indices de nutrition phospho-potassique à Lizine Petit, mesurés dans la prairie, côté Sud-Ouest. 94
Figure 88 : évolution des indices de nutrition phospho-potassique à Bolandoz, mesurés dans la prairie, côté Sud-Ouest. 94
Figure 89 : photographies de la surface de sol à 2 m, 5 m et 20 m de la haie de Cademène le 8 juillet 2021 montrant la présence de nombreuses feuilles d'arbre fragmentées et en décomposition à 2 et 5 m de la haie et leur absence à 20 m. 95
Figure 90 gradient des variations d'humidité du sol..... 96
Figure 91 : évolution mensuelle de l'humidité du sol à Bolandoz de 2021 à 2024..... 97
Figure 92 : évolution annuelle de l'humidité du sol selon la distance et l'orientation de la haie..... 97
Figure 93 : évolution mensuelle de l'humidité du sol à Lizine Grand de 2021 à 2024..... 98
Figure 94 : évolution annuelle de l'humidité du sol à Lizine Grand selon la distance et l'orientation de la haie. 98
Figure 95 : évolution mensuelle de l'humidité du sol à Lizine Petit de 2021 à 2024. 99
Figure 96 : évolution annuelle de l'humidité du sol à Lizine Petit selon la distance et l'orientation de la haie. 99
Figure 97 : évolution mensuelle de l'humidité du sol à Cademène de 2021 à 2024. 100

Figure 98 : évolution annuelle de l'humidité du sol à Cademène selon la distance et l'orientation de la haie. 100
Figure 99horizons du sol de la parcelle de Bolandoz 105
Figure 100 : évolution de la biomasse microbienne entre 2022 et 2024 par site et par distance à la haie pour l'horizon 0-20 cm (à gauche) et l'horizon 20-40 cm (à droite). 106
Figure 101 : répartition des effectifs de vers de terre en 2022 à 2 m (gauche), 5 m (milieu) et 20 m (droite) des haies 4 sites suivis. 110
Figure 102 : répartition des effectifs de vers de terre en 2023 à 2 m (gauche), 5 m (milieu) et 20 m (droite) des haies 4 sites suivis. 110
Figure 103 : répartition des effectifs de vers de terre en 2024 à 2 m (gauche), 5 m (milieu) et 20 m (droite) des haies 4 sites suivis. 111
Figure 104 : évolution du nombre de vers de terre par m² de 2023 à 2024 par site et par distance à la haie. 112
Figure 105 : poids moyens des vers de terre par placette, exprimés en T de vers de terre par ha, par année, par site et par distance des haies. 113
Figure 106 : matrice de corrélation entre les taux de mycorhization moyens de chaque parcelle et les propriétés phisico-chimiques des sols (S) et des épandages (E) de 2021, ainsi que les propriétés biologiques des sols. 123
Figure 107 : illustration de l'impact du microbiome sur le phosphore disponible dans le sol à Cademène. 124
Figure 108 : fonctionnement de la parcelle de Bolandoz à la suite d'une période pluvieuse très excédentaire. 125

Tables des tableaux

Tableau 1: exploitations agricoles sur les zones étudiées (source : CIA 25/90, 2024) 18
Tableau 2 Caractéristiques météorologiques 2020/2024 20
Tableau 3 bilans hydriques 2020/2024 26
Tableau 4 Exemple de mycorhizes formées par des espèces végétales présentes dans les haies et les prairies. 44
Tableau 5 récapitulatif des critères de sélection des haies 50
Tableau 6 identification des haies étudiées 51
Tableau 7 synthèse du bilan agroforestier 67
Tableau 8 Pratiques des éleveurs sur les prairies sélectionnées 69
Tableau 9 Pratiques de l'exploitant sur la parcelle de Bolandoz 70
Tableau 10 Pratiques de l'exploitant sur la parcelle de Lizine Grand 71
Tableau 11 Pratiques de l'exploitant sur la parcelle de Lizine petit 71
Tableau 12 Pratiques de l'exploitant sur la parcelle de Cademène 72
Tableau 13 : nombre d'espèces prairiales identifiées par site et par distance à la haie. 77
Tableau 14 description des sols des parcelles étudiées 77
Tableaux 15 : analyses physico-chimiques initiales des sols situés dans les prairies à 2 m, 5 m et 20 m des haies étudiées 78
Tableau 16 : analyses chimiques en 2024 des sols situés dans les prairies à 2 m, 5 m et 20 m des haies étudiées 80
Tableau 17 analyses initiales du fractionnement de la matière organique des sols (0-20 cm) situés dans les prairies à 2 m, 5 m et 20 m des haies étudiées (Celesta'lab 2022) 101

Tableau 18 analyses finales du fractionnement de la matière organique des sols situés dans les prairies à 2 m, 5 m et 20 m des haies étudiées (Celesta'lab 2024)..... 103
Tableau 19 analyses initiales à 0-20 cm de la biomasse microbienne et des éléments minéraux qui y sont stockés (Celesta'lab 2022)..... 104
Tableau 20 104
Tableau 21 analyses finales de la biomasse microbienne et des éléments minéraux qui y sont stocké (Celesta'lab 2024) 104
Tableau 22 analyses initiales à 0-20 cm de la minéralisation du carbone et de l'azote par l'activité microbienne (Celesta'lab 2022). 107
Tableau 23 analyses finales à 0-20 cm de la minéralisation du carbone et de l'azote par l'activité microbienne (Celesta'lab 2024). 108
Tableau 24 nombre de vers de terres par m² par site et par distance à la haie en moyenne sur 3 ans. Moyenne des effectifs et moyenne des poids en T/ha 112
Tableaux 26: Synthèse des rapports d'étude mycorhizes/ microbiome du Laboratoire Spiral 2021/2022 114
Tableau 27 Synthèse des rapports d'étude mycorhizes/ microbiome du Laboratoire Spiral 2023/2024 116
Tableau 27 : résumé des principaux effets des 4 haies étudiées sur les propriétés agronomiques et pédologiques des prairies. 130
Tableau 28 : observations transversales et spatiales..... 131

Index

Argile : terme désignant soit un minéral formé de cristaux microscopiques disposés en feuillets, soit une roche composée pour l'essentiel de ces minéraux.

Auxiliaire de culture : Organisme vivant, souvent arthropode ou micro-organisme, qui contribue à la protection des cultures en régulant naturellement les populations de bioagresseurs ou en favorisant la croissance des plantes.

Biodiversité : terme générique et complexe utilisé pour définir la richesse génétique, spécifique ou écosystémique que l'on trouve à l'échelle de la planète, d'un territoire ou d'un écosystème.

Capacité d'échange cationique (CEC) : quantité totale de cations qu'un sol peut absorber par échanges cationiques, en raison de l'existence de charges négatives sur certains de ses constituants : charges fixes des argiles ou charges variables (en fonction du pH) dues à la rupture du réseau cristallin des argiles, ou portées par la matière organique du sol.

Cépée : la *cépée* désigne un arbre ou un arbuste dont l'ensemble des tiges sortent d'une seule souche ou de troncs partant d'une seule souche d'arbre. Les cépées d'arbres les plus courantes sont les érables champêtres, les charmes, les saules… Pour les buissons, les plus courants sont le noisetier, le prunelier,….

Complexe argilo-humique : le niveau élémentaire d'associations entre les constituants organiques et minéraux.

Doline : dépression circulaire à la surface des plateaux calcaires, creusée par dissolution en surface ou marquant la présence d'un réseau karstique de profondeur dont le plafond s'est localement effondré.

Ecosystème : Système formé par un environnement (biotope) et par l'ensemble des espèces (biocénose) qui y vivent, s'y nourrissent et s'y reproduisent.

Éléments assimilables : éléments pouvant être prélevé par les plantes cultivées pendant la durée d'un cycle cultural

Éléments biodisponibles : fraction des éléments que les organismes vivants dans les sols peuvent prélever.

Fruitier : arbre dans la haie composant l'étage intermédiaire avec les cépées d'arbustes. La plupart des fruitiers dans les haies sont des fruitiers sauvages (pommier et poiriers sauvages, merisiers…)

Grande(s) culture(s) : terme regroupant les céréales, oléagineux, protéagineux et les principales cultures industrielles (betterave essentiellement)

Haut-jet : Le haut-jet est un arbre de franc-pied présentant un axe unique : le tronc. Les essences forestières sont les haut-jets dans les haies (chêne, tilleul, noyer….). Adultes, les hauts-jets sont les arbres les plus hauts de la haie.

Humus : fraction des matières organiques du sol transformées par voie biologique et chimique, sans organisation biologique identifiable à l'œil nu.

Horizon du sol : couche distincte dans le profil vertical d'un sol, caractérisé par des propriétés physiques, chimiques et biologiques spécifiques qui résultent de processus de formation du sol tels que l'altération des roches, l'accumulation de matière organique, et le lessivage des minéraux. Les horizons se forment sous l'influence de facteurs tels que le climat, la végétation, le relief, le temps et les organismes vivants.

Hyphe: filament multicellulaire constitué de cellules allongées, formant l'unité de base du mycélium des champignons.

Karst : terme issu de la région du Karst dans les Balkans et désignant les formes du relief de surface ou de profondeur (grottes) issues de l'action de dissolution de l'eau sur des roches solubles (roches calcaires ou évaporites).

Lapies (ou lapié, lapiez, lapiaz) : zone de la surface d'un plateau calcaire creusé de cannelures

ou de rigoles, larges d'un centimètre à 1 mètre, séparée par des lames tranchantes ou arrondies.

Marne : roche sédimentaire constituée d'un mélange de calcaire et d'argile (pour 35 à 65 %), formant la transition entre les calcaires marneux (5 à 35 % d'argile) et les marnes argileuses (65 à 95% d'argile).

Marno-calcaire : alternance régulière de bancs décimétriques de calcaires et de marnes, dans une période géologique.

Microporosité : c'est la porosité très fine où les forces de capillarité suffisent à s'opposer à l'entraînement de l'eau par la pesanteur seule. La taille maximale habituelle est de l'ordre de 6 µm. Elle est généralement correctement corrélée à la teneur en particules fines (limons fins et argiles).

Microbiome : désigne l'ensemble des microorganismes (bactéries, champignons, virus, archaea, protozoaires) vivant dans le sol, ainsi que leurs interactions et leur matériel génétique. Il joue un rôle fondamental dans la fertilité des sols, le cycle des nutriments (azote, carbone, phosphore), la décomposition de la matière organique et la santé des plantes en favorisant la symbiose et en limitant les pathogènes.

Mycorhizes : associations symbiotiques entre des champignons du sol et les racines des plantes. Elles facilitent l'absorption de l'eau et des nutriments, notamment le phosphore et l'azote, en échange de sucres produits par la photosynthèse. Cette interaction joue un rôle clé dans la fertilité des sols, la résilience des plantes face aux stress abiotiques et la structuration des écosystèmes

OPVT : Observatoire Participatif des Vers de Terre, de l'Université de Rennes

Phytoremédiation : ensemble des procédés utilisant l'action des plantes en vue de la réduction des risques liés à la présence de substances toxiques dans les sols.

Porosité : volume d'une entité de la couverture pédologique (agrégat, motte, horizon, etc.) qui n'est pas occupé par des constituants solides. C'est aussi le pourcentage de volume de sol occupés par des vides.

Prairies permanentes : définition PAC : surface sur lesquellles les plantes fourragères herbacées prédonominent depuis 5 années révoluent au moins (selon la septième déclaration de la PAC, 2023). Définition écologique : communautés végétales composées de plantes spontanées et dominées par les espèces herbacées, et dans lesquelles les espèces ligneuses (arbustes et arbres) sont absenes ou peu présentes .

Résilience : capacité d'un écosystème, d'un habitat, d'une population, ou d'une espèce à retrouver un fonctionnement et un développement normal après avoir subi une perturbation importante

Rhizophage : organisme, souvent un insecte ou un nématode, qui se nourrit des racines des plantes, pouvant ainsi affecter leur croissance et leur santé

Rhizoparasite : organisme vivant, souvent un champignon ou un nématode, qui établit une relation parasitaire avec les racines des plantes, en prélevant leurs ressources au détriment de leur développement.

Services écosystémiques : avantage matériel (production de bien consommables, autoépuration des eaux, pollinisation.) ou immatériel (activités récréatives ou culturelles) que l'homme retire des écosystèmes. Ces services sont dus à des processus naturels.

Sol : formation superficielle issue de l'altération de la roche sous-jacente ; le sol est fréquemment enrichi par des apports externes (colluvions à la base d'un versant, débordement d'un cours d'eau, apports éoliens) et comporte une fraction significative de matière organique liée au développement animal et végétal. Ce terme s'oppose à celui de "sous-sol" qui désigne les terrains du substrat sur lequel repose le sol.

Structure : résultat de l'organisation, du mode d'assemblage, à un moment donné, des constituants solides d'un horizon, considéré à un certain niveau d'observation : les agrégats, les micro-agrégats, les particules élémentaires. Elle se

caractérise par la disposition spatiale, la nature et l'intensité des liens entre ces éléments, tels qu'ils existent principalement au sein des agrégats présents dans les divers horizons de la couverture pédologiques.

Symbionte : organisme vivant engagé dans une relation symbiotique durable avec un autre organisme, les deux partenaires tirant généralement un bénéfice mutuel de cette association

Transect : ligne virtuelle ou physique que l'on met en place pour étudier un phénomène.

Abréviations

AAP : Appel A Projet

AERMC : Association Européenne pour la Recherche sur les Méthodes de Culture

AOC : Appellation d'Origine Contrôlée

AOP : Appellation d'Origine Protégée

CAH : Complexe argilo-humique

CEC : Capacité d'Echange Cationique

CGET : Commissariat Général à l'Egalité des Territoires

CRPF : Centre Régionale de la Propriété Forestière

CIA 25/90 : Chambre Interdépartementale d'Agriculture du Doubs et du Territoire de Belfort couvrant les départements 25 (Doubs) et 90 (Territoire de Belfort)

DA : Densité Apparente

DRAAF : Direction Régionale de l'Alimentation de l'Agriculture et de la Forêt

FDC 25 : Fédération Des Chasseurs du Doubs

GES : Gaz à effet de serre

GIEC : Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'évolution du Climat

IGP : Indication Géographique Protégée

MO : Matière organique

ONF : Office National des Forêts

OPVT : Observatoire Participatif des Vers de Terre, Université de Rennes

PAC : Politique Agricole Commune

SADEF : Société d'Aménagement et de Développement des Espaces Forestiers

SIG : Système d'Information Géographique

I. Introduction

1. Contexte général

Le XXIe siècle, marqué par la révolution verte, a entraîné des transformations profondes des territoires agricoles. Depuis les années 1950, l'agriculture française a connu des évolutions significatives, en grande partie influencées par la Politique Agricole Commune (PAC) et les impératifs du marché. Ces mutations ont conduit à une intensification des modes de production, à une spécialisation accrue des exploitations et à une diminution du nombre d'exploitations, au profit du développement de structures beaucoup plus grandes (*Clergue et al. 2005*). Parallèlement, les avancées techniques ont permis l'adoption d'outils performants, favorisant ainsi l'augmentation des rendements. Cette dynamique a engendré une expansion considérable des surfaces cultivées, ainsi qu'une simplification et un raccourcissement des rotations de cultures (*Stoate et al. 2001*). Les politiques de remembrement, soutenues par la PAC, ont également contribué à la disparition des haies, considérées comme des obstacles à la mécanisation.

Cependant, cette intensification agricole a entraîné des conséquences notables. L'utilisation massive d'intrants chimiques, la mécanisation du travail et la transformation des paysages ont engendré des impacts préoccupants, tels que l'érosion de la biodiversité dans les territoires agricoles, la détérioration de la qualité et de la structure des sols, ainsi que la pollution de l'air et de l'eau *(Billeter et al. 2008 ; Clergue et al. 2005 ; C Stoate et al. 2001*).

En parallèle, depuis le début de l'ère pré-industrielle, le monde est confronté au dérèglement climatique. Les émissions de gaz à effet de serre (GES) d'origine anthropique ont provoqué des concentrations atmosphériques sans précédent depuis au moins 800 000 ans (*CITEPA 2024*). Ces émissions ont affecté l'ensemble du système climatique et sont la principale cause du réchauffement global observé depuis le milieu du XXe siècle *(Calvin et al. 2023*). Les conséquences sont multiples, notamment l'augmentation de la fréquence et de l'intensité des épisodes météorologiques extrêmes, tels que les inondations et les sécheresses, qui impactent directement le secteur agricole. Ce dernier doit faire face à deux défis majeurs : l'atténuation du changement climatique et l'adaptation, nécessitant une résilience accrue des systèmes agricoles.

Contrairement aux années 1970, les haies bénéficient aujourd'hui d'une protection accrue dans le milieu agricole, notamment grâce aux réformes de la PAC de 2015. Les haies champêtres jouent un double rôle crucial : elles agissent comme des puits de carbone naturel (*Merot 1999*), et influencent positivement l'ombrage (*INRAe 2022*), la biodiversité (*Lecq et al. 2017*), et la lutte contre l'érosion (*Lacoste et al. 2016*). De plus, elles impactent les flux hydriques (*Merot 1999*). Toutefois, le rôle des haies dans les cycles chimiques et leurs effets sur les propriétés physiques et biologiques des sols nécessitent une étude plus approfondie, notamment à l'échelle locale du Doubs. À ce jour, peu d'études se sont spécifiquement intéressées aux sols calcaires et karstiques. De surcroît, dans un contexte de sécheresses répétées, les haies champêtres sont parfois perçues comme une concurrence à la production agricole. Acquérir des références locales dans ce domaine serait bénéfique pour orienter les conseils en matière d'implantation de haies et enrichir les argumentaires techniques destinés aux agriculteurs et aux éleveurs.

2. L'appel à projet initiative « Biodiversité »

L'appel à projet "Initiative Biodiversité" de l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse (RMC) s'inscrit dans le cadre de son 11ème programme d'intervention (2019-2024). Cet appel à projets annuel vise à soutenir des initiatives qui contribuent à la reconquête et à la préservation de la biodiversité, en particulier dans les milieux

aquatiques et terrestres des bassins Rhône-Méditerranée et Corse. Piloté par la Fédération des Chasseurs du Doubs (FDC 25), et inscrit dans le programme de restauration de la trame verte et bleue, ce projet vise à renforcer les corridors écologiques tout en développant une approche multidisciplinaire (*FDC 25 2024*). Ce projet s'inscrit également dans une initiative visant à planter 20 000 arbres champêtres pour restaurer les paysages ruraux et accroître la résilience des territoires. L'objectif est d'accompagner les agriculteurs dans leurs démarches de plantation et de préservation des haies, en fournissant des recommandations basées sur des données scientifiques robustes.

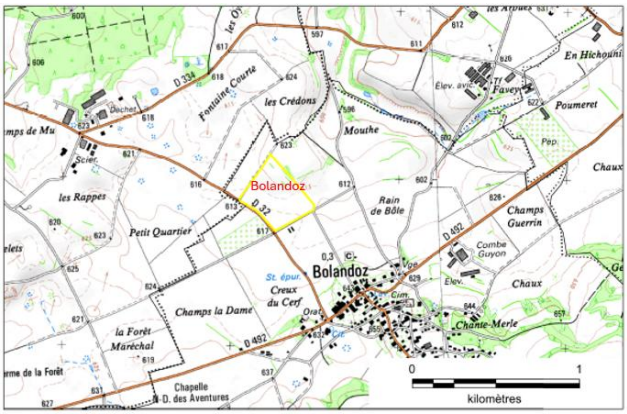
Divers partenaires se sont mobilisés pour étudier les effets des haies sur les sols, les ressources en eau et la biodiversité. Parmi eux, la Chambre Interdépartementale d'Agriculture du Doubs et du Territoire de Belfort (CIA 25/90) a apporté son expertise pour évaluer la valeur ajoutée des haies dans un contexte agricole marqué par les défis climatiques. La CIA 25/90 a entrepris une étude approfondie pour analyser et valoriser le rôle des haies sur les sols et la ressource en eau. Plus spécifiquement, cette étude, menée sur le premier plateau du massif du Jura sur prairies cherche à :

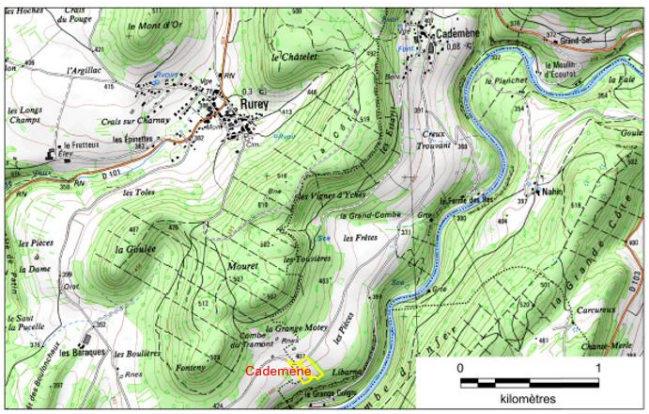
- Quantifier et qualifier l'impact des haies sur les propriétés biologiques, physiques et chimiques des sols en fonction de leur âge.
- Évaluer leur rôle dans la gestion de l'eau et leur impact sur l'humidité du sol.
- Étudier l'impact des haies sur les prairies, les sols et leur biodiversité, notamment dans un contexte d'adaptation au changement climatique.

L'approche adoptée repose sur l'analyse d'indicateurs agronomiques, pédologiques, biologiques et agroforestiers le long d'un gradient d'éloignement par rapport aux haies. Les suivis réalisés sont détaillés dans les rubriques « Données générales » et « Résultats » du présent rapport. Les types de suivi et les dates et fréquences d'analyses sont détaillés dans les Annexes 1 et 2. Quatre haies ont été sélectionnées pour cette étude, en partenariat avec la Fédération des Chasseurs du Doubs, selon leur âge :

- Trois haies implantées en 2001 (Lizine Petit), 2011 (Lizine Grand) et 2020 (Bolandoz).
- Une haie ancienne naturelle en tant que référence (Cademène).

Les 4 haies retenues se situent sur le premier plateau du massif du Jura dans le territoire du SAGE Haut-Doubs Haute-Loue, dans le sous-bassin versant Loue-Lison à des altitudes de 400 à 700 mètres : Bolandoz à une altitude de 610 m, Lizine à une altitude de 410 et 420 m, et Cademène à 440 m. Elles présentent une même orientation nord-ouest sud-est. Les cartes ci-dessous permettent de situer les haies sur fond IGN.





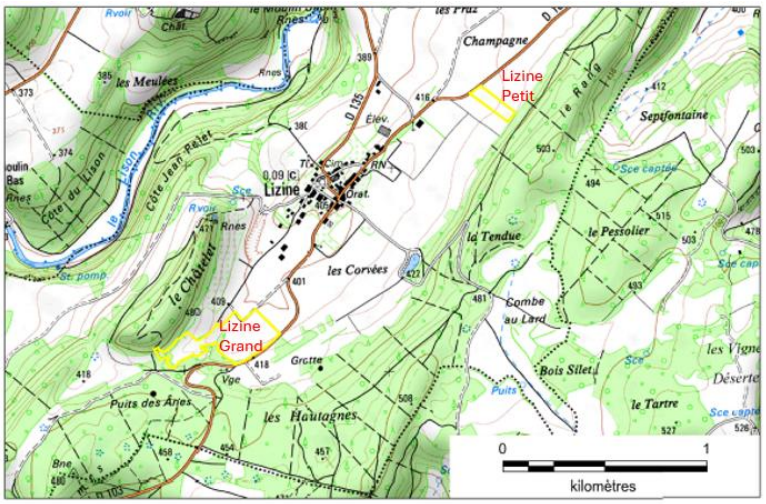


Figure 1 : localisation des 4 parcelles retenues pour l'étude de l'impact des haies.

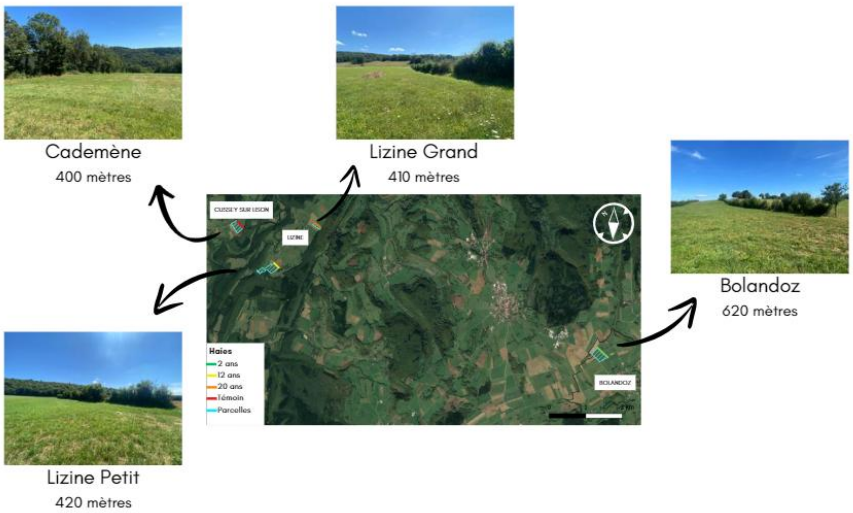


Figure 2 : localisation, altitude et photographie des 4 haies de l'étude.

II. Contexte de l'étude

3. Contexte géographique et agricole

a. Territoire de l'étude

Parmi les 6 actions prévues dans l'appel à projet, l'action 5, portée par la CIA 25/90 se situe dans le bassin versant de la Loue, sur le premier plateau du massif du Jura, plus précisément dans la Communauté de Commune Loue-Lison. Le secteur est majoritairement occupé par des forêts notamment de feuillus, et par l'agriculture (particulièrement par des prairies temporaires ou permanentes). L'agriculture est essentiellement tournée vers la production de lait sous label de qualité (AOP Comté ou Morbier).

La géologie et la pédologie de la zone influencent fortement les pratiques agricoles locales. Les prairies permanentes dominent le paysage en raison de la faible profondeur des sols et des contraintes d'utilisation.

b. Bassin versant

Les zones étudiées se situent dans le bassin versant de La Loue, de la Brême au Lison inclus. Cette unité est traversée par 2 rivières principales (*EPAGE Haut-Doubs, Haute-Loue*).

- La Loue qui est la plus importante résurgence karstique de France, et le principal affluent du Doubs, prenant sa source dans le Jura. Elle s'écoule à travers une succession de plateaux calcaires et de zones plissées du massif du Jura, avant d'atteindre la plaine alluvionnaire bressane.
- Le Lison qui est un affluent de la Loue, dans laquelle il se déverse au niveau de Lizine. C'est une rivière karstique dotée d'une grande richesse naturelle et halieutique.

Ce bassin versant est caractérisé par des paysages variés, incluant des forêts, des prairies, et des falaises calcaires. Les rivières sont souvent bordées de végétations denses, offrant des habitats pour de nombreuses espèces.

L'agriculture est une activité dominante dans le bassin versant, avec une forte présence de l'élevage bovin à vocation laitière, sous signe de qualité. Sur les 3 communes des zones étudiée, l'occupation des sols agricoles est dominée par les prairies, notamment les prairies permanentes.

Tableau 1: exploitations agricoles sur les zones étudiées (source : CIA 25/90, 2024)

	Cademène	**Lizine**	**Bolandoz**
Nombre d'exploitations	1	2	11
SAU Totale	147,06 Ha	105,86 Ha	890,75 Ha
SAU moyenne	147,06 Ha	52,93 Ha	80,98 Ha
UGB moyen	147,81	29,46	127,49

4. Contexte géologique

La géologie des zones d'étude repose essentiellement sur des formations calcaires datant du Jurassique. Ces calcaires, souvent fissurés et karstiques, jouent un rôle majeur dans la dynamique hydrologique locale, favorisant l'infiltration rapide de l'eau et le développement de réseaux souterrains. La région est également caractérisée par des dolines, des lapiaz et des grottes, témoins de l'activité karstique.

Sur les communes de Lizine et Cademène, les zones étudiées reposent sur des sols qui sont composés d'un sous-sol du callovien (voir J3 sur la figure 3) : il s'agit de la période la plus récente du jurassique moyen (ou Dogger) qui s'étend approximativement de -166 à -163 millions d'années avant notre ère. Ces couches sont principalement constituées de formations sédimentaires marines. Sur les sites étudiées la géologie révèle un profil typique de « dalle nacrée » : cette appellation provient de l'abondance de coquille que l'on retrouve dans la roche (*Bichet et Campy 2008*).

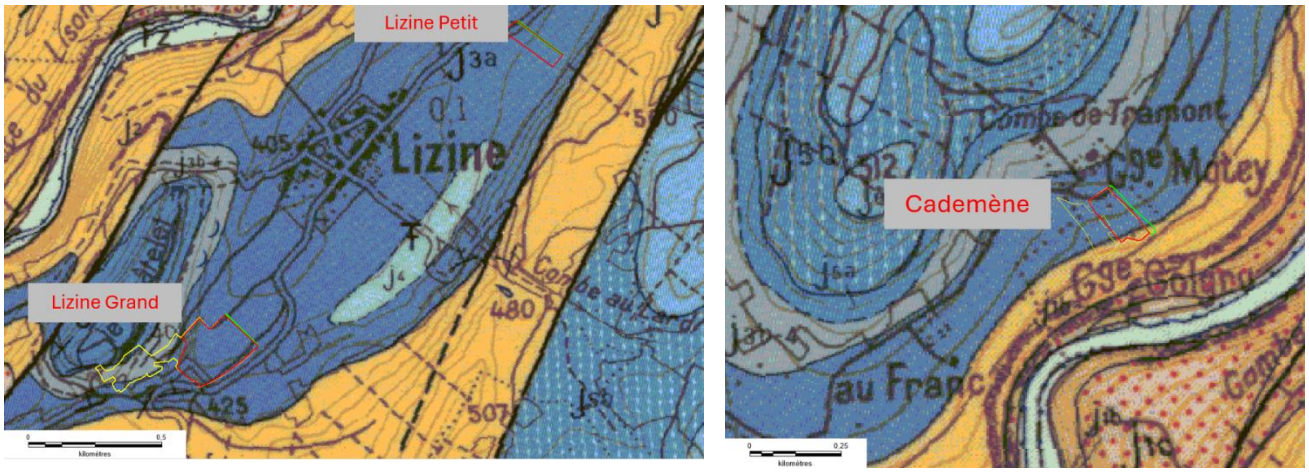


Figure 3: couches géologiques présentes à Lizine et Cademène

A Bolandoz, la zone étudiée repose sur un sous-sol du séquanien (J7b) : il s'agit d'une période du Jurassique supérieur (ou Malm). C'est le faciès calcaire marneux lité qui domine, ce qui signifie que l'on a affaire à des roches sédimentaires composées de couche calcaires régulières formants des dalles, séparées de plus fines couches de marne.

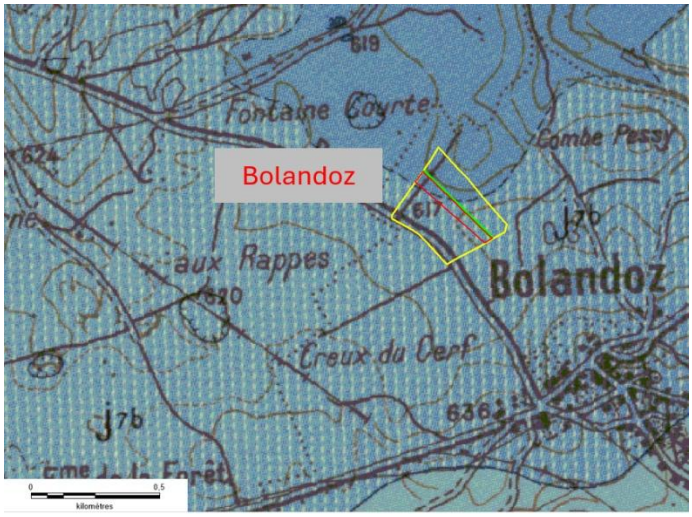


Figure 4: couches géologiques présentes sur le site d'étude à Bolandoz

5. Contexte météorologique

a. Pluviométrie et températures

La pluviométrie du secteur d'études peut être décrite par la station météorologique Météo France de Coulans-sur-Lison (468 m d'altitude) installée en 2007. La pluviométrie moyenne annuelle (2007-2024) est de 1263 mm pour une température moyenne annuelle de 10,7°C.

Le tableau ci-dessous présente les principales caractéristiques météorologiques des 4 années suivies.

Tableau 2 Caractéristiques météorologiques 2020/2024

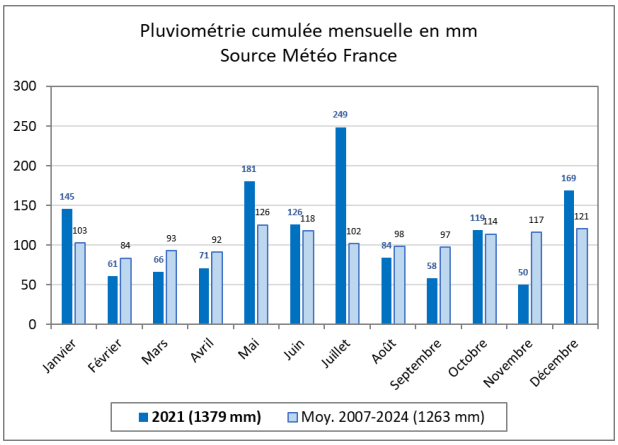
Repères météorologiques	2021	2022	2023	2024
T°moyenne annuelle	10,1°C	12,1°C	12,0°C	11,6°C
Ecart à la moyenne 2007-2024 (10,7°C)	- 0,6°C	+ 1,4°C	+ 1,3°C	+ 0,9°C
Nbre jours > 27°C	25 jours	74 jours	58 jours	47 jours
Date de franchissement des 200°C	22 février	27 février	19 février	11 février
Date de franchissement des 800°C	20 mai	12 mai	14 mai	3 mai
Cumul de précipitations	1379 mm	952 mm	1386 mm	1455 mm
Ecart à la moyenne 2007-2024 (1263 mm)	+ 9 %	- 25%	+ 10 %	+ 15 %
Caractérisation météorologique de l'année	Fraîche et pluvieuse	Très chaude et sèche	Très chaude et sèche jusqu'en septembre	Très chaude et humide

La date de franchissement des 200°C, indique le jour de l'année où la somme des températures moyennes journalières atteint 200°C cumulés, avec un calcul initialisé au 1er janvier. Cette date correspond au démarrage imminant des espèces présentes dans les prairies et sert de repère au début des apports d'engrais ou d'effluents liquides. Elle indique si les premières semaines d'une année sont plutôt froides ou chaudes.

La date de franchissement des 800°C, initialisée au 1er février, correspond au stade de fauche précoce du foin. Dans les deux cas, pour le calcul de ces seuils, les températures moyennes journalières sont plafonnées à 18°C et les températures journalières inférieurs à 0°C sont comptabilisées à 0°C.

Les graphiques ci-dessous représentent la pluviométrie et les températures mensuelles au cours de la période de l'étude, de 2021 à 2024.

2021



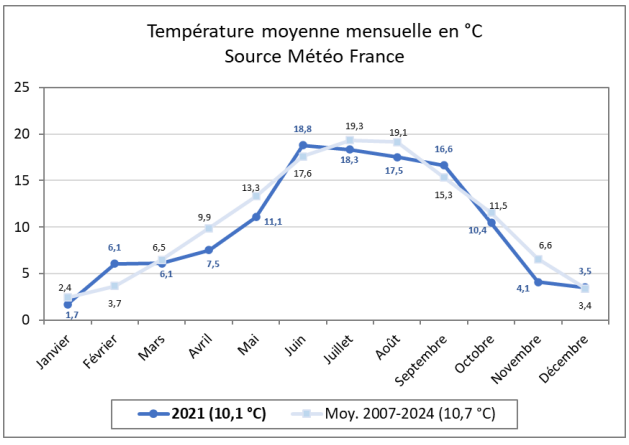


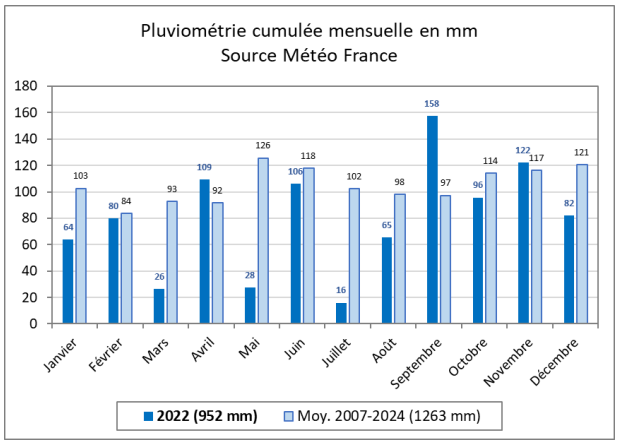
Figure 5 : pluviométrie et températures moyennes mensuelles à Coulans-sur-Lison en 2021 et données historiques disponibles.

L'année 2021 se caractérise par des précipitations excédentaires en janvier, de mai à juillet et en décembre. Les précipitations régulières, bien qu'inférieures aux moyennes, de février à avril, après les excès de janvier, ainsi que les fortes pluies de mai ont permis de soutenir la croissance de l'herbe pour le pâturage de printemps et la première coupe de foin. Au total sur l'année, les précipitations en 2021 ont été excédentaires de 9 % par rapport à la référence historique.

Dans ce contexte relativement arrosé, on constate des températures généralement inférieures ou égales à la référence historique.

Ces conditions de température, accompagnées de précipitations régulières et abondantes de mai à juillet ont favorisé la pousse de l'herbe, tant au printemps qu'en été et en automne. L'année 2021, première année de suivi du dispositif haie, peut constituer dans ces conditions, en l'absence de températures extrêmes et de longues périodes sèches, une année de référence fraîche et humide, proche des années 1980-2010 du massif du Jura.

2022



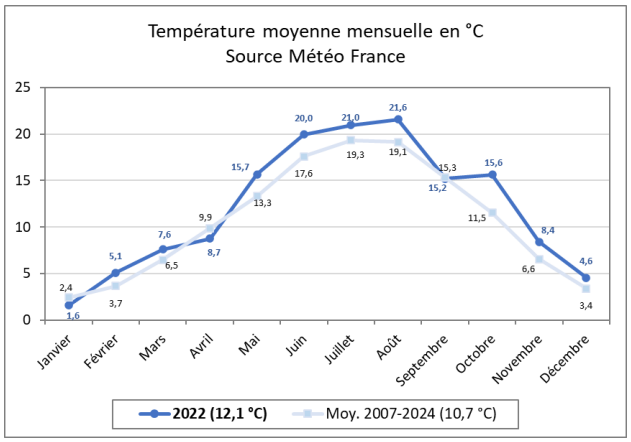


Figure 6 : pluviométrie et températures moyennes mensuelles à Coulans-sur-Lison en 2022 et données historiques disponibles.

La première moitié de l'année 2022 a connu une pluviométrie irrégulière, avec des mois de janvier, mars, mai et juillet déficitaires à très déficitaires. Les précipitations des mois de février et d'avril ont permis de soutenir la croissance des plantes et ont permis de réaliser une première coupe d'herbe satisfaisante. Les mois de juillet et d'août ont été très secs (4 mm de pluie du 4 juillet au 13 août), avec des températures très élevées de mai à août, entraînant un arrêt total de la pousse de l'herbe sur l'ensemble du massif du Jura et un dessèchement des sols et des plantes. Le retour de précipitations abondantes à partir de mi-août et jusqu'à la fin de l'année a été suivi à partir de fin septembre d'un reverdissement généralisé des prairies et d'une pousse exceptionnelle de l'herbe, induite par une forte minéralisation de l'azote des sols. Les précipitations annuelles en 2022 sont de 952 mm, ce qui correspond à un déficit de 25 % par rapport à la référence historique.

A l'exception des mois d'avril et de septembre plus arrosés, pratiquement toutes les températures moyennes mensuelles ont été supérieures ou proches des températures moyennes historiques. La température moyenne annuelle a été de 12,1°C, ce qui est très supérieur à la référence historique.

Cette année 2022 est l'année la plus chaude des quatre années de suivi et constitue une référence chaude et sèche (de mars à août) pour le projet.

2023

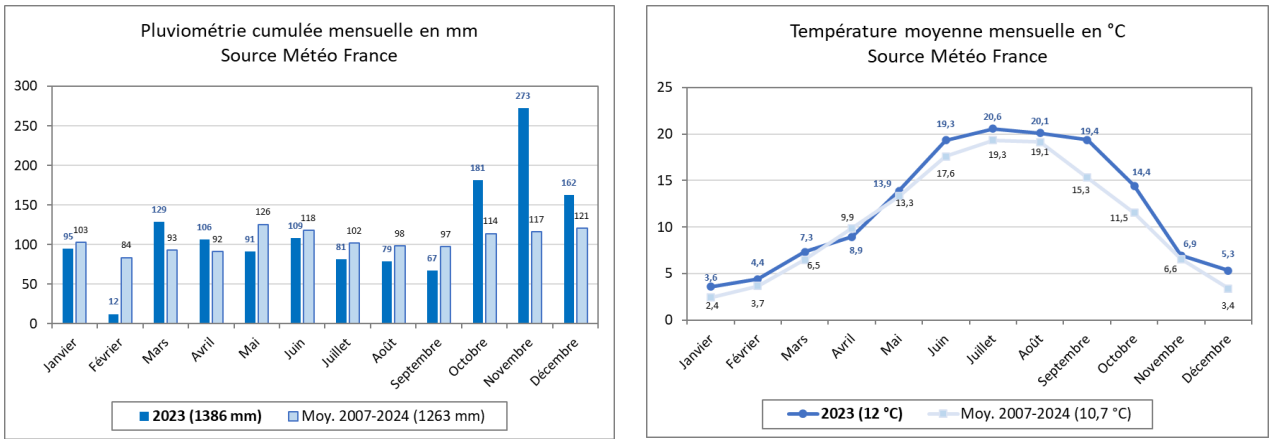


Figure 7 : pluviométrie et températures moyennes mensuelles à Coulans-sur-Lison en 2023 et données historiques disponibles.

L'année 2023 est marquée par des précipitations proches de la normale au cours des six premiers mois de l'année, à l'exception du mois de février très sec. Ces précipitations accompagnées jusqu'en mai par des températures proches des références historiques ont favorisé les premiers cycles de pâturage et la première coupe de foin. De mi-mai à mi-juin un arrêt total des précipitations accompagné de températures très élevées a entraîné un arrêt brutal de la pousse de l'herbe. Les précipitations régulières après mi-juin et en juillet ont permis une ré-humectation en surface des sols et un reverdissement des prairies sans pour autant permettre une croissance importante en termes de biomasse. La fin de l'été a été marquée par des conditions à nouveau caniculaires, en particulier en septembre et jusque début octobre. A partir de mi-octobre les précipitations ont été très excédentaires, entraînant une saturation des sols en eau et d'importantes quantités d'eau drainées. Au total sur l'année 2023, les précipitations cumulées se situent à 1386 mm soit un excédent de 10 % par rapport à la référence historique, la majorité de cet excédent s'expliquant par les pluies exceptionnelles des mois d'octobre et de novembre.

La température moyenne annuelle a été de 12°C, ce qui est très supérieur à la référence historique. Il y a eu 58 jours à plus de 27°C, limitant la pousse de l'herbe de juin à septembre.

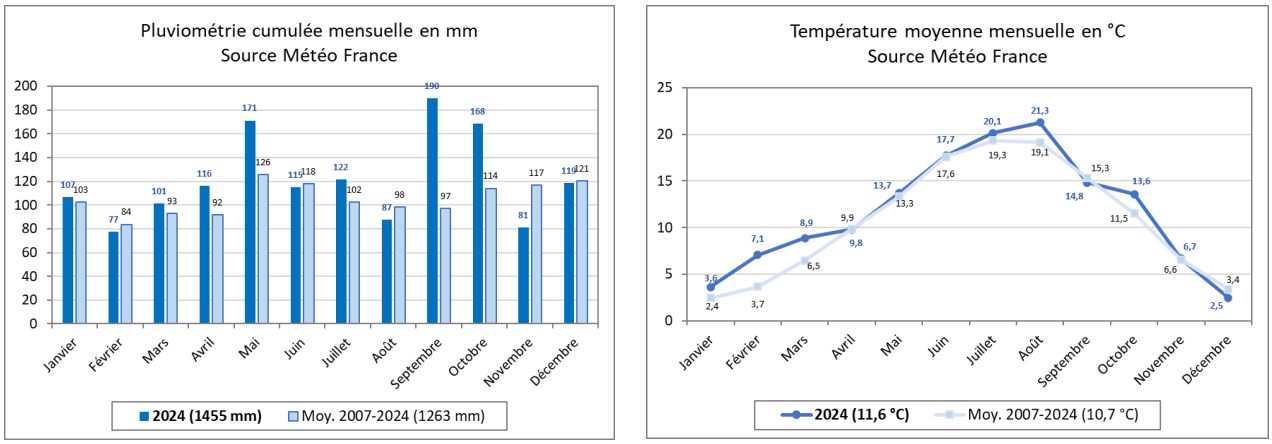


Figure 8 : pluviométrie et températures moyennes mensuelles à Coulans-sur-Lison en 2024 et données historiques disponibles.

L'année 2024 est caractérisée par une pluviométrie abondante avec une majorité de mois où les cumuls de précipitation ont été proches ou supérieurs aux références historiques. L'excès d'eau et le nombre limité de jours consécutifs sans pluie ont limité les possibilités de réaliser les premières coupes de foin, entraînant une fenaison parfois très tardive (mi-juillet) et une baisse de la qualité de l'herbe. Les parcelles pâturées ont souffert

des excès d'eau pratiquement pendant toute la période de pâturage, entraînant des dégradations de la structure des sols. Cet excès d'eau est également susceptible d'affecter l'activité biologique des sols. Au total sur l'année 2024, les précipitations cumulées se situent à 1455 mm soit un excédent de 15 % par rapport à la référence historique.

Les températures ont été particulièrement douces au cours des trois premiers mois de l'année, puis proches des références historiques, en lien avec les conditions pluvieuses et le manque d'ensoleillement. La température moyenne annuelle a été de 11,6°C, ce qui est supérieur à la référence historique de près d'1°C. Il y a eu 47 jours à plus de 27°C, mais ces températures élevées sur des sols qui ne manquaient pas d'eau ont peu impacté la pousse de l'herbe.

b. BILAN HYDRIQUE

Les données des précipitations de la station météorologique Météo France de Coulans-sur-Lison, ainsi que les données de l'évapotranspiration potentielle (ETP) de Météo France, disponibles pour le point de grille Safran la plus proche de cette station (de coordonnées 6,00 47,00) permettent de calculer un bilan hydrique simplifié au pas de temps journalier (P-ETP). Ce calcul est réalisé pour une réserve utile facilement utilisable par les plantes de 120 mm. Cette réserve d'eau facilement utilisable correspond aux deux tiers de la réserve utile totale du sol. Pour les prairies du massif du Jura on estime que la réserve utile totale des sols est de 2 mm par cm de profondeur. Dans le cadre de l'étude, trois des quatre sites ont des sols d'environ 90 cm de profondeur, correspondant à une réserve utile totale de 180 mm soit une réserve utile facilement utilisable par les plantes de 120 mm. Les graphiques ci-dessous présentent l'évolution journalière du niveau de la réserve utile facilement disponible. L'eau présente dans le sol est figurée en orange et l'eau excédentaire drainée est représentée en bleu. Ces graphiques permettent de visualiser l'effet du climat (P et ETP) sur l'assèchement des sols avec les périodes où le sol est bien hydraté, celles où il est desséché, ainsi que les périodes où la saturation du sol en eau engendre du drainage.

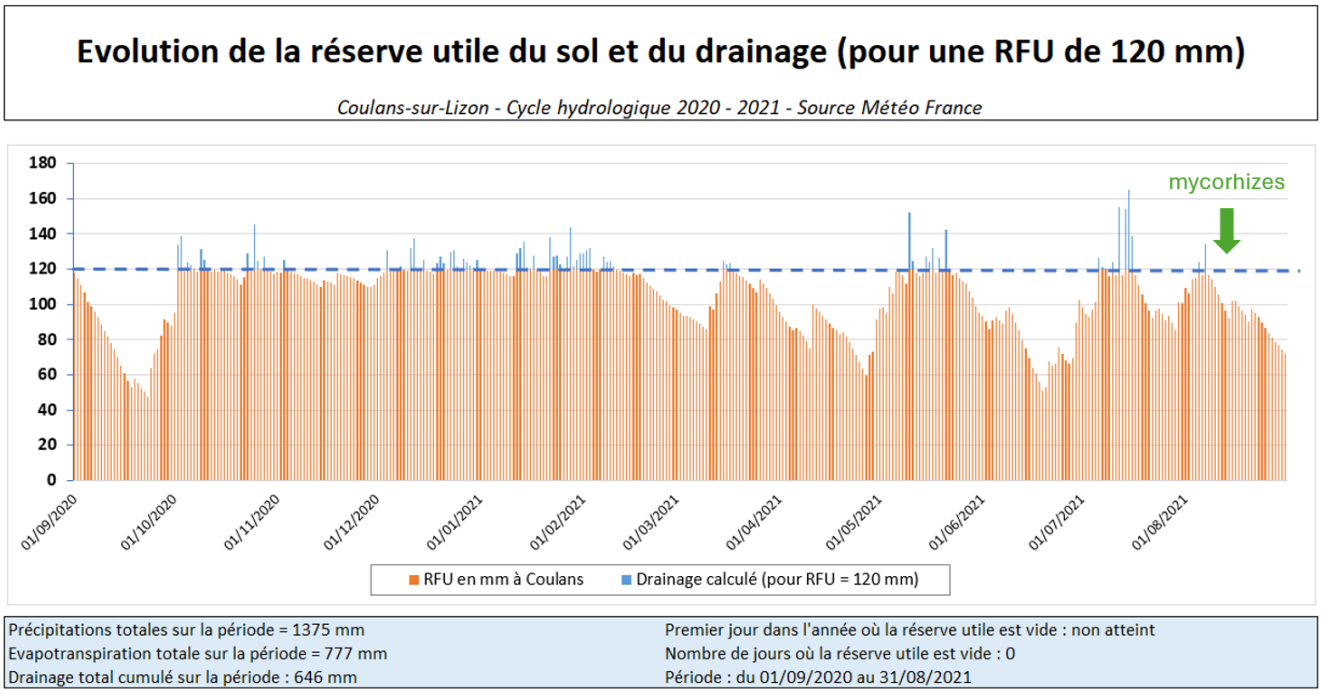
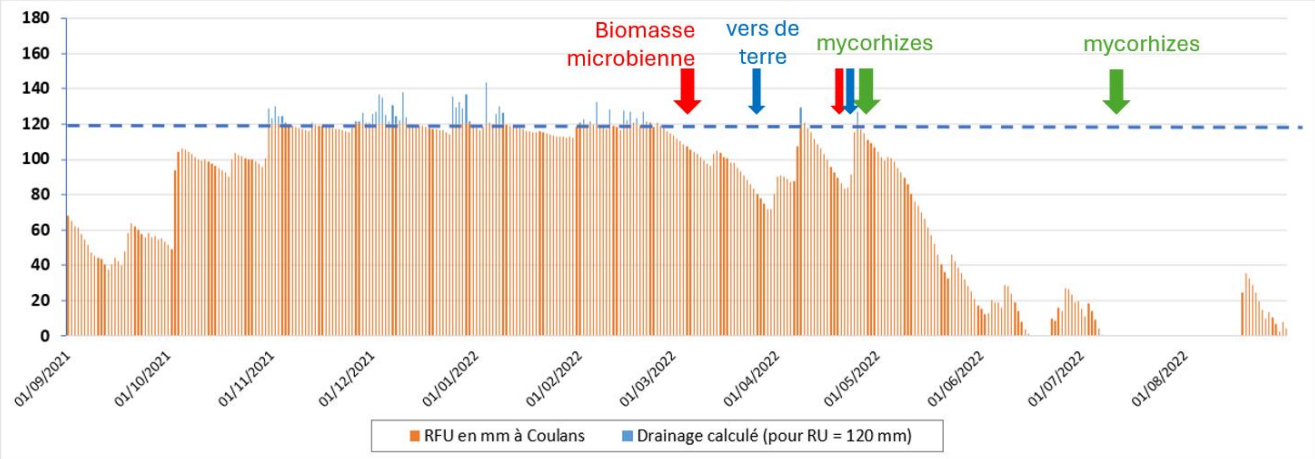


Figure 9 : bilan hydrique simplifié (P-ETP appliqué à un sol de 90 cm avec une RU de 120 mm) pour Coulans-sur-Lison pour le cycle hydrologique du 01/09/2020 au 31/08/2021.

Au cours du cycle hydrologique 2020-2021, marqué par des précipitations abondantes, des températures relativement fraîches et une évapotranspiration modérée, on peut constater que les sols n'ont pas connu de stress hydrique. Cette situation a été favorable à la pousse de l'herbe et à la vie biologique des sols. Les excès d'eau en mai (181 mm) et en juillet 2021 (249 mm) ont cependant entraîné du drainage à une période inhabituelle et ont pu provoquer une asphyxie des sols. Dans le cas de parcelles pâturées, cet excès d'eau peut également contribuer à la dégradation de la structure du sol en surface (piétinement) et en profondeur (tassement).

Evolution de la réserve utile du sol et du drainage (pour une RFU de 120 mm)

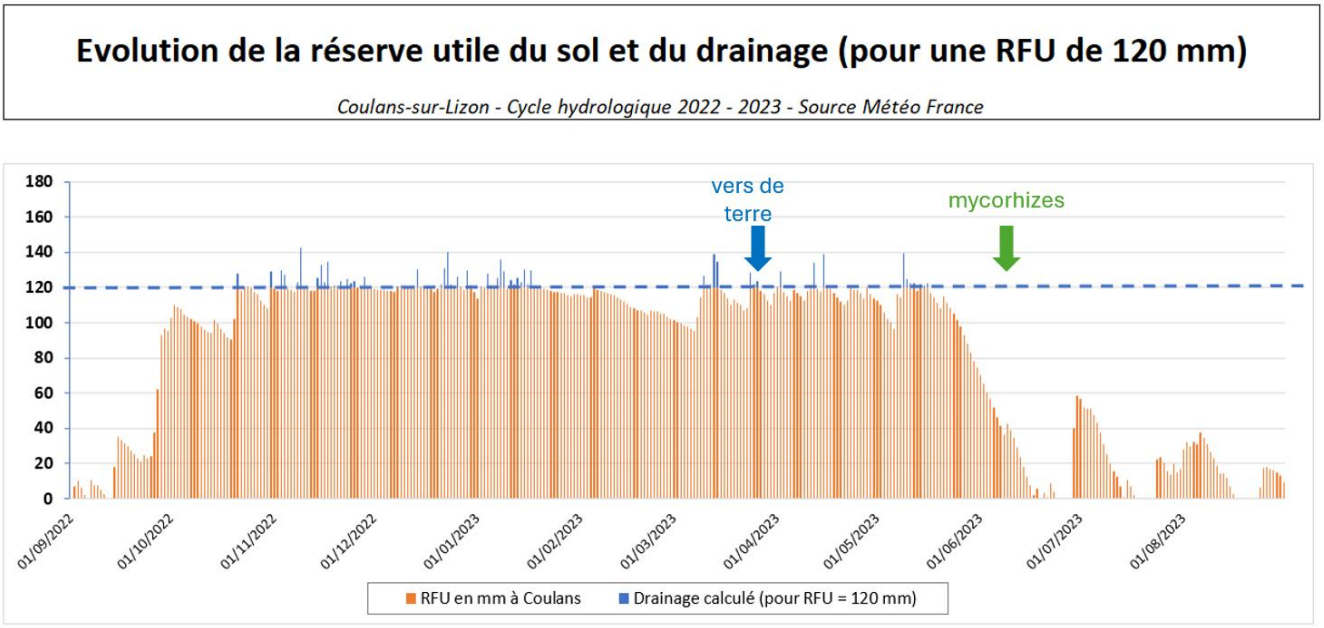
Coulans-sur-Lizon - Cycle hydrologique 2021 - 2022 - Source Météo France



Précipitations totales sur la période = 890 mm	Premier jour dans l'année où la réserve utile est vide : le 16/06/2022
Evapotranspiration totale sur la période = 902 mm	Nombre de jours où la réserve utile est vide : 47
Drainage total cumulé sur la période : 316 mm	Période : du 01/09/2021 au 31/08/2022

Figure 10 : bilan hydrique simplifié (P-ETP appliqué à un sol de 90 cm avec une RU de 120 mm) pour Coulans-sur-Lison pour le cycle hydrologique du 01/09/2021 au 31/08/2022.

Au cours du cycle hydrologique 2021-2022, les pluies ont été régulières jusqu'en avril, permettant un maintien de l'humidité du sol favorable à la pousse de l'herbe (premiers cycles de pâturage et première coupe de foin). L'arrêt des précipitations dès mai 2022, accompagné de températures élevées à très élevées et de fortes valeurs d'évapotranspiration, a provoqué un stress hydrique intense des sols à partir du mois de juin. Ce stress hydrique s'est par ailleurs prolongé jusque fin septembre 2022. Cette situation a été défavorable à la pousse de l'herbe en été, limitant les possibilités de réaliser des coupes de regain et entraînant un arrêt du pâturage, les bovins se retrouvant en ration hivernale dans les bâtiments d'élevage. Ce stress hydrique des sols a également été un facteur défavorable pour l'activité biologique des sols.



Précipitations totales sur la période = 1160 mm	Premier jour dans l'année où la réserve utile est vide : le 24/06/2023
Evapotranspiration totale sur la période = 846 mm	Nombre de jours où la réserve utile est vide : 21
Drainage total cumulé sur la période : 393 mm	Période : du 01/09/2022 au 31/08/2023

Figure 11 : bilan hydrique simplifié (P-ETP appliqué à un sol de 90 cm avec une RFU de 120 mm) pour Coulans-sur-Lison pour le cycle hydrologique du 01/09/2022 au 31/08/2023.

Au cours du cycle hydrologique 2022-2023, le retour de précipitations abondantes à partir de mi-août 2022 ont permis la ré-humectation des sols en profondeur. Ce retour de conditions humides dans des sols chauds a entraîné un reverdissement généralisé des prairies du massif du Jura et une croissance exceptionnelle de l'herbe à partir de fin septembre. Ce phénomène s'explique par la disponibilité de l'eau et des nitrates pour les plantes. Les nitrates ont été produits par une forte minéralisation de l'azote des sols sous l'action des bactéries qui semblent avoir peu été impactées par le stress hydrique et thermique de l'été 2022. De l'automne 2022 au printemps 2023, les pluies régulières ont entraîné des conditions de sol humides jusque fin mai 2023, ce qui a été favorable à la croissance de l'herbe, comme en 2022. De juin à août 2023, des conditions à nouveau sèches et chaudes ont provoqué l'arrêt de la croissance de l'herbe en été, mais de façon un peu moins sévère qu'en 2022. Dans le cadre de l'étude, il s'agit d'un deuxième été consécutif avec un stress hydrique et thermique marqué au cours de l'été, susceptible d'affecter l'activité biologique des sols.

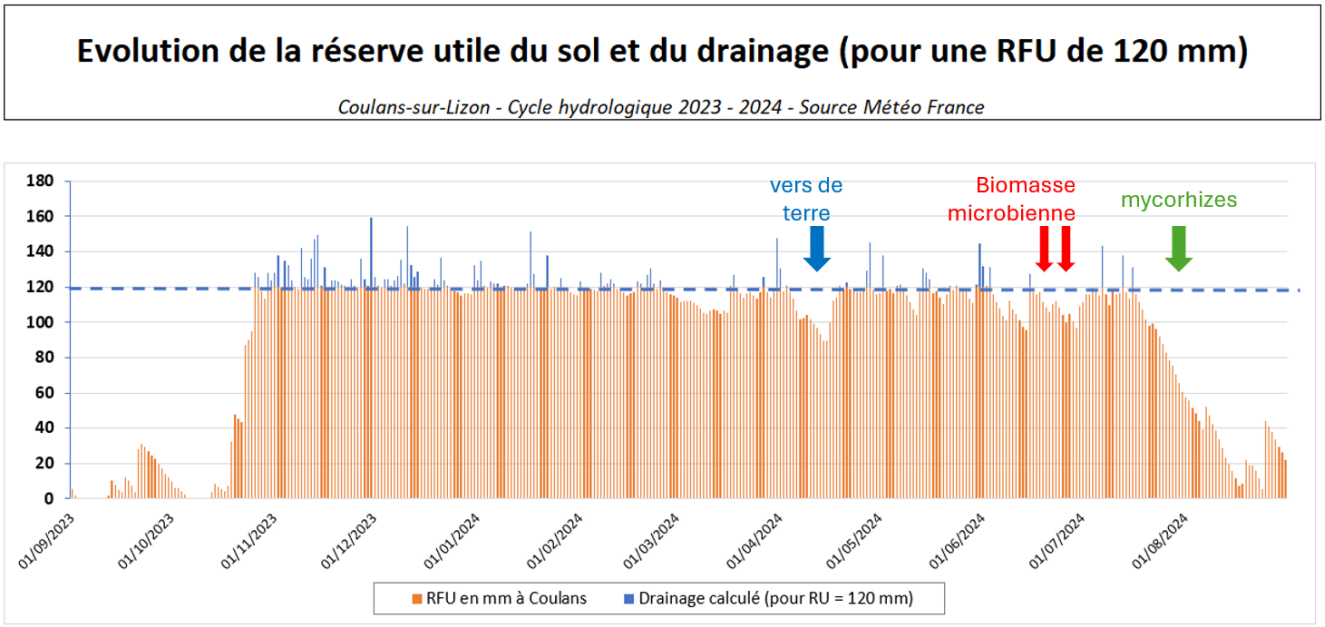


Figure 12 : bilan hydrique simplifié (P-ETP appliqué à un sol de 90 cm avec une RFU de 120 mm) pour Coulans-sur-Lison pour le cycle hydrologique du 01/09/2023 au 31/08/2024.

Le cycle hydrologique 2023-2024 débute par un automne particulièrement sec et chaud (septembre et octobre 2023), ne permettant pas une repousse de l'herbe comme en 2022. A partir de mi-octobre 2023 et tout au long du cycle, les précipitations ont été abondantes à très abondantes. Les sols n'ont plus connu de stress hydrique de fin octobre 2023 à mi-août 2024. Des périodes de saturation en eau des sols, avec du drainage ont été observées de novembre 2023 à juillet 2024. Cet excès d'eau peut également provoquer des conditions d'asphyxie défavorable à la vie du sol et dans les parcelles pâturées des dégradations en surface et en profondeur de la structure des sols.

Le tableau ci-dessous représente les principales caractéristiques des bilans hydriques 2020-2021 à 2023-2024.

Tableau 3 bilans hydriques 2020/2024

Repères hydrologiques	**2020/21**	**2021/22**	**2022/23**	**2023/24**
Drainage cumulé de septembre à août	646 mm	316 mm	393 mm	801 mm
Nombre de jours où la réserve utile est vide	0 jour	47 jours	21 jours	15 jours en automne 2023
1er jour où la réserve utile est vide	Non atteint	16 juin	24 juin	Non atteint jusqu'au 31 août 2024
Caractérisation du bilan hydrique et impact sur le stress hydrique des sols	Très humide sans dessèchement des sols	Stress hydrique marqué des sols de juin à septembre 2022	Stress hydrique marqué des sols de mi-juin à octobre 2023	Très humide et sans stress hydrique des sols de novembre 2023 à juillet 2024

III. Données générales

1. La haie, l'arbre, la flore

a. La Haie

Définition de la haie

Dans le cadre réglementaire de la Politique Agricole Commune (PAC), une haie est définie comme une bande linéaire composée d'arbustes et/ou d'arbres, généralement située en bordure de champs ou à l'intérieur des parcelles agricoles. Elle est reconnue comme un élément paysager structurant, contribuant à la diversité écologique des milieux agricoles et jouant un rôle de barrière sanitaire naturelle entre les cheptels.

Les haies sont intégrées dans les surfaces d'intérêt écologique (SIE) et peuvent être prises en compte dans le cadre des exigences de verdissement ou de conditionnalité environnementale imposées aux exploitants pour accéder à certaines aides de la PAC. Leur présence, tout comme leur gestion durable, est activement encouragée pour favoriser la biodiversité et renforcer la durabilité des systèmes de production.

La plaquette éditée par l'OFB et la DDT du Doubs donne cette définition : « Une haie est une structure végétale linéaire composée au minimum d'une strate herbacée (qui peut être doublée d'un murger) et d'une strate arbustive, auxquelles peut s'ajouter une strate arborée. » (*Plaquette réglementaire OFB/DDT du département du Doubs 30/12/2024*)

Dans une approche plus large, à la croisée des enjeux environnementaux et territoriaux, la haie est définie comme un alignement d'arbres et/ou d'arbustes, spontané ou planté, implanté en limite ou au sein des parcelles agricoles. Elle constitue un élément essentiel du bocage et remplit de multiples fonctions :

- Structuration du paysage rural,
- Valeur patrimoniale, en tant qu'héritage des pratiques paysannes,
- Fonction productive, notamment pour le bois énergie ou d'œuvre.

D'un point de vue environnemental, les haies rendent de nombreux services écosystémiques (*Coulon Frédéric. Solagro. Fiche de synthèse Atouts et contraintes de la gestion durable des haies. Juin 2023. Resp'haies. Action 2.1. Livrable L.2.13; Viaud V. et Thomas Z. (2019) Une réflexion sur l'état des connaissances des fonctions du bocage pour l'eau dans une perspective de mobilisation pour l'action. Sciences Eaux & Territoires 30 : 32.*) :

- Protection contre l'érosion des sols,
- Régulation du cycle de l'eau,
- Stockage du carbone,
- Accueil et continuité écologique pour la faune et la flore sauvages.

Résumé des services écosystémiques rendus par la haie

Les haies offrent de nombreux services écosystémiques essentiels, qui contribuent à la biodiversité, à la régulation des cycles naturels et à la production agricole. Ces services se regroupent en cinq grandes catégories (cf. figure 13) :

Services de régulation :

Parmi les services rendus par la haie, se trouvent les services de régulation des cycles des minéraux :

- Stockage du carbone : les haies captent et stockent le CO_2 atmosphérique, contribuant ainsi à l'atténuation du changement climatique. La glomaline, produite au niveau des mycorhizes, stabilise la matière organique et contribue au stockage du carbone dans les sols.
- Régulation du cycle de l'eau : elles réduisent l'érosion des sols, favorisent l'infiltration de l'eau et limitent le ruissellement.
- Amélioration de la qualité de l'eau : elles filtrent les polluants, limitant la contamination des nappes phréatiques et des cours d'eau.

Services de soutien :

- Amélioration de la fertilité des sols : les racines et la litière des haies favorisent la matière organique et l'activité microbienne du sol.
- Interactions avec la mycorhization : les haies favorisent les relations symbiotiques entre les arbres et les champignons, améliorant l'absorption des nutriments.

Services de régulation biologique :

- Habitat pour la biodiversité : elles hébergent de nombreuses espèces (insectes pollinisateurs, oiseaux, petits mammifères) et favorisent les corridors écologiques.
- Lutte contre les ravageurs : elles attirent des auxiliaires, prédateurs naturels des parasites des cultures, réduisant le besoin de pesticides.

Services culturels et paysagers :

- Valeur esthétique et paysagère : elles enrichissent les paysages ruraux et participent à l'identité des territoires.
- Patrimoine et culture : elles ont une valeur historique et traditionnelle, notamment dans l'aménagement des bocages.

Services agronomiques :

- Protection contre le vent : elles réduisent la force du vent, diminuant l'évaporation et protégeant les cultures.
- Ombrage : les haies favorisent le bien-être animal et limitent l'évapotranspiration des sols en procurant de l'ombrage.

Les haies sont donc des éléments clés des agroécosystèmes, offrant des bénéfices multiples pour l'environnement, la production agricole et la société. Leur préservation et leur gestion durable sont essentielles pour maintenir ces services sur le long terme.

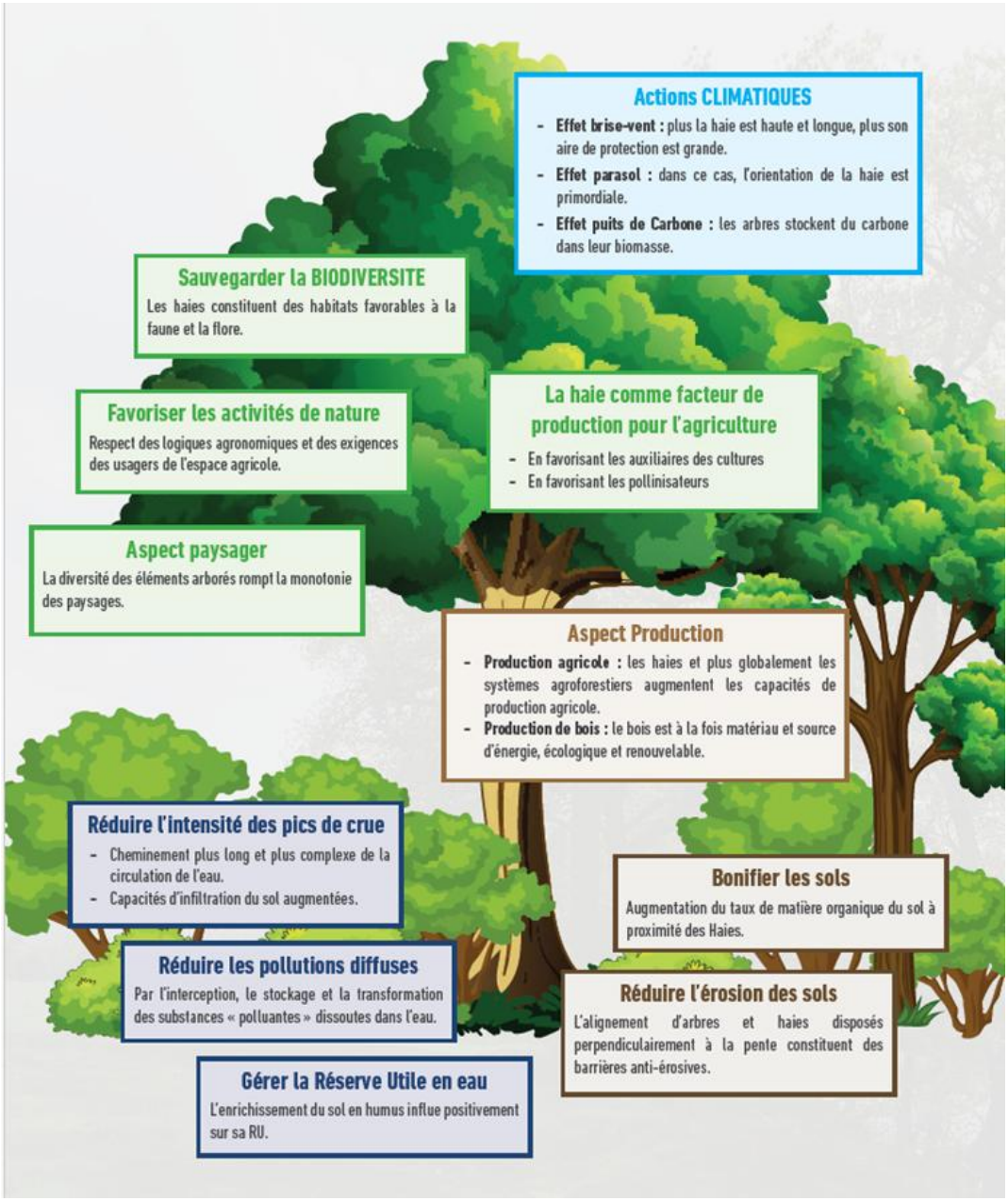


Figure 13: les services écosystémiques rendus par les haies (source : « Haie Hop je Plante » Collectif Conseillers agroforestiers des Chambres d'Agriculture de BFC

La plaquette « Haie Hop je Plante : les services rendus par la haie » est consultable en Annexe 3.

b. L'arbre

i. Physiologie

Chaque essence d'arbre a son propre cycle physiologique, a adopté une stratégie d'adaptation à son milieu, et possède une construction anatomique différente (exemple Fig. 14, « Anatomie du bois » MC Trouy). Ainsi certaines essences « débourreront » (ouverture des bourgeons) plus tôt que d'autres, on peut cependant définir un cycle physiologique global pour les essences présentes dans les haies. (Fig. 15).

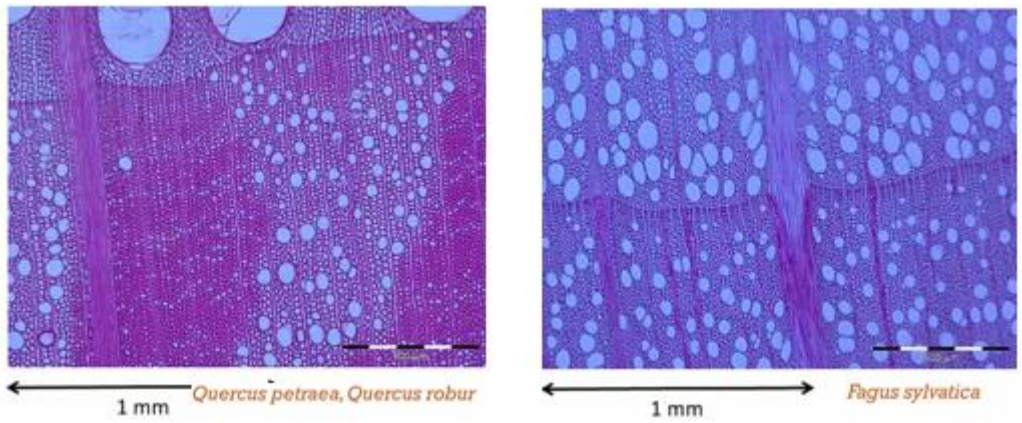


Figure 14: Différence anatomique entre le chêne et le hêtre, « Anatomie du bois » MC Trouy Editions QUAE

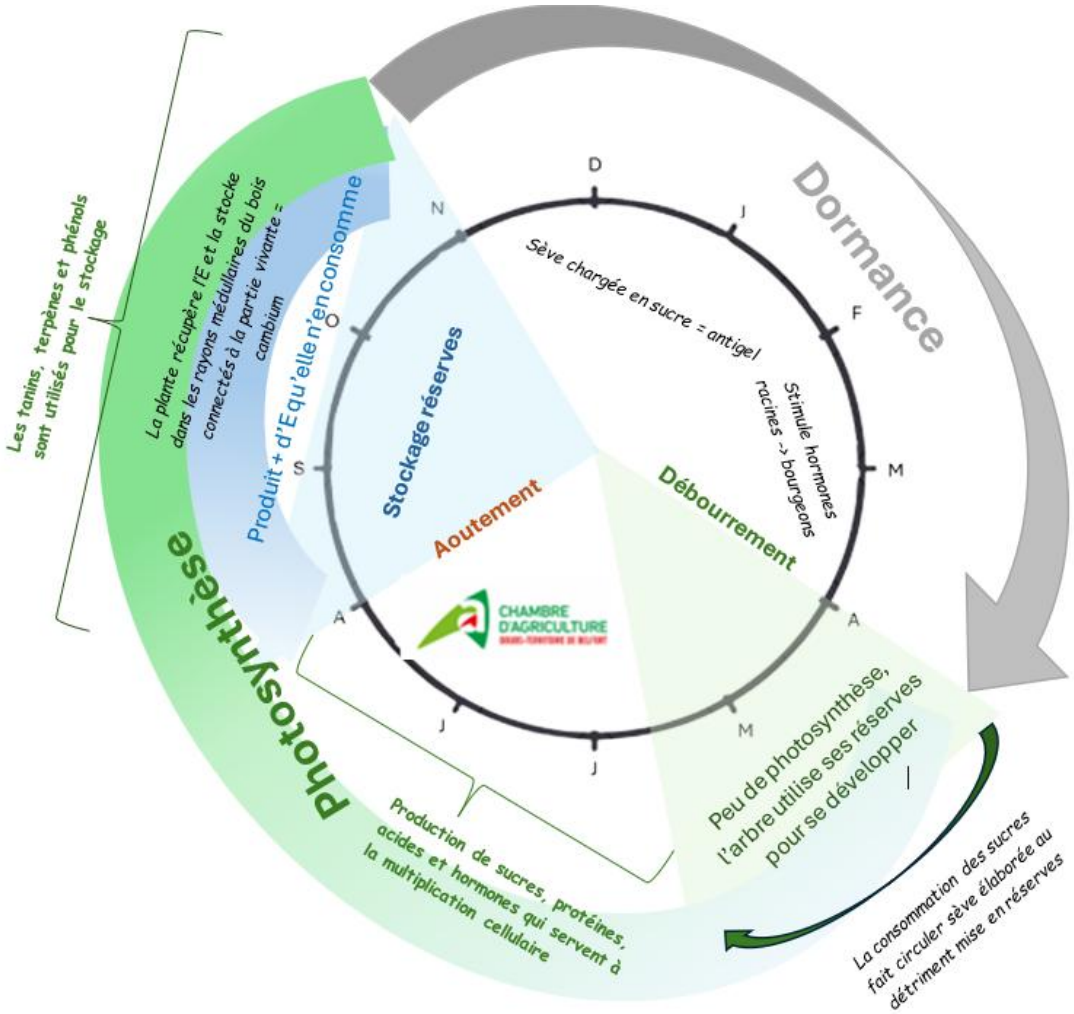


Figure 15: saisonnalité du fonctionnement physiologique de l'arbre (source : SLBH, CIA 25/90)

Chaque phase du cycle annuel a une fonction importante dans le fonctionnement de l'arbre et toute perturbation sur un cycle année N se répercutera sur les années N+1, N+2, N+3…. La gestion durable des haies préconise des interventions respectueuses du cycle physiologique des essences et il a été demandé à chaque

agriculteur participant à l'expérimentation d'observer des pratiques respectueuses des arbres pendant tout le protocole expérimental, qui a été contractualisé dans une convention entre les exploitations et la FDC25.

La photosynthèse qui permet le stockage des réserves permettant à l'arbre d'effectuer les phases de dormance et de débourrement, va aussi permettre des interactions fortes avec le sol par l'intermédiaire des associations mycorhiziennes avec les hyphes des champignons. L'arbre produit des sucres véhiculés dans la sève brute descendante par le phloème vers les racines. La sève élaborée chargée en eau et sels minéraux fournis par les racines et les champignons circule de façon ascendante dans le xylème. Ces échanges entre l'arbre et les champignons du sol sont qualifiés de symbioses mycorhiziennes (Fig. 18).

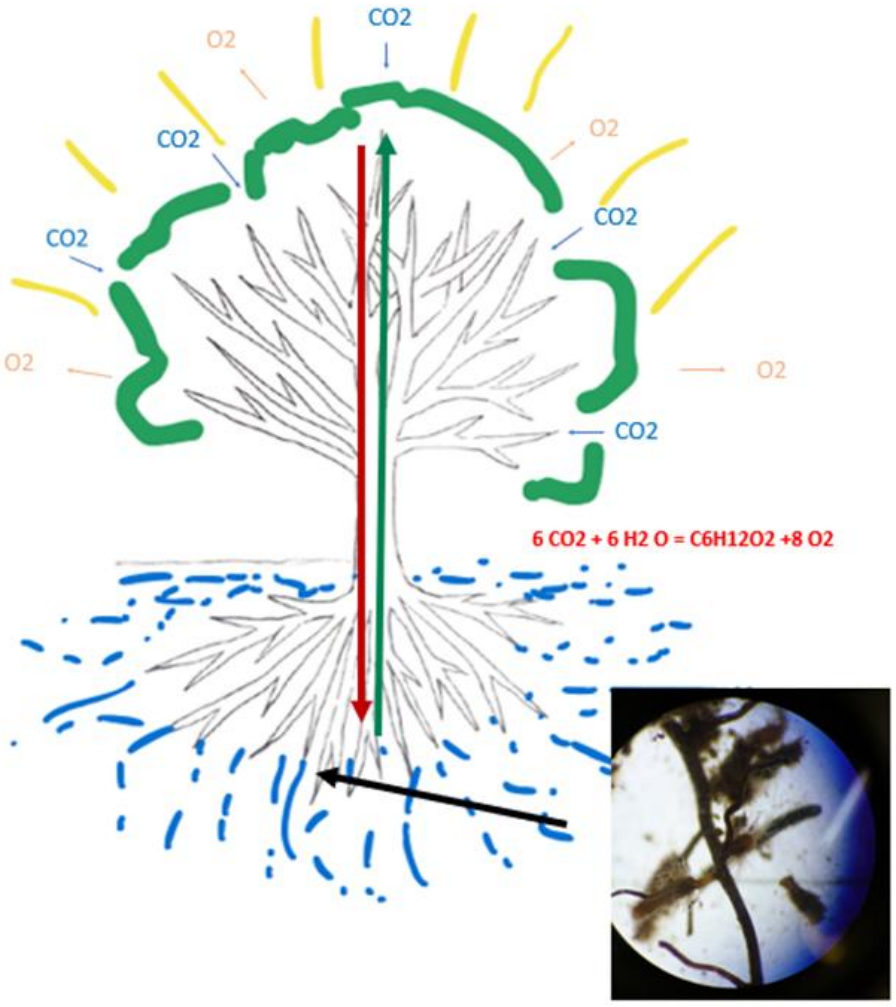


Figure 16 : photosynthèse et interactions mycorhiziennes de l'arbre (source : SLBH)

c. La flore des prairies

La composition floristique d'une prairie est issue des interactions entre les conditions écologiques du milieu et les pratiques agricoles qui y sont appliquées. Le climat, la nature du sol (exposition, texture, pH, humidité, profondeur, richesse en éléments nutritifs) ainsi que l'altitude influencent directement le type de végétation qui s'y développe. Les pratiques agricoles ont par ailleurs un effet prépondérant sur la composition des prairies. Le pâturage (intensité, fréquence, espèce animale), la fauche (date, fréquence), le chaulage éventuel et la fertilisation (minérale ou organique) ont une influence majeure sur la diversité végétale. Dans les prairies temporaires, l'âge de la prairie, les espèces semées et le travail du sol vont exercer également une influence sur la composition

floristique. La présence de milieux diversifiés au sein ou en périphérie des prairies (haies, mares, zones refuges, sols humides ou séchants, profonds ou superficiels, affleurements rocheux, …) contribue à enrichir la prairie en espèces.

La flore d'une prairie étant le résultat des interactions entre des facteurs naturels et les itinéraires techniques réalisés sur la parcelle par l'éleveur, une gestion équilibrée permet non seulement de préserver la richesse botanique, mais aussi d'optimiser la qualité fourragère et la santé animale.

Le diagnostic floristique a été réalisé selon un protocole de relevé sur 10 placettes d'un mètre linéaire le long de transects parallèles aux haies étudiées. Ce diagnostic est basé sur les présences relatives (en %) des espèces classées selon trois catégories : les graminées, les légumineuses et les diverses.

Les graminées constituent une famille botanique appelée aujourd'hui les Poacées, appartenant à la classe des monocotylédones. La contribution pondérale des graminées à la biomasse produite par la prairie est généralement très importante et dominante sur les autres familles botaniques. Les graminées prairiales sont nombreuses et très différentes par leur morphologie, leur phénologie, leur appétibilité, leur écologie et leur productivité. Dans les prairies des exploitations d'élevage, le fond prairial est cependant dominé par quelques espèces appréciées pour leur valeur fourragère : ray-grass anglais, hybride ou italien, fétuque des prés, fétuque élevée, dactyle, fléole, pâturin des prés, pâturin commun.

Les légumineuses constituent la famille botanique des Fabacées dans la classe des dicotylédones. Leurs particularités biologiques, fixation symbiotique de l'azote atmosphérique, et leur valeur alimentaire, riche en matière azotée, font qu'elles jouissent d'un statut privilégié au sein des espèces prairiales, constituant le « moteur azoté » de la prairie. Leur contribution dans la biomasse reste cependant relativement modeste dans les prairies permanentes ou de longue durée, de l'ordre de quelques pourcents. Les pratiques les plus intensives en matière de fertilisation azotée font régresser la part des légumineuses. Les prairies temporaires et les pâtures présentent généralement des proportions plus importantes de légumineuses, en particulier de trèfle blanc.

Les plantes diverses sont les autres plantes qui ne sont pas classées dans les deux précédentes catégories. La grande majorité de ces espèces appartiennent à la classe des dicotylédones. Leur abondance est généralement plus élevée dans les vieilles prairies. Il faut distinguer les espèces qui contribuent à la biodiversité et à la qualité des fourrages, de celles qui impactent la pérennité ou la qualité des prairies (rumex, chardons, porcelles, …). Certaines espèces peuvent avoir un intérêt en matière de santé animale (plantain lancéolé, achillée millefeuille, …), alors que d'autres peuvent être toxiques.

Dans une prairie à vocation de production de fourrages pour les animaux, on recherche généralement une proportion d'au moins 70 % de graminées et de légumineuses, et moins de 30 % de diverses. Il est recommandé d'avoir une part de légumineuses minimum de 10 à 15 %, idéalement autour de 20 à 25%.

Les résultats des relevés floristiques sont présentés au chapitre III.4.g. Ils ont également été croisés avec les résultats des études de mycorhizes.

2. La fertilité des sols

La fertilité des sols se définit comme leur capacité à soutenir une production végétale durable tout en maintenant un équilibre écologique entre les cycles biogéochimiques, la structure du sol et la biodiversité souterraine. Contrairement aux sols cultivés, les sols des prairies naturelles fonctionnent selon une dynamique principalement régulée par les interactions entre la végétation spontanée, la faune du sol et les processus abiotiques (*Wardle et al. 2004*). Les composantes de la fertilité des sols reposent sur trois piliers :

- La fertilité physique,

- La fertilité chimique ou minérale,
- La fertilité biologique.

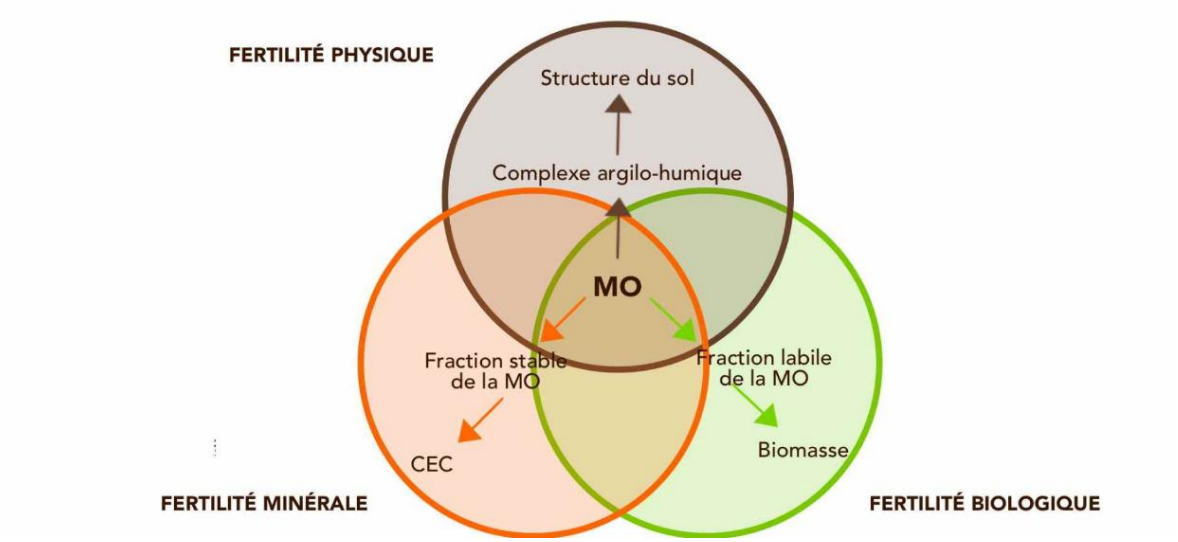


Figure 17: les piliers de la fertilité des sols et rôle de la MO (source : https://www.terreom.fr/post/mesurer-fertilite-sol)

A l'intersection de ces trois piliers se trouve la matière organique (MO). Elle représente l'ensemble des substances d'origine végétale, animale ou microbienne en décomposition ou déjà transformé. La matière organique comprend :

- La matière organique fraîche : résidus de culture, effluents d'élevage, litières, racines mortes …
- La matière organique en décomposition : formes intermédiaires issues de la dégradation de la matière organique fraîche (ex : acides organiques, polysaccharides, …)
- L'humus : fraction stable issue de la transformation complète de la matière organique.

La matière organique est en perpétuelle transformation, depuis la mort des organismes vivants dont elle est issue jusqu'à ce que l'ensemble des atomes qui la constituent soient à nouveau libéré (*Girard, Schwatrz, et Jabiol 2011*). Son rôle dans la fertilité des sols est multiple :

- Par sa fixation au complexe argilo-humique (CAH), elle favorise la mise en place d'une structure propice à la circulation de l'eau et de l'air dans le sol, créant une porosité et une aération bénéfique à la pousse des racines et les micro-organismes. La capacité d'échanges cationiques est une mesure de l'ensemble des charges négatives du sol susceptible de retenir les cations (Ca^{++}, K^{+}, Mg^{+}, …) indispensables à l'alimentation des plantes. Les charges négatives d'un sol proviennent des argiles et de la matière organique.
- La fraction stable de la matière organique permet d'augmenter la capacité d'échanges cationiques (CEC) du sol et donc sa capacité à retenir et à fournir aux plantes les nutriments essentiels à leur pousse.
- La faction labile de la matière organique nourrit et stimule l'activité des différentes formes de vies présentes dans le sol (bactéries, mycorhizes, vers de terre …).

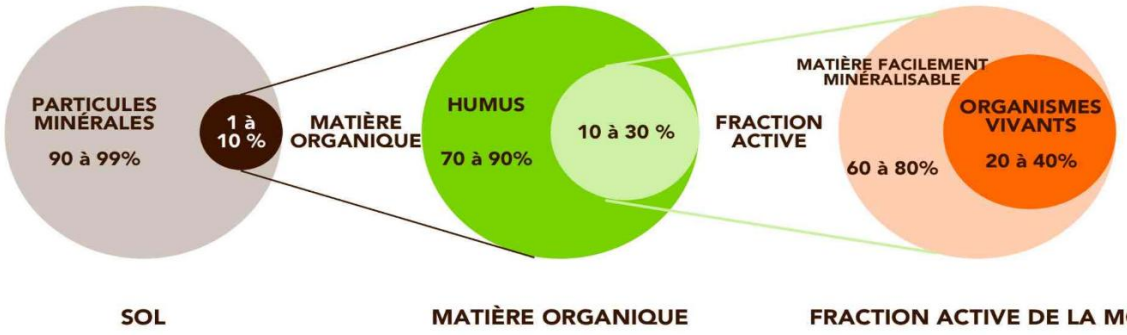


Figure 18: La matière organique et le sol (source : Chenu et Banabane, 2011, https://www.terreom.fr/post/mesurer-fertilite-sol)

La fertilité et le fonctionnement des sols prairiaux sont également influencés par une combinaison de facteurs biotiques, abiotiques et anthropiques :

- Facteurs biotiques : la faune, la flore et les micro-organismes jouent un rôle majeur dans la diversité végétale et la fertilité du sol
- Facteurs abiotiques :
  - Les facteurs édaphiques : la nature du sol et la topographie influencent la disponibilité en eau, les nutriments et l'ensemble des processus écologiques. Par exemple, la pédogenèse d'un sol est liée aux apports de matière organique et à la roche mère, dont la position topographique joue un rôle crucial.
  - Les facteurs climatiques : les précipitations, l'exposition au vent, l'évapotranspiration et les sécheresses affectent directement la qualité du sol et la croissance de la végétation.
- Facteurs anthropiques :
  - La fertilisation (minérale, organique, fréquence, dose …),
  - L'entretien mécanique des prairies et des haies (nombre de passage d'outils et de tracteurs dans l'année, travail du sol profond ou superficiel, type d'entretien des prairies),
  - L'utilisation d'intrants et notamment de produits phytosanitaires,
  - Le pâturage peut sensiblement impacter le bon fonctionnement d'un sol par le tassement et la compaction qu'il peut provoquer, en particulier s'il est réalisé en condition trop humide.

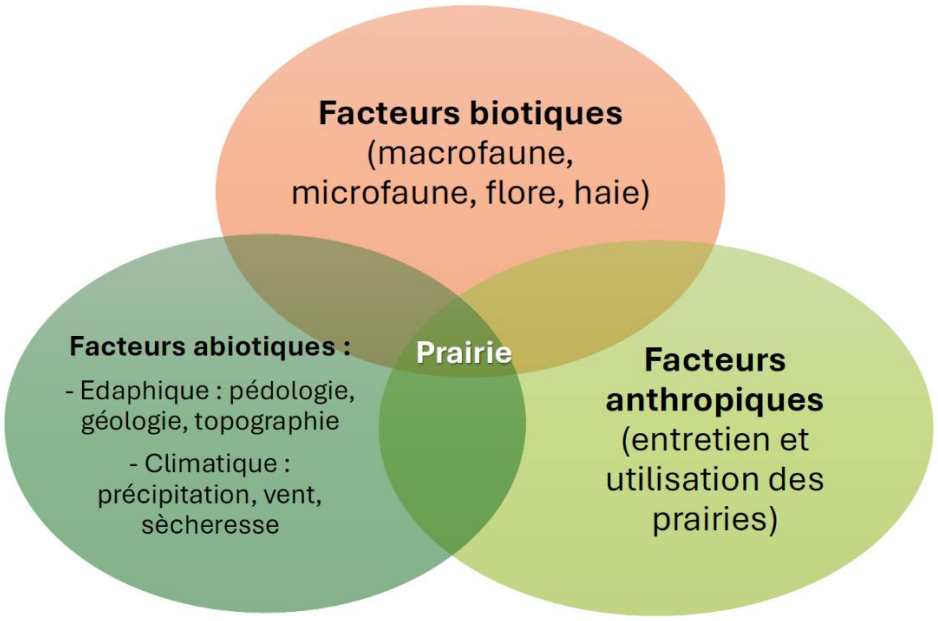


Figure 19: Fonctionnement des sols prairiaux (source : CIA 25/90)

a. La fertilité physique

La fertilité physique d'un sol est étroitement liée à sa structure, qui résulte de l'assemblage des particules constitutives du sol (sable, limon, argile) en agrégats avec la matière organique, eux-mêmes organisés en unités plus larges. Cette structure influence plusieurs processus essentiels : l'aération, la circulation de l'eau *(Brady et Weil 2016*), la conductivité thermique, le développement racinaire des plantes et la résistance à l'érosion. L'eau joue un rôle déterminant dans l'évolution de la structure du sol, notamment par ses effets sur la dissolution et la précipitation des minéraux ainsi que sur la croissance végétale (*FAO 2025*).

L'évaluation des propriétés physiques des sols au cours de cette étude repose sur plusieurs analyses et observations :

- Profil de sols avec des fosse pédologiques,
- Mesures de la densité apparente et de la porosité,
- Analyses physiques de terre,
- Mesure de l'humidité du sol,
- Mesure de la conductivité des sols

Ces analyses permettent de donner des mesures précises des indicateurs de la fertilité physique des sols à savoir :

- La texture et la profondeur du sol qui sont des indicateurs liés aux propriétés intrinsèques du sol.
- La structure du sol, la circulation de l'eau et de l'air et l'état de la surface, qui sont des indicateurs variables dans le temps.

b. La fertilité chimique

Elle désigne la capacité des sols à fournir aux plantes les éléments nutritifs nécessaires à leur croissance, tout en régulant leur disponibilité pour éviter les pertes par lessivage ou blocage sous des formes non assimilables. Elle repose sur le recyclage des nutriments, principalement assuré par la litière végétale et l'activité microbienne.

Dans les écosystèmes où les apports externes sont absents ou limités, la disponibilité des éléments nutritifs essentiels (azote, phosphore, potassium) dépend largement de la minéralisation de la matière organique et des interactions entre les racines et les micro-organismes (*Girard et al. 2011*). Par exemple, l'azote doit être minéralisé par l'activité microbienne pour être assimilable sous le forme d'ammonium (NH_4^+), retenu par les CAH, ou de nitrate (NO_3^-), très soluble dans l'eau et de ce fait très mobile dans le sol et pouvant être rapidement perdu par lixiviation (*Havlin et al. 2017*).

Le phosphore est également un élément essentiel aux processus énergétiques des plantes, notamment à la formation des racines. Cependant il est très peu soluble dans l'eau, souvent peu disponible et peu mobile dans le sol en raison des phénomènes de fixation, et son assimilation par les plantes dépend donc largement de la présence d'humus et de sa transformation par l'activité biologique (*Bucaille 2020*). Parmi les éléments chimiques essentiels à la fertilité des sols, le potassium joue un rôle dans la régulation hydrique des plantes et l'activation enzymatique. Il existe sous plusieurs formes dans le sol, dont sa forme échangeable et assimilable par les plantes (K^+) fixée au complexe argilo-humique.

Les prairies du massif du Jura sont des écosystèmes où les apports externes de fertilisants, essentiellement sous forme organique, mais également sous forme minérale (engrais de synthèse azotés, phosphatés, potassique, amendement calcaire) sont relativement modérés car encadrés par les cahiers des charges des AOP fromagères, avec une grande variabilité de fertilisation selon les parcelles. Ces apports sont susceptibles d'influencer la disponibilité des éléments minéraux pour les plantes, l'activité biologique des sols, et les besoins en interactions mycorhiziennes des arbres.

Dans le cadre de ce projet, plusieurs analyses et observations ont été menées pour évaluer les caractéristiques chimiques des sols :

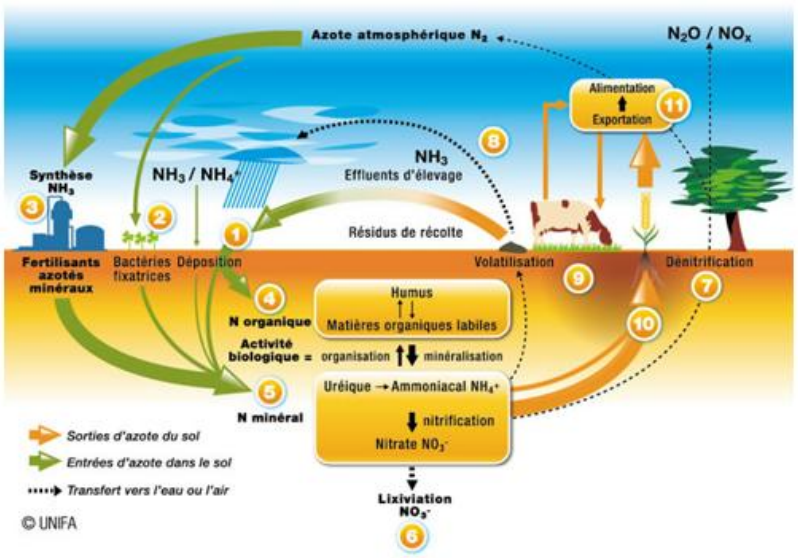
- Analyses de terre,
- Analyses physico-chimiques des échantillons de sol,
- Mesure des reliquats azotés,
- Caractérisation de la matière organique,
- Évaluation des indices en phosphore et potasse des échantillons d'herbe.

Ces analyses permettent de donner des mesures précises sur les indicateurs de la fertilité chimique des sols à savoir :

- La capacité d'échange cationique et son taux de saturation par les cations,
- Les éléments minéraux majeurs : phosphore, potasse, magnésie, chaux,
- Le statut calcique du sol : pH_{eau}, pH_{Kcl}, teneur en $CaCO_3$, taux de saturation de la CEC par le calcium.

Le cycle de l'azote à l'échelle de la parcelle agricole

Le cycle de l'azote (figure 24 ci-dessous) est un cycle biogéochimique qui décrit la succession des modifications et transformation subies par les différentes formes de l'azote neutre en formes réactives (diazote, nitrate, nitrite, ammoniac, azote organique). Dans le système sol/plante, le cycle de l'azote est déterminé par un ensemble de processus physicochimiques et biologiques qui interagissent de manière complexe. La description du cycle de l'azote présenté dans ce paragraphe reprend la présentation qui en est faite dans le programme de recherche Nutri-karst qui s'intéresse aux interactions entre les pratiques agricoles du massif du Jura et le lessivage de l'azote jusqu'aux rivières karstiques.



Entrées d'azote :

(1) apports de matière organique issue des élevages ou des activités anthropiques,
(2) fixation d'azote atmosphérique
(3) apports par les engrais de synthèse

Azote est présent dans le sol sous différentes formes :

(4) organique (3 à 5 T N/ha),
(5) minérale (quelques dizaines de kg N/ha)

Sorties d'azote :

(6) lixiviations ou lessivage sous forme de nitrates
(7) dénitrification
(8) volatilisation ammoniacale

Azote prélevé par les plantes (racines et parties aériennes) :

(9) prairies
(10) cultures

Figure 20 : le cycle de l'azote à l'échelle de la parcelle agricole (source : site internet de l'UNIFA).

Les transformations de l'azote dans le sol ont majoritairement lieu sous le contrôle de micro-organismes dans les couches superficielles du sol, c'est-à-dire dans la couche travaillée pour les sols agricoles. Les entrées d'azote en zone agricole se font principalement via les fertilisations par les engrais de synthèse (*n°3 sur le schéma*) et les apports de matière organique issue des élevages ou des activités anthropiques (*n°1*). L'entrée d'azote dans le système se fait également par déposition atmosphérique et par fixation d'azote atmosphérique (*n°2*). Elle est réalisée par plusieurs types de micro-organismes procaryotes très spécifiques qui sont libres dans le sol ou associés de manière symbiotique à des légumineuses. L'azote est présent dans le sol sous différentes formes : organique (*n°4*), minérale (*n°5*) et gazeuse. L'azote organique représente la forme majoritaire (95%). Il s'élève en moyenne de 3 à 5 tonnes par hectare pour l'horizon labouré (*Nicolardot et al, 1996*). Il s'agit d'azote présent dans la biomasse microbienne (100-400 kg N/ha), dans les résidus de récoltes (20-100 kg N/ha) ainsi que de fractions d'azote organique stable difficilement décomposable (2000-3000 kg N/ha) et labile (1000-2000 kg N/ha) (*Turpin et al. 1997*).

L'azote minéral est présent dans le sol sous forme d'ammonium, de nitrite et de nitrate. Il ne représente que quelques dizaines de kilogrammes par hectare hors périodes d'apports de fertilisants, sa taille étant variable au cours de l'année (*Nicolardot et al, 1996*). Les quantités respectives de ces différentes formes découlent d'un certain nombre de transformations physico-chimiques et biologiques. La dégradation de la matière organique par les micro-organismes peut conduire soit à la libération (minéralisation), soit à la consommation d'azote minéral (organisation) selon les caractéristiques de la matière dégradée, et en particulier de son rapport C/N. Les équilibres entre minéralisation et organisation sont modifiés par les pratiques culturales, comme le travail du sol qui favorise par exemple la minéralisation par une meilleure oxygénation du sol (*Schvartz et al, 2005*). Les ions ammonium produits par minéralisation sont transformés en azote sous forme d'ions nitrates par nitrification (nitritation puis nitratation). Ces processus sont contrôlés par la présence de dioxygène (aérobiose), le ph et la température. Les pics de minéralisation ont ainsi principalement lieu au printemps et en automne (*Jego, 2008*). En conditions défavorables, la nitration est le processus limitant, ce qui peut conduire à l'accumulation d'azote ammoniacale dans le sol. Pour un horizon labouré, la minéralisation peut libérer de 40 à 80 kg N/an (*Schvartz et al, 2005*) mais cette quantité peut représenter plus d'une centaine de kg N/ha dans les parcelles en prairie (*François et al. 2003*) du fait de leur teneur en matière organique et des apports réguliers d'effluents d'élevage voire dépasser les 200 kg N/ha/an au cours des premières années qui suivent un retournement de prairie (*Laurent F. 2004*).

Les racines des plantes, prairies (*n°9*) et cultures (*n°10*) prélèvent de l'azote dans le sol majoritairement sous forme de nitrates et d'ammonium. La cinétique d'absorption des plantes varie en fonction du stade végétatif et selon les espèces (*Turpin et al, 1997*). La dénitrification transforme l'azote sous forme d'ions nitrates en nitrites puis en composés gazeux par respiration anaérobie (*n°7*). Les pertes par dénitrification sont en général faibles dans des sols cultivés bien drainés et en absence d'apports organiques extérieurs (0 à 20 kg N/ha/an). Une partie de l'azote du système peut également être perdue par volatilisation d'ammoniac à partir des ions ammonium du sol (*n°8*). Ces pertes sont très variables puisqu'étroitement liées aux conditions pédoclimatiques (*Schvartz et al, 2005*).

Des pertes d'azote minéral peuvent enfin se produire par transport. L'ammonium est relativement immobile et les nitrites sont normalement rapidement oxydés (*Beaujouan, 2001*). Le nitrate, forme la plus soluble, peut être entrainé par l'eau de ruissellement et les écoulements latéraux et verticaux dans le sol. Il peut être transporté par l'eau drainée jusqu'à arriver en dehors de la zone où les racines peuvent le prélever : il y a alors lixiviation des nitrates (*n°6*). Elle se produit principalement quand les niveaux de nitrates dans le sol sont élevés et que le drainage est important, c'est-à-dire principalement de l'automne jusqu'au début du printemps (*Jego, 2008*). Elle a généralement lieu en deux phases. Elle augmente tout d'abord fortement avec le temps en automne : on parle d'effet chasse du nitrate présent dans le sol. Puis, elle emporte l'azote minéralisé au cours de la période hivernale de manière relativement constante (*Simon et Lecorre, 1992*). L'importance de ce processus et des flux engendrés dépendent de la quantité d'eau drainée et de la quantité de nitrates présents dans le sol lors du drainage (*Cameron & Haynes, 1986*).

L'agriculture modifie donc le cycle de l'azote dans le système sol/plante à plusieurs niveaux. Les apports de fertilisants minéraux, les épandages organiques et les restitutions par le troupeau au pâturage constituent d'importantes entrées d'azote. Dans les prairies, la minéralisation de l'humus du sol peut représenter des quantités supérieures ou égales aux apports agricoles. L'exportation d'azote dans les récoltes (cultures, prairies, pâturage) diminue la quantité d'azote recyclée à l'intérieur du système (*n°11*). Les pratiques agricoles influencent également les processus impliqués dans le cycle de l'azote en agissant sur tout ou partie des facteurs du milieu qui les contrôlent.

Le cycle de l'azote en système forestier ou en agroforesterie

Les arbres que ce soient en système fermé, type forêt (Fig. 21) ou un système ouvert type agroforestier (Fig. 22) sont également soumis à un cycle de l'azote qui va interagir avec celui des prairies lorsque des haies sont présentes sur les parcelles.

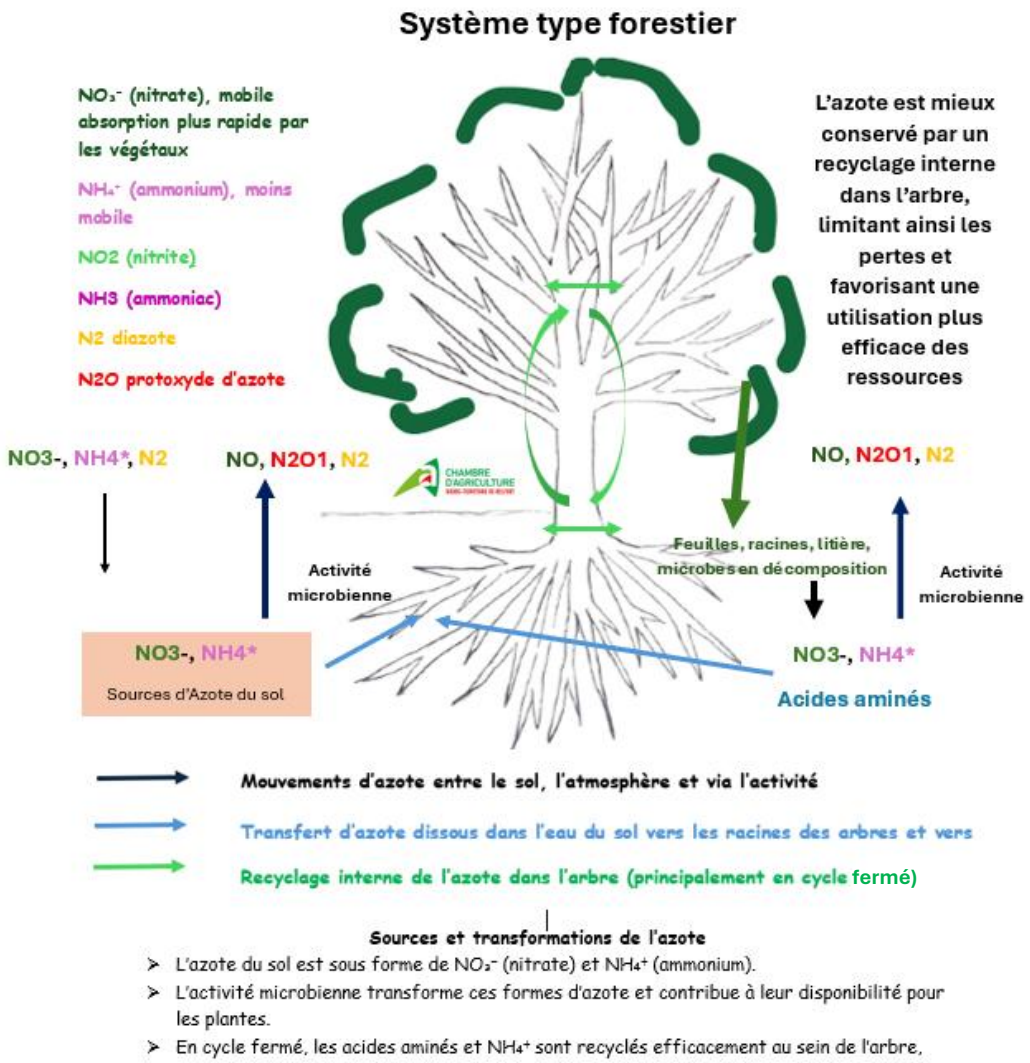


Figure 21: cycle de l'azote dans un système forestier, Dynamiques saisonnières des réserves carbonées et azotées chez le chêne sessile (Quercus petraea) et le hêtre (Fagus sylvatica) adultes. Rana EL ZEIN (Rennenberg et al. 2010)

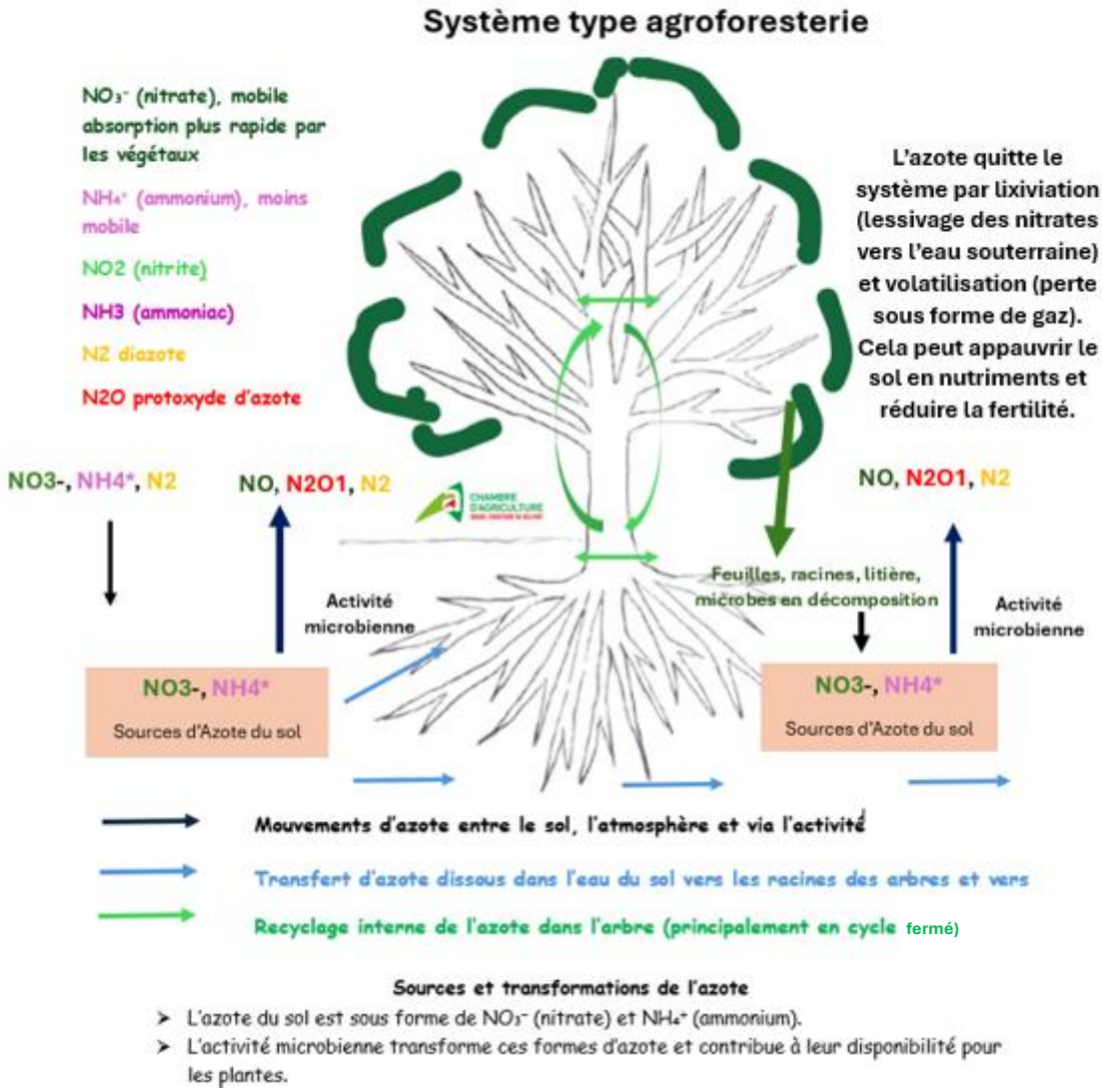


Figure 22: cycle de l'azote dans un système agroforestier, Dynamiques saisonnières des réserves carbonées et azotées chez le chêne sessile (Quercus petraea) et le hêtre (Fagus sylvatica) adultes. Rana EL ZEIN (Rennenberg et al. 2010)

Le cycle de l'azote dans un arbre en fonction du type d'écosystème

1. **Sources et transformations de l'azote**
   - L'azote du sol est sous forme de **NO_3^- (nitrate) et NH_4^+ (ammonium)**.
   - L'activité microbienne transforme ces formes d'azote et contribue à leur disponibilité pour les plantes.
   - En cycle fermé, les acides aminés et NH_4^+ sont recyclés efficacement au sein de l'arbre, tandis qu'en cycle ouvert, plus d'azote est perdu.
2. **Deux types de cycles de l'azote**
   - **(Agroforesterie) Cycle d'azote ouvert (fig. 21)** : l'azote quitte le système sous forme de **NO_3^- et NH_4^+** entraînant des pertes vers l'atmosphère et les eaux souterraines.
   - **(Forêt) Cycle d'azote fermé (fig22)** : l'azote est mieux conservé et recyclé sous forme d'acides aminés et NH_4^+, limitant les pertes.
3. **Flux d'azote représentés par différentes flèches**
   - **Flèches noires** : Mouvements d'azote entre le sol, l'atmosphère et via l'activité microbienne.
   - **Flèches bleues** : Transfert d'azote dissous dans l'eau du sol vers les racines des arbres et vers la nappe phréatique.

- **Flèches bleues** : Transfert d'azote dissous dans l'eau du sol vers les racines des arbres et vers la nappe phréatique.
- **Flèches vertes** : Recyclage interne de l'azote dans l'arbre (principalement en cycle fermé).

c. La fertilité biologique

La fertilité biologique du sol désigne la capacité des sols à soutenir les cycles biogéochimiques (carbone, azote, etc.), à maintenir une structure équilibrée et à assurer le bon développement des plantes. Elle repose sur l'activité des microorganismes (bactéries, champignons, protozoaires, …) et des macro-organismes (vers de terre, collemboles, nématodes, …), qui jouent un rôle clé dans la décomposition de la matière organique, la minéralisation des nutriments et l'organisation du sol (*Bucaille 2020*). Les réseaux mycorhiziens, les bactéries du sol et la macrofaune participent ainsi à la structuration du sol et à la régulation de la disponibilité des nutriments. Cette fertilité repose avant tout sur des processus écologiques plutôt que sur des apports exogènes. Les interactions entre plantes et microorganismes favorisent la résilience face aux sécheresses et aux stress environnementaux. Ainsi la fertilité biologique des sols dépend directement de l'abondance et de la diversité de la faune du sol.

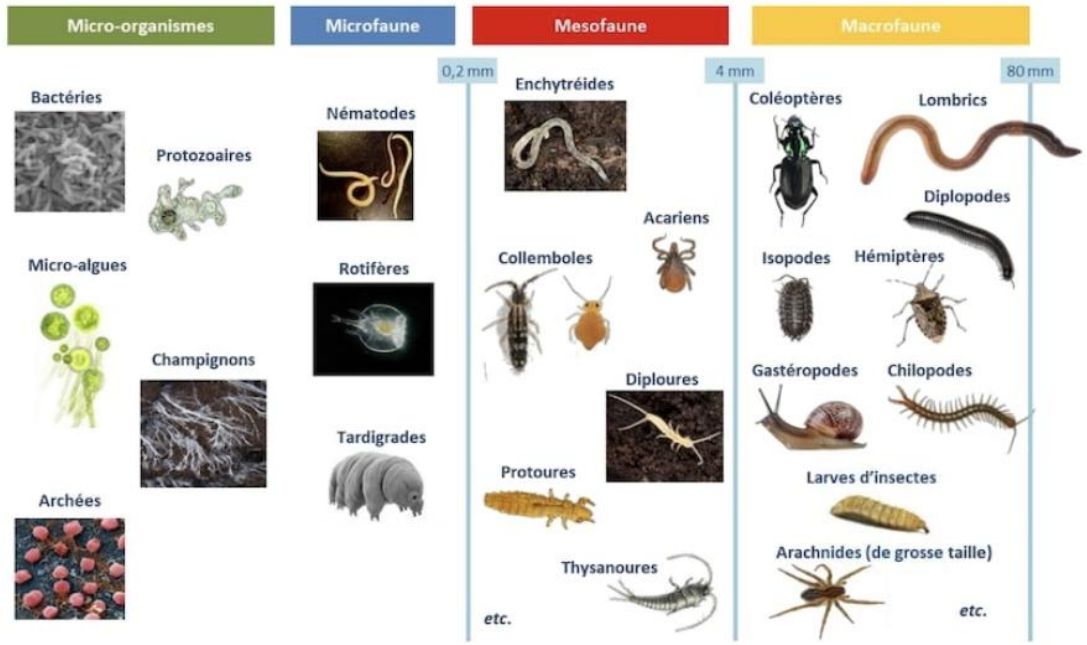


Figure 23 : classification de la faune du sol selon sa taille (source : https://www.encyclopedie-environnement.org/sol/biodiversite-sols/)

Au cours de cette étude, les analyses réalisées en lien avec la biologie du sol sont les suivantes :

- Mesures de la biomasse microbienne,
- Mesure de la minéralisation du carbone et de l'azote de la matière organique du sol,
- Identification et quantification des mycorhizes,
- Analyses du microbiome,
- Identification et quantification des vers de terre.

i. La macrofaune du sol

La macrofaune du sol, comprenant des organismes tels que les vers de terre, les coléoptères, les larves d'insectes, … Cette macrofaune joue un rôle essentiel dans la fertilité des sols à plusieurs niveaux. Tout d'abord,

ses activités de creusement et de déplacement créent des galeries et des pores, améliorant ainsi l'aération du sol et sa capacité de rétention en eau *(Lavelle et al. 2006*). Ensuite, la macrofaune participe activement à la décomposition de la matière organique en la fragmentant et en la mélangeant avec le sol minéral, un processus crucial pour le recyclage des nutriments (*OPVT, Observatoire Participatif des Vers de Terre, EcoBioSoil Rennes*). Les derniers, tels que l'azote, le phosphore et le potassium, sont libérés lors de la décomposition et deviennent disponibles pour les plantes, contribuant à la fertilité du sol. Par ailleurs, les excréments de la macrofaune, comme les turricules des vers de terre, favorisent la formation et la stabilisation des agrégats du sol, ce qui améliore sa structure et augmente sa résistance à l'érosion (*Lavelle et al. 2006*). Enfin, en modifiant la structure du sol et en décomposant la matière organique, la macrofaune influence les populations microbiennes, essentielles dans les cycles biogéochimiques et la dégradation de la matière organique Dans cette étude, plusieurs campagnes de comptage et d'identification des vers de terre ont été menées. La présence et l'abondance des différentes catégories de vers de terre renseignent sur le fonctionnement du sol, car chaque groupe joue un rôle spécifique dans la structuration et la fertilité :

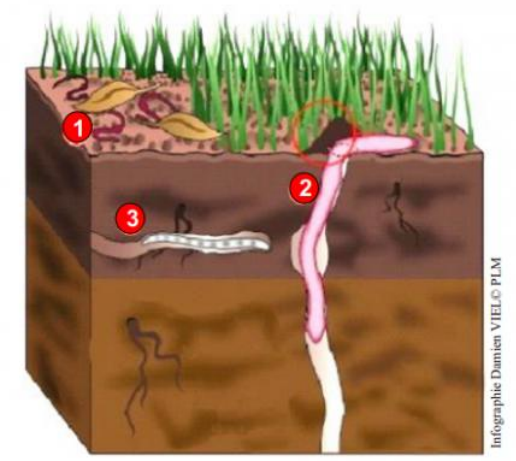


Figure 24 : les trois catégories de vers de terre (illustration : EcoBioSoil Rennes).

- **Les épigés** (1) habitent la couche la plus superficielle du sol, se nourrissent principalement de matière organique morte (effluents, feuilles, débris végétaux en décomposition) et transforment cette matière en humus. Ils indiquent une bonne présence de matière organique en décomposition.
- **Les anéciques** (2) sont essentiels car ils creusent des galeries verticales et subverticales qui favorisent l'aération du sol et la circulation de l'eau. Ils brassent et mélangent la matières organique et minérale sur les différents horizons du sol.
- **Les endogés (3)** participent au brassage des matières minérales et organiques du sol. Ils se nourrissent de la terre qui contient de la matière organique plus ou moins dégradée (racines, humus) et créent une structure grumeleuse qui joue un rôle dans la rétention et l'infiltration de l'eau dans le sol.

ii. Microbiologie ou les micro-organismes du sol

Les bactéries et les champignons jouent un rôle essentiel dans la décomposition et la minéralisation de la matière organique, rendant les éléments minéraux qui en sont issus, en particulier l'azote et le phosphore, assimilables par les plantes.

- Les bactéries interviennent dans la minéralisation de l'azote, convertissant la matière organique en ammonium (NH_4^+) puis en nitrate (NO_3^-) via la nitrification (*Legay 2013*). Certaines, comme les rhizobiums, fixent l'azote atmosphérique en symbiose avec les légumineuses, enrichissant ainsi le sol en azote biodisponible. D'autres sont capables de libérer du phosphore de la matière organique.
- Les champignons saprotrophes, en complément de la faune du sol, se nourrissent de la matière organique et libèrent des éléments minéraux assimilables par les plantes.
- Les champignons mycorhiziens facilitent en particulier l'absorption du phosphore en formant des associations symbiotiques avec les racines des plantes. Ils étendent le réseau racinaire et mobilisent les formes insolubles de phosphore, améliorant la nutrition des plantes (*Gianinazzi et al. 2010*).

En résumé, la fertilité des sols en prairie naturelle est capable de s'autoréguler par des processus biologiques et chimiques internes. Cependant, elle peut être altérée par des pratiques de gestion inadaptées, comme le surpâturage (*Derner & Schuman, 2007*) ou l'excès de fertilisation (*Mayel et al. 2021, Bettie-Laclau et al. 2019*). Le

surpâturage et la compaction des sols diminue l'oxygénation du sol et les conditions de vie favorables aux bactéries impliquées dans la minéralisation de l'azote. Un apport phosphaté en excès a pour conséquence une diminution des interactions mycorhiziennes et une perte de mycorhization à terme (*Gianinazzi-Pearson et al 1989*).

iii. Les mycorhizes :

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques entre les racines de la plupart des plantes cultivées et des champignons du sol. Les champignons colonisent les racines, développent un abondant mycélium dans le sol permettant l'absorption d'éléments minéraux qui sont ensuite transférés aux plantes hôtes en échange de sucres. Ils améliorent ainsi la croissance des plantes et leur tolérance à divers stress, comme les maladies ou la sécheresse. Ils jouent donc un rôle très important dans les agroécosystèmes. Cependant, les pratiques agricoles intensives, incluant l'utilisation d'intrants chimiques, a eu un impact négatif sur les populations naturelles des champignons mycorhiziens. En revanche, les approches agroécologiques permettent de restaurer ces populations naturelles ainsi que leurs fonctions (*Gianinazzi et al. 2010*).

Il existe deux formes principales de mycorhizes au niveau des plantes cultivées : les endomycorhizes (mycorhizes à arbuscules) et les ectomycorhizes (Figure 25).

Les mycorhizes à arbuscules sont apparus avec les premières plantes terrestres, il y a plus de 400 millions d'années. Dans cette symbiose, les champignons appartenant à l'ordre des Gloméromycètes, pénètrent dans les racines et se différencient dans les cellules en arbuscules typiques de cette symbiose. Des spores se développent ensuite dans les racines ou dans le sol et servent à la multiplication du champignon qui ne forme jamais de carpophore (organe reproducteur aérien des champignons supérieurs). Cette symbiose concerne 80% des plantes, y compris des plantes herbacées et certains arbres. Les racines doivent être colorées pour pouvoir observer les champignons mycorhiziens à arbuscules au microscope.

Les ectomycorhizes, quant à elles, sont formées entre les racines d'arbres forestiers et des champignons Basidiomycètes ou Ascomycètes. Elles s'établissent sur de jeunes racines dont la structure est modifiée et observable à la loupe binoculaire. Dans ce cas, les champignons pénètrent dans les racines, seulement entre les cellules et forment ainsi le réseau de Hartig. Un abondant mycélium s'établit en surface de la racine et constitue ainsi le manteau. Ces champignons sont capables de développer des carpophores en surface ou dans la terre, comme les bolets ou les truffes.

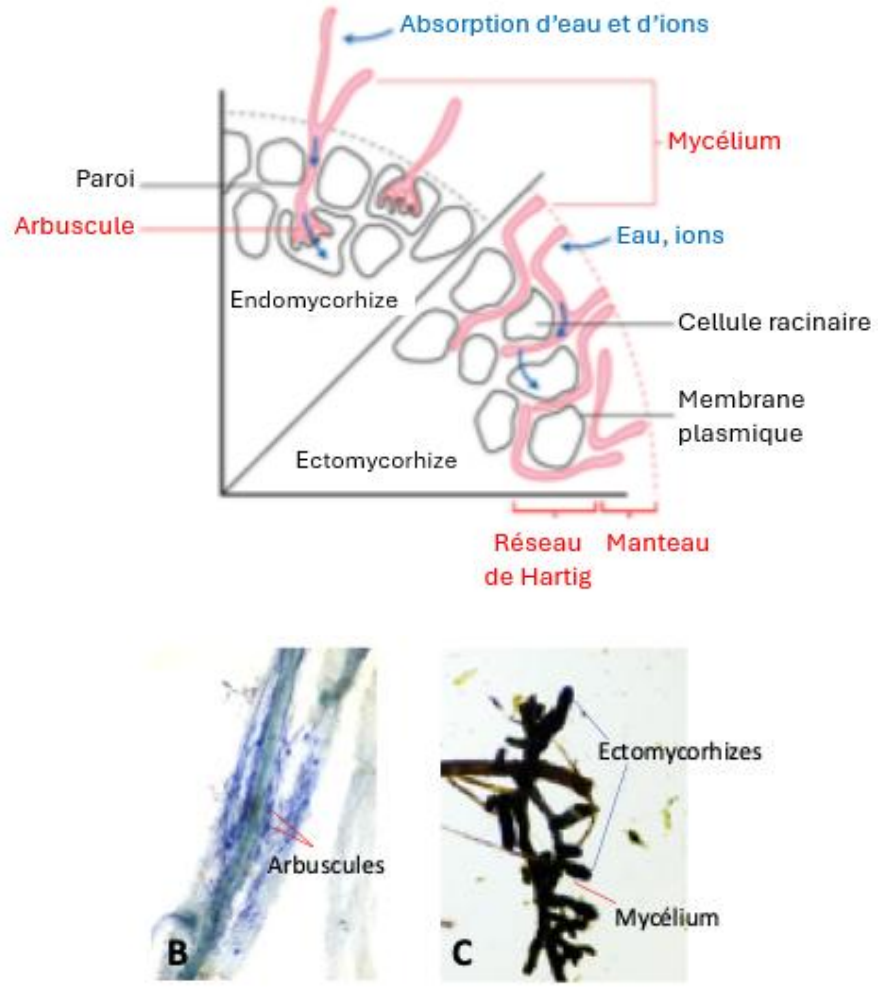


Figure 25 : Schéma et photographie à la loupe binoculaire de la structure des endomycorhizes ou mycorhizes à arbuscules (B) et des ectomycorhizes (C). D'après « Les mycètes dans les écosystèmes » (https://www.svt-tanguy-jean.com).

Pour observer les champignons mycorhiziens à arbuscules à la loupe binoculaire, il faut colorer les racines à l'encre bleue (B). Les ectomycorhizes sont observables directement sous la loupe binoculaire (B).

Rôle potentiel des microorganismes dans l'interaction entre les haies et les prairies :

Dans les haies, les arbres et les plantes herbacées sont en principe associés à des champignons endomycorhiziens ou ectomycorhiziens (Tableau). Certains arbres comme le saule sont capables de former les deux types de symbiose.

Tableau 4 Exemple de mycorhizes formées par des espèces végétales présentes dans les haies et les prairies.

Espèce végétale		**Type de mycorhizes**
Charme		Ectomycorhizes
Chêne		Ectomycorhizes
Noisetier		Ectomycorhizes
Tilleul		Ectomycorhizes
Cornouiller		Mycorhizes à arbuscules
Erable		Mycorhizes à arbuscules
Noyer		Mycorhizes à arbuscules

Prunellier		Mycorhizes à arbuscules
Saule		Ectomycorhizes et mycorhizes à arbuscules
Dactyle		Mycorhizes à arbuscules
Fétuque		Mycorhizes à arbuscules
Ray-grass		Mycorhizes à arbuscules
Trèfle		Mycorhizes à arbuscules

Les racines des arbres sont aptes à coloniser le sol des prairies et de fait amener des champignons ectomycorhiziens et des champignons mycorhiziens à arbuscules. Les champignons ectomycorhiziens ont une certaine activité saprophytique capable de dégrader la matière organique et peuvent ainsi jouer un rôle dans la fertilisé du sol de la prairie. Les champignons mycorhiziens à arbuscules de la haie peuvent s'étendre aussi vers la prairie par colonisation de proche en proche des racines des plantes herbacées. Ainsi, ces champignons peuvent former un réseau souterrain reliant les plantes entre elles. Enfin, le mycélium des champignons ectomycorhiziens et mycorhiziens à arbuscules abritent de nombreuses bactéries qui ont également des actions intéressantes dans les cycles géochimiques et la protection des plantes contre les maladies (Figure 24).

La caractérisation du milieu de chaque parcelle est donc importante pour comprendre le fonctionnement de chaque sol et essayer d'évaluer l'impact de la haie sur les sols. Il est ainsi intéressant de savoir jusqu'à quelle distance les champignons mycorhiziens issus de la haie peuvent se déplacer dans la prairie et si diversité des bactéries et des champignons est modifiée selon la distance à la haie (Figure 24).

L'ensemble des analyses réalisées permettra une meilleure interprétation des résultats concernant l'absorption de l'eau, des cycles de l'azote et du phosphore en fonction des parcelles, de l'âge des haies et de la distance à la haie.

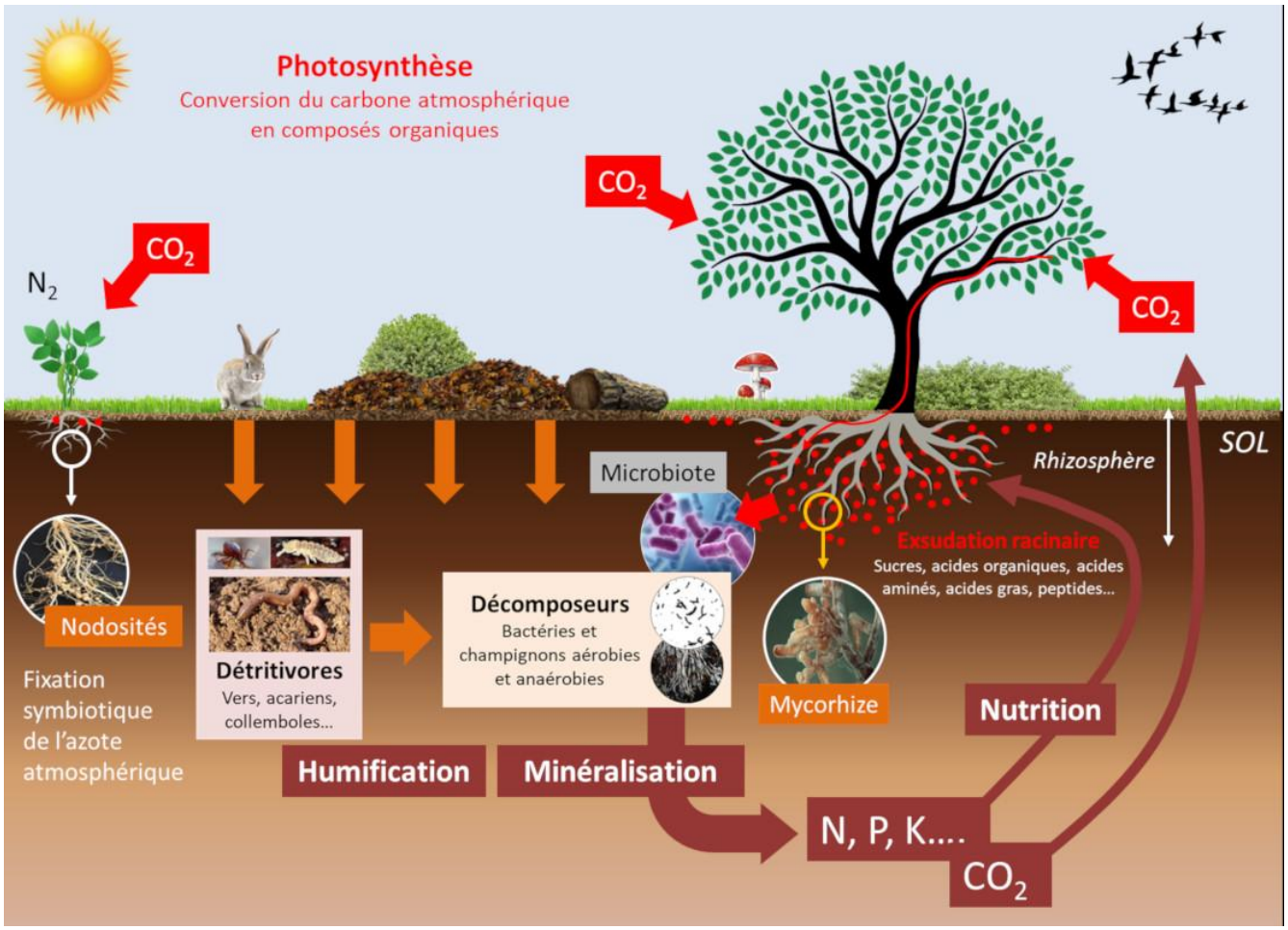


Figure 26 Rôle des microorganismes et de la faune du sol dans les cycles géochimiques et la nutrition des plantes. Source : https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/nourrir-plantes-polluant-moins/

iv. Analyse et méthode des mycorhizes et du microbiome

Pour observer les ectomycorhizes, les racines ont été lavées puis observées directement sous la loupe binoculaire. Pour l'observation des mycorhizes à arbuscules, les racines ont été colorées à l'encre bleue puis les taux de mycorhization des racines ont été déterminés selon la méthode de (*Trouvelot et al.* 1986). Pour l'analyse du microbiome, les échantillons de sol de chaque ligne ont été tamisés et mélangés. L'ADN a été extrait à partir de 0,5 g de ce sol et soumis à une analyse de séquençage à haut débit. Les séquences obtenues ont ensuite été comparées à celles présentes dans les bases de données pour identifier les bactéries et les champignons présents dans les échantillons. Ce travail a été effectué par les laboratoires Spiral.

v. Le microbiome :

Le microbiome désigne l'ensemble des microorganismes (bactéries, champignons, virus, archaea, protozoaires) vivant dans le sol, ainsi que leurs interactions et leur matériel génétique. Il joue un rôle fondamental dans la fertilité des sols, le cycle des nutriments (azote, carbone, phosphore), la décomposition de la matière organique et la santé des plantes en favorisant la symbiose et en limitant les pathogènes.

Il est généralement accepté que les arbres des haies sont importants pour retenir l'eau et absorber les excédents d'azote. Cependant, de nombreux facteurs sont impliqués dans ces processus et des variations peuvent se produire en fonction des parcelles (topographie, type de sol, culture présente) et du développement des haies. Les racines des arbres ne sont pas les seules impliquées et les microorganismes du sol jouent également un rôle important.

Dans les haies, les racines des arbres vivent en symbiose avec des champignons du sol. Ces mycorhizes contribuent à l'absorption de l'eau et des éléments minéraux par les arbres et favorisent ainsi leur croissance et tolérance à la sécheresse.

La caractérisation du milieu de chaque parcelle est importante pour comprendre le fonctionnement de chaque sol et essayer d'évaluer l'impact de la haie sur les sols.

Il est donc intéressant de savoir jusqu'à quelle distance les champignons ectomycorhiziens peuvent se déplacer depuis la haie et quelle est leur impact sur le métabolisme des champignons endomycorhiziens. De même, on ne sait pas si la diversité des bactéries est différente selon la distance à la haie.

L'ensemble des analyses réalisées permettra une meilleure interprétation des résultats concernant l'absorption de l'eau, des cycles de l'azote et du phosphore en fonction des parcelles, de l'âge des haies et de la distance à la haie.

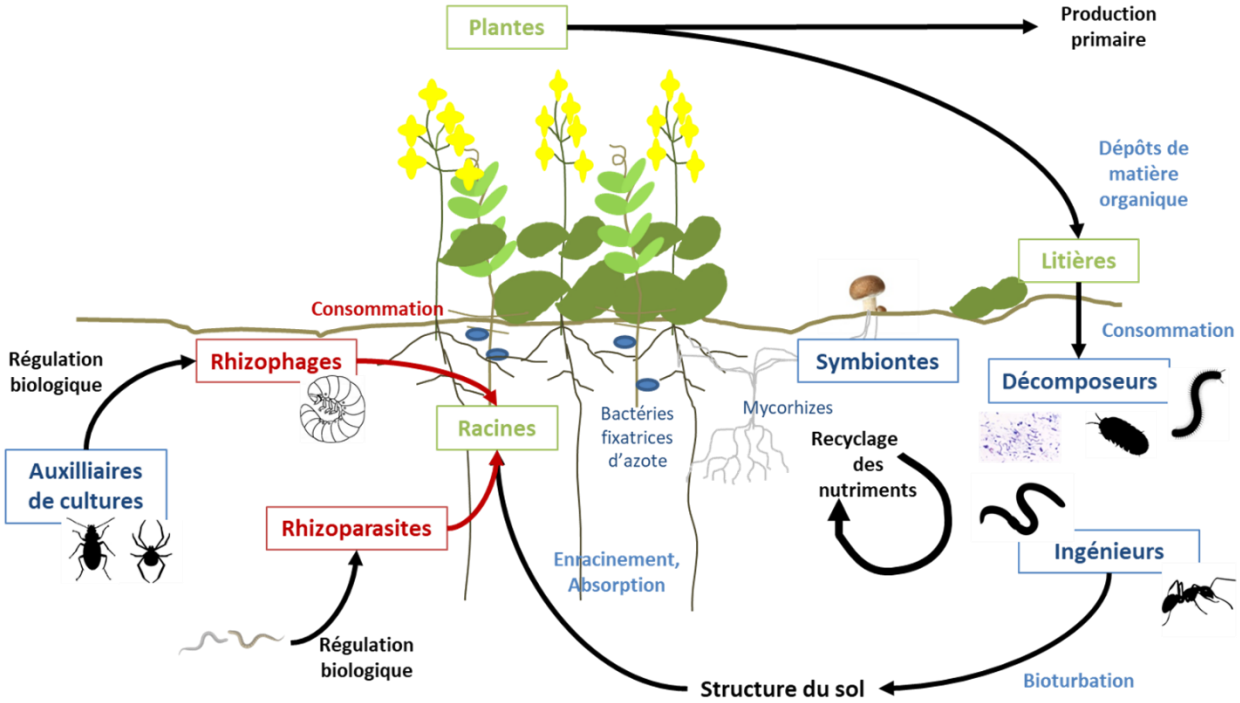


Figure 27: interactions au sein du microbiome du sol (Impacts directs et indirects de la faune du sol sur la production primaire dans les agroécosystèmes (Zwicken, 2021).

Dans la figure 27 ci-dessus, les boîtes indiquent les différents groupes fonctionnels impliqués dans les services écosystémiques (en noir), les éléments bleus représentent les processus à effets positifs sur les plantes, les éléments en rouge représentent les processus à effets négatifs.

Dans le cadre de ce projet, en ce qui concerne le lien entre les mycorhizes et les prairies adjacentes des haies, nous avons pour objectif de tester les hypothèses suivantes :

- Les haies permettent-elles d'augmenter le taux de mycorhization des racines des plantes herbacées des prairies ainsi que la diversité des autres microorganismes. ?
- La vie du sol permet-elle une meilleure absorption du phosphore et de l'azote par les plantes et limite-t-elle les pertes des éléments minéraux par le lessivage des sols ?
- La meilleure vie du sol permet-elle une meilleure résilience de la végétation en situation de stress hydrique et a-t-elle un effet positif sur la pousse de l'herbe ?

3. La conductivité électrique du sol (CE) :

La conductivité électrique (CE) du sol mesure sa capacité à conduire un courant électrique. Elle est exprimée en dS/m (déciSiemens par mètre) ou mS/cm, et est influencée par plusieurs facteurs physiques et chimiques :

- la teneur en eau,
- la texture du sol (argile, limon, sable),
- la température,
- la présence de sels dissous (notamment les ions NO_3^-, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^+, Cl^-, etc.).

La conductivité du sol est exprimée en dS/m (déciSiemens par mètre) ou mS/cm et ne mesure pas directement la fertilité, mais elle en est un indicateur indirect puissant, car elle reflète la concentration en ions dans la solution du sol.

Selon les conditions locales, on peut en déduire le niveau de disponibilité des éléments nutritifs :

- Une CE très faible peut indiquer un sol pauvre ou lessivé.
- Une CE modérée suggère un bon niveau de nutriments disponibles pour les plantes.
- Une CE très élevée (>4 dS/m) peut traduire une salinité excessive, nuisible à la croissance végétale (ralentissement de l'absorption d'eau par effet osmotique).

(USDA-NRCS. (1999). Soil Quality Test Kit Guide. / Marschner, H. (2012). Mineral Nutrition of Higher Plants (3rd ed.). Academic Press)

Un sol à forte conductivité n'absorbe pas mieux l'eau, mais retient davantage d'eau, surtout s'il est riche en argiles ou en matière organique. Cela s'explique par la capacité de rétention des particules fines et l'affinité chimique des ions dissous pour l'eau. (*Brady, N.C., & Weil, R.R, 2016*). *The Nature and Properties of Soils*. 15th Edition. Pearson.)

L'étude de conductivité en milieu agricole est son analyse peut permettre :

- D'identifier des zones fertiles ou des zones déséquilibrées,
- D'adapter les apports de fertilisants,
- De repérer des zones à risque de salinisation,
- De cartographier l'hétérogénéité intra-parcellaire pour ajuster les pratiques (ex. semis, irrigation, amendement).

Dans cette étude, la conductivité a permis d'affiner l'interprétation des résultats en tenant compte de l'hétérogénéité parcellaire.

Ces cartes sont détaillées en Annexe 4 (p 154 à 157).

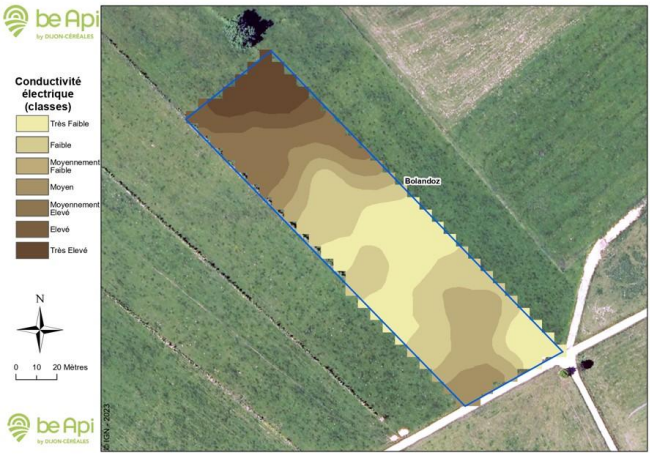


Figure 28 : carte de la conductivité à Bolandoz.



Figure 29 : carte de la conductivité à Lizine Grand.

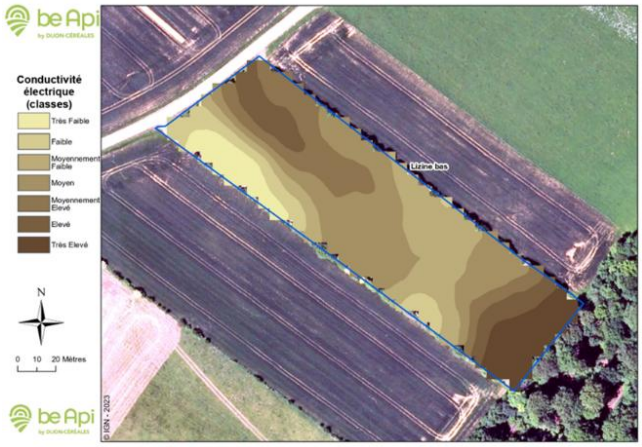


Figure 30 : carte de la conductivité à Lizine Petit.

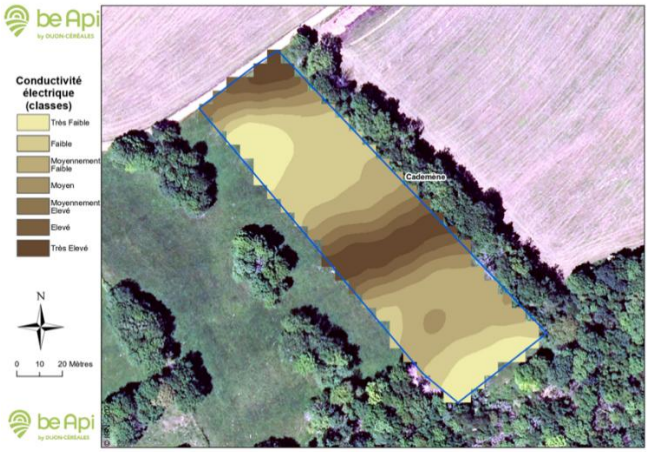


Figure 31 : carte de la conductivité à Cademène.

4. Analyse et méthode

a. Critères de sélection des haies

Dans le cadre de cette étude menée sur quatre années, une sélection rigoureuse de haies a été conduite afin d'identifier un échantillon de référence pertinent pour l'analyse comparative. Ce travail a été réalisé en collaboration avec la Fédération Départementale des Chasseurs du Doubs (FDC 25), partenaire du programme de plantation de haies soutenu par les appels à projets de l'Agence de l'Eau. Trente haies ont ainsi été recensées dans le périmètre d'étude, dont une d'origine naturelle intégrée à titre comparatif. Parmi elles, quatre haies ont été retenues pour faire l'objet d'un suivi approfondi.

Le secteur étudié se situe sur le premier plateau du Jura. Bien que cette zone présente une diversité de contextes pédologiques, seules les haies implantées sur des zones à sols homogènes – principalement des calcosols relativement profonds – ont été retenues. Ce critère visait à limiter les biais liés aux conditions édaphiques et à assurer la comparabilité entre sites.

D'autres critères ont été mobilisés pour affiner la sélection :

- L'âge de la haie, intégré comme variable d'analyse afin d'étudier l'effet du développement des haies sur les prairies et les sols,
- L'orientation du linéaire, prise en compte pour ses implications sur le microclimat et les expositions aux vents et au rayonnement solaire,
- L'état sanitaire, en excluant les haies fortement dégradées ou discontinues,
- La diversité en essences ligneuses, afin de garantir un minimum de complexité structurelle et fonctionnelle.

Le tableau ci-dessous présente la synthèse des critères retenus.

Tableau 5 récapitulatif des critères de sélection des haies

Critères	Justification
Programme de plantation	Haies issues du programme FDC 25 / Agence de l'Eau (sauf une haie naturelle)
Localisation géographique	Secteur du premier plateau jurassien
Homogénéité des sols	Sols relativement profonds, homogènes entre les sites sélectionnés
Usage agricole dominant	Parcelles en prairie permanente ou temporaire de longue durée
Âge de la haie	Variable étudiée pour analyser l'évolution des effets dans le temps
Orientation	Sud-Ouest
État sanitaire	Exclusion des haies présentant une forte mortalité ou des discontinuités marquées

b. Identification des parcelles et localisation des haies

Les haies et les parcelles sont régulièrement présentées sous forme de code dans les schémas, les correspondances sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 identification des haies étudiées

Nom parcelle	Code	Année d'implantation
Bolandoz	HBO	2020
Lizine Grand	HLG	2011
Lizine petit	HLP	2001
Cademène	HCA	Haie témoin

Les figures ci-dessous permettent de situer les 4 haies et les 4 prairies suivies. Afin d'éliminer une source de variabilité pouvant impacter les résultats de l'étude des effets des haies sur les sols et les prairies, un des critères qui a déterminé le choix des haies a été leur orientation et la présence de parcelles en prairie situées du même côté. Les quatre haies retenues ont une orientation nord-ouest sud-est. Tous les suivis et les analyses ont été réalisés dans la prairie située au sud-ouest des haies.



Figure 32 Localisation des zones d'étude des 4 haies

c. Localisation des zones d'étude sur les 4 haies

Le choix des zones d'étude (figures 33 à 36) a été le fruit des analyses croisées de la caractérisation des sols, de l'état et de la description des haies (chapitre III.4.d Diagnostic agroforestier des haies) et des études de conductivité réalisées sur les parcelles (chapitre III. 3 La conductivité électrique du sol) afin de limiter les hétérogénéités au sein et entre les parcelles. Sur chaque parcelle une bande de 60 m a été retenue pour mettre en place les protocoles d'étude, sauf sur la parcelle témoin de Cademène. En effet, pour conserver une homogénéité de profondeur de sol, le choix a été fait par l'équipe de ne conserver que 40 mètres de zone d'étude.



Figure 33 : carte de localisation de la zone d'étude Bolandoz



Figure 34 : carte de localisation de l'étude Lizine Grand



Figure 35 : carte de localisation zone d'étude Lizine Petit



Figure 36 : carte de localisation zone d'étude Cademène

d. Diagnostic agroforestier des haies

Les essences présentes ont été relevées au GPS, Chaque essence est représentée en pourcentage du nombre d'arbre total présents dans la haie. Les strates correspondent à des étages de végétation qui permettent de définir des typologies de haie d'après le « référentiel national de typologie des haies » consultable sur le site de Réseau Haies France (https://reseauhaies.fr/typologie-nationale-des-haies/). On peut retenir une strate arbustive basse, une strate intermédiaire composée de cépées et/ ou de fruitiers et une strate dominante composée d'essences forestières. Enfin, à chaque essence correspond une mycorhization connue qui peut être endomycorhizienne et/ou ectomycorhizienne.

La structure de la haie, construite en positionnant de façon judicieuse les éléments de la strate dominante par rapport à ceux des strates intermédiaires et arborées, pour limiter les compétitions (essences d'ombre/ de lumière, accès aux ressources...) et favoriser la reprise majoritaire des plants, ainsi que les essences présentes (adaptation au sol et à la station) seront des facteurs déterminants pour une meilleure adaptation au changement climatique et une capacité de résilience et impacteront les interactions entre les haies et les sols prairiaux étudiés. La typologie d'une haie plantée doit répondre aux objectifs priorisés de l'agriculteur (ombrage, brise vent…). Dans l'étude les haies sont toutes plantées sur 2 à 3 lignes.

L'adaptation des essences aux sols et à la station a été réalisée en croisant les diagnostics de deux forestières de l'équipe forêt de la CIA 25/90, d'après la Flore Forestière Française, volume 1 Plaines et collines et *Calclim, guide de stations sur plateaux calcaires en prenant en compte les changements climatiques.*

i. Répartition des essences par haies et adaptation au sol et à la station

Les cartes de relevé des essences sont centrées sur les zones d'étude pour une meilleure visibilité mais les relevés ont été effectués sur toute la haie. La ligne 0 mètre de prélèvements ici n'apparaît pas pour garder une visibilité sur les essences.

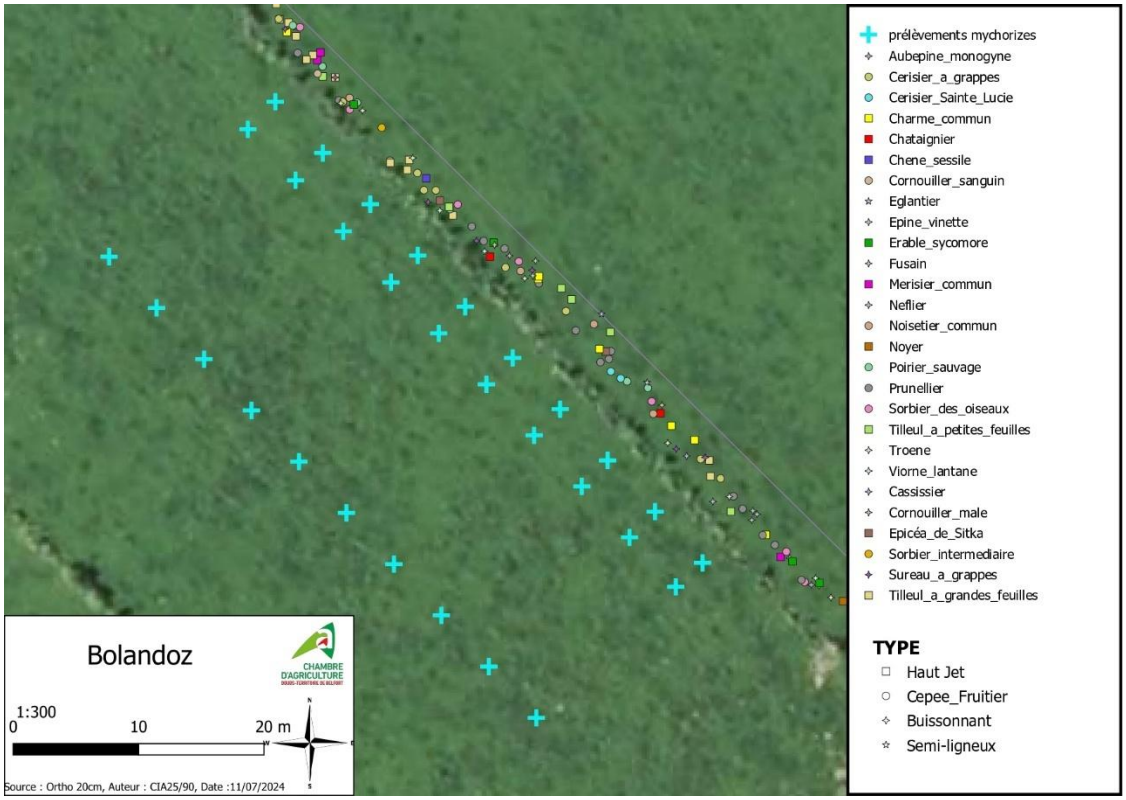


Figure 37 : carte de relevé des essences de la haie de Bolandoz (extrait).

Cette carte (Figure 37) localise les essences de la parcelle de Bolandoz sur la zone d'étude et différencie les hauts jets des cépées/ fruitiers, des buissonnants et des semi-ligneux. Les croix turquoise localisent les prélèvements de mycorhizes ou de microbiome réalisés.

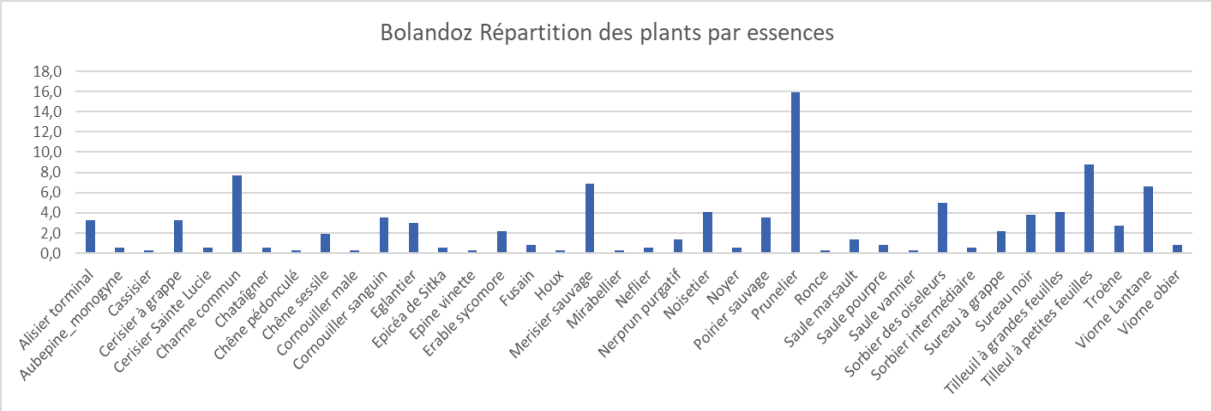


Figure 38 : Bolandoz - répartition des plants par essence

La haie de Bolandoz présente 38 essences différentes présentes avec une présence importante de pruneliers. 12 % essences ne sont pas adaptées au sol et station.



Figure 39 : photographie de la haie de Bolandoz en mars 2021

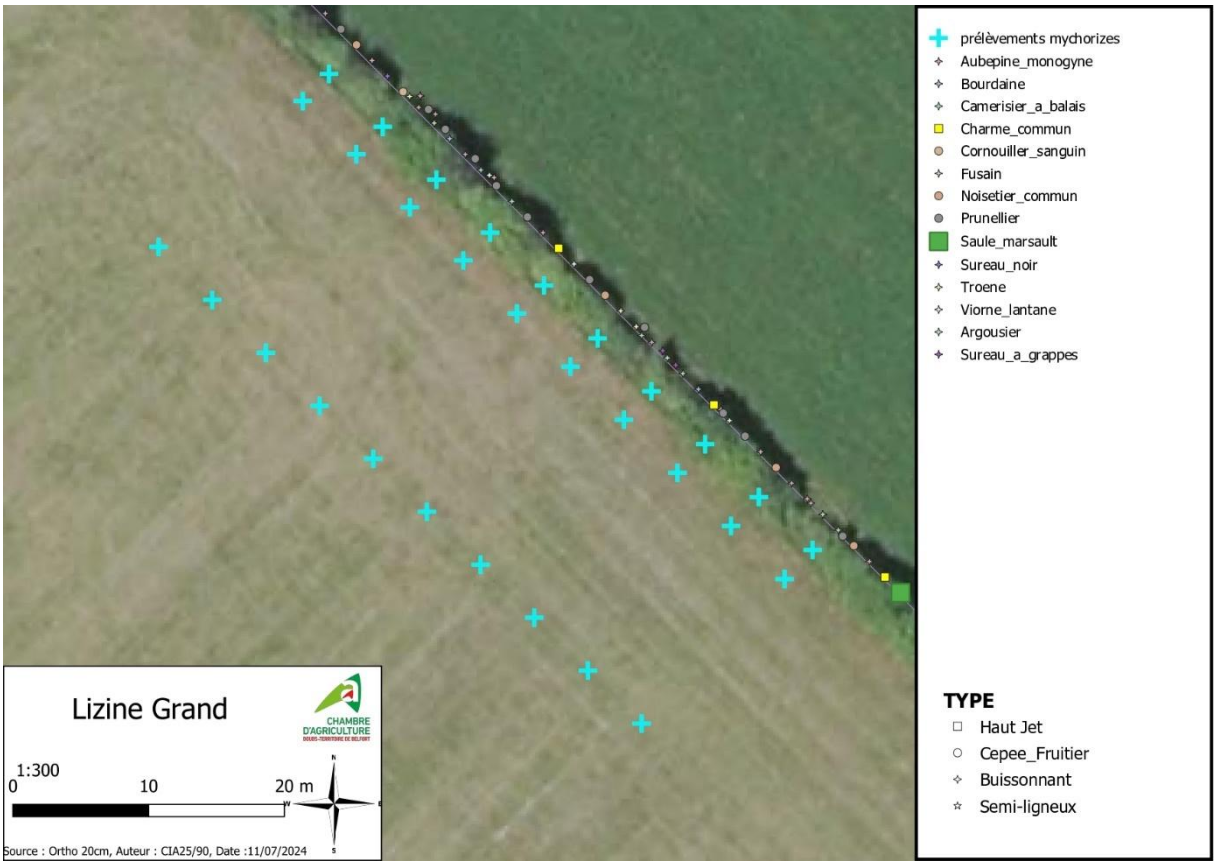


Figure 40 : carte de relevé des essences de la haie de Lizine Grand (extrait).

Cette carte (Figure 40) localise les essences de la parcelle de Lizine grand sur la zone d'étude et différencie les hauts jets des cépées/ fruitiers, des buissonnants et des semi-ligneux. Les croix turquoise localisent les prélèvements de mycorhizes réalisés.

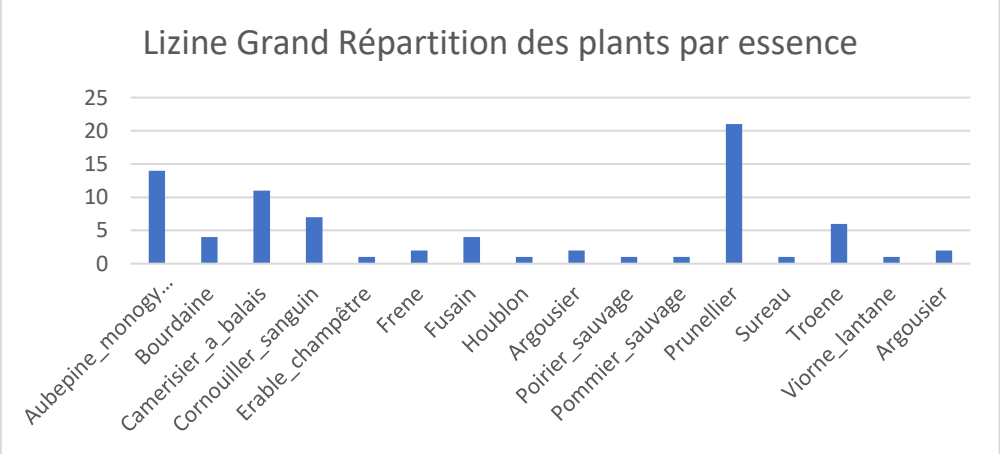


Figure 41 : Lizine Grand- répartition des plants par essence

La haie de Lizine Grand comprend 16 essences différentes, essentiellement arbustives avec une forte dominance de pruneliers et d'aubépines. 10 % essences ne sont pas adaptées au sol et station



Figure 42 : photographie haie de Lizine Grand mai 2021

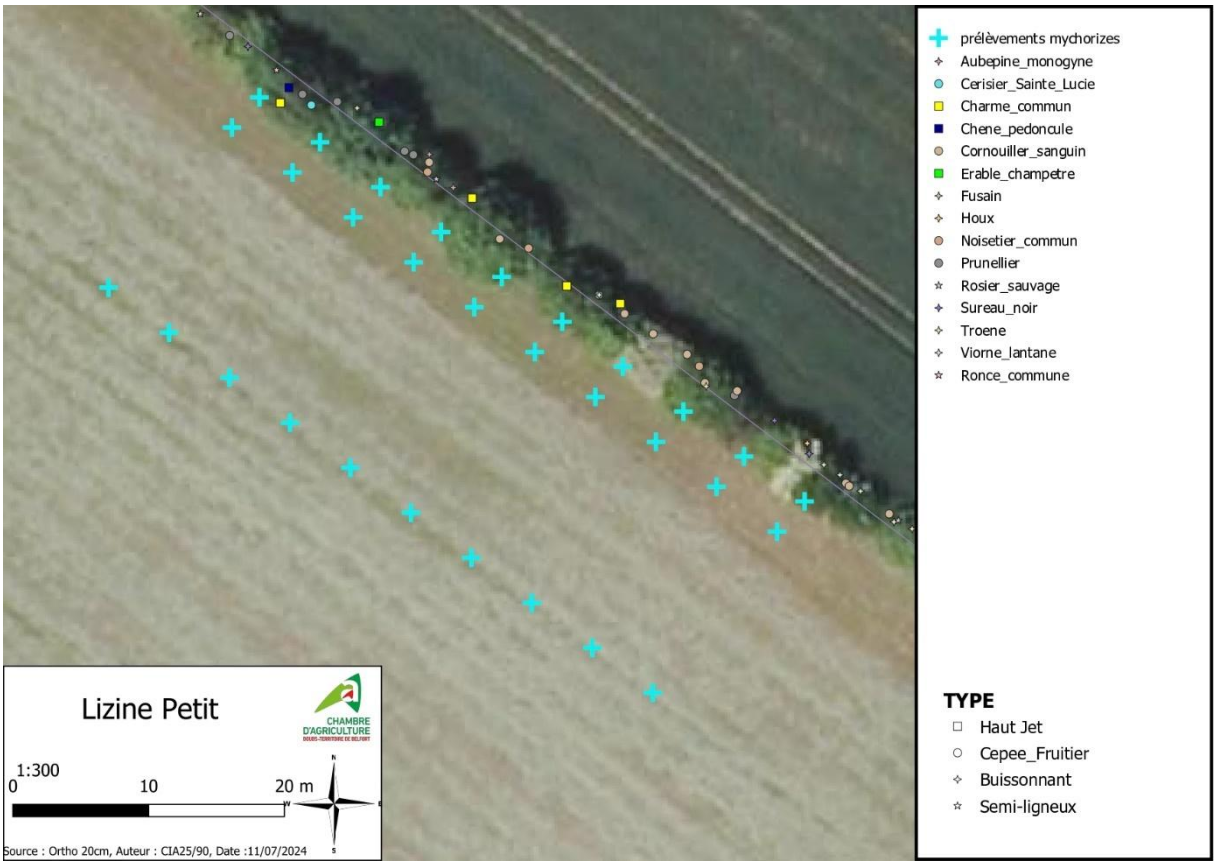


Figure 43 : carte de relevé des essences de la haie de Lizine Petit (extrait)

Cette carte (Figure 43) localise les essences de la parcelle de Lizine Petit sur la zone d'étude et différencie les hauts jets des cépées/ fruitiers, des buissonnants et des semi-ligneux. Les croix turquoise localisent les prélèvements mycorhizes ou microbiome réalisés.

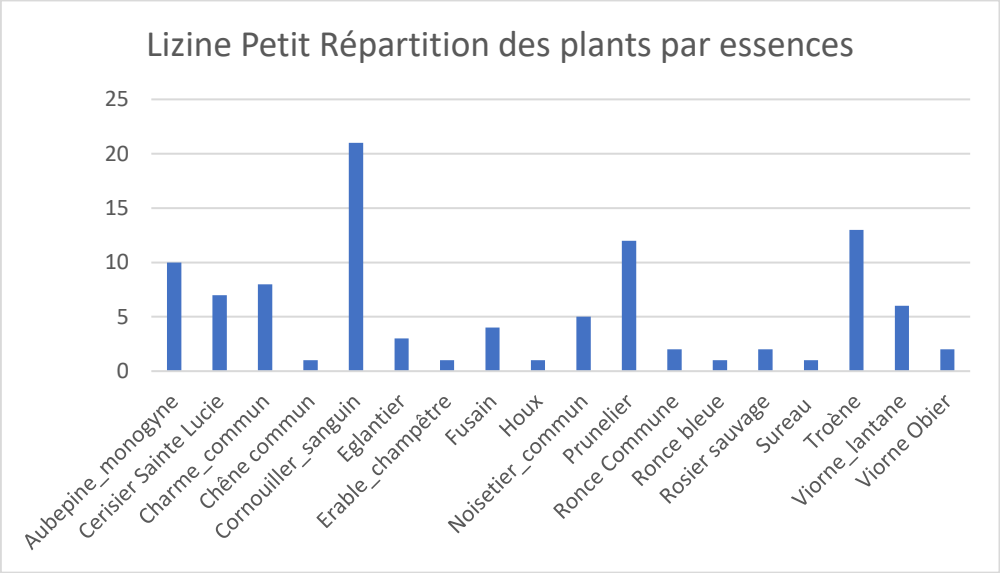


Figure 44 Lizine Petit-répartition des plants par essence

La haie de Lizine petit est composée d'essences hauts jets, fruitières et arbustives avec une dominance de présence de cornouillers. Parmi les 18 essences présentes, toutes sont adaptées au sol et à la station.



Figure 45 : photographie de la haie de Lizine Petit en septembre2021

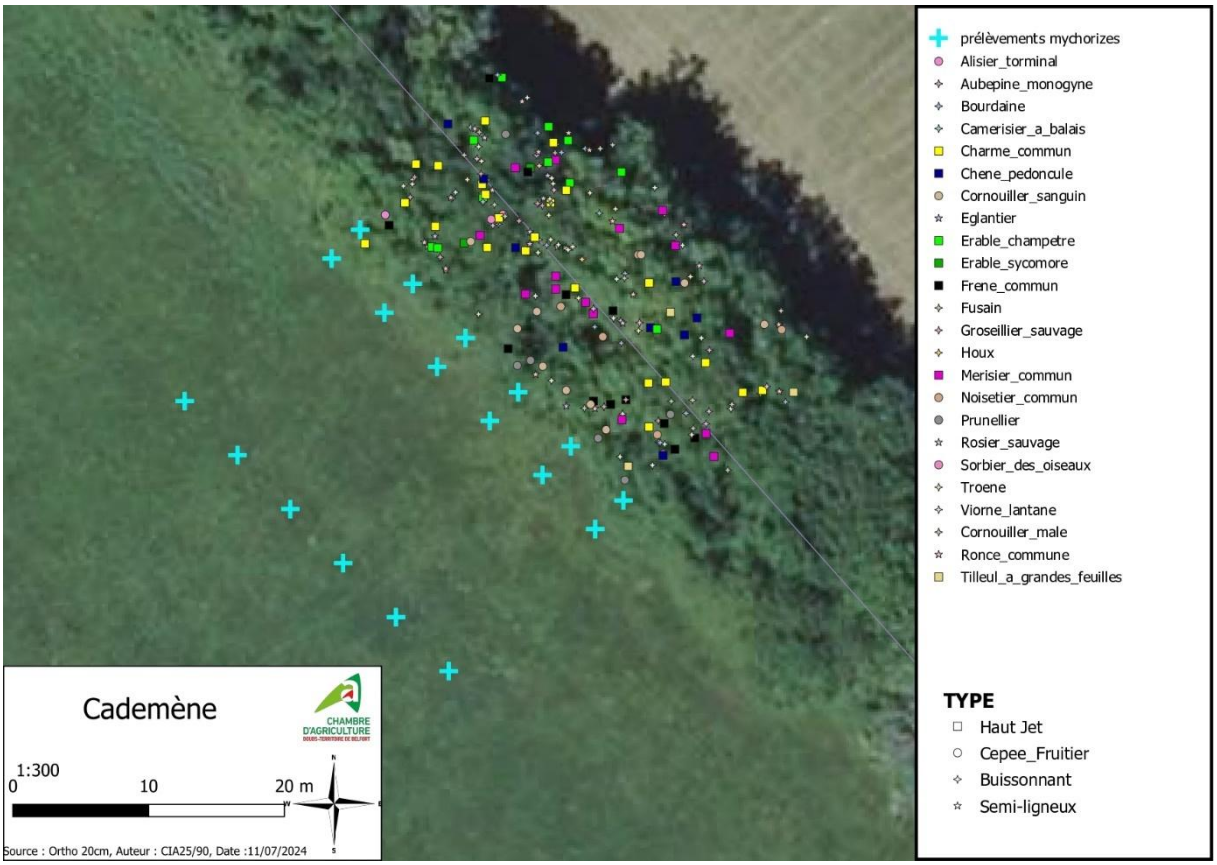


Figure 46 : carte de localisation des essences Cademène (extrait)

Cette carte (Figure 46) localise les essences de la parcelle de Cademène sur la zone d'étude et différencie les hauts jets des cépées/ fruitiers, des buissonnants et des semi-ligneux. Les croix turquoise localisent les prélèvements mycorhizes/ microbiome réalisés.

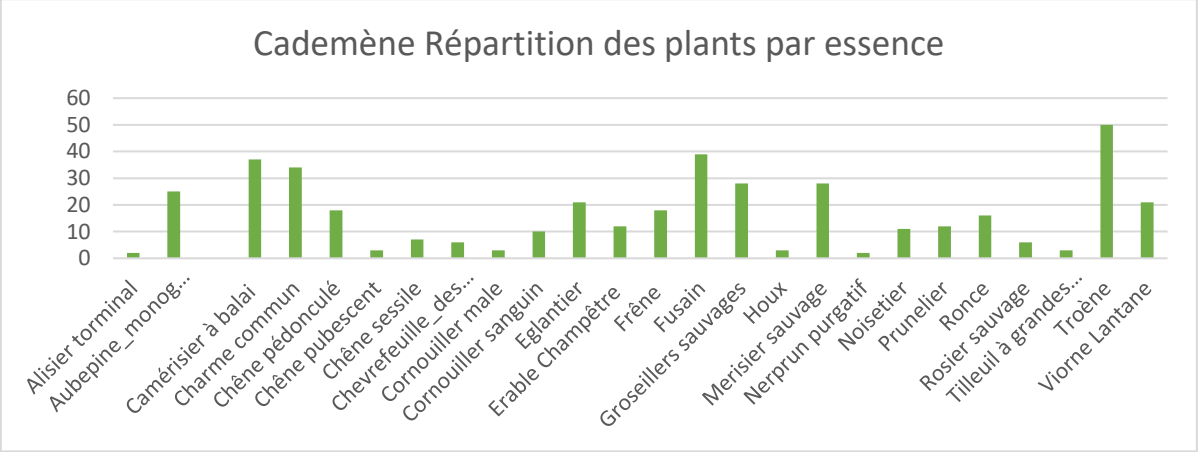


Figure 47Cademène-répartition des plants par essence

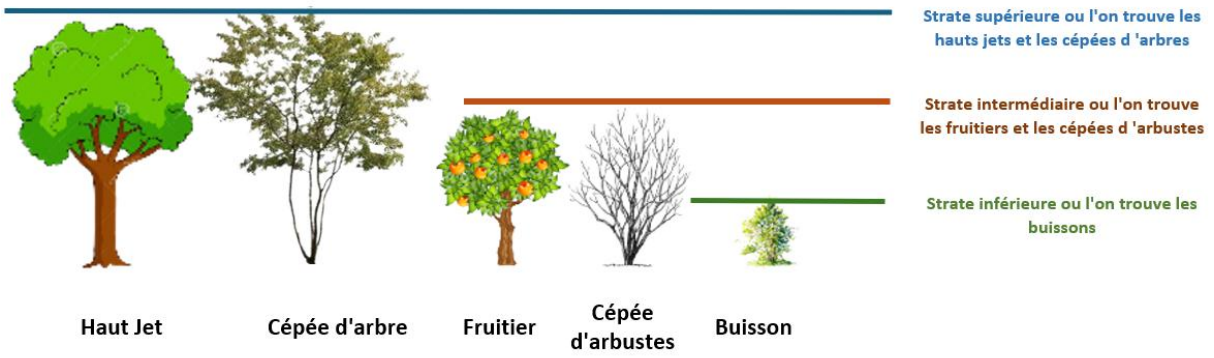
La haie témoin naturelle de Cademène est composée des 3 strates en multirangs et comprend 25 essences différentes. Toutes les essences présentes sont adaptées au sol et à la station.



Figure 48 : photographie de la haie de Cademène en juillet 2024

ii. Répartition des strates dans les haies

Les strates retenues sont : hauts jets, fruitiers/cépées, arbustes, semi-ligneux. Les hauts jets sont des arbres forestiers de grande taille que l'on retrouve, à l'âge adulte, sur la strate supérieure en compagnie des cépées d'arbres (plusieurs brins issus de la même souche). Les données sont extraites des relevés GPS réalisés sur le terrain.



Les semis ligneux (lianes, ronces, chèvrefeuille…) peuvent être présents sur plusieurs strates et sont identifiés à part.

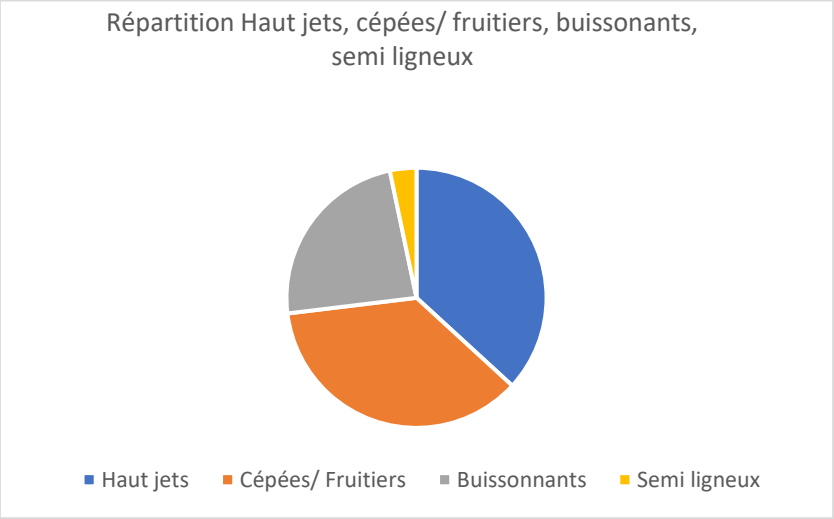


Figure 49 : Bolandoz - répartition hauts jets, cépées/fruitiers, buissonnants, semi-ligneux

Très forte densité de hauts jets (37 %) et de cépées/ fruitiers (37%). Tous les plants présents sont plantés très serrés et n'auront pas la capacité de survivre. C'est une haie à 3 strates.

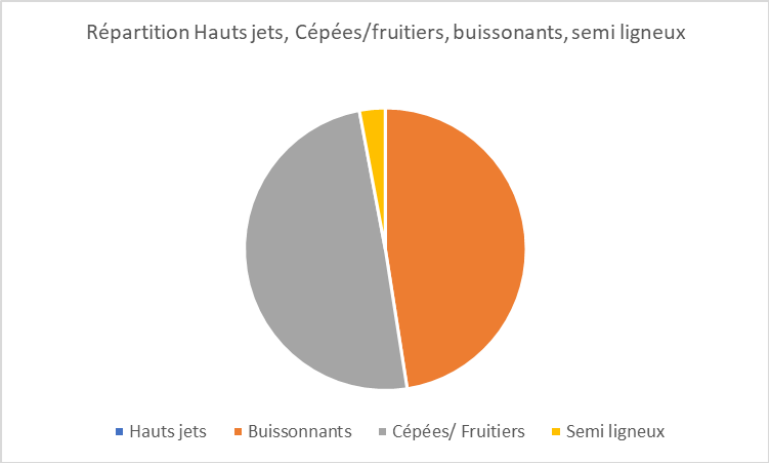


Figure 50 : Lizine Grand répartition hauts jets, cépées/fruitiers, buissonnants, semi-ligneux

La haie de Lizine Grand est composée uniquement de cépées/ fruitiers et d'essences arbustive. C'est une haie à 2 strates.

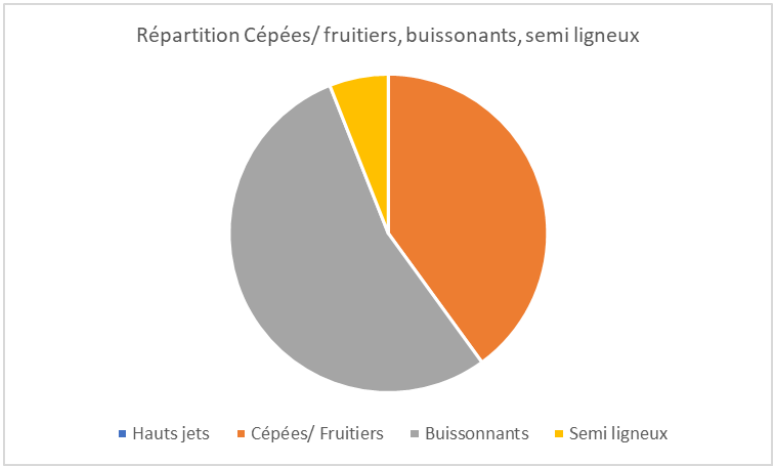


Figure 51 : Lizine Petit répartition hauts jets, cépées/fruitiers, buissonnants, semi-ligneux

La haie de Lizine Petit est composée de cépées/ fruitiers et d'essences arbustive avec une présence significative de semi-ligneux. C'est une haie à 2 strates.

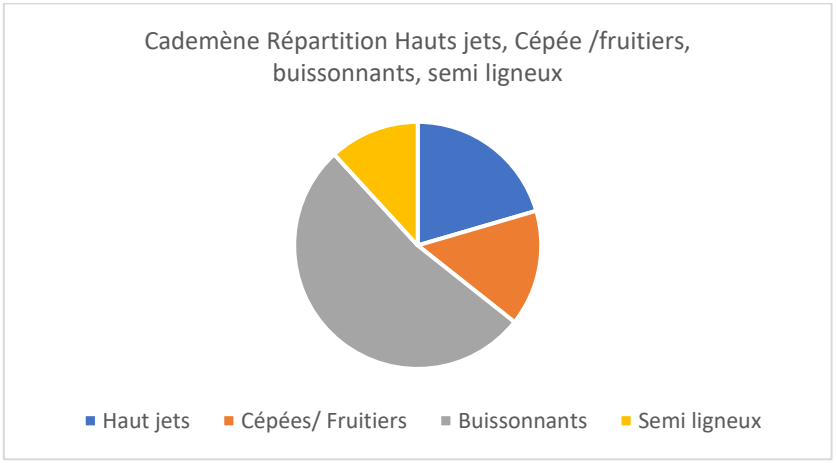


Figure 52 : Cademène répartition hauts jets, cépées/fruitiers, buissonnants, semi-ligneux

La haie naturelle de Cademène est composée d'une répartition harmonieuse entre les 4 catégories considérées. C'est une haie à 3 strates.

iii. Répartition des types de mycorhizes des arbres présents

Les ectomycorhiziens (ex. chênes, noisetiers, charmes) sont liés à la majorité des hauts jets forestiers. Les endomycorhiziens (ex. aubépine, cornouiller, prunelier) sont associés aux essences pionnières et arbustives.

Un mélange de types mycorhiziens améliore la résilience et la fertilité du sol, notamment en matière de recyclage de l'azote et du phosphore. Il favorisera également la complémentarité biologique :

- Ectomycorhizes : efficaces pour le recyclage du phosphore, la stabilité du sol, et l'interaction avec les arbres matures.
- Endomycorhizes : cruciales pour les espèces herbacées et prairiales, soutien à l'absorption d'eau et d'azote.

Le relevé des essences ectomychoriziennes (Figures 53 à 60) a pour vocation d'évaluer si la présence d'essences ectomycorhiziennes en bordure de prairie influence positivement ou non les mycorhizes des graminées prairiales (via une possible extension du réseau fongique au-delà de la haie). Cet aspect sera abordé au chapitre IV-3-c.

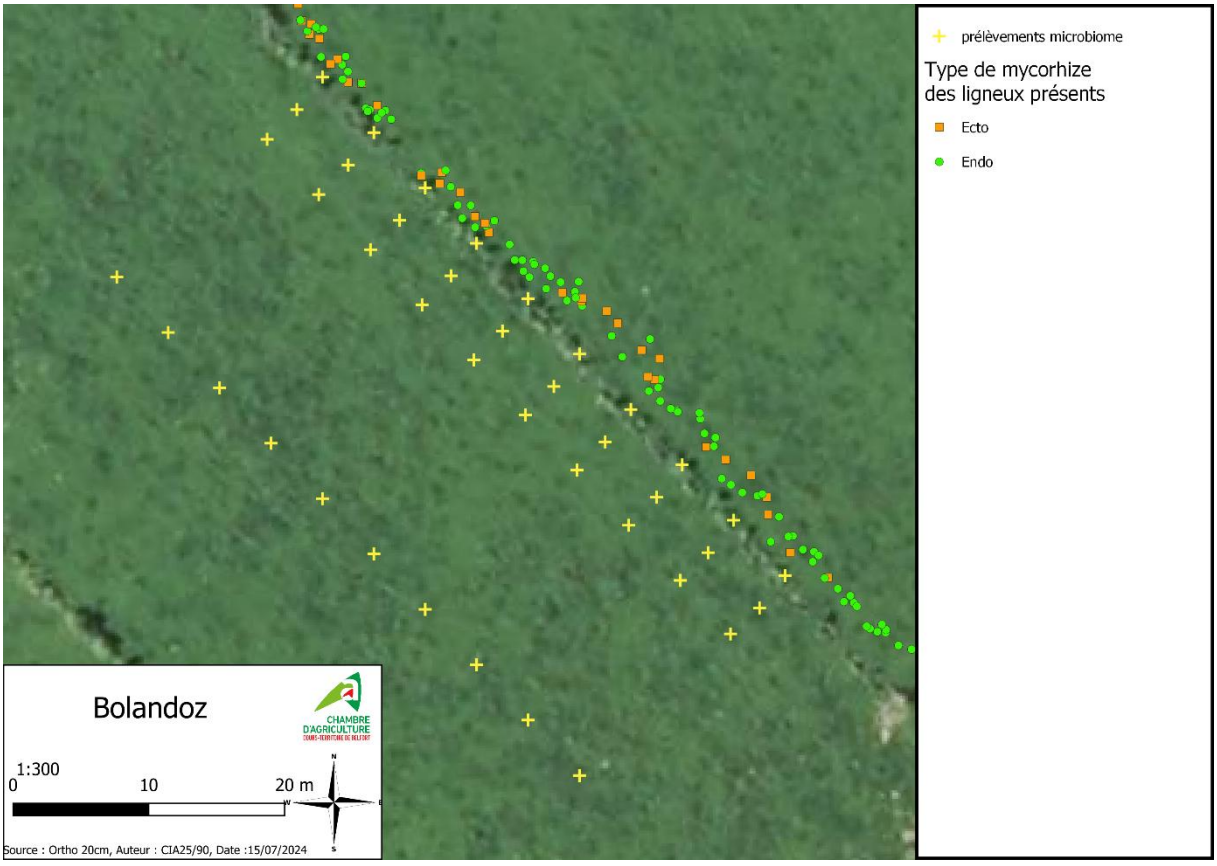


Figure 53 : carte de la localisation des types de mycorhize des ligneux et des zones de prélèvements à Bolandoz

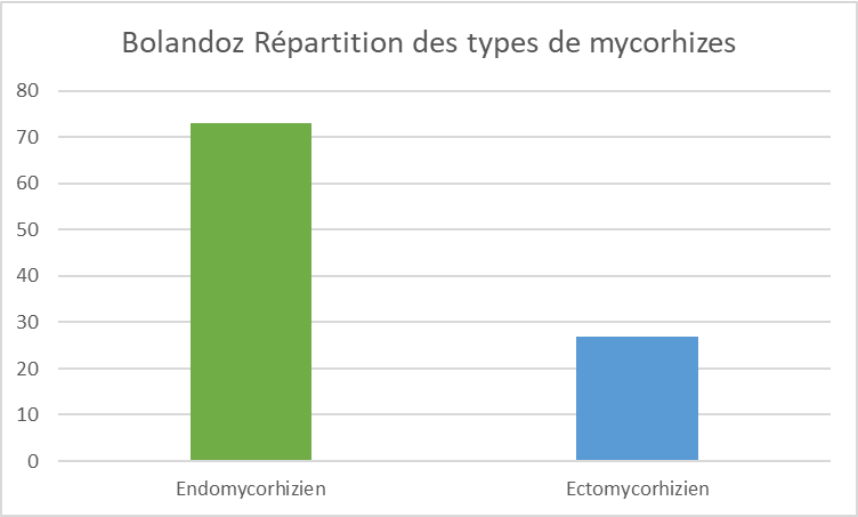


Figure 54 Bolandoz répartition types de mycorhizes des essences de la haie

A Bolandoz, on a relevé 27 % d'essences ectomycorhiziennes dans la haie,

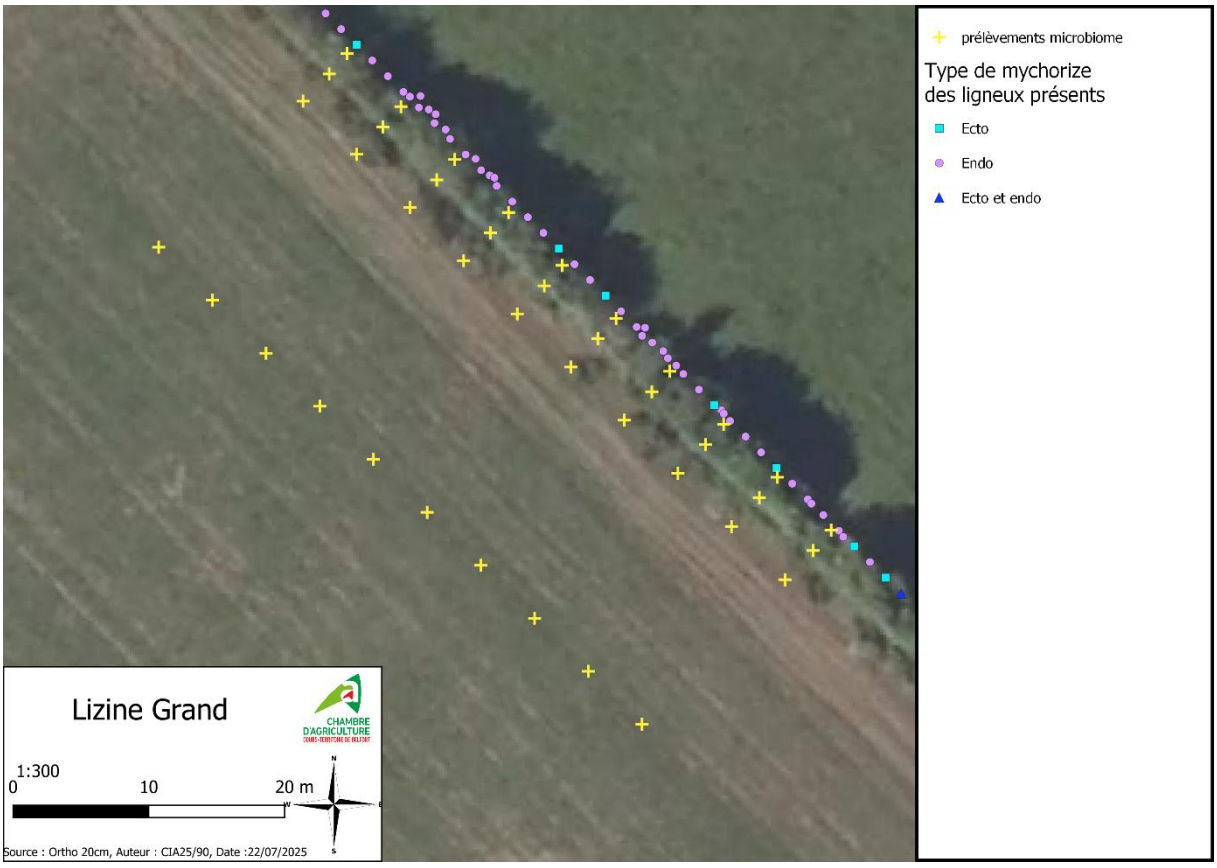


Figure 55 : carte de la localisation des types de mycorhize des ligneux et des zones de prélèvements à Lizine Grand

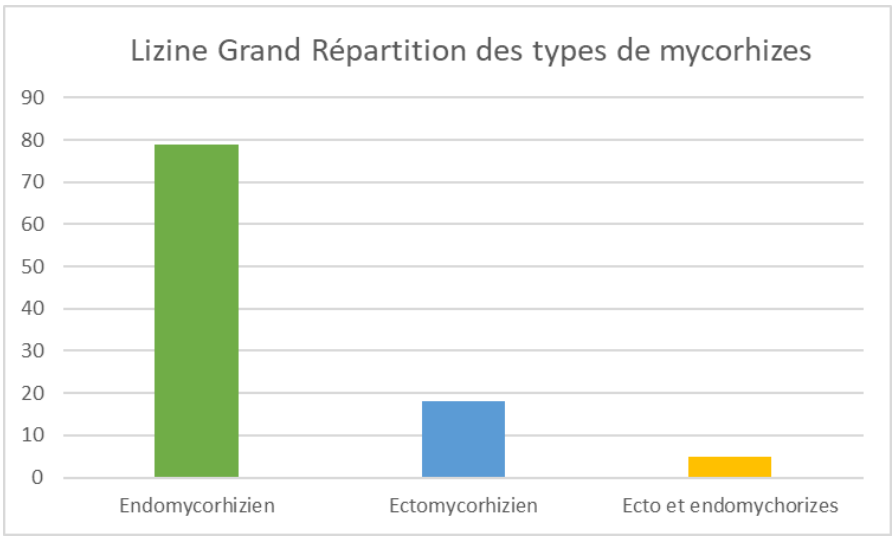


Figure 56 : Lizine Grand répartition types de mycorhizes des essences de la haie

On a relevé 18 % d'essences ectomycorhiziennes dans la Haie de Lizine Grand et 5 % d'essences pouvant être soit endomycorhiziennes, soit ectomycorhiziennes. Ces deux types d'essences ne sont pas réparties de façon régulière le long de la haie.

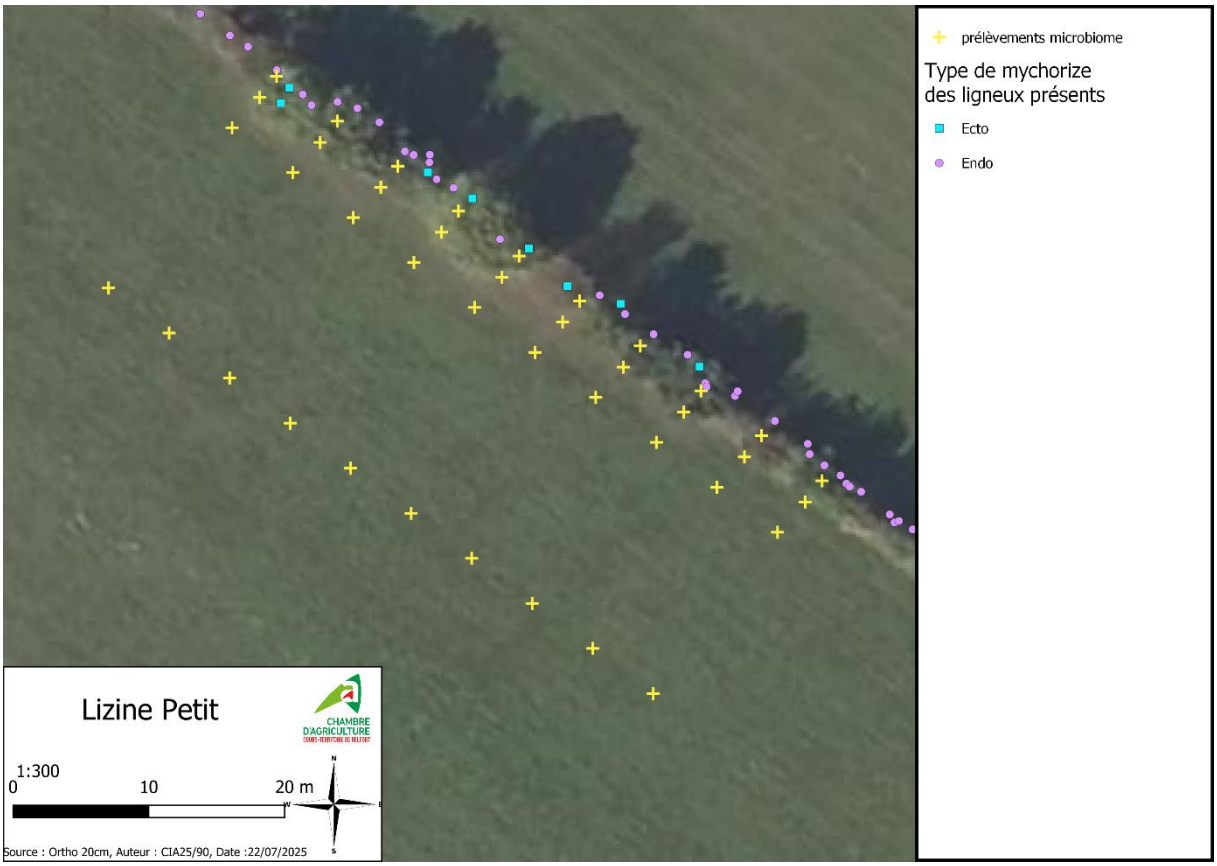


Figure 57 : carte de la localisation des types de mycorhize des ligneux et des zones de prélèvements à Lizine Petit

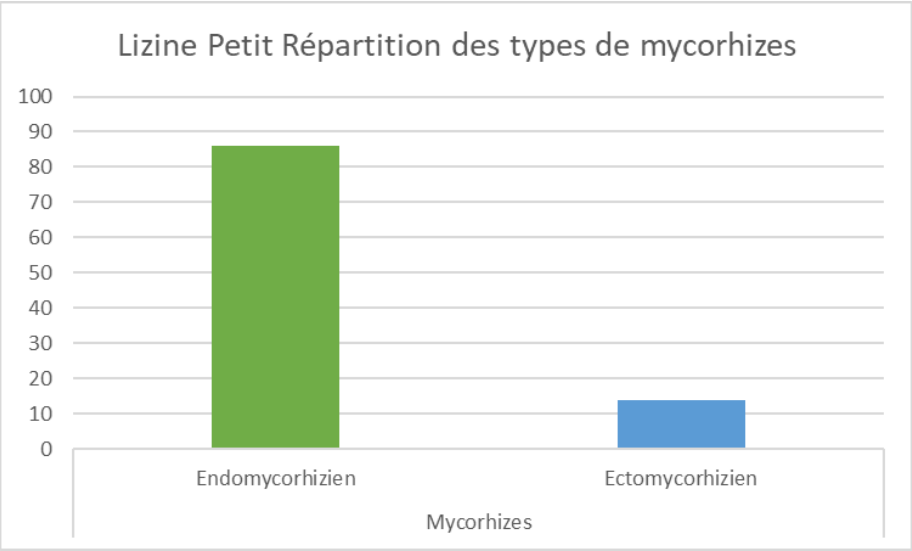


Figure 58 : Lizine petit - répartition types de mycorhizes des essences de la haie

On a relevé 14 % d'essences ectomycorhiziennes dans la Haie de Lizine Petit, réparties de façon relativement régulière le long de la haie.

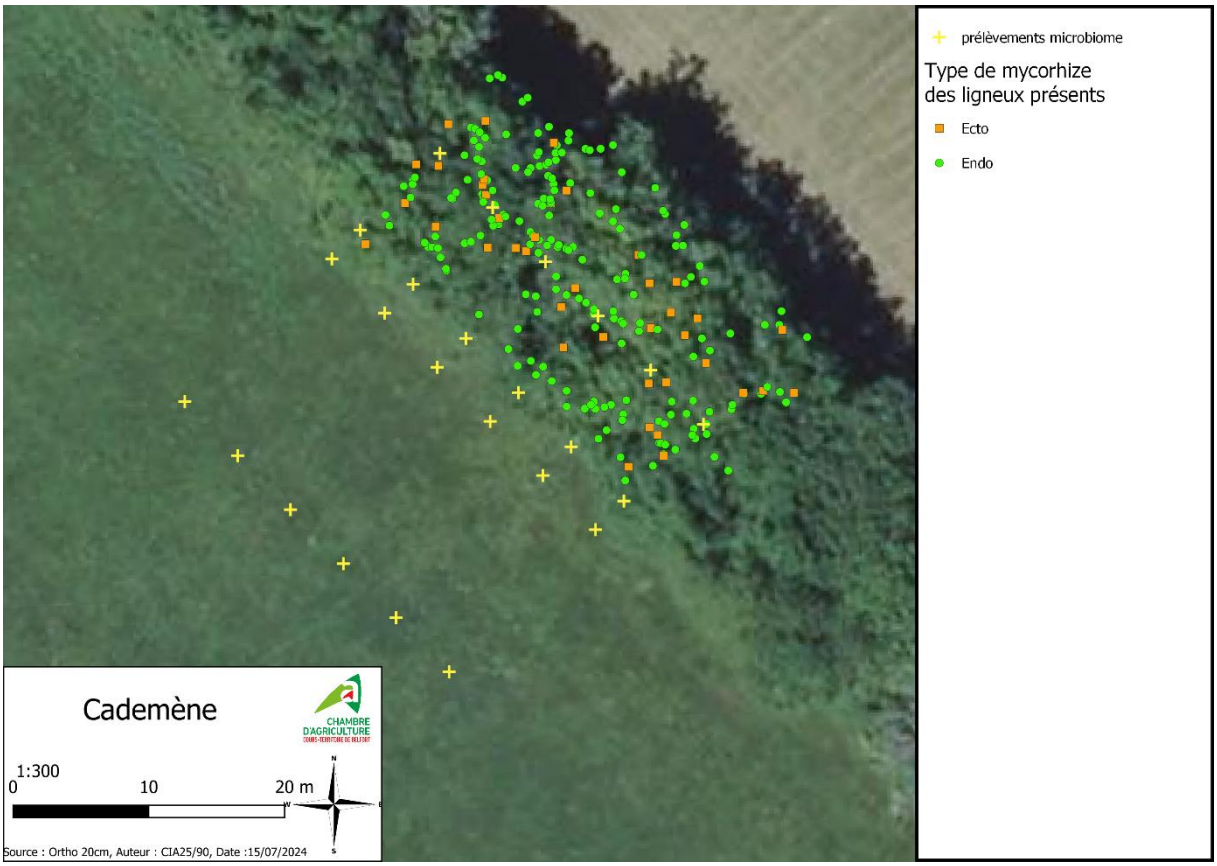


Figure 59 : carte de la localisation des types de mycorhize des ligneux et des zones de prélèvements à Cademène

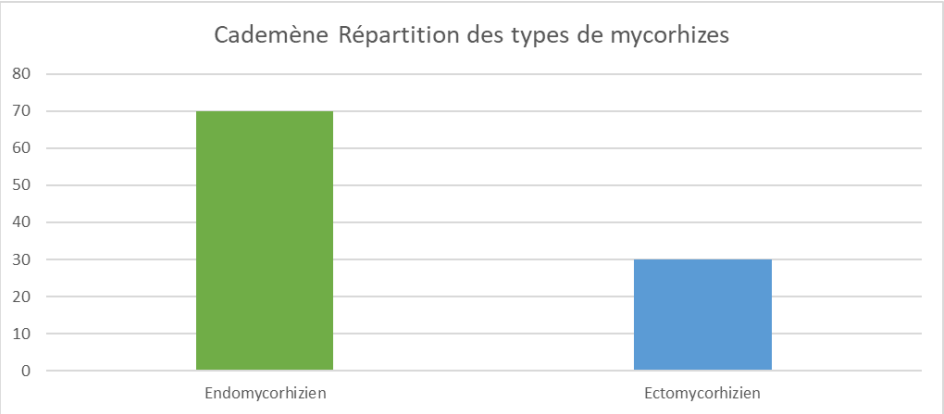


Figure 60 : Cademène - répartition types de mycorhizes des essences de la haie

On a relevé 30 % d'essences ectomycorhiziennes dans la Haie de Cademène, avec une répartition régulière le long de la haie.

iv. Synthèse du bilan agroforestier :

Le bilan prend en compte les évaluations précédentes. Les haies qui combinent plusieurs strates végétales, des essences adaptées au sol, et une diversité mycorhizienne équilibrée, comme Cademène, apparaissent comme les plus prometteuses pour soutenir la biodiversité souterraine, la résilience écologique, et le stockage du carbone.

La haie de Bolandoz, trop riche en essences, pas toujours adaptées présente une diversité mycorhizienne intéressante mais semble perturbée par une densité excessive et des pratiques agricoles limitantes (voir plus loin). A terme, les fruitiers et les hauts jets trop serrés par endroits devront faire l'objet d'une éclaircie.

La haie de Lizine Grand est très pauvre en diversité avec 10 % d'essence non adaptées à la station et n'est que sur deux strates ce qui explique les pourcentages très bas d'ectomycorhizes. Cette haie ne peut avoir un grand impact sur la vie du sol et aura une résilience aux stress limitée.

Lizine Petit**,** bien structurée et cohérente sur le plan végétal, gagnerait à l'introduction ciblée de quelques essences ectomycorhiziennes supplémentaires pour équilibrer son réseau fongique.

Tableau 7 synthèse du bilan agroforestier

Nom de la Haie	Bolandoz	Lizine Grand	Lizine Petit	Cademène
Année de plantation	2020	2011	2001	Haie naturelle mature
Age en 2024	4 ans	13 ans	23 ans	80 à 100 ans
Résilience	Haie présentant une capacité de résilience moyenne à long terme. Trop forte densité de hauts jets (37 %) et de cépées/ fruitiers (37%), 37 essences différentes présentes dont 13 non adaptées au sol et à la station	Haie présentant peu de capacité de résilience	Haie présentant une bonne capacité de résilience	Haie présentant une très bonne capacité de résilience
Indice fonctionnalité	2/5	2/5	4/5	5/5

Le bilan agroforestier détaillé est présenté en annexe 5.

e. Méthodologie de collecte des données

La majorité des relevés se font avec la même méthodologie de transects (Cf figure 44), dans la prairie située au sud-ouest de la haie :

- Une série de mesure à 2M de la haie, où on considère que son influence sur le sol est la plus importante
- Une série de mesures à 5M de la haie, où son influence peut encore être marquée, notamment pour les haies les plus âgées
- Une série de mesures à 20M de la haie, où l'on considère qu'elle n'a plus d'effet sur le sol et qui sert donc de témoin.

Les relevés concernés par cette méthodologie sont :

- Les mesures des hauteurs de l'herbe[1] (30 mesures minimum à chaque passage, de juin à septembre),
- Les mesure de l'humidité du sol[1] (20 mesures minimum à chaque passage, de juin à septembre)
- Les analyses d'herbe (environ 20 poignées d'herbe),
- Les reliquats azotés (15 échantillons de terre sur l'horizon 0-30 cm),
- La caractérisation de la matière organique (15 échantillons).
- Le comptage et l'identification des lombricidés (4 petites fosses par distances)
- Les analyses physico-chimiques de terre (SADEF) et la caractérisation de la matière organique, la biomasse microbienne et du potentiel de minéralisation de l'azote et du carbone (Célesta'lab).

La méthode de collecte des données concernant les mycorhizes est un peu différente : 10 échantillons sont prélevés au pied de la haie, à 5 m de la haie et à 20M.

[1] *Lorsque la parcelle située du côté nord est de la haie était également en prairie, il a été décidé d'y mesurer également les hauteurs de l'herbe et l'humidité du sol, à chaque fois que ces mesures étaient réalisées au sud-ouest. En effet, hormis le temps de travail supplémentaire, ces mesures n'engendrent pas de coût supplémentaire et permettent de mesurer l'effet de l'ombrage de la haie, vers le nord-est, aux heures les plus chaudes de la journée, sur l'humidité du sol et la pousse de l'herbe.*

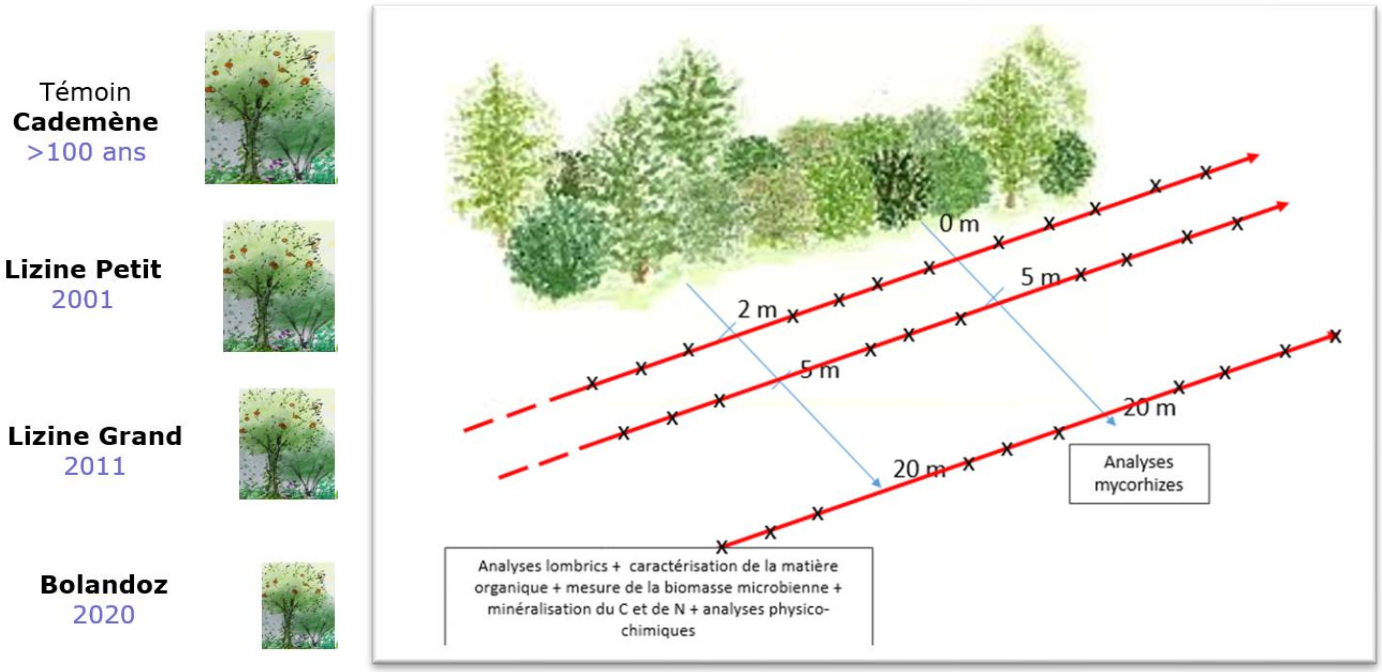


Figure 61: schéma de localisation des transects de mesure.

f. Pratiques des éleveurs sur les prairies sélectionnées

Les critères retenus pour le choix des haies suivies dans le cadre de cette étude a conduit à sélectionner 4 haies et 4 prairies situées chez 4 différents éleveurs. Les modes d'utilisation des parcelles, leur type de fertilisation varient donc et sont susceptibles d'impacter les caractéristiques pédologiques ou la flore des prairies. Ces pratiques agricoles, en particulier la fertilisation, peuvent éclairer les interprétations des résultats obtenus dans le cadre de cette étude. Elles sont décrites dans les tableaux qui suivent.

Tableau 8 Pratiques des éleveurs sur les prairies sélectionnées

Nom Parcelle (année plantation haie)	Exploitant	ID Parcelle	Historique	Mode exploitation	Rendement moyen	Remarque / historique
Bolandoz (2020)	GAEC des Maisonnettes du Couchant	HBO	Prairie > 10 ans	Pâturage tournant	5,5 TMS valorisé par les vaches	Parcelle labourée 10 ans plus tôt, actuellement pâturage tournant, pression bovin importante car la parcelle est proche du bâtiment
Lizine Grand (2011)	GAEC des Lancines	HGLIg	Prairie > 10 ans	Déprimage chevaux ou génisses + Fauche 2 C	2.5 TMS foin et 3 TMS regain	Déprimage chevaux ou génisses + 2 coupes chaque année (voir 3 quand c'est possible). Parcelle éloignée du bâtiment principal.

						Parcelle travaillée en automne 2023 pour y implanter du blé.
Lizine Petit (2001)	MARECHAL Gilles	HGLIp	Prairie > 10 ans	Fauche 2 C	Voir 2,5 TMS foin et 2.5 à 3 TMS regain	Fauche 2 à 3 coupes, ancien labour mal géré et fort feutrage sur les 20 premiers cm, forte présence de rumex. Parcelle retournée en automne 2023 pour y implanter du blé.
Cademène (haie témoin)	GAEC des Chaudières	HCA	Prairie naturelle	Fauche 2C + pâture	3.5 TMS foin + regain	Sol peu profond sur une grande partie de la parcelle

i. Fertilisation sur la parcelle de Bolandoz

Tableau 9 Pratiques de l'exploitant sur la parcelle de Bolandoz

					Teneur effluent (Kg/T) ou engrais (%)				Dose épandue en Kg/ha		
Site	Date d'apport	Campagne	Type D'apport	Nature du produit	N	P2O5	K2O	Dose Hectare (T/ha)	N tot	P2O5	K2O
Bolandoz		2021									
Bolandoz	01/03/2021	2021	Organique	Lisier	2,7	1,1	3,4	15	41	17	51
								Total 2021	**41**	**17**	**51**
Bolandoz	10/11/2021	2022	Organique	Lisier	2,7	1,1	3,4	15	41	17	51
Bolandoz	20/02/2022	2022	Organique	Lisier	2,7	1,1	3,4	15	41	17	51
								Total 2022	**81**	**33**	**102**
Bolandoz	15/11/2022	2023	Organique	Lisier	2,7	1,1	3,4	15	41	17	51
Bolandoz	15/03/2023	2023	Organique	Lisier	2,7	1,1	3,4	15	41	17	51
Bolandoz	05/04/2023	2023	Minéral	0 20 30	0	20	30	0,200	0	40	60
								Total 2023	**81**	**73**	**162**
Bolandoz	15/03/2024	2024	Organique	Lisier	2,7	1,1	3,4	15	41	17	51
								Total 2024	**41**	**17**	**51**

Cette parcelle est utilisée comme pâture pour les vaches laitières du troupeau de l'exploitation, entre les mois d'avril et d'octobre. La fertilisation est dominée par les apports de lisier qui sont réalisés habituellement deux fois par an : en fin de saison, après le dernier tour de pâturage et fin février-début mars, au moment du démarrage de la végétation. Le lisier est un engrais organique contenant une part importante d'azote ammoniacal (environ 50 %) et avec un rapport C/N relativement faible. La libération de l'azote est rapide, de quelques semaines à quelques mois après l'apport. En moyenne sur les quatre années, les apports ont été de 61 kg N/ha, 35 kg P_2O_5/ha et 92 kg K_2O/ha.

ii. *Fertilisation sur la parcelle de Lizine Grand*

Tableau 10 Pratiques de l'exploitant sur la parcelle de Lizine Grand

					Teneur effluent (Kg/T) ou engrais (%)				Dose épandue en Kg/ha		
Site	Date d'apport	Campagne	Type D'apport	Nature du produit	N	P2O5	K2O	Dose Hectare (T/ha)	N tot	P2O5	K2O
Lizine Grand	20/03/2021	2021	Organique	Fumier	5,1	3	6,1	12	61	36	73
								Total 2021	61	36	73
Lizine Grand	07/03/2022	2022	Organique	Fumier	5,1	3	6,1	12	61	36	73
								Total 2022	61	36	73
Lizine Grand	15/03/2023	2023	Organique	Fumier (15 m bord haie)	5,1	3	6,1	15	77	45	92
								Total 2023	77	45	92
Lizine Grand	25/09/2023	2024	Labour et semis de blé								
Lizine Grand	05/02/2024	2024	Minéral	ammo 33,5	33,5	0	0	0,300	101	0	0
Lizine Grand	10/03/2024	2024	Minéral	ammo 33,5	33,5	0	0	0,240	80	0	0
								Total 2023	181	0	0

La parcelle est utilisée en fauche, avec pâturage par des chevaux comtois en début ou en fin de saison et par des génisses en fin de saison selon la disponibilité en herbe. Seul du fumier est épandu sur cette parcelle à raison d'un apport par an réalisé courant mars. En septembre 2023 la parcelle a été semée en blé. En moyenne sur les trois années en prairie, les apports ont été de 66 kg N/ha, 39 kg P_2O_5/ha et 79 kg K_2O/ha.

iii. *Fertilisation sur la parcelle de Lizine Petit*

Tableau 11 Pratiques de l'exploitant sur la parcelle de Lizine petit

					Teneur effluent (Kg/T) ou engrais (%)				Dose épandue en Kg/ha		
Site	Date d'apport	Campagne	Type D'apport	Nature du produit	N	P2O5	K2O	Dose Hectare (T/ha)	N tot	P2O5	K2O
Lizine Petit	15/03/2021	2021	Organique	Fumier	5,1	3	6,1	15	77	45	92
Lizine Petit	04/04/2021	2021	Minéral	17 17 17	17	17	17	0,100	17	17	17
Lizine Petit	15/06/2021	2021	Minéral	17 17 17	17	17	17	0,100	17	17	17
								Total 2021	111	79	126
Lizine Petit	29/03/2022	2022	Minéral	17 17 17	17	17	17	0,150	26	26	26
Lizine Petit	10/06/2022	2022	Minéral	17 17 17	17	17	17	0,100	17	17	17
								Total 2022	43	43	43
Lizine Petit	05/03/2023	2023	Organique	Fumier	5,1	3	6,1	15	77	45	92
Lizine Petit	05/04/2023	2023	Minéral	17,5 17,5 17,4	17,5	17,5	17,5	0,100	18	18	18
Lizine Petit	19/06/2023	2023	Minéral	17,5 17,5 17,5	17,5	17,5	17,5	0,150	26	26	26
								Total 2023	120	89	135
Lizine Petit	30/10/2023	2024	Labour et semis de blé								
Lizine Petit	05/02/2024	2024	Minéral	ammo 33,5	33,5	0	0	0,300	101	0	0
Lizine Petit	10/03/2024	2024	Minéral	ammo 33,5	33,5	0	0	0,240	80	0	0
								Total 2024	181	0	0

La parcelle est utilisée en fauche exclusive. La fertilisation est à base de fumier épandu début mars (un apport tous les 2 ans) complété par deux apports d'engrais de synthèse complet NPK, l'un en sortie d'hiver et l'autre après la première coupe de foin. Le fumier est un engrais organique riche en paille, avec un rapport C/N élevé, libérant l'azote progressivement après incorporation par les vers de terre et sous l'effet des micro-organismes du sol. L'effet azoté de l'apport du fumier est lent, quelques mois à

2/3 ans. En automne 2023, la parcelle a été remise en céréale. En moyenne sur les trois années en prairie, les apports ont été de 91 kg N/ha, 370 kg P_2O_5/ha et 101 kg K_2O/ha.

iv. Fertilisation sur la parcelle de Cademène

Tableau 12 Pratiques de l'exploitant sur la parcelle de Cademène

					Teneur effluent (Kg/T) ou engrais (%)				Dose épandue en Kg/ha		
Site	Date d'apport	Campagne	Type D'apport	Nature du produit	N	P2O5	K2O	Dose Hectare (T/ha)	N tot	P2O5	K2O
Cademène	20/02/2021	2021	Organique	Fumier	5,1	3	6,1	7	36	21	43
Cademène	05/03/2021	2021	Minéral	20 0 0	20	0	0	0,1	20	0	0
								Total 2021	**56**	**21**	**43**
Cademène	15/11/2021	2022	Organique	Lisier	3,1	0,6	2,4	15	47	9	36
Cademène	15/02/2022	2022	Organique	Compost fumier	5,2	3,1	6,7	10	52	31	67
Cademène	10/03/2022	2022	Minéral	20 0 0	20	0	0	0,1	20	0	0
								Total 2022	**119**	**40**	**103**
Cademène	08/02/2023	2023	Organique	Compost fumier	5,2	3,1	6,7	10	52	31	67
Cademène	03/03/2023	2023	Minéral	20 0 0	20	0	0	0,1	20	0	0
								Total 2023	**72**	**31**	**67**
Cademène		2024		Aucun apport							
								Total 2024	**0**	**0**	**0**

La parcelle est utilisée en fauche exclusive. Elle est fertilisée avec du fumier ou du fumier composté en sortie d'hiver. Au cours de l'automne 2021 elle a également reçu un apport de lisier. Cette fertilisation est complétée par un apport d'engrais azoté de synthèse début mars. En 2024 il n'y a eu aucune fertilisation sur cette parcelle. En moyenne sur les quatre années, les apports ont été de 62 kg N/ha, 23 kg P_2O_5/ha et 53 kg K_2O/ha.

g. Caractérisation floristique des prairies des zones étudiées

La flore des prairies a été caractérisée le 25 avril 2023 par relevé des espèces présentes sur 10 placettes d'un mètre linéaire pour chacune des trois distances à la haie. L'identification a été réalisée par les conseillers en charge de l'étude, accompagné du référent fourrage de la Chambre d'Agriculture 25/90, M Jean-Marie CURTIL.

Les prairies sont des prairies temporaires de longue durée de plus de 10 ans pour les sites de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit. A Cademène la prairie est naturelle. Les graphiques suivants présentent les espèces rencontrées, classées selon les trois catégories fonctionnelles généralement utilisées pour caractériser les prairies à usage agricole : graminées, légumineuses et plantes diverses. La diversité relative, toutes espèces confondues, est également représentée.

Pour les prairies temporaires de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit, certaines espèces semées il y a plus de 10 ans peuvent encore présentes et cohabiter avec des espèces issues du stock semencier de la parcelle ou d'apports exogènes. La composition des mélanges de semences utilisés sur ces trois parcelles n'a pas pu être retrouvées.

Le diagnostic foliaire réalisé le 25 avril 2023 permet de connaître les espèces présentes et visibles à cette date, avec une assez grande représentativité de la diversité de flore de chaque parcelle.

La flore des prairies est cependant susceptible d'évoluer au fil des mois et il est possible d'observer à d'autre périodes de l'année des espèces ou des proportions d'espèces différentes. Lors des relevés des échantillons de terre pour l'identification des mycorhizes il a pu être relevé la présence de racines de légumineuses en proportion plus importante que lors du diagnostic foliaire du 25 avril 2023.

Prairie de Bolandoz

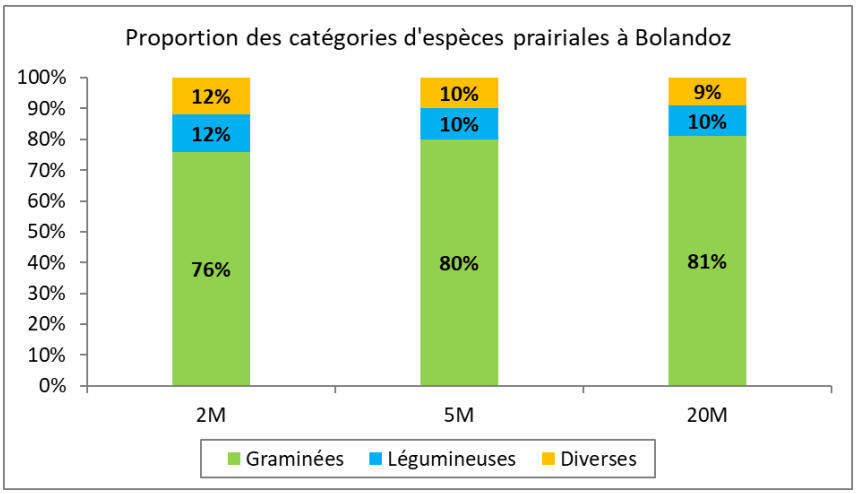


Figure 62 : proportion des espèces prairiales présentes à Bolandoz selon la distance à la haie

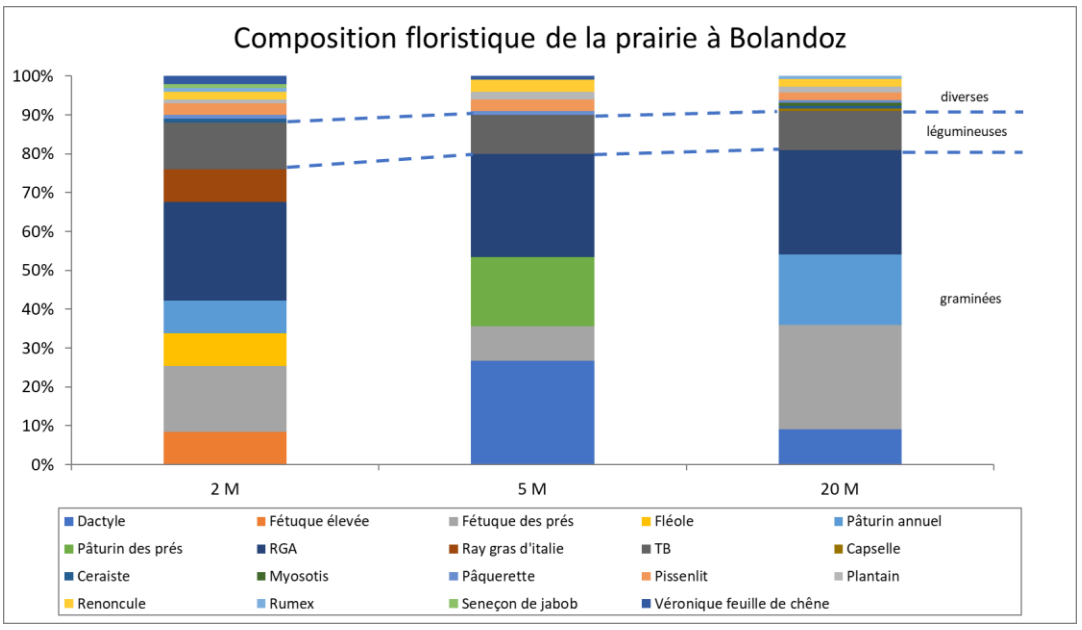


Figure 63 : composition relative des espèces présentes à Bolandoz selon la distance à la haie

La prairie de Bolandoz présente un nombre d'espèces moyen, avec 19 espèces différentes identifiées. Les graminées dominent assez nettement, entre 76 et 81 %, avec des plantes à valeur fourragère intéressantes (ray-grass anglais, dactyle, fétuque des prés). La part des légumineuses est faible, entre 10 et 12 % et composée uniquement de trèfle blanc. Les plantes diverses sont limitées à environ 10 %, ce qui est plutôt favorable du point de vue de la fonctionnalité fourragère de la prairie. Certaines de ces espèces peuvent indiquer la présence d'une fertilisation excessive (rumex, ceraiste), de tassement (rumex, plantain) ou sont des plantes qui colonisent des zones de terre nue pouvant être liée

au piétinement par les vaches (pâquerette, pissenlit, plantain). Le facteur limitant de cette prairie est la part insuffisante de légumineuses qui constituent le moteur azoté des prairies. Ce manque de légumineuses peut être lié à une fertilisation azotée à action rapide (lisier, engrais de synthèse) trop élevée.

Prairie de Lizine Grand

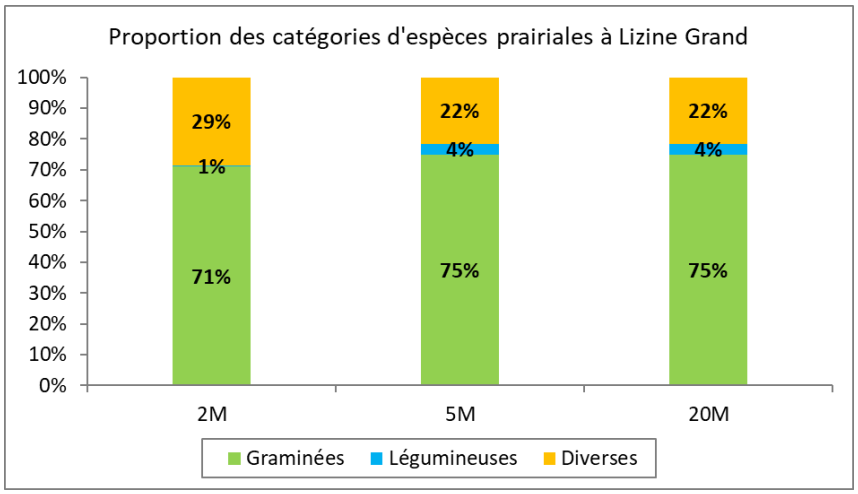


Figure 64 : proportion des espèces prairiales présentes à Lizine Grand selon la distance à la haie

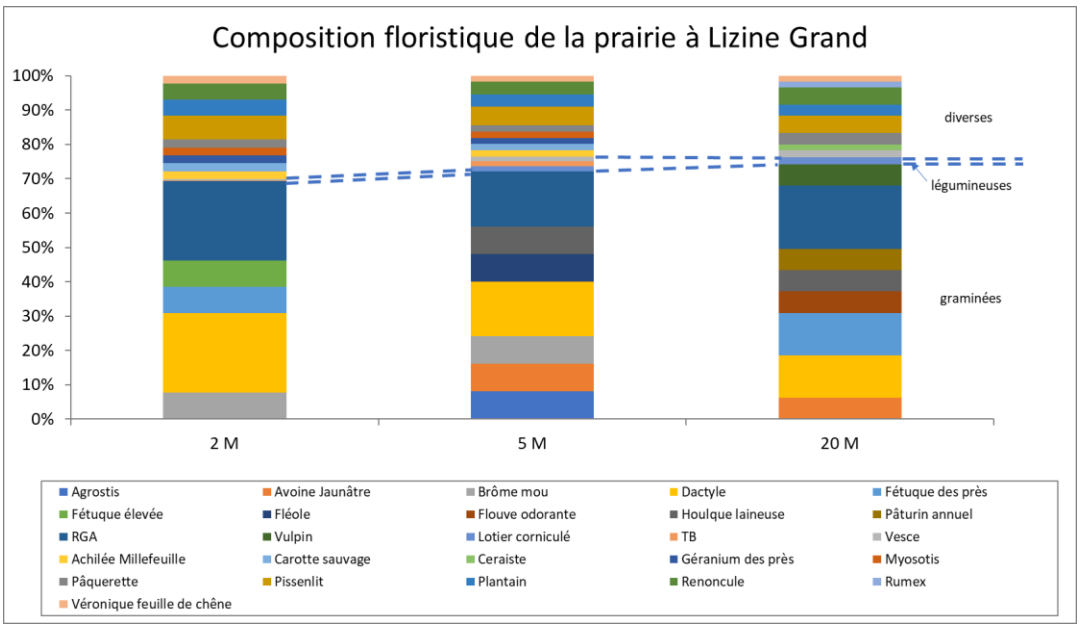


Figure 65 : composition relative des espèces présentes à Lizine Grand selon la distance à la haie

La prairie de Lizine Grand présente un nombre d'espèces différentes relativement élevé, avec 26 espèces identifiées. Elle présente cependant un déséquilibre dans sa composition, avec une part de plantes diverses trop élevée (22 à 29 %) et une part de légumineuse extrêmement faible (1 à 4 %), composée de lotier corniculé, de vesce et de trèfle blanc. L'insuffisance de légumineuse limite la fourniture d'azote par transformation d'azote atmosphérique par les nodosités présentes sur leurs racines, en azote disponible pour la prairie. Les plantes diverses peuvent révéler certains disfonctionnements de la prairie tels que du tassement, de la colonisation de trous de végétation ou des

excès de fertilisation azotée. Les graminées présentes sont assez variables, avec une dominante de ray-grass anglais et de dactyle, probablement issus du mélange semé il y a plus de 10 ans.

Prairie de Lizine Petit

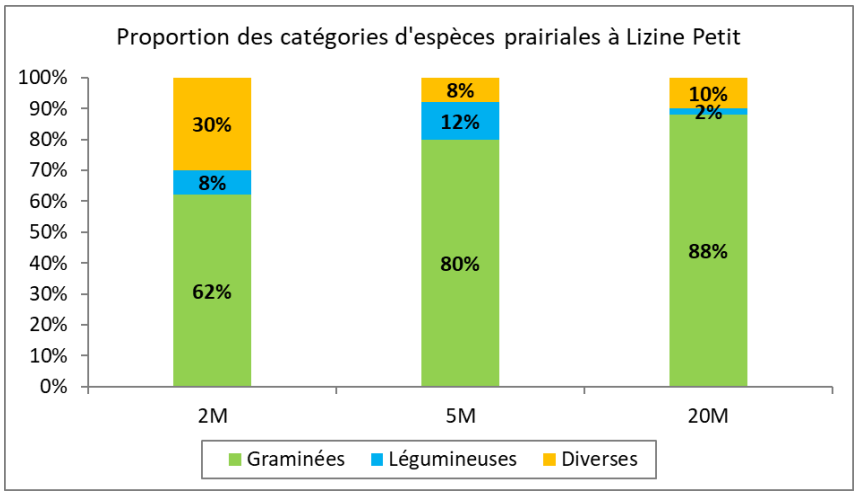


Figure 66 : proportion des espèces prairiales présentes à Lizine Petit selon la distance à la haie

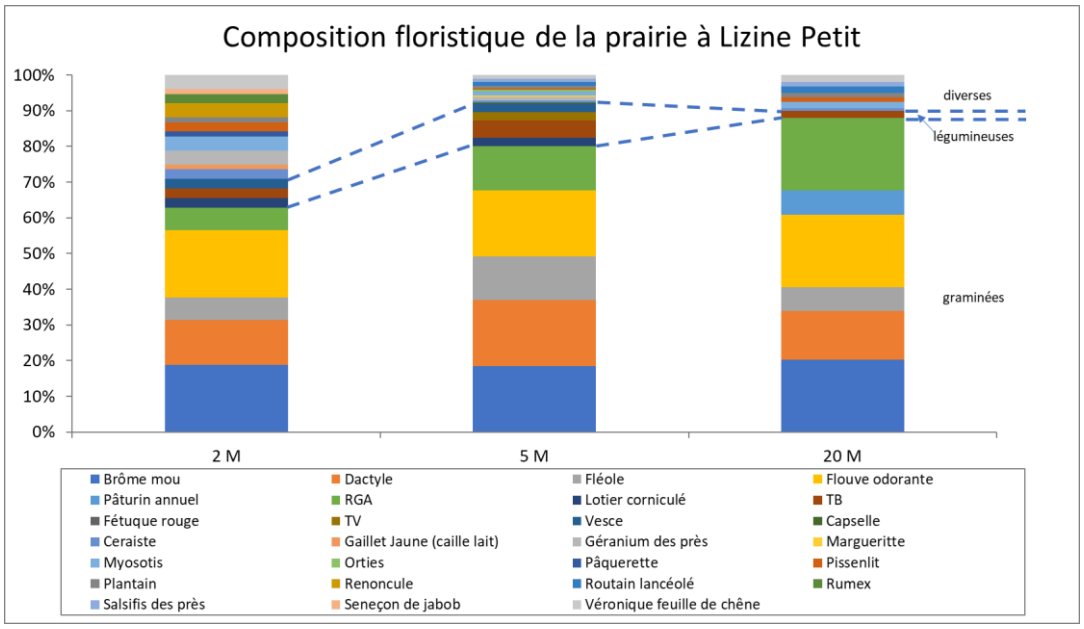


Figure 67 : composition relative des espèces présentes à Lizine Petit selon la distance à la haie

La prairie de Lizine Petit présente une répartition hétérogène entre les trois types de plantes selon la distance à la haie. Au total 27 espèces différentes ont été identifiées, ce qui représente une bonne richesse floristique. Au niveau de la valeur fourragère la part des graminées augmente avec la distance à la haie (de 62 à 88 %), avec une homogénéité dans les espèces présentes : brome mou, dactyle, fléole, flouve odorante, ray-grass anglais (+ pâturin annuel à 20 m). Ces espèces présentent des valeurs fourragères relativement favorables. Les légumineuses sont peu présentes à 2 et 5 m de la haie (8 et 12 %) et tendent à disparaître à 20 m (2 %). Les diverses augmentent significativement à proximité de la haie. La faible proportion de légumineuses limite la capacité de fixation de l'azote atmosphérique et la contribution à l'alimentation azotée de la parcelle par cette voie.

Prairie de Cademène

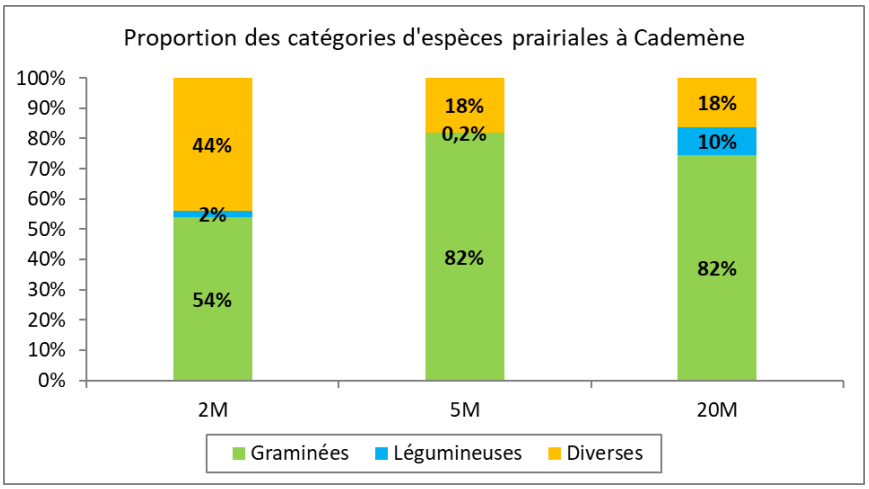


Figure 68 proportion des espèces prairiales présentes à Cademène selon la distance à la haie

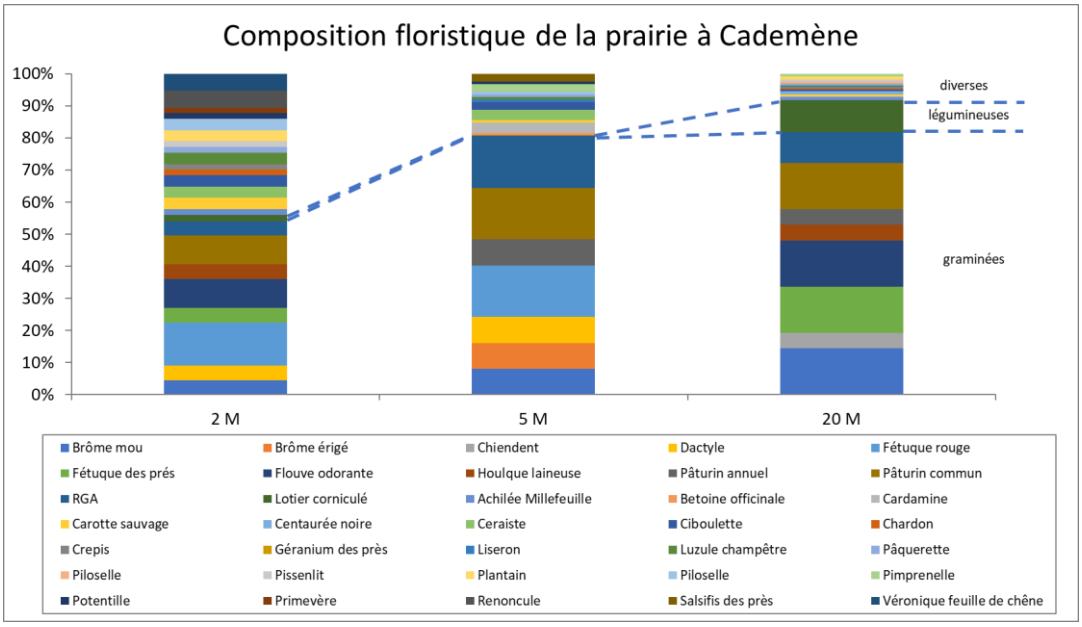


Figure 69 : composition relative des espèces présentes à Cademène selon la distance à la haie

La prairie de Cademène présente la plus grande diversité floristique, avec 35 espèces différentes identifiées, ce qui est comparable à Lizine Petit. Comme à Lizine Petit, les plantes diverses sont plus représentées à proximité de la haie, au détriment des graminées. Les légumineuses sont pratiquement absentes de la prairie, seuls quelques lotiers corniculés ont été recensés. La faible proportion de légumineuses limite la capacité de fixation de l'azote atmosphérique et la contribution à l'alimentation azotée de la parcelle. Les graminées sont variées, avec une dizaine d'espèces présentes. Il est à noter que pour cette prairie, les mesures de mycorhization réalisées de 2021 à 2024 à partir des racines observées à partir de prélèvement de terre dans la parcelle, ont permis d'identifier la présence significative de légumineuses pour cette parcelle. Il s'avère donc que le relevé floristique du 25 avril 2023 sous-estime la part de légumineuses.

Le tableau ci-dessous représente le nombre total d'espèces recensées sur les trois distances à la haie, ainsi que le nombre d'espèces par distance. Le nombre d'espèce différentes présentes est relativement élevé, en particulier à Lizine Petit et à Cademène. Il n'y a pas d'effet marqué de la distance à la haie sur le nombre d'espèce. Pour les deux haies les plus anciennes, une part plus importante de plantes diverses ont été recensées à proximité de la haie, pouvant être lié à l'hétérogénéité du milieu : zone de transition entre la prairie et la haie, apportant une diversité écologique.

Tableau 13 : nombre d'espèces prairiales identifiées par site et par distance à la haie.

Nombre d'espèces différentes identifiées	à 2 m	à 5 m	à 20 m	Total sur les 3 distances
Bolandoz	15	10	14	19
Lizine Grand	16	19	17	26
Lizine Petit	19	20	14	34
Cademène	24	20	23	35

h. Caractérisation des sols des zones étudiées

i. Description des profils de sol

La caractérisation des sols jouxtant les quatre haies de l'étude a été réalisée avec l'appui de Christian Barnéoud, pédologue à la Chambre Régionale d'Agriculture de Bourgogne-Franche Comté. La description des sols a été réalisée après creusement de fosses pédologiques en 2021. Les rapports détaillés figurent en annexe 6.

Tableau 14 description des sols des parcelles étudiées

	Bolandoz	Lizine Grand	Lizine Petit	Cademène
Type de sol	Sol profond de plateau, texture équilibrée, calcaire marneux du Callovien.	Sol profond de plateau, texture équilibrée, décarbonaté, matériau marneux à 95 cm.	Sol profond de plateau, texture équilibrée, décarbonaté, calcaire du Callovien entre 50 et 90 cm.	Sol superficiel de plateau, non calcaire, texture équilibrée, calcaire marneux (Callovien).
Drainage et réserve hydrique	Drainage modéré, réserve hydrique importante (>180 mm).	Drainage vertical imparfait, réserve hydrique importante (>160 mm).	Drainage vertical favorable, réserve hydrique importante (>180 mm).	Drainage vertical modéré, réserve hydrique moyenne (<100 mm).
Horizon de surface	Légèrement altéré (tassements récurrents, brassage biologique réduit, drainage moins efficace, risque d'engorgement en cas de pluies abondantes (>90 mm).	Qualité correcte (structure grumeleuse puis fragmentaire fine), tendance au feutrage racinaire, brassage biologique réduit malgré des conduits de vers anéciques	Qualité correcte (structure grumeleuse puis fragmentaire fine), tendance au feutrage racinaire, brassage biologique réduit malgré des conduits verticaux présents.	Bonne qualité organo-physique, favorable à l'activité de la macrofaune lombricienne et au développement racinaire.
Structure profonde	Bonne organisation structurale dès 17-22 cm, racines fines présentes au-delà de 45-50 cm.	Très argileux dès 55 cm (structure prismatique en colonnes), marne grisâtre à partir de 95 cm.	Bonne qualité structurale et transition progressive entre horizons, favorable à la prospection racinaire, à l'activité	Les acines s'installent sans contrainte dans les volumes altérés du calcaire marneux (horizon Cca).

			lombricienne et au drainage.	

ii. Analyses physico-chimiques

Analyses de sol initiales en 2022

Les analyses physico-chimiques réalisées au laboratoire SADEF, en début d'expérimentation, sont présentées dans le tableau suivant. Elles ont été réalisées à 2 mètres, 5 mètres et 20 mètres des haies. Elles permettent de décrire la texture des sols, leur statut calcique et leurs teneurs en macro-éléments. Ces données permettent de définir la fertilité chimique et le statut calcique du sol en début de suivi.

Tableaux 15 : analyses physico-chimiques initiales des sols situés dans les prairies à 2 m, 5 m et 20 m des haies étudiées

Date prélevement	Nom SITE et distance	Argile %	Limon %	Sable %	Texture	Carbonates totaux %	Taux satu-ration %	Ca^{++}/CEC %	pH eau
28/04/2022	BOLANDOZ 2M	15,2	64,5	20,3	LIMONS	<0,5	76,0	63,0	6,1
28/04/2022	BOLANDOZ 5M	14,6	66,1	19,3	LIMONS	<0,5	87,0	73,6	6,4
28/04/2022	BOLANDOZ 20M	16,7	61,5	21,8	LIMONS	<0,5	90,0	71,2	6,7
02/03/2022	LIZINE GRAND 2M	37,3	52,4	10,2	ARGILO-LIMONEUX	<0,5	91,0	85,0	6,8
02/03/2022	LIZINE GRAND 5M	37,1	52,4	10,4	ARGILO-LIMONEUX	<0,5	85,0	79,3	6,6
02/03/2022	LIZINE GRAND 20M	33,6	56,5	9,9	ARGILO-LIMONEUX	<0,5	81,0	74,1	6,3
02/03/2022	LIZINE PETIT 2M	30,6	60,1	9,3	ARGILO-LIMONEUX	<0,5	70,0	64,7	6,3
02/03/2022	LIZINE PETIT 5M	32,1	58,6	9,2	ARGILO-LIMONEUX	<0,5	68,0	62,2	6,2
02/03/2022	LIZINE PETIT 20M	32,2	58,5	9,3	ARGILO-LIMONEUX	<0,5	70,0	62,8	6,3
02/03/2022	CADEMENE 2M	50,5	43,8	5,7	ARGILE	<0,5	73,0	65,4	6,1
02/03/2022	CADEMENE 5M	48,3	45,3	6,3	ARGILE	<0,5	74,0	66,3	6,1
02/03/2022	CADEMENE 20M	49,7	45,8	7,5	ARGILE	<0,5	99,0	63,4	6,5

Nom SITE et distance	Carbonates totaux %	Carbone Organique ppm	Matière Organique ppm	CEC Metson pH7mékg	P2O5 Olsen ppm	P2O5 Dyer ppm	K2O éch. ppm	MgO éch. ppm	CaO_échangeable _ppmi
BOLANDOZ 2M	<0,5	20,40	35,20	115	0,058	0,190	0,22	0,21	1,95
BOLANDOZ 5M	<0,5	17,80	30,70	109	0,057	0,180	0,17	0,22	2,16
BOLANDOZ 20M	<0,5	21,20	36,70	120	0,068	0,230	0,40	0,27	2,31
LIZINE GRAND 2M	<0,5	34,90	60,40	254	0,036	0,059	0,21	0,20	5,81
LIZINE GRAND 5M	<0,5	33,50	57,90	266	0,038	0,073	0,18	0,19	5,67
LIZINE GRAND 20M	<0,5	31,00	53,60	232	0,050	0,061	0,18	0,23	4,63
LIZINE PETIT 2M	<0,5	24,00	41,50	185	0,024	0,029	0,11	0,14	3,22
LIZINE PETIT 5M	<0,5	25,00	43,20	190	0,019	0,017	0,10	0,18	3,18
LIZINE PETIT 20M	<0,5	25,00	43,20	190	0,025	0,026	0,12	0,20	3,21
CADEMENE 2M	<0,5	45,00	77,80	312	0,008	0,001	0,30	0,31	5,49
CADEMENE 5M	<0,5	44,90	77,70	294	0,008	0,001	0,29	0,31	5,26
CADEMENE 20M	<0,5	50,90	88,10	290	0,011	0,033	0,22	0,24	7,29

La parcelle de Bolandoz est de texture limoneuse et présente le taux de matière organique le plus faible (31 à 37 ‰). La texture limoneuse et la faible teneur en argile rend ce sol plus sensible aux phénomènes de battance en surface et de prise en masse avec dégradation des propriétés physiques du sol (compaction, asphyxie). Sa faible teneur en argile et en matière organique induit une plus faible capacité d'échanges cationiques (110 à 120 méq/kg). Le pH de la parcelle est proche de la neutralité et le taux de saturation de la CEC par l'ion Ca^{++} est satisfaisant à élevé. Ce qui signifie que la parcelle ne nécessite pas de chaulage. Les teneurs en éléments fertilisants P-K-Mg sont élevées à très élevées, ce

qui peut s'expliquer par les pratiques de fertilisation, les restitutions régulières au pâturage et par la proximité de la parcelle du bâtiment d'élevage (apports réguliers d'effluents). Bolandoz est la seule parcelle avec un sol riche en phosphore et en potasse à proximité de la haie et très riche à 20 m. Les teneurs plus élevées à 20 m sont probablement liées à une hétérogénéité parcellaire.

Les teneurs P-K des analyses de sol des prairies ne sont cependant pas un bon indicateur de la biodisponibilité réelle de ces éléments pour les plantes, en particulier pour le phosphore et lorsque les teneurs sont faibles. En effet, les analyses chimiques classiques du sol ne mesurent pas le phosphore et la potasse présents dans la biomasse microbienne. C'est la raison pour laquelle le pilotage de la fertilisation phospho-potassique des prairies s'effectue par la mesure des indices de nutrition iP-iK mesurés sur des échantillons d'herbe.

Les parcelles de Lizine Grand et de Lizine Petit sont de texture argilo-limoneuse avec un taux de matière organique proche de 60 ‰ pour Lizine Grand et de 43 ‰ pour Lizine Petit. La capacité d'échange cationique est relativement élevée, du fait des teneurs en argile et en matière organique, avec environ 250 méq/kg pour Lizine Grand et 190 méq/kg pour Lizine Petit. Le pH est proche de la neutralité (6,6 pour Lizine Grand et 6,3 pour Lizine Petit). Le taux de saturation de la CEC par l'ion Ca^{++} est satisfaisant. Les parcelles ne nécessitent pas de chaulage. Les teneurs en phosphore sont faibles à très faibles et celles en potasse sont correctes à faibles. Les teneurs en magnésie sont élevées. Des teneurs faibles en phosphore et en potasse dans le sol des prairies sont à relativiser et ne reflètent pas la réelle biodisponibilité de ces éléments pour les plantes.

La parcelle de Cademène est de texture argileuse avec un taux de matière élevé (78 à 88 ‰). Sa capacité d'échange cationique est en conséquence très élevée avec environ 300 méq/kg. Le pH est légèrement acide à proximité de la haie (6,1 à 2 et 5 m) et proche de la neutralité au-delà de cette distance (6,5). Les taux de saturation de la CEC par l'ion Ca^{++} sont satisfaisants pour les trois distances à la haies. La parcelle ne nécessite pas de chaulage. Les teneurs en phosphore sont très faibles et celles en potasse sont très élevées (et diminuent avec la distance à la haie).

Analyses de sol en 2024

Les analyses de sols réalisées en 2024 montrent peu d'évolution des teneurs, ce qui est normal sur un pas de temps de deux ans. L'évolution des paramètres chimiques résulte essentiellement des soldes entre les apports et les exports sur les parcelles et n'évoluent que lentement, sauf apports massifs dans le cas d'une fumure de redressement par exemple. Les éleveurs ayant continué les fertilisations habituelles sur leur parcelle, les teneurs mesurées en 2024 sont proches de celles de 2022 et résulte d'une situation reflétant des pratiques de fertilisation menées depuis plusieurs années. Le pH est légèrement acide ou proche de la neutralité à Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit, acide à Cademène à proximité de la haie. Les taux de saturation sont cependant élevés, indiquant qu'il n'est pas nécessaire de chauler les parcelles. En ce qui concerne le phosphore, la potasse et la magnésie, les teneurs et écarts observés en 2022 sont identiques en 2024. Les analyses de sol chimiques ne mesurent pas les éléments minéraux de la biomasse microbienne, ni ceux fournis aux plantes par les mycorhizes. La texture du sol (teneur en argile, sable et limon) est un paramètre stable dans le temps et n'a donc pas été mesuré en 2024.

Tableau 16 : analyses chimiques en 2024 des sols situés dans les prairies à 2 m, 5 m et 20 m des haies étudiées

Date prélevement	Nom SITE et distance	Carbone Organique ‰	Matière Organique ‰	CEC Metson pH7mékg	P2O5 Olsen ppm	P2O5 Dyer ppm	K2O éch. ppm	MgO éch. ppm	Taux satu-ration %	Ca^{++}/CEC %	pH eau
27/06/2024	BOLANDOZ 2M	19,10	33,10	118	0,059	0,21	0,22	0,22	76,0	62,8	6,2
27/06/2024	BOLANDOZ 5M	20,70	35,80	117	0,067	0,23	0,26	0,23	80,0	65,2	6,1
27/06/2024	BOLANDOZ 20M	19,40	33,60	126	0,064	0,26	0,34	0,25	84,0	67,8	6,4
18/06/2024	LIZINE GRAND 2M	36,40	63,00	232	0,034	0,060	0,18	0,21	100,0	93,7	6,6
18/06/2024	LIZINE GRAND 5M	34,70	60,00	231	0,035	0,073	0,16	0,19	100,0	94,2	6,5
18/06/2024	LIZINE GRAND 20M	32,70	56,50	210	0,034	0,072	0,16	0,24	94,0	86,2	6,3
18/06/2024	LIZINE PETIT 2M	26,60	46,00	159	0,025	0,029	0,13	0,19	89,0	81,2	6,2
18/06/2024	LIZINE PETIT 5M	29,70	51,40	205	0,029	0,023	0,11	0,21	69,0	62,1	6,2
18/06/2024	LIZINE PETIT 20M	24,50	42,40	175	0,028	0,033	0,11	0,18	74,0	67,6	6,2
18/06/2024	CADEMENE 2M	54,10	93,50	225	0,008	< 0,01	0,29	0,30	100,0	90,3	5,9
18/06/2024	CADEMENE 5M	46,90	81,10	218	0,008	< 0,01	0,26	0,31	98,0	88,6	5,8
18/06/2024	CADEMENE 20M	55,70	96,40	236	0,010	0,026	0,20	0,30	100,0	91,6	6,2

iii. Mesure de la densité apparente et de la porosité

La densité apparente (Da) ou masse volumique est la masse de sol présente dans un volume donné, généralement exprimée en g/cm3. La densité apparente est déterminée en prélevant un volume connu de sol non remanié et en le pesant après séchage au laboratoire. La technique d'échantillonnage utilisée a consisté à insérer un cylindre d'échantillonnage de volume connu, de 0 à 30 cm de profondeur sol à Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit et de 0 à 20 cm à Cademène. L'opération est répétée trois fois afin de déterminer la densité moyenne du sol. La densité apparente est un indicateur du compactage du sol et est également nécessaire pour convertir la teneur des éléments en stock dans le sol. Un sol agricole bien structuré a généralement une masse volumique apparente d'environ 1, 25 à 1,3 g/cm3. Au-delà de 1,35 g/cm3 le sol est compact, voire très compact si la densité apparente dépasse 1,5 g/cm3.



Figure 70 : Prélèvement des échantillons de sol pour mesure de la densité apparente, avec la méthode des cylindres à Cademène le 8 juillet 2021

La densité apparente permet de calculer la porosité du sol qui est la fraction du volume total du sol occupée par les pores (air + eau). La porosité du sol (P en %) est calculée selon la formule P = (1−Da/Dr) × 100 où Dr représente la densité réelle ou la masse des particules solides par unité de volume correspondant à 2,65 g/cm3.

Lorsque la densité apparente est élevée et que la porosité diminue, l'eau s'infiltre moins bien dans le sol, ce qui augmente le ruissellement, le drainage est limité, ce qui augmente le risque d'asphyxie dans le sol, diminue sa biodiversité (bactéries, champignons,…) et limite le développement racinaire et la production végétale.

La compaction des sols peut être liée à des facteurs pédologiques (les sols très argileux ou très limoneux ou pauvres en matière organique sont plus sensibles à la compaction), à des facteurs climatiques (les excès d'eau favorisent le risque de compaction en cas de pâturage ou de travail de sol si ceux-ci sont réalisés dans un sol insuffisamment ressuyé) et à des facteurs agricoles (interventions en condition trop humide).

Une porosité comprise entre 50 et 60 % correspond à un sol bien structuré, aéré et où l'eau circule correctement. Entre 60 et 70 % la porosité est élevée, le sol est très meuble et très bien structuré. Ces porosités se rencontrent généralement dans les sols riches en matière organique. La matière organique allège le sol en créant des agrégats stables, ce qui augmente la porosité et diminue la densité apparente. Elle améliore la rétention d'eau et la disponibilité des nutriments. Un sol riche en MO résiste mieux à la compaction.

En cas de forte compaction du sol, sa porosité peut s'améliorer par certaines pratiques : augmentation du taux de matière organique (apports de fumier ou de compost), intervention mécanique (aération, décompaction), limitation du pâturage et des interventions sur un sol pas assez ressuyé, aménager les entrées des pâtures.

Les mesures de la densité apparente des sols des prairies bordant les haies suivies ont été réalisées en juillet 2021 et en mars 2024 selon trois distances (2 m, 5 m et 20 m). Les échantillons de sol ont été envoyés au laboratoire SADEF afin de déterminer la densité apparente du sol après séchage. Les densités apparentes et les porosités sont présentées dans les graphiques ci-après.

Mesures initiales le 8 juillet 2021

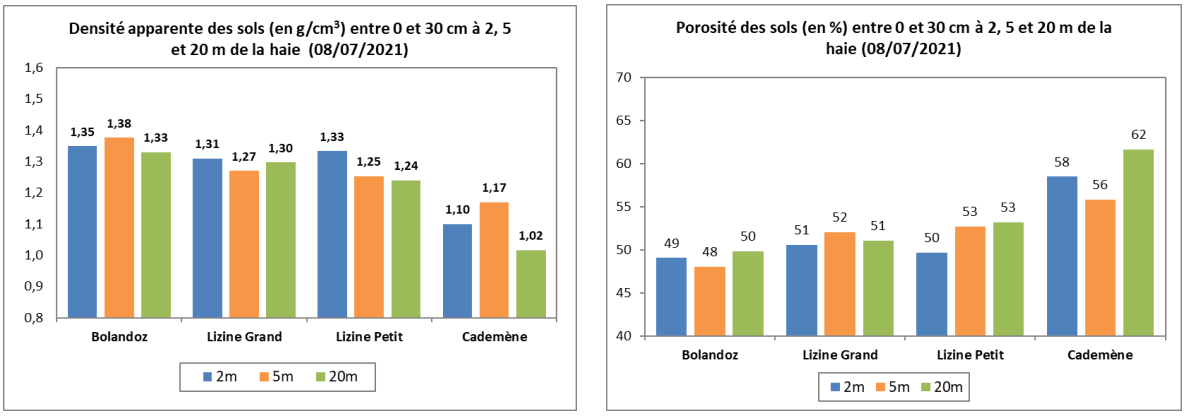


Figure 71 : densité apparente et porosité des sols par site d'étude et par distance à la haie en 2021.

La prairie de Bolandoz présente la plus forte densité apparente et la plus faible porosité. Le sol peut être qualifié de compact avec une porosité un peu faible. Ceci peut être lié au fait de sa teneur élevée en limon. Le limon présente peu de cohésion et a peu la capacité de former des agrégats

(contrairement à l'argile), il devient plastique et collant en condition humide et ressuie moins bien, ce qui augmente le risque de compaction. La prairie de Bolandoz est également celle qui présente le taux de matière organique le plus bas. La mesure a été réalisée en juillet, après plusieurs tours de pâturage par les vaches laitières, au cours de l'année 2021 qui était une année très pluvieuse (146 mm de pluie au cours des 30 jours précédant la mesure de la densité apparente). Toutes ces conditions (pédologie, climat et pâturage) peuvent expliquer le niveau élevé de la compaction de cette prairie.

La prairie de Lizine Grand présente une densité apparente correcte et une porosité plutôt favorable. Sa texture limono-argileuse et sa teneur en matière organique limite le risque de compaction.

La prairie de Lizine Petit présente également une densité apparente correcte et une porosité plutôt favorable à 5 et 20 m de la haie, mais la densité apparente est relativement élevée, avec une porosité un peu faible à 2 m de la haie (passage de roue des tracteurs ?). Comme à Lizine Grand, la texture et le taux de matière organique de cette prairie limite le risque de compaction.

A Cademène avec une teneur un peu plus argileuse qu'à Lizine Grand et Petit mais avec un taux de matière organique nettement plus élevé, on mesure les densités apparentes les plus faibles et la porosité la plus élevée. Le sol est bien structuré, aéré, l'eau circule correctement. Ces conditions sont les plus favorables au développement racinaire et à la biodiversité du sol, notamment les bactéries aérobies et les champignons.

Mesures en fin d'expérimentation le 21 mars 2024

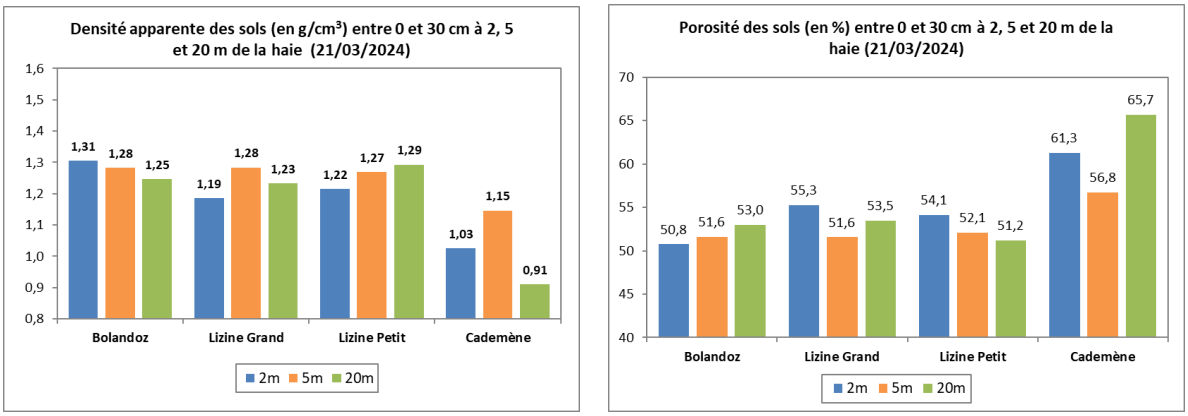


Figure 72 : densité apparente et porosité des sols par site d'étude et par distance à la haie en 2024.

La prairie de Bolandoz présente une densité apparente relativement élevée, en légère diminution par rapport à la précédente mesure et une porosité plutôt favorable, malgré les conditions pluvieuses depuis octobre 2023. L'échantillonnage a été réalisé juste avant le début du pâturage de la parcelle par les vaches laitières, avec un total de 93 mm dans les 30 jours précédant la mesure. La mesure reflète donc l'état du sol en sortie d'hiver, avec un effet restructurant possible hivernal et avant piétinement par les animaux, ce qui peut expliquer l'amélioration par rapport à 2021. Cependant, le pâturage du printemps et de l'été 2024, en condition humide, ont contribué à dégrader cet état du sol.

Les échantillonnages dans les parcelles de Lizine Grand et de Lizine Petit ont été réalisés dans du blé après travail du sol et semis de la céréale l'été et l'automne précédant. La densité apparente et la porosité de ces parcelles reflète, de ce fait, l'effet du travail du sol et des conditions dans lesquelles il a été réalisé et non de l'impact des haies.

A Cademène, la densité apparente est en diminution et la porosité en augmentation par rapport à la situation de 2021 qui était déjà particulièrement favorable. Ces mesures mettent en évidence la stabilité et la résilience de cette prairie malgré les aléas climatiques.

iv. Reliquats azotés

Les mesures des reliquats azotés dans les sols ont été réalisés à la tarière sur le premier horizon du sol (0-30 cm à Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit et 0-20 cm à Cademène où le sol est plus superficiel) entre 2021 et 2024. Ces mesures de l'azote minéral du sol ont été faite au moment de la réalisation des prélèvements des mycorhizes ou du microbiome du sol par le laboratoire Lara Spiral. Les échantillons de terre ont été transmis et analysés au laboratoire SADEF afin de déterminer la teneur en azote minéral du sol ($N\text{-}NO_3$ + $N\text{-}NH_4$ en kg/ha). Ces mesures ont été réalisées à la demande du laboratoire Lara Spiral et sont utilisées pour l'interprétation des paramètres microbiologiques des sols.

La teneur en azote minéral du sol à l'instant t dépend de nombreux facteurs pédologiques, climatiques ou agronomiques. Elle résulte des soldes entre les apports liés aux pratiques agricoles (apports d'engrais de synthèse, épandages d'effluents, restitutions au pâturage) de la minéralisation de la matière organique du sol ou de la réorganisation de l'azote minéral par les micro-organismes du sol, ou encore des retombées atmosphériques ou de la fixation par les légumineuses du sol (voir chapitre III.2.b Le cycle de l'azote à l'échelle de la parcelle agricole).

Les principaux résultats figurent ci-dessous.

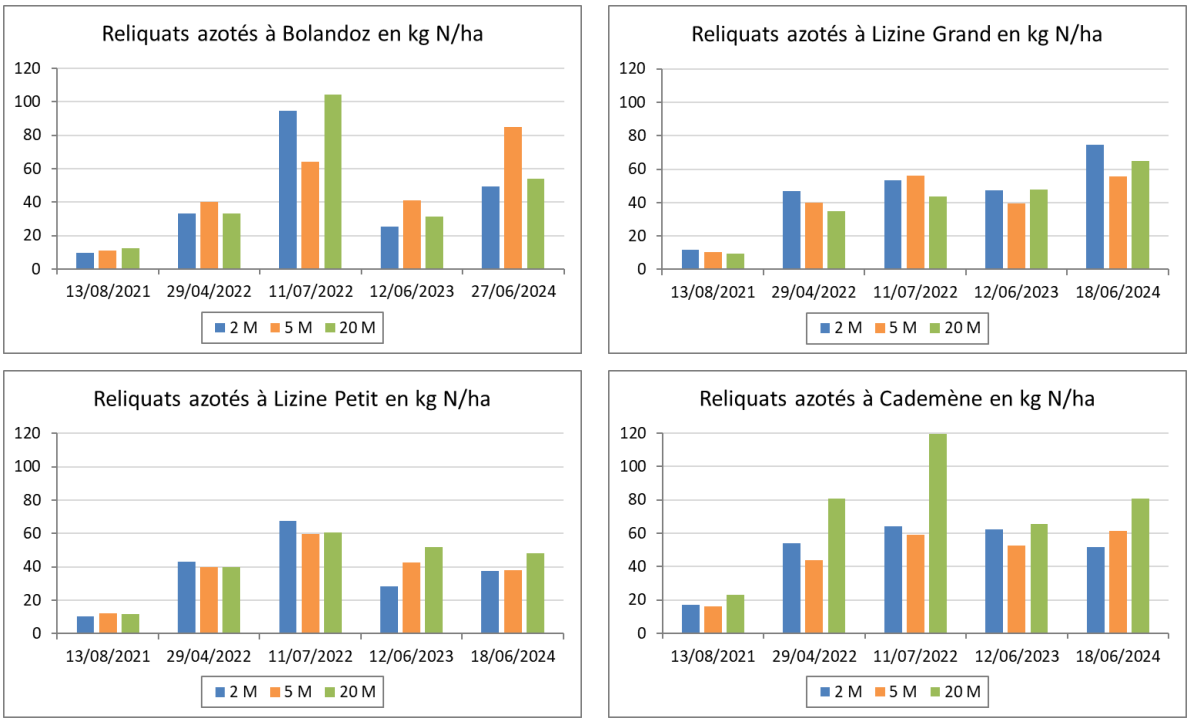


Figure 73 : reliquats azotés par site, par date et par distance à la haie des 4 prairies étudiées.

On peut constater la présence de variabilités liées au site, à la date de prélèvement et à la distance à la haie. Globalement, les teneurs en azote du sol suivent une variabilité inter- et intra-annuelle assez comparable selon les sites étudiés : teneurs faibles en aout 2021, élevées en juillet 2022, intermédiaires en avril 2022, juin 2023 et juin 2024. Les teneurs plus faibles observées en août 2021 peuvent s'expliquer par l'arrêt estival de la minéralisation du sol début août et de l'absorption de l'azote présent dans le sol par les plantes jusque début août (pluies abondantes en juillet 2021, favorable à la croissance). Les

teneurs élevées en juillet 2022 sur les 4 sites résultent probablement des conditions climatiques particulières : ré-humectation des sols provoquant une minéralisation de l'azote du sol après une période sèche et chaude :

- sécheresse de fin avril à fin juin 2022 (75 mm de précipitations),
- températures très élevées : + 2,5°C en moyenne mensuelles par rapport à la normale en mai et juin,
- retour de la pluie fin juin avec 71 mm de précipitations dans les 20 jours précédant la mesure des reliquats azotés.

Il est à noter que ces conditions particulières seront amenées à devenir plus fréquentes à l'avenir dans le contexte de changement climatique, favorisant la minéralisation de l'azote du sol en fin d'été.

Formes d'azote minéral dans les reliquats azotés

Dans les sols en culture, la forme majoritaire de l'azote minéral est la forme nitrate. Les nitrates représentant la phase finale de la minéralisation (qui est une oxydation) de l'azote du sol ou des effluents épandus sur la parcelle : N organique -> $N\text{-}NH_4$ -> $N\text{-}NO_3$. Ils peuvent également être présents directement dans les engrais azotés. Dans les parcelles en culture, la présence d'azote sous forme d'ammonium peut résulter d'une minéralisation incomplète en raison de l'engorgement du sol. Dans les prairies, les taux de matière organique sont plus élevés que sous les cultures et les apports d'azote se font principalement avec des produits où les formes organiques et dominent (bouses, fumiers, lisiers, purins,…). De ce fait, les mesures des reliquats azotés présentent une part d'azote ammoniacale proche de 50 %, alors qu'elles se situent autour de 10 à 30 % dans les sols des cultures annuelles. Sous forêt, l'absence de travail du sol, d'apport d'engrais azotés, le pH souvent plus acide limite la nitrification. En forêt, la forme d'azote minérale dominante est la forme ammoniacale ($N\text{-}NH_4$). Dans le cadre du suivi du bassin versant de Plaisir Fontaine, 184 reliquats azotés ont été réalisés en entrée et en sortie d'hiver de 2011 à 2015 dans 56 prairies, 34 cultures et 2 parcelles en forêt. La part de l'azote ammoniacal était de 49 % sous prairie, 34 % sous culture (dont 20 céréales implantées juste après une prairie où la part de l'azote ammoniacal était de 43 %) et de 90 % dans les deux parcelles en forêt. La figure ci-dessous représente, en moyenne pour toutes les analyses de reliquats azotées, les proportions de l'azote minéral sous forme de nitrates et d'ammonium. Ces données concernent 5 analyses par site et par distance à la haie.

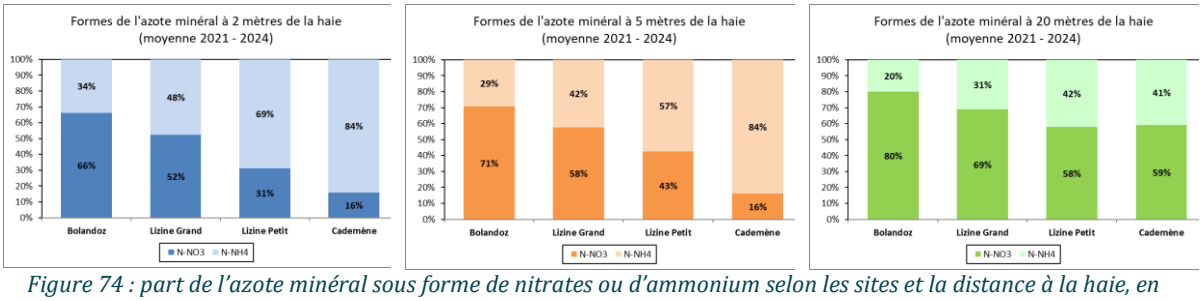


Figure 74 : part de l'azote minéral sous forme de nitrates ou d'ammonium selon les sites et la distance à la haie, en moyenne sur toutes des données des reliquats azotés.

On peut constater que la proportion de nitrates est d'autant plus élevée que la haie est jeune (Bolandoz > Lizine Grand > Lizine Petit > Cademène) pour les mesures réalisées à proximité des haies (2 et 5 m), ce qui correspond à une situation de type parcelle cultivée ou prairie.

Pour les haies les plus âgées (Lizine Petit et Cademène), l'azote ammoniacal est très majoritaire à proximité de la haie, avec un gradient qui augmente avec cette proximité. Lorsqu'on s'éloigne de la zone d'influence de la haie (à 20 m), on retrouve une part majoritaire de l'azote sous forme de nitrates

(environ 60 %). Il semble donc, pour les sols de prairie à proximité de haies anciennes, que la forme d'azote dominante soit la forme ammoniacale, montrant un comportement de la minéralisation de l'azote du sol qui se rapproche de ce qui peut être observé en forêt. La forme ammoniacale de l'azote a également la particularité d'être très peu soluble dans l'eau, contrairement à la forme nitrate qui est entraînée par lessivage lorsque les sols sont saturés. Le fait que les teneurs totales en azote minéral du sol soient comparables entre les sites et que la forme ammoniacale domine à proximité des haies les plus âgées est un élément favorable à la diminution des pertes d'azote par lessivage et à la réduction de leur transfert vers le karst et les rivières.

IV. Résultats

1. Approche agronomique

a. Pousse de l'herbe

La pousse de l'herbe a été mesurée du printemps jusqu'à l'automne de 2021 à 2024, avec une orientation Sud-Ouest (parcelle faisant l'objet de l'étude et la plus impactée par l'ensoleillement l'après-midi) et Nord-Est (parcelle voisine de l'autre côté de la haie, ombragée l'après-midi) à chaque fois que cela était possible (herbe en place). Les mesures sur le terrain ont été effectuées avec une fréquence de 2 à 4 relevés par mois selon les années. Les mesures sont réalisées sur un transect à 3 distances de la haie avec un herbomètre manuel de la marque Jenquip. Cet outil ne permet de ne disposer que d'une valeur moyenne de la hauteur de l'herbe pour une date donnée, pour une orientation et une distance à la haie. Cette valeur est obtenue après avoir positionné l'herbomètre sur une trentaine de points et en notant en début et en fin de mesure, la valeur du compteur mécanique situé sur l'herbomètre. La hauteur de chaque point de mesure n'est pas enregistrée. De ce fait, l'analyse statistique ne peut se faire pour une date donnée mais a été réalisée de façon plus globale en fin d'année. Les graphiques suivants présentent les hauteurs d'herbe moyennes en cm par mois, par site et par orientation à 2 m, 5 m et 20 m de la haie. Des flèches de couleur bleue ou rouge permettent de visualiser les tendances observées à chaque mesure en fonction de la distance à la haie, comme indiqué dans la légende ci-dessous.



Figure 75 gradients des pousses de l'herbe

Bolandoz

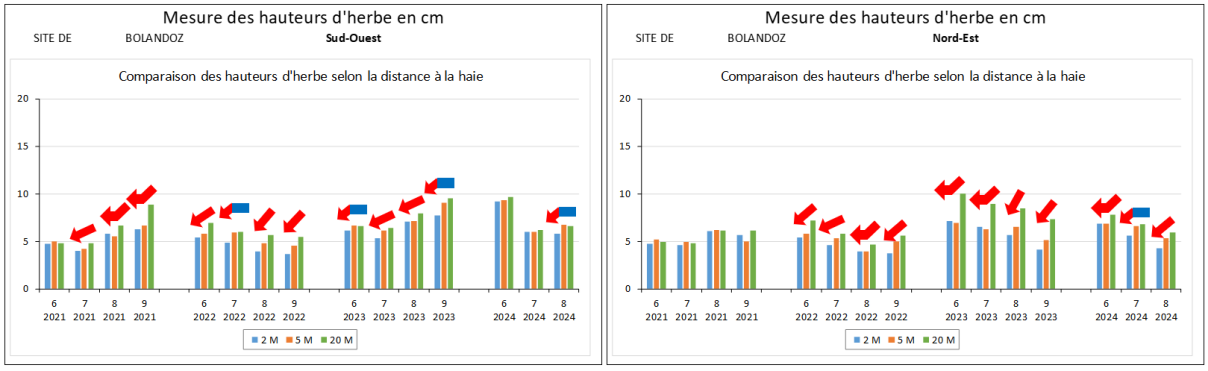


Figure 76 : évolution mensuelle des hauteurs d'herbe (en cm) à Bolandoz de 2021 à 2024.

A Bolandoz, on constate une diminution de la hauteur de l'herbe à proximité de la haie (2 m et 5 m) des deux côtés de la haie. Cette observation peut être reliée à deux facteurs :

- La haie est la plus jeune, implantée en 2021, avec une hauteur relativement limitée en début d'expérimentation. Au cours des premières années de leur développement, les racines des arbres des haies se développent horizontalement et dans les premiers horizons du sol, avant de recourir prioritairement à une alimentation plus profonde et plus verticale. La mise en place du système

racinaire en surface et latéralement peut donc entrer en concurrence pour l'eau et les éléments minéraux avec la prairie.

- Il est à noter que les deux côtés de la haie font partie des pâtures à vaches laitières de l'exploitation. Sur ce site, on a pu constater régulièrement la présence des vaches à proximité de la haie, pour s'alimenter, se protéger du climat ou pour se déplacer vers le fond des parcelles. Il est donc possible d'attribuer une part de la baisse de la hauteur d'herbe à un piétinement plus important ayant entraîné un tassement du sol.

Les graphiques ci-dessous représentent les hauteurs d'herbe moyenne par année, par distance à la haie et par orientation.

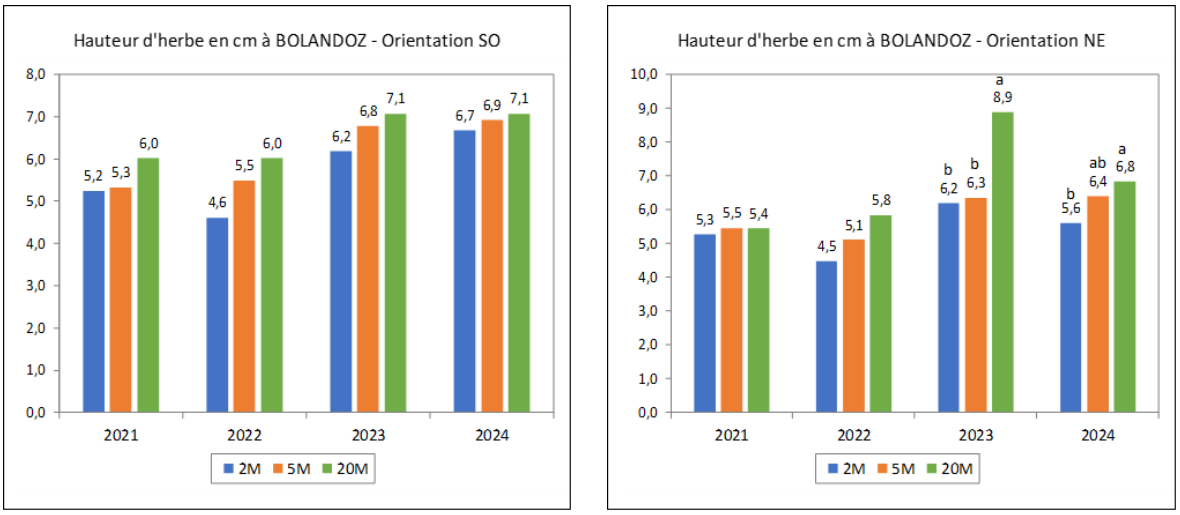


Figure 77 : hauteur d'herbe (en cm) moyenne annuelle à Bolandoz, orientation SO (gauche) et NE (droite).

Pour tester si la distance à la haie exerce une influence sur la croissance de l'herbe, des tests de comparaison de Kruskal Wallis ont été réalisés sous le logiciel R en comparant l'ensemble des données disponibles par année, par distance de la haie et par orientation. Lorsque que les tests sont significatifs, leurs résultats sont reportés sur les graphiques à l'aide des lettres représentant les groupes homogènes (pour une même haie, une même année et une même orientation). Bien qu'en tendance les hauteurs d'herbe augmentent avec la distance à la haie des deux côtés, seule l'orientation Nord-Est en 2023 et 2024 montre un effet significatif défavorable de la proximité de la haie. Il semble que pour ce site, la mise en place du système racinaire des arbres de la haie et le piétinement des animaux à sa proximité soient plus impactant qu'un éventuel effet positif lié à l'ombrage par exemple.

<u>Lizine Grand</u>

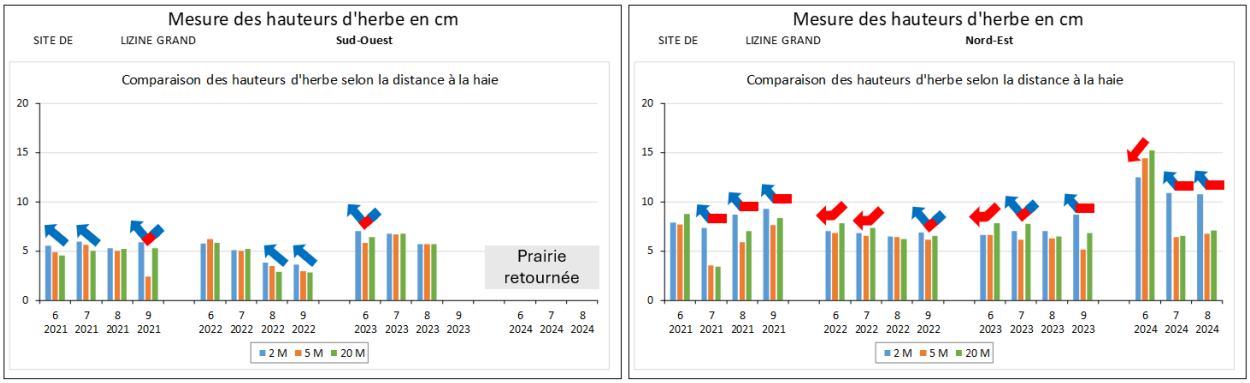


Figure 78 : évolution mensuelle des hauteurs d'herbe (en cm) à Lizine Grand de 2021 à 2024.

A Lizine Grand on observe une tendance à l'augmentation des hauteurs d'herbe à proximité de la haie côté Sud-Ouest, ainsi qu'au Nord-Est en 2021, en septembre 2023 et en juillet août 2024. En début de période de mesure, juin et juillet 2022 et juin 2023 et juin 2024, les hauteurs d'herbe sont plus faibles à proximité de la haie pour l'orientation Nord-Est. Ceci pourrait s'expliquer par un effet positif de l'ombrage de la haie sur l'herbe située à proximité de celle-ci à partir du milieu de l'été, supérieur à la concurrence que l'on peut observer en début d'été lorsque les conditions climatiques ne sont pas encore trop chaudes ou trop sèches.

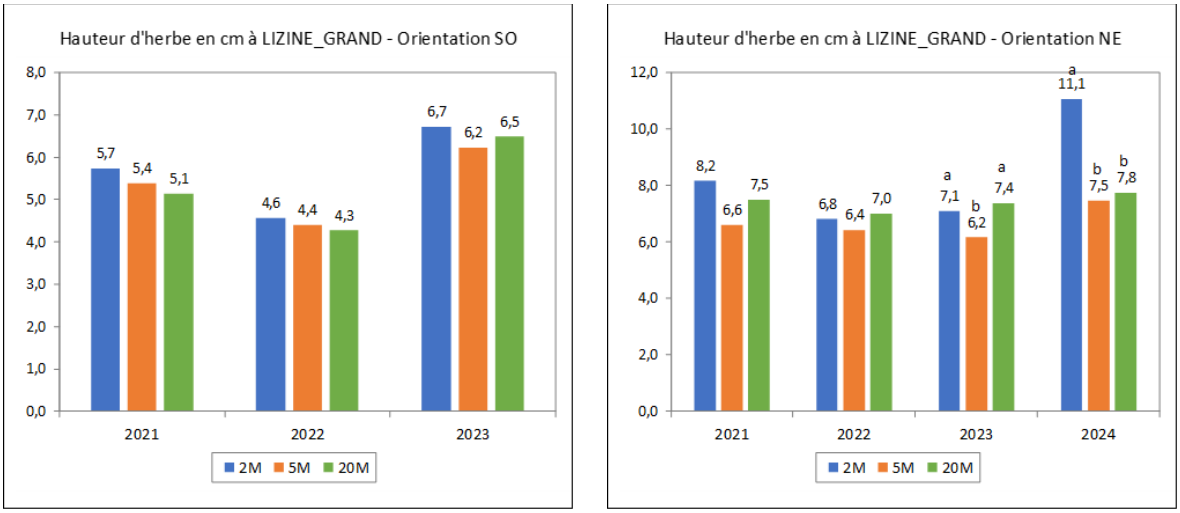


Figure 79 : hauteur d'herbe (en cm) moyenne annuelle à Lizine Grand, orientation SO (gauche) et NE (droite).

L'analyse statistique n'a pas mis en évidence de différence significative de la distance à la haie pour l'orientation Sud-Ouest, bien qu'en tendance la proximité de la haie semble avoir un léger effet positif. Côté Nord-Est, en 2023, il y a une différence significative à 2 m et à 20 mètres de la haie, ainsi qu'à 2 m de la haie en 2024. Pour ce site, la haie n'impacte pas la croissance de l'herbe à sa proximité. Au contraire, on peut observer certains mois et certaines années un effet positif de la présence de la haie sur la croissance de l'herbe à sa proximité immédiate, probablement lié à la protection contre l'ensoleillement à un moment où le sol est plus sec, milieu ou fin d'été.

Lizine Petit

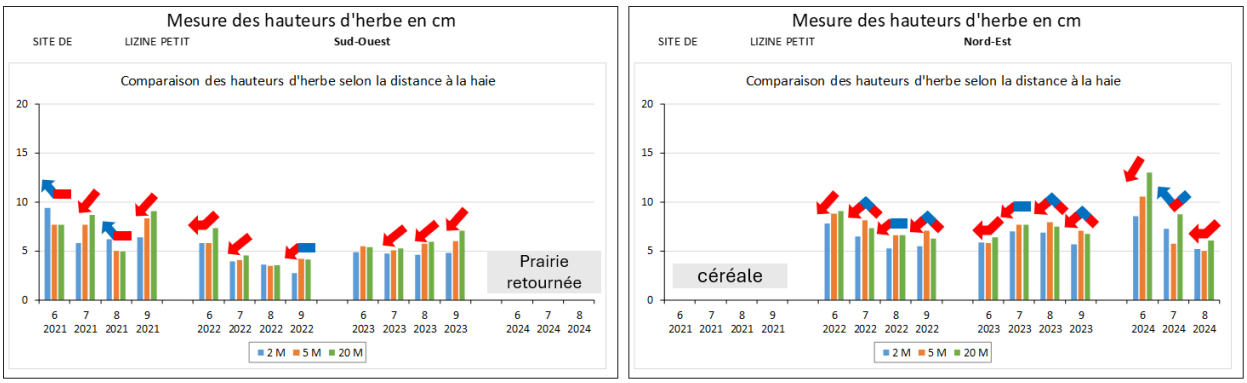


Figure 80 : évolution mensuelle des hauteurs d'herbe (en cm) à Lizine Petit de 2021 à 2024.

A Lizine Petit on observe une tendance générale à une diminution des hauteurs d'herbe à proximité de la haie. Cette diminution est plus marquée à 2 m qu'à 5 m et est observée des deux côtés

de la haie. Certains mois d'étés chauds, les hauteurs d'herbe peuvent être plus élevées à 5 m qu'à 2 m côté Nord-Est, ce qui pourrait être lié à un effet bénéfique de l'ombrage de la haie.

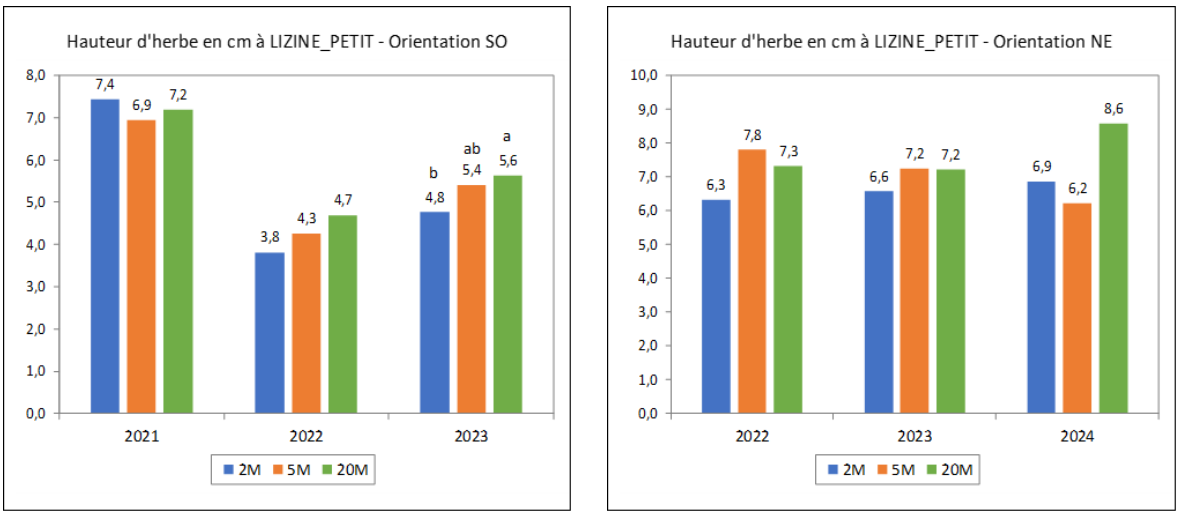


Figure 81 : hauteur d'herbe (en cm) moyenne annuelle à Lizine Petit, orientation SO (gauche) et NE (droite).

L'analyse statistique n'a mis en évidence qu'une différence statistique en 2023 pour l'orientation Sud-Ouest. La haie de Lizine Petit semble limiter les hauteurs d'herbe à sa proximité à partir de 5 m pour l'orientation Sud-Ouest et à 2 m pour l'orientation Nord-Est où l'ombrage pourrait avoir un effet positif à 5 m.

Cademène :

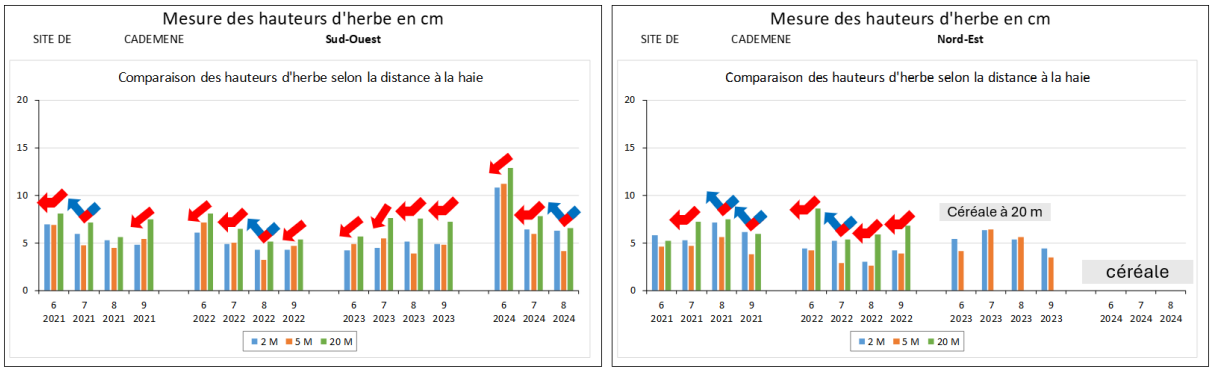


Figure 82 : évolution mensuelle des hauteurs d'herbe (en cm) à Cademène de 2021 à 2024.

A Cademène on observe une tendance à la diminution des hauteurs d'herbe à 2 m et à 5 m de la haie pour les deux orientations. L'âge et la taille des arbres de cette haie historique naturelle semble impacter négativement la pousse de l'herbe à sa proximité.

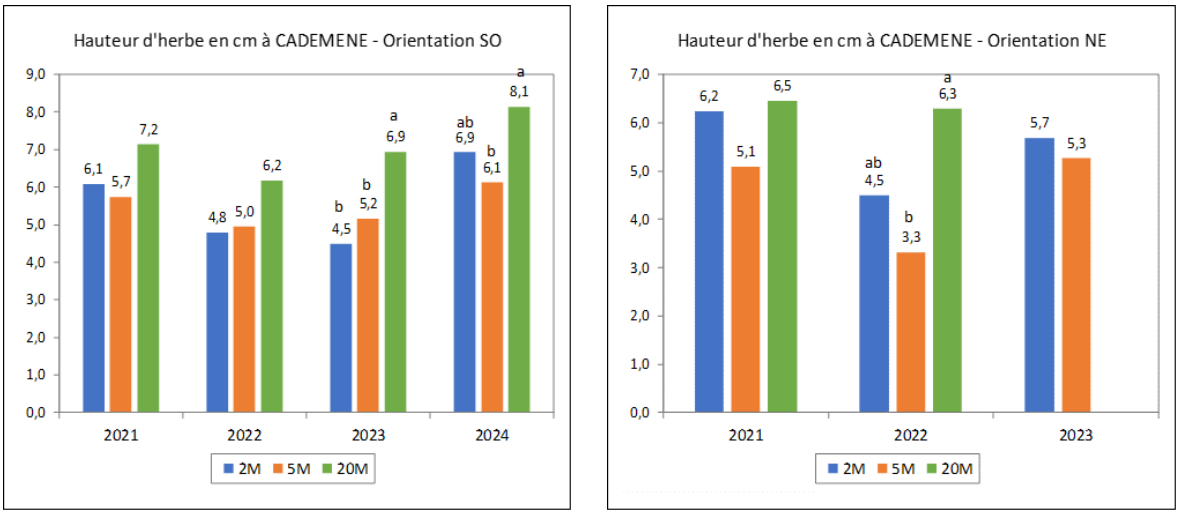


Figure 83 : hauteur d'herbe (en cm) moyenne annuelle à Cademène, orientation SO (gauche) et NE (droite).

L'analyse statistique montre un effet négatif de la proximité de la haie à Cademène pour l'orientation Sud-Ouest en 2023 et en 2024. Cet effet est plus marqué à 5 m qu'à 2 m en 2024. Pour l'orientation Nord-Est, on observe un effet négatif de la proximité de la haie en 2022, également plus marqué à 5 m.

L'évaluation de la pousse de l'herbe de 2021 à 2024 sur les 4 haies suivies ne permet pas de déterminer, de façon globale, si la haie constitue un frein ou un atout pour la production de biomasse fourragère. Ceci peut s'expliquer par les différences d'âge des haies et de conditions climatiques.

En 2021, aucune différence significative de hauteur d'herbe n'a été observée en fonction de la distance à la haie. Ce résultat peut s'expliquer par les conditions climatiques de l'année : les précipitations abondantes et des températures fraîches ont permis aux prairies de disposer de ressources en eau suffisantes, empêchant ainsi les haies d'exercer une influence notable sur la production fourragère.

En 2022, année très sèche dès le printemps, avec des températures caniculaires, les hauteurs d'herbe sont en tendance plus faibles à proximité des haies, excepté à Lizine Grand. Cet effet négatif de la proximité de la haie n'est significatif que pour la haie de Cademène pour l'orientation Nord-Est et est plus marqué à 5 m qu'à 2 m.

En 2023, année également caractérisée par un été très chaud et très sec, les hauteurs d'herbe sont en tendance plus faibles à proximité des haies, excepté à Lizine Grand. Cet effet négatif est statistiquement significatif à Lizine Grand et Cademène pour l'orientation Sud-Ouest et à Bolandoz pour l'orientation Nord-Est.

Enfin, en 2024, année relativement chaude et pluvieuse, l'impact de la proximité de la haie est plus contrasté selon les sites et les orientations. A Bolandoz la hauteur diminue significativement avec la proximité de la haie pour l'orientation Nord-Est et avec une tendance identique pour l'orientation Sud-Ouest. A Lizine Petit, en tendance, et à Cademène, de façon significative, les hauteurs d'herbe sont plus faibles à proximité de la haie. À l'inverse, à Lizine Grand pour l'orientation Nord-Est, la hauteur d'herbe a été plus importante à 2 mètres qu'à 5 et 20 mètres.

Les résultats suggèrent donc que l'effet des haies sur la croissance de l'herbe est très variable et ne se manifeste que dans certaines conditions spécifiques, principalement en année sèche et selon l'orientation et le site étudié. Les hauteurs d'herbe sont souvent plus limitées à proximité de la haie pour

l'orientation Sud-Ouest la plus ensoleillée, pour la haie de Bolandoz où le système racinaire est en phase d'installation et pour les haies les plus âgées, Lizine Petit et Cademène. Il est également à noter que les mesures des hauteurs d'herbe sur trois transects sont relativement chronophages et ne permettent pas de visualiser de façon plus exhaustive l'impact des haies sur la pousse de l'herbe. Par ailleurs, si le transect mesuré correspond à un passage des animaux ou à un passage de roue du tracteur, il peut y avoir un effet marqué plus lié au tassement du sol qu'à l'impact de la haie.

Le suivi de la hauteur d'herbe au cours des 4 années sur les 4 sites a montré, en tendance, un impact négatif mais limité à la proximité immédiate des haies, lorsque celles-ci sont en phase d'installation du fait de la concurrence racinaire (Bolandoz) ou pour des âges plus matures ou naturelles (Lizine Petit et Cademène), pour les deux orientations. En revanche, les haies plus développées ont montré une capacité de protection du fait de l'ombrage qu'elles procurent à partir de 5 m et jusqu'à 20 m pour les haies les plus hautes.

En termes de gain de rendement fourrager, on estime qu'un cm de hauteur d'herbe représente 250 kg MS/ha. Les gains de rendement, résultant de l'effet protection des haies côté nord-est, par rapport à ce qui était observé du côté sud-ouest, n'ont pas été chiffrés dans le cas de cette étude car les deux parcelles situées de part été d'autre des haies n'étaient généralement pas exploitées de la même façon et n'appartenaient pas au même agriculteur.

La présence régulière de haies apportant de l'ombrage pour protéger les parcelles agricoles peuvent induire des gains de hauteur d'herbe pouvant atteindre 1 à 2 cm, comme cela a pu être observé sur une parcelle de pré de fauche avec des haies intra-parcellaire à Montmahoux en septembre 2020, en période caniculaire. Le gain de rendement a été estimé dans ce cas à 400 kg MS/ha le jour de la mesure, sans tenir compte de la capacité de croissance maintenue et plus rapide lors du retour de conditions climatiques plus favorables là où l'herbe est restée verte. C'est ce qui est illustré dans le schéma ci-dessous.

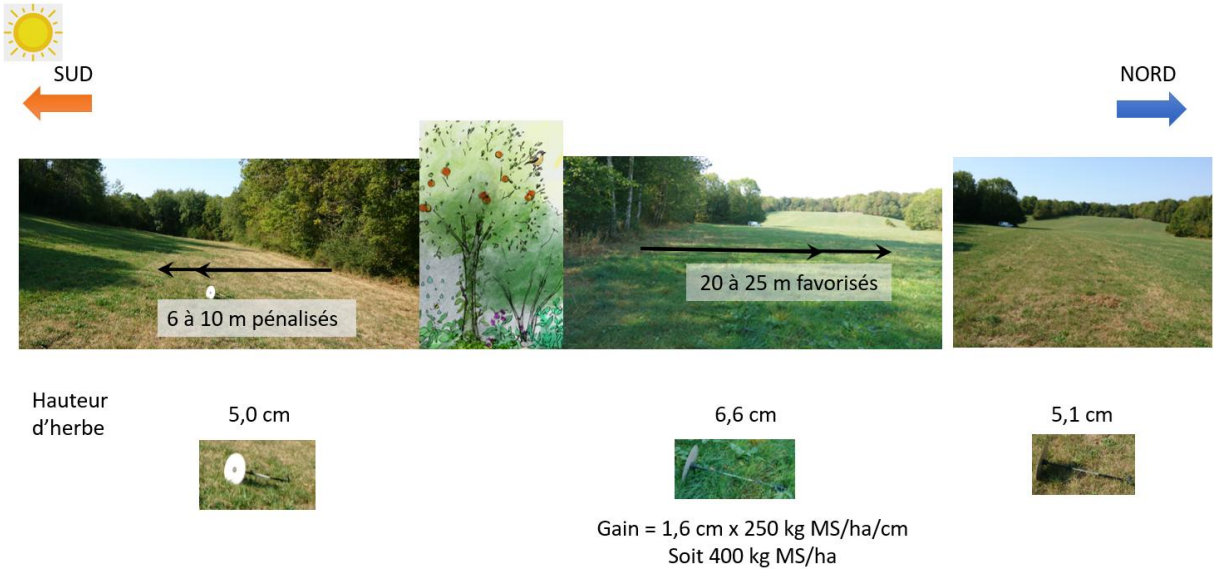


Figure 84 : distances et hauteurs d'herbe influencées par une prairie d'orientation Ouest-Est à Montmahoux, mesurées le 14 septembre 2020.

Dans un contexte de changement climatique, avec des épisodes de canicule et de sécheresse, la présence de haies représente une solution d'adaptation et d'atténuation de l'évapotranspiration de l'eau du sol et permet également de limiter les phénomènes des brûlures des végétaux de plus en plus observés.

b. Analyses des indices de nutrition iP iK de l'herbe

Afin d'affiner l'interprétation de l'analyse des mycorhizes, des analyses concomitantes de l'azote du sol et des teneurs en azote, phosphore et potasse de l'herbe sont réalisées à chaque campagne de mesure des mycorhizes du sol. Ces données sont utilisées par le laboratoire Spiral dans l'interprétation des mycorhizes du sol. Les teneurs en azote, phosphore et potasse de l'herbe permettent par ailleurs de mesurer les indices de nutrition phospho-potassique iP (phosphore) et iK (potasse) d'une prairie.

Les indices de nutrition en phosphore et en potasse sont utilisés en agriculture pour porter un diagnostic sur l'état de nutrition d'une prairie pour ces éléments. Ils ont été mis point par l'INRAe à la fin des années 90 (*Thélier-Huché et al, 1999*) et se basent sur l'équilibre des éléments minéraux N, P, K dans le végétal. Ils doivent être mesurés au printemps lorsque la biomasse de la prairie est comprise entre 2 et 5 T MS/ha en situation non stressante, ce qui correspond pour les prairies du Jura à la première coupe. Ils sont plus fiables que les analyses de sol classiques car ils mesurent directement la capacité des plantes à s'alimenter en phosphore et en potasse et traduisent donc la bio-disponibilité réelle de ces éléments pour les végétaux. En effet, une partie du phosphore et de la potasse est fournie par les micro-organismes du sol et les mycorhizes et n'est pas mesurée par l'analyse de sol classique.

Des indices très déficitaires (inférieur à 60) indiquent un manque de capacité de prélèvement par les plantes de phosphore ou de potasse avec une répercussion sur les rendements et nécessitant un apport pour cet élément, pouvant se faire sous forme organique ou minérale. Des indices situés entre 60 et 80 correspondent à une situation déficitaire, nécessitant également un apport. Des indices situés entre 80 et 100 correspondent à une situation équilibrée : les pratiques habituelles de fertilisation sur la parcelle peuvent se maintenir. Des indices situés entre 100 et 120 correspondent à une situation de sol bien pourvue, avec une possibilité de réduire les apports. Enfin, des indices supérieurs à 120 indiquent que la disponibilité de l'élément pour la plante est excédentaire et qu'il est conseillé de réduire les apports ou de faire une impasse.

Les mesures des indices de nutrition iP iK sont réalisées sur des échantillons d'herbe au printemps permettent de contrôler la capacité du sol à fournir aux plantes le phosphore et la potasse dont elles ont besoin. Ces éléments minéraux sont présents dans la matière minérale du sol, mais également dans l'importante biomasse microbienne du sol des prairies. Les pratiques agricoles permettent d'entretenir et d'enrichir les sols en phosphore et en potasse (déjections animales, effluents d'élevage et apports sous forme d'engrais de synthèse). L'évolution des indices en phosphore et en potasse au fil du temps résultent du solde entre les apports et les exportations par les végétaux.

Il est à noter que les indices en phosphore sont généralement plus stables et diminuent plus lentement car les plantes absorbent peu de phosphore, de l'ordre de 30 kg P_2O_5/ha/an pour un rendement de 6 T MS/ha. En cas d'apport élevé de phosphore les indices peuvent cependant augmenter de façon importante. En ce qui concerne la potasse, malgré des teneurs du sol généralement bien pourvues, les indices en potasse sont plus susceptibles de diminuer de façon importante si les apports ne couvrent pas les exportations car celles-ci absorbent des quantités importantes de potasse, de l'ordre de 150 kg K_2O/ha/an pour 6 T MS/ha.

Au cours de l'expérimentation, les indices de nutrition iP iK ont été réalisés dans les prairies des 4 sites suivis, sur le côté orienté vers le Sud-Ouest. Les graphiques ci-dessous présentent l'évolution de ces indices iP iK entre 2021 et 2024 ou 2023 pour les sites qui n'étaient plus en prairie en 2024.

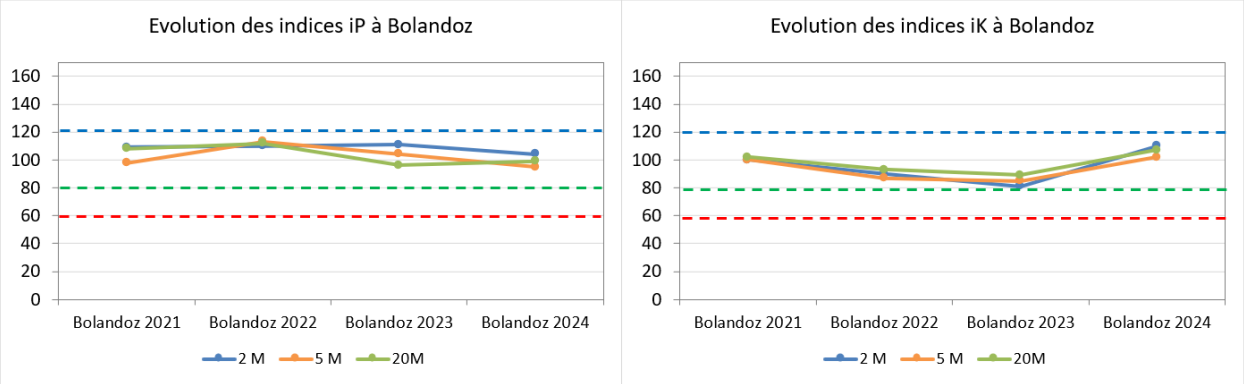


Figure 85 : évolution des indices de nutrition phospho-potassique à Bolandoz, mesurés dans la prairie, côté Sud-Ouest.

Sur la Parcelle de Bolandoz, les indices en phosphore sont corrects à élevés et évoluent peu au cours du temps. L'indice en phosphore à 2 m de la haie est le plus élevé et le plus stable au cours du temps. Il pourrait être lié à l'activité microbienne et mycorhizienne à proximité de la haie en cours d'installation. Les analyses de terre à Bolandoz sont cependant les seules des 4 sites à présenter des teneurs élevées en phosphore, ce qui peut limiter le rôle de la biomasse microbienne. Pour les indices en potasse, on peut observer qu'ils diminuent entre 2021 et 2023, puis ils augmentent en 2024. Il ne se dégage pas de tendance nette selon l'éloignement de la haie pour la potasse.

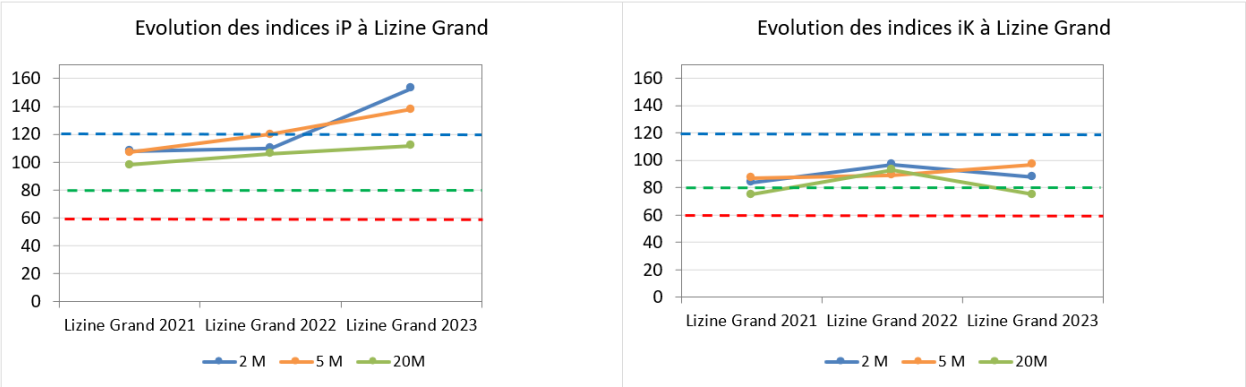


Figure 86 : évolution des indices de nutrition phospho-potassique à Bolandoz, mesurés dans la prairie, côté Sud-Ouest.

Sur la Parcelle de Lizine Grand, les indices en phosphore sont corrects à excédentaires. Ils augmentent entre 2021 et 2023 et sont plus élevés à proximité de la haie (2 et 5 m) qu'à 20 m, potentiellement en lien avec le développement de la mycorhisation. Les indices de potasse sont satisfaisants à proximité de la haie (2 et 5 m) et satisfaisants à légèrement déficitaires à 20 m. Il est à noter que la chute des feuilles des arbres au cours de l'automne se produit à proximité de la haie. Ces feuilles sont riches en potasse et pourraient expliquer des indices potassiques plus élevés à proximité de la haie. Une teneur en potasse du sol légèrement plus élevée a également été mesurée dans l'analyse de sol réalisée en 2022.

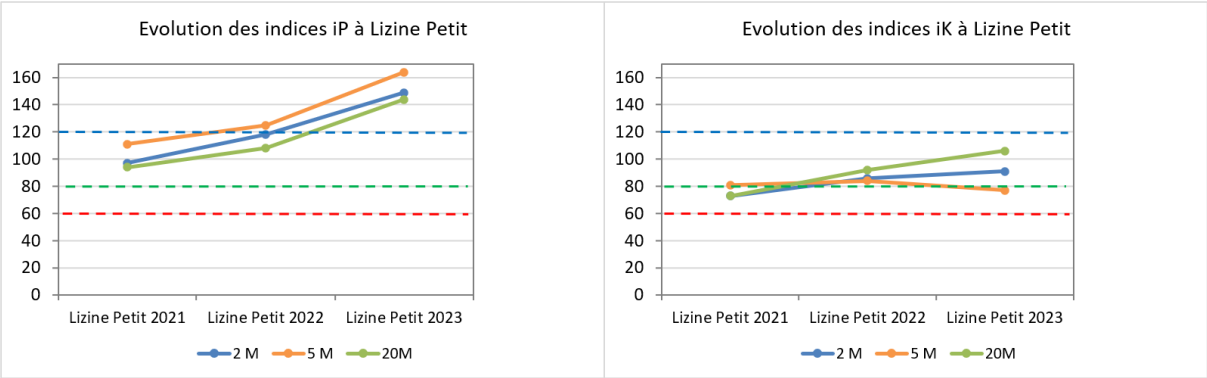


Figure 87 : évolution des indices de nutrition phospho-potassique à Lizine Petit, mesurés dans la prairie, côté Sud-Ouest.

Sur la parcelle de Lizine Petit, les indices de nutrition en phosphore sont satisfaisants à excédentaires. Ils augmentent entre 2021 et 2023 et conservent un gradient positif avec la proximité de la haie. Ces résultats sont en contradiction avec les analyses de sol qui sont très faibles en phosphore aux trois distances de la haie. Les analyses de sol ne sont pas recommandées pour juger de la fertilité d'une prairie car elles sous-estiment la biodisponibilité réelle en phosphore du sol. Comme à Lizine Grand, les indices en phosphore plus élevés à proximité de la haie pourraient être liés à la mycorhization. En ce qui concerne les indices en potasse, ils sont un peu faibles à corrects. On peut noter une variabilité qui n'est pas en liaison avec la distance à la haie. Les analyses de sol sont déficitaires pour les trois distances à la haie

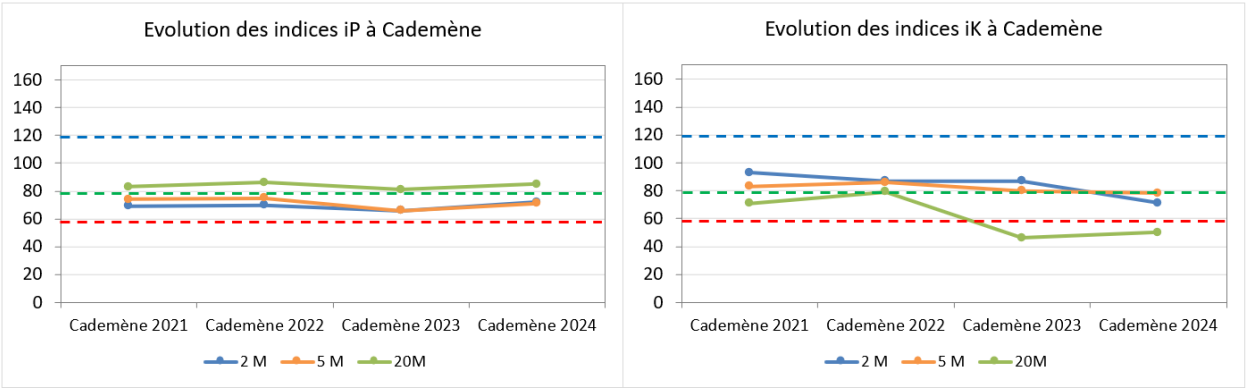


Figure 88 : évolution des indices de nutrition phospho-potassique à Bolandoz, mesurés dans la prairie, côté Sud-Ouest.

Sur la parcelle de Cademène, les indices en phosphore sont légèrement déficitaires à proximité de la haie et corrects à 20 m. Ces résultats sont également contradictoires avec les analyses de sol qui sont extrêmement déficitaires en phosphore. Les valeurs des indices de nutrition en phosphore indiquent donc une fourniture importance et sans doute très majoritaire du phosphore issu de la biomasse microbienne et des mycorhizes dans l'alimentation de la prairie, y compris à 20 m de la haie. En ce qui concerne les indices en potasse, ils sont corrects ou très légèrement déficitaires à proximité de la haie (2 et 5 m) et déficitaires à très déficitaires à 20 m de la haie. On observe également dans les analyses de sol des teneurs en potasse nettement plus élevées à proximité de la haie. Ces teneurs et indices en potasse plus élevés à proximité de la haie sont probablement liés aux apports réguliers de potasse par les feuilles des arbres. Les photographies ci-dessous ont été prises le 8 juillet 2021 à 2, 5 et 20 m de la haie de Cademène. Elles montrent la présence importante de feuilles d'arbre fragmentées et en cours de décomposition à la surface du sol à 2 et à 5 m de la haie, alors qu'elles sont absentes à 20 m.



Figure 89 : photographies de la surface de sol à 2 m, 5 m et 20 m de la haie de Cademène le 8 juillet 2021 montrant la présence de nombreuses feuilles d'arbre fragmentées et en décomposition à 2 et 5 m de la haie et leur absence à 20 m.

En résumé, on peut dégager des tendances sur l'effet des haies sur l'alimentation phospho-potassique des prairies. En ce qui concerne le phosphore, les indices sont généralement plus élevés à proximité de la haie et relativement satisfaisants, contrairement aux analyses de sol qui sont pauvres ou très pauvres, excepté à Bolandoz. Ceci tend à indiquer que le phosphore issu de la biomasse microbienne et des mycorhizes, à proximité des haies, est une source importante si ce n'est la plus importante pour l'alimentation de la prairie. A Cademène, où la haie est la plus ancienne, avec des sols extrêmement pauvres en phosphores, les indices sont légèrement déficitaires à correct, y compris à 20 m de la haie, où ils sont un peu plus élevés qu'à proximité immédiate de la haie.

Pour la potasse, on peut noter que les haies les plus anciennes présentent de teneurs du sol plus riches et des indices de nutrition plus élevés à 2 et 5 m qu'à 20 mètres, ce qui est probablement lié à l'abondance de la chute des feuilles d'arbres, riches en potasse, à proximité de la haie. Ce constat a été observé à Lizine Grand et à Cademène, tant sur les teneurs du sol que sur les indices de nutrition. Ceci est confirmé par *Bhardwaj et al. (2022)* qui relèvent que sous les plantations d'arbres en agroforesterie, on observe une amélioration significative de l'azote, du phosphore et de la potasse disponible dans le sol selon un gradient lié à la distance de la haie. Cette augmentation est plus importante à 2 m qu'à 5 m

et qu'à 10 m des arbres où les teneurs sont proches de la parcelle témoin sans plantation. La plus grande disponibilité du potassium dans les couches superficielles sous les arbres est attribuée à la libération du potassium issu de la décomposition de la litière ainsi qu'à la solubilisation des formes insolubles de potassium présentes dans le sol grâce aux produits de décomposition organique.

2. Approche physico chimique

a. Humidité du sol

L'humidité du sol a été mesurée en période estivale afin d'étudier l'impact de la présence des haies sur la ressource en eau avec l'humidimètre TDR 350, exprimée en humidité volumique (%VWC). L'humidité du sol dépend des précipitations, de l'évapotranspiration et de la réserve utile en eau du sol. Un bilan hydrique, réalisé à partir des données de la station météorologique de Coulans-sur-Lizon, a été présenté au chapitre II.5.b. Il a permis de constater qu'au cours des 4 années de suivi, la météorologie a impacté de façon différente la réserve utile des sols au cours de l'été :

- 2021 : printemps et été frais et très arrosé (mai et juillet) où les sols sont restés bien alimentés en eau,
- 2022 : printemps sec dès le mois de mai et été très chaud et caniculaire jusque mi-août ayant entraîné un stress hydrique des sols et des plantes de juin à septembre,
- 2023 : des pluies régulières au printemps et en été (bien qu'inférieures aux normales), avec un stress hydrique de juin à mi-octobre, avec des périodes précipitations orageuses limitant l'assèchement des sols,
- 2024 : un printemps et un été régulièrement arrosés avec des températures modérées où les sols sont restés bien alimentés en eau.

L'humidité du sol a été mesurée dans les sols des prairies des 4 sites au Sud-Ouest des haies, côté le plus exposé au soleil lors des heures chaudes de la journée, mais également dans la parcelle située au Nord-Est de la haie, lorsque cette parcelle était également en prairie. Ce côté Nord-Est est plus protégé des effets du soleil grâce à l'ombre des haies au cours de l'après-midi. Les mesures sur le terrain ont été effectuées avec une fréquence de 2 à 4 relevés par mois selon les années, selon 3 distances d'éloignement des haies, 2, 5 et 20 m. Les valeurs moyennes des humidités du sol sont présentées dans les figures ci-dessous, par site, par mois par distance à la haie et selon l'orientation. Les traits hachurés horizontaux bleus indiquent l'humidité volumique correspondant au point de flétrissement (20%) et les traits hachurés orange l'humidité volumique correspondant à la capacité au champ (42 %). Des flèches de couleur bleue ou rouge permettent de visualiser les tendances observées à chaque mesure en fonction de la distance à la haie, comme indiqué dans la légende ci-dessous.

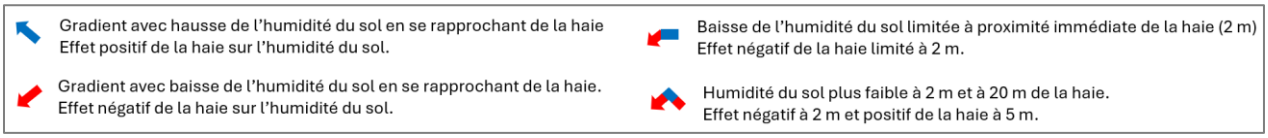


Figure 90 gradient des variations d'humidité du sol

i. Bolandoz

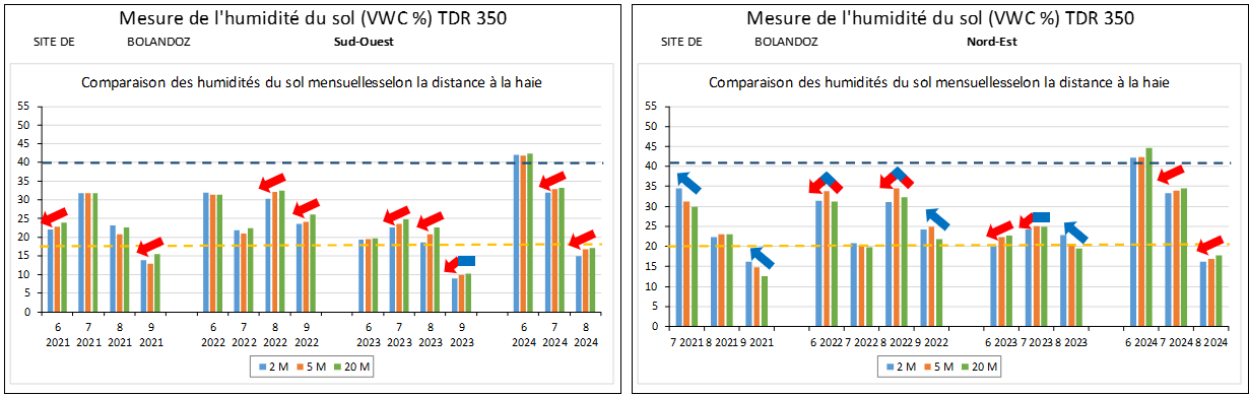


Figure 91 : évolution mensuelle de l'humidité du sol à Bolandoz de 2021 à 2024.

A Bolandoz, on observe régulièrement une diminution de l'humidité du sol à proximité de la haie pour l'orientation Sud-Ouest, alors que l'humidité du sol est plus variable pour l'orientation Nord-Est. L'effet ombrage de la haie les années chaudes n'est pas observé, excepté en septembre 2022 et en août 2023. Mais le jeune âge de la haie limite sa capacité d'ombrage. La sécheresse plus importante des sols à proximité de la haie est accompagnée d'une hauteur d'herbe (présentée plus haut) également plus faible pour l'orientation Sud-Ouest, la plus exposée à l'ensoleillement. Côté Nord-Est, les hauteurs d'herbe sont également plus faibles à proximité de la haie bien que ce ne soit pas toujours le cas de l'humidité du sol.

Les graphiques ci-dessous représentent les humidités du sol moyennes par année, par distance à la haie et par orientation.

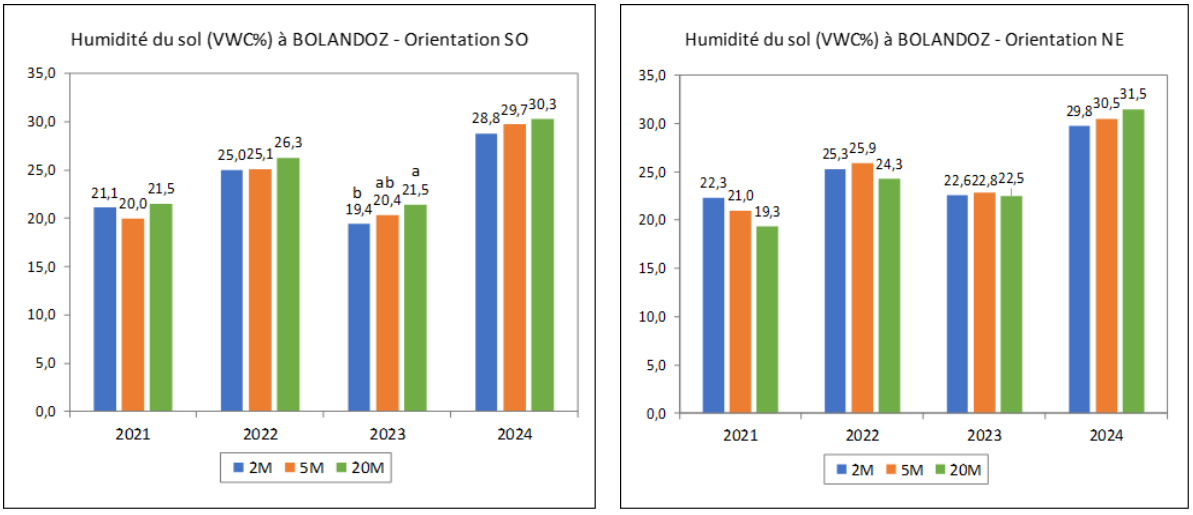


Figure 92 : évolution annuelle de l'humidité du sol selon la distance et l'orientation de la haie.

Pour tester si la distance à la haie exerce une influence sur l'humidité du sol, des tests de comparaison de Kruskal Wallis ont été réalisés sous le logiciel R en comparant l'ensemble des données disponibles par année, par distance de la haie et par orientation. Lorsque que les tests sont significatifs, leurs résultats sont reportés sur les graphiques à l'aide des lettres représentant les groupes homogènes.

L'humidité du sol à Bolandoz pour l'orientation Sud-Ouest diminue en se rapprochant de la haie de 2022 à 2024, avec un effet significatif pour l'année 2023. En 2021, l'humidité du sol diminue avec la distance à la haie en 2021 et augmente en 2024 sans effet significatif. Il est possible que la mise en place du système racinaire de cette haie jeune, qui se réalise lors des premières années de façon plus

superficielle et plus latérale, provoque une diminution de la ressource en eau dans le sol, et une diminution des hauteurs d'herbe, à proximité immédiate de la haie.

ii. Lizine Grand

A Lizine Grand, on observe une tendance à la diminution de l'humidité à proximité de la haie au Sud-Ouest de la haie, plus marquée à 2 m qu'à 5 m, alors qu'une tendance inverse est généralement observée pour l'orientation Nord-Est, avec une humidité du sol plus élevée à 5 m et à plus faible à 20 m. Il semble que pour cette haie les arbres exercent un effet négatif du côté le plus exposé à l'ensoleillement et un effet positif, que l'on peut attribuer à l'ombrage, du côté opposé. Ces observations ne sont pas corrélées avec les hauteurs d'herbe qui sont légèrement plus élevées à proximité de la haie pour l'orientation Sud-Ouest, sans effet significatif et légèrement plus faibles à 5 m de la haie pour l'orientation Nord-Est, avec un effet significatif en 2023 et 2024.

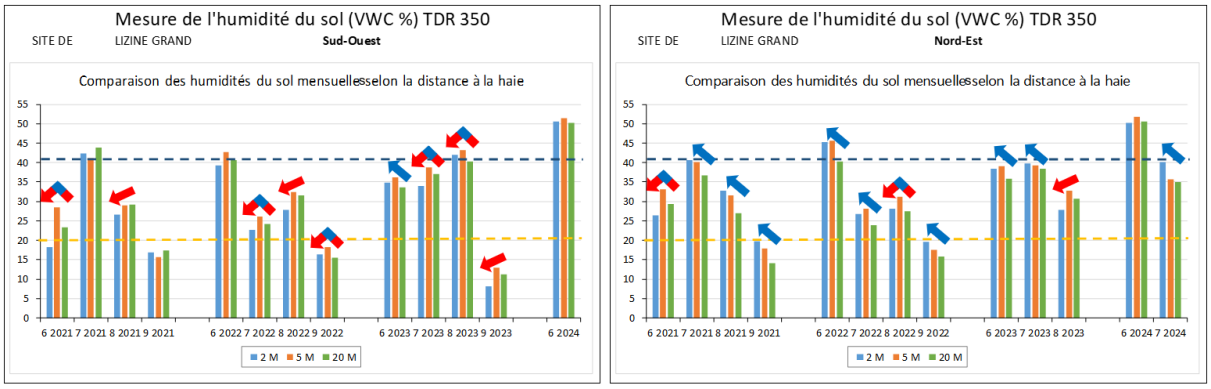


Figure 93 : évolution mensuelle de l'humidité du sol à Lizine Grand de 2021 à 2024.

Les comparaisons des moyennes annuelles des humidités du sol montrent, du côté Sud-Ouest, une tendance à des humidités plus élevées à 5 m de la haie de 2022 à 2024 et des humidités plus faibles à 2 m de la haie au cours des mêmes années, sans effet significatif. Côté Nord-Est, les humidités sont plus élevées à proximité de la haie, avec un effet significatif en 2024.

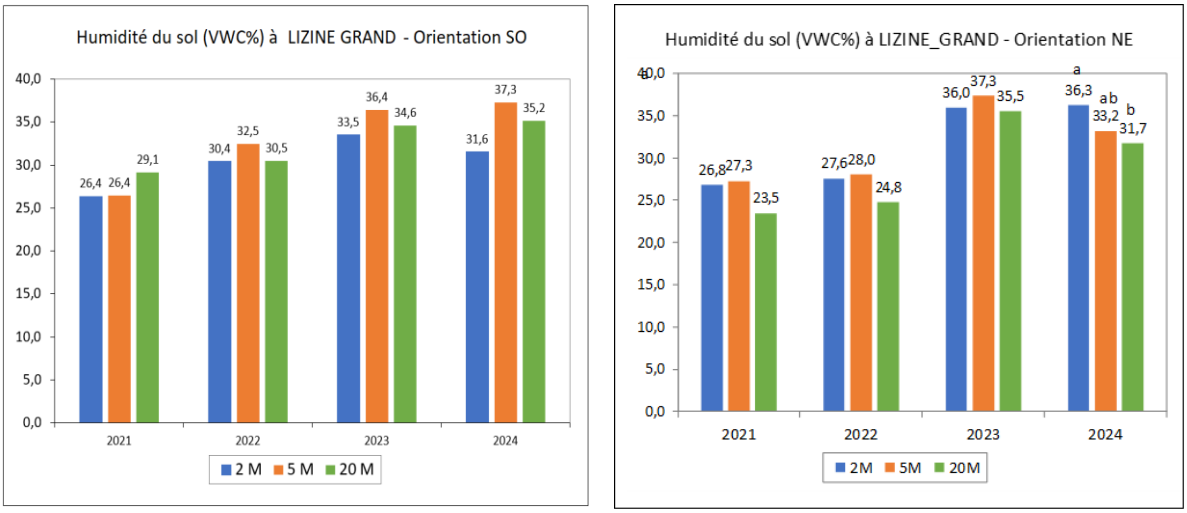


Figure 94 : évolution annuelle de l'humidité du sol à Lizine Grand selon la distance et l'orientation de la haie.

iii. Lizine Petit

A Lizine Petit, pour l'orientation Sud-Ouest, les humidités du sol diminuent à proximité de la haie pour les années 2021 à 2023. Côté Nord-Est, on observe généralement une humidité du sol plus faible à 2 m mais plus élevée à 5 m de la haie, par rapport au transect éloigné de 20 m de la haie. Cette haie exerce un effet négatif sur l'humidité du sol à 2 et 5 m du côté le plus ensoleillé et à proximité immédiate, à 2 m, sur le côté le plus ombragé. Par contre, de ce côté de la haie, la mesure de l'humidité du sol à 5 m de la haie indique un effet positif de l'ombrage.

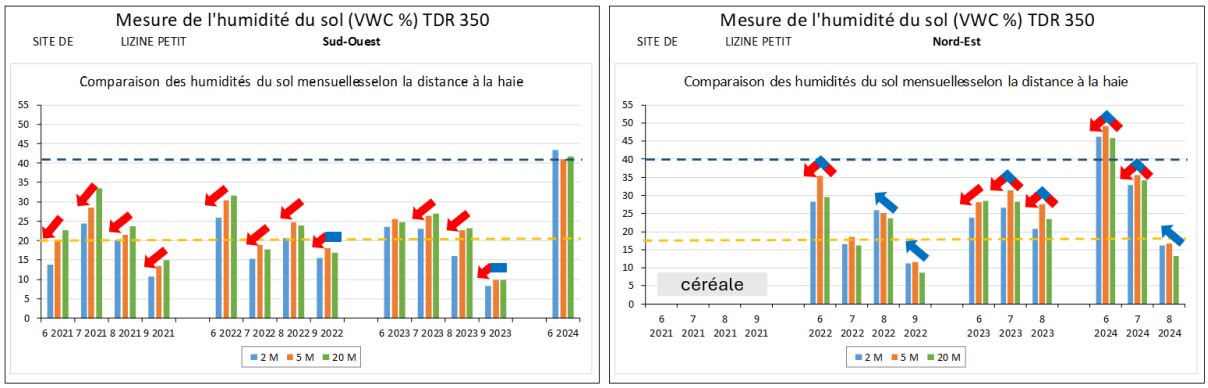


Figure 95 : évolution mensuelle de l'humidité du sol à Lizine Petit de 2021 à 2024.

Les comparaisons des moyennes annuelles des humidités du sol montrent, du côté Sud-Ouest, des humidités du sol plus faibles à 2 m et à 5 m de la haie de 2021 à 2024, avec des effets significatifs chaque année. Côté Nord-Est, les humidités sont plus faibles à 2 m et plus élevées à 5 m de la haie par rapport au transect mesuré à 20 m, avec un effet significatif en 2023.

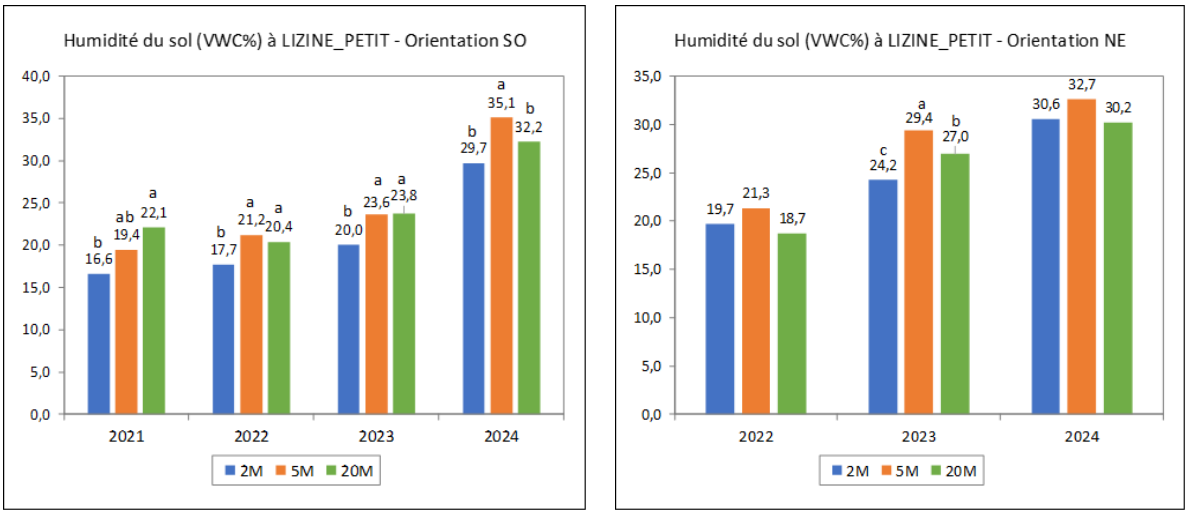


Figure 96 : évolution annuelle de l'humidité du sol à Lizine Petit selon la distance et l'orientation de la haie.

iv. Cademène

A Cademène, avec la haie naturelle la plus âgée et la plus haute, les humidités du sol sont généralement plus faibles à proximité immédiate de la haie, à 2 m, pour les deux orientations. A 5 m et à 20 m de la haie, les humidités sont généralement plus élevées et comparables. Du côté Nord-Est de la haie, l'effet ombrage semble s'exercer sur une grande distance, avec des humidités du sol plus élevées et comparables à 5 et 20 m.

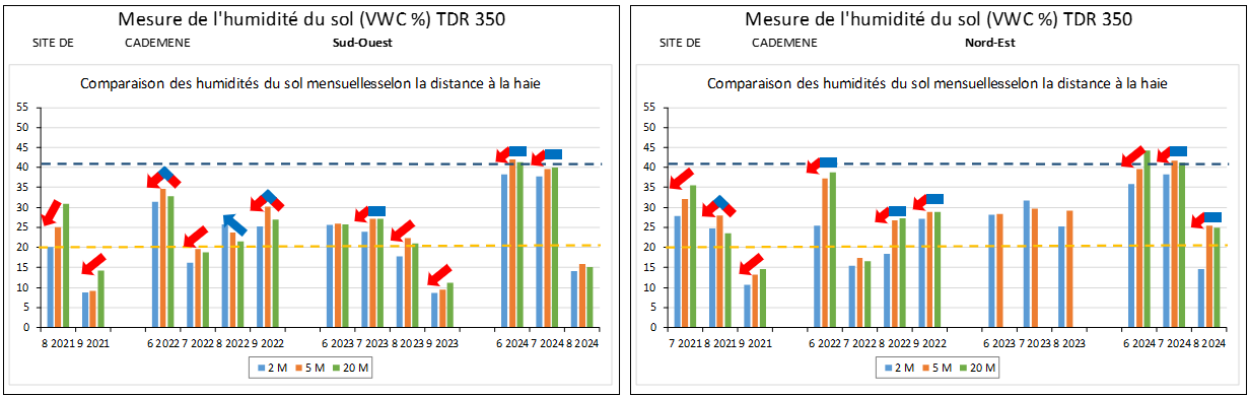


Figure 97 : évolution mensuelle de l'humidité du sol à Cademène de 2021 à 2024.

Les comparaisons des moyennes annuelles des humidités du sol montrent, du côté Sud-Ouest, des humidités significativement plus faibles à 2 m et à 5 m de la haie en 2021, ces humidités plus faibles le sont également en 2022 et 2023, de façon significative, à 2 m de la haie. Côté Nord-Est, les humidités sont plus faibles à 2 m par rapport aux transects mesurés à 5 et 20 m, avec un effet significatif en 2022 et 2024, années sèches et chaudes. En 2023 la parcelle située au Nord-Est de la haie était en orge, à l'exception des 10 mètres bordant la haie. De ce fait le transect 20 m n'a pas été mesuré.

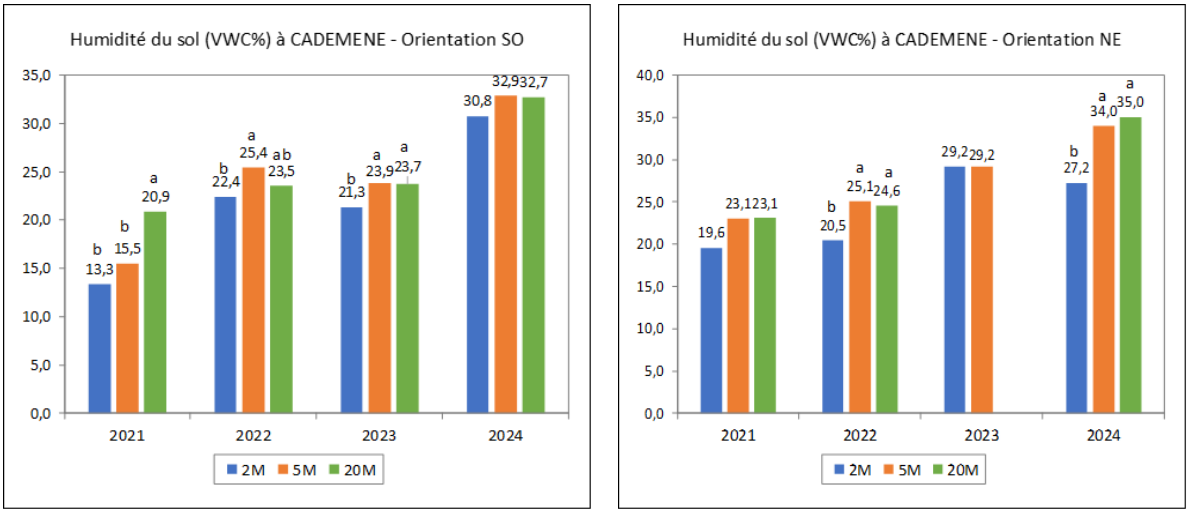


Figure 98 : évolution annuelle de l'humidité du sol à Cademène selon la distance et l'orientation de la haie.

En résumé, on peut constater des effets différents selon l'âge de la haie, la distance et l'orientation.

- Pour Bolandoz, où la haie est la plus jeune, les humidités du sol diminuent en s'approchant de la haie pour les deux orientations. Cette observation est probablement liée à la phase de mise en place du système racinaire des arbres qui s'effectuent initialement de façon plus horizontale et latérale, exerçant une concurrence pour la ressource en eau. Le faible développement de la haie, notamment en hauteur ne lui permet pas d'avoir un effet ombrage sur le côté Nord-Est.
- A Lizine Grand, avec des haies de taille intermédiaire, on observe généralement une diminution de l'humidité du sol à 2 m et à 5 m de la haie pour l'orientation Sud-Ouest, la plus ensoleillée. Côté Nord-Est, les haies ne semble pas exercer un effet concurrentiel pour l'humidité à 2 m et à 5 m où l'effet ombrage permet de conserver des humidités du plus importantes qu'à 20 m.

- A Lizine Petit et à Cademène, avec les haies les plus développées, le système racinaire exerce un effet concurrentiel à proximité des haies, de 2 à 5 m, pour l'orientation Sud-Ouest, tandis que pour l'orientation Nord-Est, cet effet négatif n'est observé qu'à 2 m de la haie. Au-delà, il semble que l'effet positif de l'ombrage soit prépondérant et qu'il permet de maintenir l'humidité du sol à un niveau plus élevé que celui mesuré à 2 m et à 20 m des haies, en particulier en condition chaude et sèche.

b. Analyses de la matière organique, de la biomasse microbienne et de la minéralisation du carbone et de l'azote

Les analyses du fractionnement de la matière organique, de la biomasse microbienne et de la minéralisation du carbone et de l'azote permettent d'analyser plus finement la qualité de la matière organique selon son âge, correspondant à la taille des particules carbonées et les services rendus par la biomasse microbienne : fournitures d'éléments minéraux, minéralisation du carbone et de l'azote. Les analyses étaient prévues en début et en fin de programme d'expérimentation, avec suivi annuel de certains paramètres. La première analyse prévue en 2021 a été reportée en 2022 en raison de conditions climatiques particulièrement humides susceptibles de pénaliser l'activité biologique des sols. Après échanges avec le laboratoire il a été décidé d'attendre la fin de l'expérimentation pour réaliser les analyses suivantes, compte-tenu du pas de temps nécessaire pour mesurer un éventuel effet de la progression du tissu racinaire des haies. L'objectif de ces analyses est d'identifier d'éventuels impacts de la croissance des haies et de leur système racinaire, des pratiques agricoles ou des conditions climatiques, sur les propriétés du sol. Les analyses ont été réalisées au laboratoire Celesta'lab.

Les prélèvements initiaux ont été réalisés le 2 mars 2022 pour les parcelles situées à Lizine et Cademène et le 28 avril 2022 pour le site de Bolandoz. Les prélèvements ont été réalisés à 2 m, 5 m et 20 m des haies sur deux horizons : 0-20 cm et 20-40 cm. Les analyses de contrôle du fractionnement de la matière organique, de la biomasse microbienne et de la minéralisation du carbone et de l'azote ont été réalisées en fin d'expérimentation. Les prélèvements ont été réalisés le 18 juin 2024 à Lizine Grand, Lizine Petit et Cademène et le 27 juin 2024 à Bolandoz.

Les résultats sont présentés ci-dessous.

i. Fractionnement de la matière organique en 2022

Tableau 17 analyses initiales du fractionnement de la matière organique des sols (0-20 cm) situés dans les prairies à 2 m, 5 m et 20 m des haies étudiées (Celesta'lab 2022).

	Caractérisation des matières organiques du sol du 1er horizon (0-20 cm)										
Station	% MO totale % du sol	% MO liée % du sol	% MO libre % du sol	MO liée % MO %	MO libre % MO %	N MO totale g/kg	N MO liée g/kg	N MO libre g/kg	C/N MO totale	C/N MO liée	C/N MO libre
Bolandoz 2M	4,4	3,6	0,8	82	18	2,4	2,0	0,3	10,8	10,3	14,0
Bolandoz 5M	3,8	3,2	0,6	84	16	2,2	1,9	0,3	10,3	9,8	13,8
Bolandoz 20M	4,7	3,7	1,0	79	21	2,6	2,1	0,4	10,7	10,2	13,5
Lizine Grand 2M	6,0	5,4	0,6	90	10	3,0	2,8	0,2	11,8	11,4	17,3

Lizine Grand 5M	5,9	5,1	0,8	86	14	3,1	2,8	0,3	11,0	10,4	15,6
Lizine Grand 20M	5,3	4,6	0,7	87	13	2,8	2,5	0,2	11,2	10,7	16,9
Lizine Petit 2M	4,4	3,9	0,5	89	11	2,3	2,1	0,2	11,4	10,8	19,1
Lizine Petit 5M	4,5	4,0	0,5	89	11	2,4	2,2	0,2	11,0	10,6	17,3
Lizine Petit 20M	4,4	3,9	0,5	89	11	2,3	2,1	0,2	11,0	10,4	17,5
Cademène 2M	7,8	6,5	1,3	83	17	3,3	2,9	0,4	13,5	12,7	19,4
Cademène 5M	7,4	6,3	1,1	85	15	3,3	2,9	0,4	13,1	12,5	18,8
Cademène 20M	9,1	7,6	1,5	84	16	4,4	3,8	0,6	12,1	11,7	14,6

Interprétation	très faible	faible	correct	élevé	très élevé

La teneur en matière organique totale du sol se situe entre 3,8 et 4,7 % du sol à Bolandoz et Lizine Petit, ce qui est un peu faible pour une prairie. A Lizine Grand et Cademène ils sont situés entre 5,3 et 7,8 % du sol, ce qui est satisfaisant. A Cademène 20 m le taux de matière organique est élevé et atteint 9,1 %. Les taux de matière organique d'un sol sont liés à la fréquence des apports d'effluents organiques, en particulier sous forme solide et à l'historique d'occupation du sol : plus la prairie est ancienne, plus le taux de matière organique sera élevé. Les sols plus superficiels (Cademène) vont également moins diluer la matière organique et ils auront des taux de matière organique plus élevés.

L'examen détaillé des différentes fractions organiques permet d'analyser plus finement la qualité de cette matière organique. On peut distinguer la matière organique liée (plus stable et plus ancienne) et la matière organique libre (plus jeune et plus facilement consommée par les micro-organismes du sol).

Dans un sol de prairie, la matière organique libre devrait se situer à plus de 1 % du sol et entre 20 et 25 % de la matière organique totale. Ce niveau n'est généralement pas atteint, quelle que soit le site. Ce déficit est préjudiciable pour le fonctionnement du sol car la matière organique libre est la principale source énergétique pour la vie du sol. Ce manque de nourriture peut se traduire par un faible développement des organismes vivants du sol, une mauvaise dynamique de consommation des matières organiques et peut s'accompagner d'une faible mise à disposition des éléments minéraux pour les plantes.

La quantité de matière organique liée en % du sol est un peu faible à Bolandoz, satisfaisante à Lizine Grand et Petit et élevée à Cademène. Par rapport à la matière organique du sol, elle est satisfaisante à Bolandoz et Cademène et très élevée à Lizine Grand et Petit. La matière organique liée participe à la stabilité structurale du sol en se liant aux argiles (complexe argilo-humique) et augmente la résistance aux stress environnementaux (sécheresse, inondation, …). Après minéralisation (consommation) par les micro-organismes du sol, la matière organique liée représente un stock important d'éléments nutritifs. Le déséquilibre entre matière organique liée (trop élevée) et libre (trop faible) peut s'expliquer par des exportations trop importantes par rapport aux restitutions organiques.

Il n'a pas été constaté d'effet d'éloignement de la haie, excepté à Cademène où le taux de matière organique est plus élevé à 20 m, pouvant être lié à une profondeur de sol plus faible.

ii. Fractionnement de la matière organique en 2024

Le tableau suivant présente les teneurs et caractéristiques de la matière organique des sites étudiés en 2024. On peut constater une diminution du taux de matière organique du sol à Bolandoz. Cette diminution est probablement plus liée à un effet du prélèvement car en l'absence de travail du sol, et compte-tenu des pratiques de l'éleveur, il ne devrait pas évoluer en deux ans. L'équilibre entre la matière organique libre et la matière organique liée s'améliore à Lizine Grand et Lizine Petit, ce qui signifie que les réserves sur le long terme (MO liée) sont mieux proportionnées par rapport aux réserves à court terme (MO libre). Cette évolution peut être due à des apports de matière organique fraîche (lisier).

Tableau 18 analyses finales du fractionnement de la matière organique des sols situés dans les prairies à 2 m, 5 m et 20 m des haies étudiées (Celesta'lab 2024).

2024	Caractérisation des matières organiques du sol du 1er horizon (0-20 cm)										
Station	% MO totale % du sol	% MO liée % du sol	% MO libre % du sol	MO liée % MO %	MO libre % MO %	N MO totale g/kg	N MO liée g/kg	N MO libre g/kg	C/N MO totale	C/N MO liée	C/N MO libre
Bolandoz 2M	3,4	2,6	0,8	78	23	1,9	1,6	0,3	10,4	9,4	15,7
Bolandoz 5M	2,0	1,7	0,2	88	12	1,1	1,0	0,1	10,1	9,6	15,4
Bolandoz 20M	2,1	1,8	0,3	86	14	1,3	1,1	0,1	9,9	9,4	15,5
Lizine Grand 2M	6,6	5,3	1,2	81	19	3,6	3,1	0,5	10,6	9,9	15,2
Lizine Grand 5M	5,8	4,9	0,9	85	15	3,2	2,8	0,4	10,4	10,0	14,2
Lizine Grand 20M	6,0	5,0	0,9	85	15	3,2	2,9	0,4	10,8	10,2	14,9
Lizine Petit 2M	4,8	4,0	0,8	83	17	2,7	2,4	0,3	10,4	9,7	16,4
Lizine Petit 5M	4,4	3,8	0,7	85	15	2,5	2,2	0,2	10,4	9,9	15,4
Lizine Petit 20M	4,7	4,1	0,7	86	14	2,7	2,5	0,3	10,1	9,6	15,2
Cademène 2M	8,5	6,3	2,2	74	26	4,1	3,3	0,8	11,9	11,0	15,7
Cademène 5M	7,3	5,8	1,5	79	21	3,6	3,0	0,6	11,7	11,0	15,6
Cademène 20M	9,7	7,3	2,4	75	25	5,2	4,1	1,1	10,9	10,5	12,6

Interprétation	très faible	faible	correct	élevé	très élevé

iii. Biomasse microbienne en 2022

Le compartiment microbien du sol est le compartiment vivant majoritaire des sols. La biomasse microbienne est constituée de nombreux éléments minéraux (N, P, S, …) présents dans les tissus des organismes vivants (champignons, bactéries, protozoaires, nématodes, ….). La plage optimale de la biomasse microbienne pour des prairies se situe généralement entre 700 et 1200 mg C microbien/kg terre. Elle est un peu faible à Bolandoz et Lizine Petit, satisfaisante à Lizine Grand (sauf à 20 m) et satisfaisante à élevée à Cademène. Compte-tenu des teneurs en matière organique du sol, la biomasse microbienne exprimée en % du carbone est faible à très faible pour les 4 sites étudiés.

Cette biomasse microbienne assure de nombreuses propriétés agronomiques indispensables aux cultures : porosité (favorisant le drainage et l'enracinement), stabilité structurale (résistance à l'érosion). La biomasse microbienne peut être favorisée par l'amélioration des conditions de vie dans le sol (structure, aération, porosité, pH proche de la neutralité) et par les restitutions de matière organique fraîche, favorables à son développement.

Cette biomasse se renouvelle rapidement dans le sol rendant ainsi les éléments qu'elle contient, disponibles pour les plantes. Les quantités d'éléments minéraux stockés dans la biomasse microbienne varient du simple au double selon les sites et les distances à la haie et sont proportionnelles à la biomasse microbienne mesurée dans le sol. On peut constater que les quantités d'azote, de phosphore et de potasse présentes dans la biomasse microbienne sont particulièrement élevées en comparaison des apports pouvant être réalisés ou conseillés sur les parcelles de prairie.

Tableau 19 analyses initiales à 0-20 cm de la biomasse microbienne et des éléments minéraux qui y sont stockés (Celesta'lab 2022).

Station	Compartiment vivant : biomasse microbienne						
	mgC/kg terre	en % C	N kg/ha	P kg/ha	K kg/ha	Ca kg/ha	Mg kg/ha
Bolandoz 2M	550	2,2	235	181	153	22	22
Bolandoz 5M	472	2,1	201	156	131	19	19
Bolandoz 20M	590	2,2	252	195	164	23	23
Lizine Grand 2M	817	2,3	336	260	220	31	31
Lizine Grand 5M	752	2,2	276	214	181	26	26
Lizine Grand 20M	596	1,9	219	169	143	20	20
Lizine Petit 2M	494	1,9	203	157	133	19	19
Lizine Petit 5M	486	1,9	200	155	131	19	19
Lizine Petit 20M	472	1,9	174	134	113	16	16
Cademène 2M	754	1,7	269	208	176	25	25
Cademène 5M	797	1,9	284	220	185	26	26
Cademène 20M	1094	2,1	436	337	285	41	41

Tableau 20

Interprétation	très faible	faible	correct	élevé	très élevé

iv. Biomasse microbienne en 2024

Le tableau suivant présente la biomasse microbienne et les éléments minéraux qui y sont stockés en 2024. Les valeurs sont proches de celles de 2022, à l'exception de Bolandoz à 5 et 20 m où la biomasse microbienne a diminué.

Tableau 21 analyses finales de la biomasse microbienne et des éléments minéraux qui y sont stocké (Celesta'lab 2024)

Station	Compartiment vivant : biomasse microbienne						
	mgC/kg terre	en % C	N kg/ha	P kg/ha	K kg/ha	Ca kg/ha	Mg kg/ha
Bolandoz 2M	523	2,7	223	182	146	21	21
Bolandoz 5M	220	2,0	94	73	61	9	9
Bolandoz 20M	249	2,0	110	85	72	10	10
Lizine Grand 2M	717	1,9	295	228	193	28	28
Lizine Grand 5M	596	1,8	245	190	160	23	23

Lizine Grand 20M	608	1,8	250	193	163	23	23
Lizine Petit 2M	487	1,8	200	155	131	19	19
Lizine Petit 5M	433	1,7	165	128	108	15	15
Lizine Petit 20M	481	1,8	198	153	129	18	18
Cademène 2M	752	1,5	300	232	196	28	28
Cademène 5M	604	1,4	215	166	140	20	20
Cademène 20M	1032	1,8	382	296	250	36	36

Interprétation	très faible	faible	correct	élevé	très élevé

Les graphiques suivants présentent l'évolution de la biomasse microbienne entre 2022 et 2024 par site et par distance à la haie dans l'horizon 0-20 cm (graphiques de gauche) et dans l'horizon 20-40 cm (graphiques de droite).

La biomasse microbienne à 0-20 cm est faible à Bolandoz et à Lizine Petit. Elle est correcte à Lizine Grand et à Cademène à proximité de la haie, faible à Lizine Grand et élevée à Cademène 20 m. Excepté pour ces deux sites à 20 m, il n'a pas été constaté d'effet d'éloignement de la haie sur la biomasse microbienne.

La biomasse microbienne analysée entre 20 et 40 cm présente des teneurs inférieures à celles mesurées entre 0 et 20 cm. L'activité biologique du sol est plus importante dans les premiers cm du sol. Les niveaux mesurés sont tous nettement inférieur à la plage optimale à l'exception de Cademène 20 m.

En comparaison avec les analyses initiales, on peut constater une nette diminution de la biomasse microbienne à Bolandoz 5 et 20 mètres, une légère diminution à Lizine Grand à 2 et 5 mètres. Lizine Petit est restée stable à une valeur inférieure à l'optimum, alors qu'à Cademène, la biomasse microbienne est en baisse à 5 mètres.

Les biomasses microbiennes mesurées en 2024 dans l'horizon 20-40 cm sont proches de celles de 2022 pour les sites de Lizine Grand et Lizine Petit. A Cademène, les biomasses microbiennes mesurées à 2 et 5 m de la haie sont plus élevées qu'en 2022.

Il est à noter que les biomasses microbiennes de l'horizon 20-40 cm de Bolandoz à 5 et 20 m de la haie sont en augmentation par rapport à celles mesurées en 2022 et plus élevées que dans le premier horizon du sol. Ces mesures sont à relier à la dégradation de la structure du sol par le pâturage de l'automne 2023 et du printemps dans un contexte particulièrement arrosé d'octobre 2023 à l'été 2024.

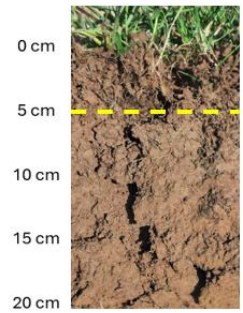


Figure 99horizons du sol de la parcelle de Bolandoz

La diminution de la biomasse microbienne à 5 et 20 m sur la parcelle de Bolandoz dans l'horizon 0-20 cm correspond à une zone de compaction asphyxiée qui a été observée en 2024 sur les premiers cm du sol. Sur la photographie ci-contre (11 avril 2024), on peut observer un feutrage racinaire de 0 à 5 cm, puis une zone compacte avec des traces d'hydromorphie, une odeur de vase et une diminution nette des racines. Au-delà de 20 cm, le sol présentait visuellement une structure plus favorable, sans traces d'hydromorphie, ce qui est confirmé par l'augmentation de la biomasse microbienne.

Par ailleurs, le sol de Bolandoz est celui des 4 sites qui présente la teneur en limon la plus élevée et le taux de matière organique le plus faible. Il est de ce fait plus sensible à la dégradation de sa structure.

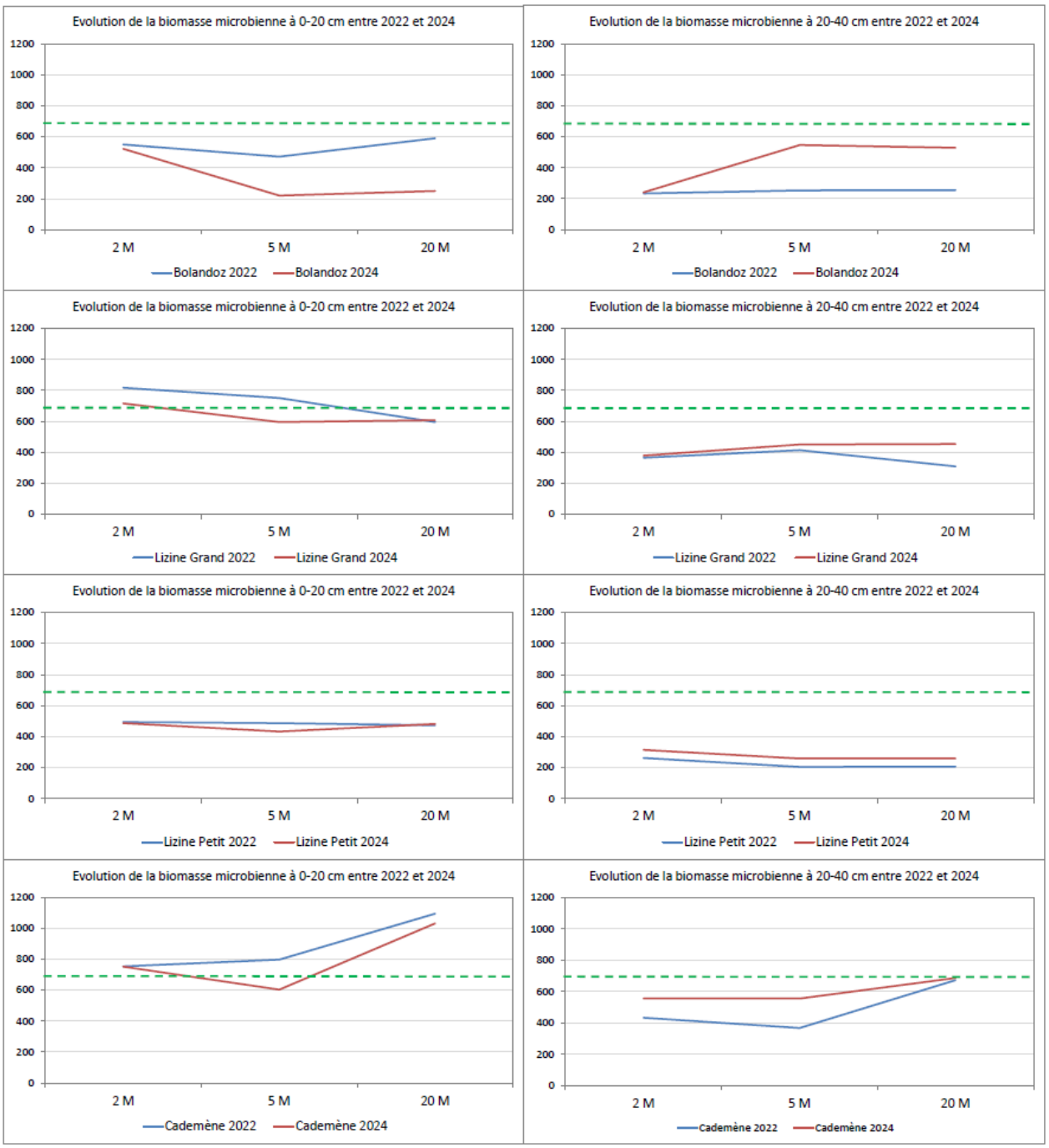


Figure 100 : évolution de la biomasse microbienne entre 2022 et 2024 par site et par distance à la haie pour l'horizon 0-20 cm (à gauche) et l'horizon 20-40 cm (à droite).

v. *Minéralisation du carbone et de l'azote en 2022*

Le tableau suivant présente la minéralisation du carbone et de l'azote par les micro-organismes du sol mesurées par le laboratoire Celesta'lab en 2022 dans l'horizon 0-20 cm.

Tableau 22 analyses initiales à 0-20 cm de la minéralisation du carbone et de l'azote par l'activité microbienne (Celesta'lab 2022).

Station	Minéralisation du carbone et de l'azote par l'activité microbienne				
	C minéralisé	Indice de minéralisation (IM) % du C	N minéralisé	Indice de minéralisation (IM) % du N	Fourniture annuelle N en kg N/ha
	mg/kg/28j		mg/kg/28j	mg/kg/28j	
Bolandoz 2M	561	2,2	43,4	1,8	185
Bolandoz 5M	418	1,9	31,2	1,4	133
Bolandoz 20M	546	2	35,6	1,4	152
Lizine Grand 2M	553	1,6	27,4	0,9	117
Lizine Grand 5M	564	1,7	32,6	1,0	139
Lizine Grand 20M	538	1,7	34,5	1,3	147
Lizine Petit 2M	441	1,7	26,0	1,1	111
Lizine Petit 5M	426	1,6	29,0	1,2	124
Lizine Petit 20M	444	1,8	29,2	1,3	124
Cademène 2M	561	1,2	24,7	0,7	105
Cademène 5M	598	1,4	29,7	0,9	127
Cademène 20M	628	1,2	40,0	0,9	171

Interprétation	très faible	faible	correct	élevé	très élevé

La matière organique potentiellement minéralisable en carbone (transformation des molécules complexes en molécules plus simples jusqu'à la mise à disposition de carbone élémentaire) est celle qui sera rapidement consommée par les micro-organismes (sous réserve de bonnes conditions à leur activité : température, humidité, oxygénation). Le carbone est la source d'énergie des micro-organismes du sol pour leur développement et leur croissance. La quantité de carbone minéralisé à 28 jours en condition contrôlée (correspondant en France à environ 4 mois en conditions réelles de terrain) est un peu faible dans toutes les stations et limite le développement de la biomasse microbienne. L'apport énergétique à la biomasse microbienne est limité par la trop forte stabilité structurale de la matière organique et par le manque de substrat facilement dégradable (matière organique libre). Relativement à la matière organique du sol, seul le site de Bolandoz, où le taux de matière organique est plus faible, présente un indice de minéralisation du carbone satisfaisant. Il n'est pas observé d'effet lié à la distance de la haie.

L'azote minéralisé en condition de laboratoire en 28 jours est satisfaisant à Bolandoz, Lizine Grand (sauf à 2 m) et à Cademène 20 m. Il est faible dans les autres stations. Exprimé relativement à l'azote du sol, l'indice de minéralisation est élevé à Bolandoz, satisfaisant à Lizine Petit et Lizine Grand 20 m. Il est faible dans les autres situations. Cet azote minéralisé par l'activité microbienne est l'azote potentiel mis à disposition des plantes. La nitrification aboutit à la mise à disposition de nitrates pour les plantes. Par extrapolation sur 6 mois (correspondant à la période annuelle de conditions optimales pour l'activité biologique), la quantité d'azote potentiellement générée par l'activité biologique du sol est comprise entre 105 et 185 kg N/ha/an. Par rapport à l'effet de la distance à la haie, on peut constater un effet dépressif à Lizine Grand 2 m et un effet positif à Cademène 20 m sur le potentiel d'azote minéralisé à 28 jours.

vi. Minéralisation du carbone et de l'azote en 2024

Le tableau suivant présente la minéralisation du carbone et de l'azote par les micro-organismes du sol mesurées par le laboratoire Celesta'lab en 2024 dans l'horizon 0-20 cm.

Tableau 23 analyses finales à 0-20 cm de la minéralisation du carbone et de l'azote par l'activité microbienne (Celesta'lab 2024).

Station	Minéralisation du carbone et de l'azote par l'activité microbienne				
	C minéralisé	Indice de minéralisation (IM) % du C	N minéralisé	Indice de minéralisation (IM) % du N	Fourniture annuelle N en kg N/ha
	mg/kg/28j		mg/kg/28j	mg/kg/28j	
Bolandoz 2M	459	2,3	45,3	2,4	193
Bolandoz 5M	118	1,0	16,3	1,5	69
Bolandoz 20M	193	1,6	18,8	1,5	80
Lizine Grand 2M	493	1,3	43,1	1,2	184
Lizine Grand 5M	396	1,2	35,0	1,1	149
Lizine Grand 20M	482	1,4	41,9	1,3	179
Lizine Petit 2M	377	1,4	34,1	1,3	145
Lizine Petit 5M	414	1,6	41,8	1,7	178
Lizine Petit 20M	343	1,3	38,0	1,4	162
Cademène 2M	677	1,4	48,4	1,2	206
Cademène 5M	463	1,1	33,0	0,9	141
Cademène 20M	804	1,4	47,2	0,9	201

Interprétation	très faible	faible	correct	élevé	très élevé

La quantité de carbone minéralisé à 28 jours en « conditions contrôlées », c'est-à-dire avec des conditions de température et d'humidité standardisée pour favoriser l'activité microbienne, est en diminution à Bolandoz (sauf à 2 m), Lizine Grand et Lizine ce qui limite le développement de la biomasse microbienne. Il est élevé à 2 m et à 20 m à Cademène, où la biomasse microbienne est également élevée à la même date.

L'azote minéralisé est en diminution à Bolandoz à 5 et 20 m et en augmentation à Lizine Grand, Lizine Petit et Cademène. Relativement à l'azote du sol, l'indice de minéralisation de l'azote est également en augmentation à Bolandoz 2 m, Lizine Grand et Lizine Petit. Pour ces sites, on observe en conséquence une augmentation de la fourniture annuelle d'azote par le sol, de même qu'à Cademène. A Bolandoz 5 et 20 m celle-ci est en nette diminution. Les fournitures annuelles d'azote sont plus élevées qu'en 2022. Elles se situent entre 141 et 206 kg N/h/an à l'exception de Bolandoz 2 et 5 m où elles ont diminué de moitié à moins et se situent entre 69 et 80 kg N/ha/an.

On peut noter pour le site de Bolandoz une diminution de la biomasse microbienne et de la capacité de fourniture de carbone et d'azote à 5 et 20 m de la haie, probablement lié à la dégradation de la

structure du sol par les excès d'eau, accentué par le pâturage. Cette dégradation est cependant absente à 2 m de la haie où celle-ci pourrait avoir joué un rôle protecteur sur le sol.

3. Approche biologique et écologique

a. Identification et quantification des vers de terre

Les démarches de comptage des vers de terre ont eu lieu au cours du printemps 2022, 2023 et 2024 sur les 4 sites de suivi en utilisant la méthode du test à la bêche disponible sur le site de l'OPVT. A chaque distance de référence, 4 prélèvements de terre, d'un volume de 25 cm x 25 cm x 25 cm, ont été réalisés à la bêche pour récupérer les vers de terre. Les vers de terre recueillis dans les 12 placettes ont ensuite été identifiés selon les trois catégories écologiques (anéciques à tête rouge ou noire, épigés et endogés) et selon leur maturité (juvénile ou adulte). Leur mase (en grammes) a également été pesée. En 2023, le comptage et l'identification sur le site de Lizine Grand a été réalisé avec une classe de Bac Pro du lycée Granvelle de Dannemarie-sur-Crète, avec leur professeur d'agronomie, M Raphaël Samper.

Les photographies ci-dessous montrent le fractionnement d'un échantillon de terre afin d'isoler les vers de terre, puis leur comptage et leur identification et la participation des étudiants lors du comptage du 30 mars 2023 à Lizine Grand.







Les graphiques suivants présentent les résultats des comptages et des identifications des vers de terre exprimés en nombre d'individus par mètre carré (à partir de la moyenne des 4 prélèvements de 25 cm de côté, multipliée par 16) au cours des campagnes de prélèvements réalisées au cours du printemps, de 2022 à 2024.

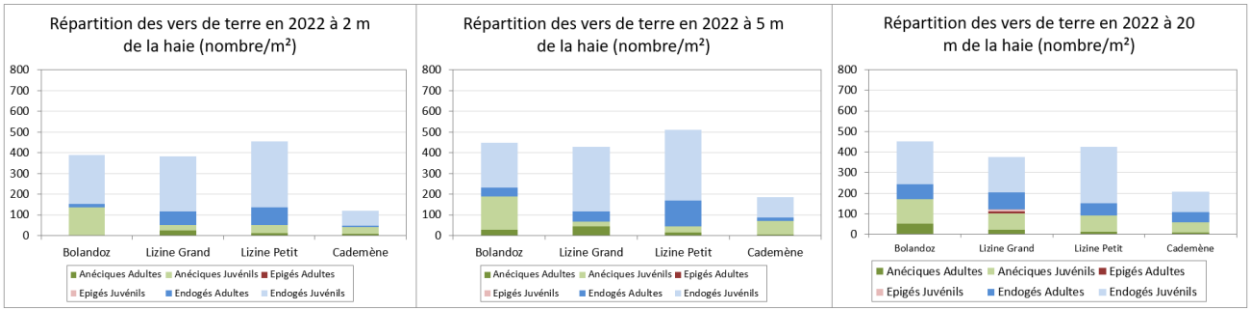


Figure 101 : répartition des effectifs de vers de terre en 2022 à 2 m (gauche), 5 m (milieu) et 20 m (droite) des haies 4 sites suivis.

En 2022, on peut observer la présence d'un nombre important de vers de terre sur les sites de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit, avec plus de 300 individus par m² à toutes les distances de la haie. Ces données sont liées à l'occupation du sol en prairie où l'on trouve habituellement les populations de vers de terre les plus importantes. Dans les prairies, l'absence de travail du sol, les apports réguliers de matières organiques (effluents, déjections au pâturage, feuilles mortes) et de l'absence de produits phytosanitaires favorisent les populations de vers de terre. Les effectifs sont plus faibles à Cademène et augmentent avec l'éloignement de la haie. En ce qui concerne les catégories de vers de terre, on observe une quasi-absence d'épigés sur les 4 sites, une nette domination des endogés sur les anéciques à Lizine Grand et Lizine Petit et un équilibre entre anéciques et endogés à Bolandoz et à Cademène. Les dynamiques des populations sont plutôt favorables, avec une présence importante de juvéniles sur les 4 sites et à toutes les distances des haies, ce qui témoignent de conditions favorables à la présence et à la reproduction des vers de terre.

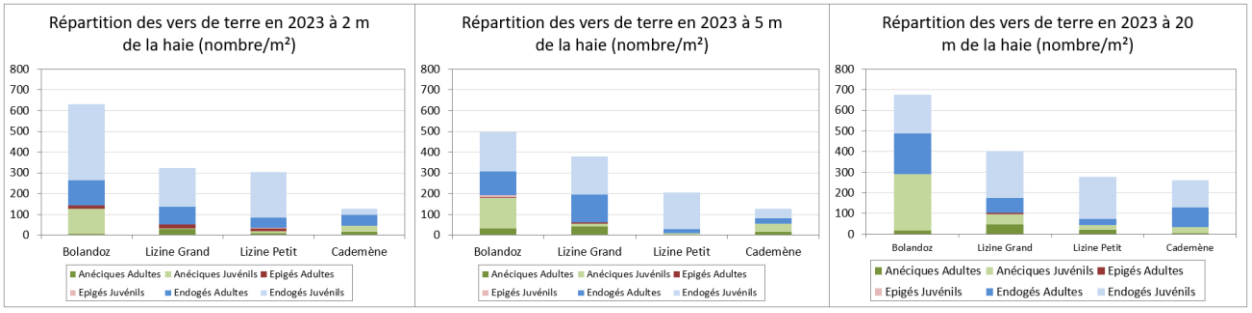


Figure 102 : répartition des effectifs de vers de terre en 2023 à 2 m (gauche), 5 m (milieu) et 20 m (droite) des haies 4 sites suivis.

On observe en 2023 une augmentation des effectifs de vers de terre à Bolandoz, une stabilité à Lizine Grand 5 m et 20 m et une diminution sensible à Lizine Petit. A Cademène où les effectifs sont plus réduits, ils évoluent de façon plus variable : stable à 2 m, diminution à 5 m et augmentation à 20 m. Les endogés restent dominants par rapport aux anéciques, avec quelques observations d'épigés, plus régulièrement à proximité des haies.

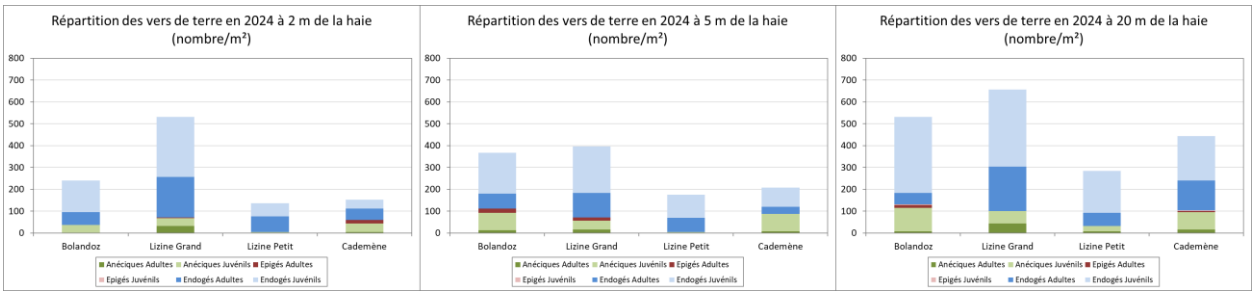


Figure 103 : répartition des effectifs de vers de terre en 2024 à 2 m (gauche), 5 m (milieu) et 20 m (droite) des haies 4 sites suivis.

En 2024, on constate à Bolandoz : une diminution des vers de terre à 2 m et à 5 m de la haie et une augmentation modérée à 20 m.

Pour Lizine Grand, une augmentation plus ou moins marquée selon la distance à la haie. Pour Lizine Petit, une diminution à 2 m de la haie et une stabilité à 5 et 20 m. Il est à noter que pour ces deux sites, la culture en place en 2024 était un blé car les prairies ont été retournées au cours de l'été 2023. Ce retournement ne s'est cependant pas accompagné d'une chute du nombre de vers de terre. Enfin, pour Cademène, on observe une stabilité à 2 m et une augmentation à 5 et 20 m de la haie. A nouveau, la catégorie des vers de terre endogée est majoritaire, devant les anéciques, avec quelques observations d'épigés.

Au cours des trois années de suivi, les populations de vers de terre sont globalement à des niveaux élevés à très élevés à Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit, avec les catégories endogés et anéciques qui sont les plus représentatives. La présence régulière de juvéniles sur tous les sites indique des conditions favorables à la reproduction des vers de terre.

A Cademène, les populations sont plus faibles avec un gradient assez marqué, plus de vers de terre en s'éloignant de la haie, avec une augmentation à 20 m de la haie en 2024. La prairie de Cademène présente le sol le plus superficiel, en particulier à 20 m de la haie et est plus sensibles aux fortes chaleurs, ce qui pourrait expliquer les effectifs réduits et leur augmentation en 2024 à 20 m de la haie (après plusieurs mois arrosés et frais). Un sol plus superficiel limite également la possibilité pour les vers de terre de descendre dans le profil du sol pour trouver de la fraîcheur et se mettre en diapause (vers de terre enroulés sur eux même dans une petite cavité lorsque les conditions pédoclimatiques sont défavorables). Pour les deux distances rapprochées, les faibles effectifs pourraient s'expliquer par un comportement du sol de type forestier à proximité de la haie (teneur en matière organique très élevée et forte présence de racines, …).

Le graphique ci-dessous représente l'évolution du nombre de vers de terre entre 2022 et 2024 par site et par distance de la haie. Les fluctuations dans les dénombrements des populations peuvent être liées aux conditions de prélèvement, à l'hétérogénéité parcellaire, à des facteurs biologiques (canicules de 2022 et 2023, excès d'eau d'octobre 2023 à l'été 2024) ou liés aux activités agricoles (apports d'effluents, travail du sol, pâturage, …).

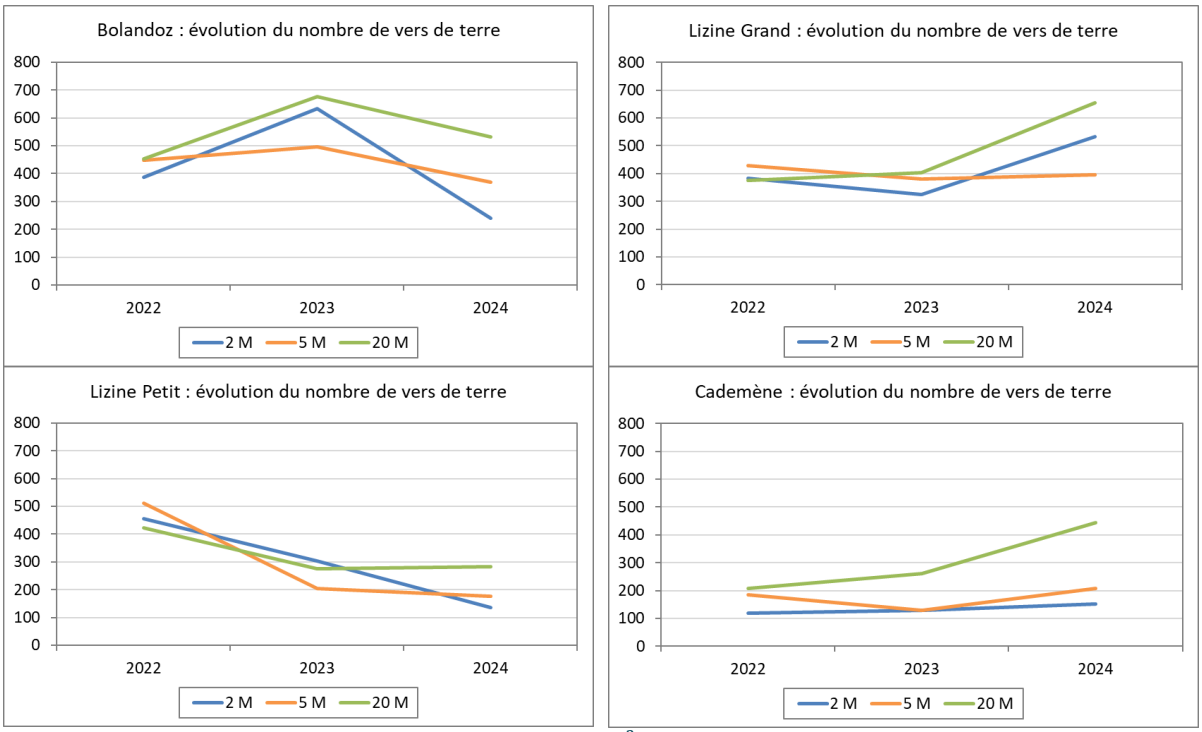


Figure 104 : évolution du nombre de vers de terre par m² de 2023 à 2024 par site et par distance à la haie.

La diminution du nombre de vers de terre à Bolandoz entre 2023 et 2024, où ils restent encore très abondants, est concomitante avec une diminution de la biomasse microbienne, observée à 2 et 5 m en lien avec une dégradation de la structure du sol (excès d'eau et tassement par le pâturage). A Lizine Grand, les populations de vers de terre sont stables entre 2022 et 2023, malgré la canicule de 2022. Le travail du sol en été 2023 n'a pas impacté les populations qui augmentent à 2 et 20 m de la haie. La population de vers de terre est résiliente dans cette parcelle. A Lizine Petit, les populations de vers de terre ont diminué au cours des trois années de suivi, ce qui pourrait indiquer une sensibilité plus forte aux aléas climatiques : canicules de 2022 et 2023, puis excès d'eau à partir d'octobre 2023. A Cademène les populations sont plus faibles, elles augmentent avec la distance à la haie et sont plus élevées à 20 m où elles ont tendance à augmenter entre 2022 et 2024. En tendance pour les 4 prairies, les populations de vers de terre sont plus importantes à 20 m des haies, en particulier en 2023 et 2024.

Le tableau suivant représente le nombre de vers de terre, pour les trois distances à la haie, en moyenne par m² pour les trois années de suivi. En moyenne, le nombre de vers de terre est similaire à 2 et 5 m des haies et tend à augmenter à 20 m.

Tableau 24 nombre de vers de terres par m² par site et par distance à la haie en moyenne sur 3 ans. Moyenne des effectifs et moyenne des poids en T/ha

	Effectifs moyens des vers de terre de 2022 à 2024				Poids en T/ha
Site	2 M	5 M	20 M	Moyenne	Moyenne
Bolandoz	420	437	553	470	2,584
Lizine Grand	413	401	479	431	1,997
Lizine Petit	299	297	328	308	0,869
Cademène	133	173	304	204	0,846

Le graphique suivant représente les poids moyens des vers de terre par année, par site et par distance des haies de 2022 à 2024. Le poids des vers de terre exprimé en T/ha résulte essentiellement de la taille et du poids des vers de terre mesurés dans chaque placette, plutôt que du nombre d'individus. Les poids sont d'autant plus importants que les échantillons contenaient des individus de grande taille.

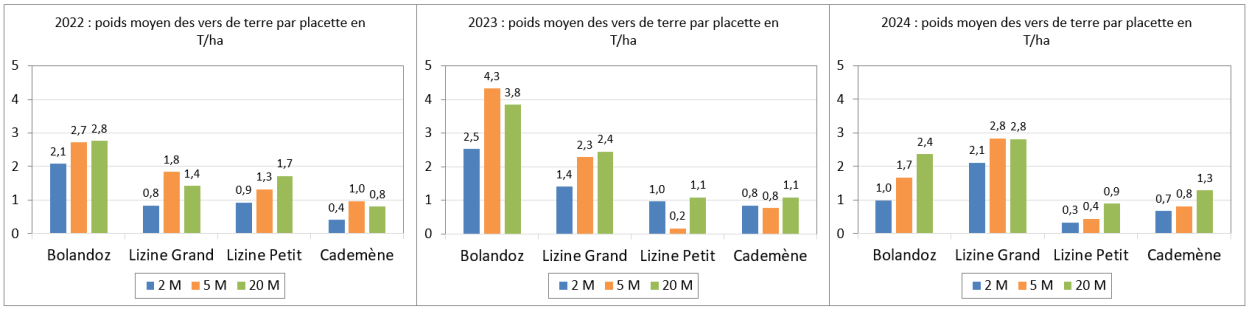


Figure 105 : poids moyens des vers de terre par placette, exprimés en T de vers de terre par ha, par année, par site et par distance des haies.

Les poids moyens des vers de terre en T /ha, pour les 3 années et les 3 distances, sont de 2,7 T/ha à Bolandoz, 2,0 T/ha à Lizine Grand, 0,87 T/ha à Lizine Petit et 0,85 T/ha à Cademène. Les poids tendent à augmenter avec l'éloignement de la haie. Les poids de ces vers de terre correspondent à des poids plus importants que le chargement bovin à l'hectare des exploitations du massif du Jura (environ 1 UGB/ha soit 650 kg/ha). On peut noter des poids comparables de vers de terre entre Cademène et Lizine Petit, malgré des effectifs réduits à Cademène, en raison d'individus de plus grande taille.

Selon l'Observatoire Participatif des Vers de Terre, les sols de France métropolitaine abritent en moyenne 260 vers de terre par m² : 100 à 300 dans les prairies, 50 à 10 dans les vignobles, 50 à 150 dans les cultures, 20 à 50 dans les forêts. Selon certaines sources, les prairies naturelles pourraient abriter plus de 500, voire plus de 1000 vers de terre au m². En forêt, les vers de terre sont généralement moins nombreux qu'en prairie, ce qui peut s'expliquer par plusieurs facteurs : moins de disponibilité de matière organique fraîche (effluents d'élevage, déjections, jeunes racines des végétaux peu profondes), sols plus ombragés se réchauffant moins vite au printemps, accumulation de litière en surface, sols potentiellement plus secs pendant plus longtemps en période de sécheresse, …

La haie de Cademène se rapproche, par sa largeur d'un bosquet, et on peut considérer qu'à proximité immédiate de la haie on se rapproche d'un fonctionnement de sol de type forestier où le rôle de la structuration sol est assuré par le système racinaire des arbres. La concurrence hydrique à proximité immédiate de cette haie mature induit des sols plus secs qui sont également moins favorable à la présence des vers de terre.

b. Mycorhizes et microbiome

i. Synthèse des rapports d'étude mycorhizes / microbiome des laboratoires Spiral

Les tableaux suivants présentent une synthèse des résultats annuels des études mycorhize et microbiome, et ont fait l'objet d'une relecture validée par le laboratoire Spiral. Ils permettent de faire ressortir les hypothèses testées, le contexte dans lequel les données ont été collectées (code couleur vert), les principaux résultats (code couleur bleu), et les limites et recommandations (code couleur violet). Les rapports détaillés du laboratoire Spiral figurent en annexe 9 à 17.

Tableaux 25: Synthèse des rapports d'étude mycorhizes/ microbiome du Laboratoire Spiral 2021/2022

Synthèse des rapports d'étude mycorhyzes du Laboratoire Spiral en 2021 et 2022		
Hypothèses testées		1. Les haies augmentent les taux de mycorhization.
		2. Les mycorhizes réduisent le lessivage des nutriments.
		3. Elles améliorent la tolérance au stress.
Aspect étudié	**2021**	**2022**
	Détails/Observations	
Contexte	Les mycorhizes arbusculaires (AM) sont des symbioses entre racines et champignons.	Étude réalisée sur 4 parcelles : **Bolandoz, Cademène, Lizine Grand, Lizine Petit.**
	Elles améliorent l'absorption de l'azote (N) et du phosphore (P).	Les mycorhizes arbusculaires favorisent l'absorption de nutriments et la tolérance au stress.
Objectifs principaux	Évaluer l'effet des haies sur les taux de mycorhization (M%) des racines de prairie.	Évaluer l'effet des haies sur les taux de mycorhization (M%) des racines de prairie.
	Étudier l'impact sur l'absorption des nutriments et la tolérance au stress.	Étudier les interactions entre végétation, propriétés du sol, et mycorhization.
Méthodologie	Échantillons prélevés sur 4 parcelles (**Bolandoz, Cademène, Lizine Grand, Lizine Petit**) à 2, 5 et 20 m des haies.	Prélèvements réalisés à 2, 5 et 20 m des haies.
	Racines colorées à l'encre noire et analysées au microscope pour estimer les taux de mycorhization (M%).	Racines colorées à l'encre noire et analysées au microscope pour estimer les taux de mycorhization (M%).

	Taux de mycorhization (M%)	Variabilité élevée (2 % à 52 %).	Taux globalement faibles en juillet 2022 par rapport aux prélèvements de 2021 et mai 2022.
		Parcelle de **Cademène** : taux les plus élevés.	Sécheresse en juillet 2022 identifiée comme facteur limitant.
		Lizine Grand : taux les plus faibles à 2 m de la haie.	
	Variabilité par parcelle		**Bolandoz** : Taux les plus élevés à 2 et 5 m de la haie.
			Cademène : Taux les plus faibles observés à 2 m de la haie.
	Impact des haies	Aucune influence significative des haies sur la mycorhization sauf à **Lizine Grand.**	Les haies influencent les taux de mycorhization, mais de façon hétérogène selon les parcelles et les distances.
	Effet de la végétation	Présence de trèfle = augmentation de M% (significatif).	Présence de trèfle et autres plantes légumineuses = augmentation du taux de mycorhization.
		Graminées et autres plantes ont des taux de mycorhization plus faibles	
	Limites des données	Pas de corrélation avec les reliquats azotés ni les indices NPK de la végétation.	La sécheresse a probablement réduit les taux de mycorhization.
		Variabilité due à l'échantillonnage et aux conditions locales.	Analyse détaillée des propriétés du sol à venir pour expliquer certaines variations.
	Recommandations	Poursuivre avec 10 répétitions par ligne pour réduire l'erreur statistique.	Poursuivre les études en conditions climatiques variées (inclure des périodes plus humides).
		Répéter l'étude en conditions climatiques variées (périodes de sécheresse).	Augmenter l'échantillonnage pour des analyses plus robustes.
	Conclusion générale	Les haies ne semblent pas avoir un effet direct mais influencent indirectement via la composition végétale.	Les haies influencent la mycorhization, mais les conditions climatiques et la composition végétale jouent un rôle majeur.
	Impact potentiel	Promouvoir les pratiques agroforestières pour une meilleure biodiversité et résilience aux stress hydriques.	Utiliser les haies et les pratiques agroforestières pour maintenir une biodiversité microbienne et améliorer la résilience des prairies en cas de stress
Choix méthodologie	*"Une nouvelle analyse des taux de mycorhization lorsque le sol est humide au moins dans les deux parcelles où on constate des taux de mycorhization élevés (**Cademène et Lizine Grand)**, en lien avec les autres mesures réalisées par la Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs-Territoire de Belfort. Ceci aurait pour but de vérifier les résultats de 2021 et 2022 et de déterminer si la mycorhization joue un rôle dans la croissance des plantes de prairie."*		

	*"Une analyse du microbiome du sol (identification de la diversité des bactéries et des champignons, y compris les champignons mycorhiziens, par analyse métagénomique) au moins dans une parcelle où on constate des taux de mycorhization élevés et influencés par la haie (**Cademène ou Lizine Grand**). Ceci aurait pour but de déterminer l'impact des haies sur les microorganismes du sol en général et leur rôle dans la croissance et la santé des plantes de prairies."*

Tableau 26 Synthèse des rapports d'étude mycorhizes/ microbiome du Laboratoire Spiral 2023/2024

Synthèse des rapports d'étude mycorhizes et microbiomes du Laboratoire Spiral en 2023 et 2024			
Hypothèses testées		1. Les haies augmentent les taux de mycorhization.	
		2. Les mycorhizes réduisent le lessivage des nutriments.	
		3. Elles améliorent la tolérance au stress.	
		4, L'impact des haies est modulé ar les pratiques agricoles.	
		5. L'impact des haies est modulé par les propriétés physico- chimiques et biologiques du sol	
Aspect étudié	**2023**	**Aspect étudié**	**2024**
	Détails/Observations		**Détails/Observations**
Contexte	Étude réalisée sur 4 parcelles : **Bolandoz, Cademène, Lizine Grand, Lizine Petit**.	**Contexte A (voir objectifs)**	Étude réalisée sur les parcelles de **Bolandoz et Cademène.**
		Contexte B (voir objectifs)	

Objectifs principaux	Comparer les taux de mycorhization des racines à différentes distances des haies (2 m, 5 m, 20 m). Objectif : évaluer l'effet des haies sur la mycorhization et le microbiome du sol.	**Objectifs principaux**	A : Évaluer l'impact des haies sur les ectomycorhizes et les champignons mycorhiziens à arbuscules et d'autres champignons endophytes. Analyser les taux de mycorhization à différentes distances des haies et comparer les parcelles.
	Analyser la diversité microbienne du sol via le séquençage ADN.		B : Évaluer l'impact des **haies et des pratiques culturales** sur la **biodiversité microbienne du sol** (bactéries et champignons) dans deux systèmes agroforestiers. Objectif : évaluer l'effet des haies sur la mycorhization et le microbiome du sol.
Méthodologie	Prélèvements à 2, 5 et 20 m de la haie le 06/06/2023.	**Méthodologie**	Prélèvements de sol à 0, 2, 5 et 20 m de la haie le 23/07/2024.
	Taux de mycorhization (M%) : Racines colorées à l'encre noire		A :Observation des racines sous loupe binoculaire pour observer les ectomycorhizes et coloration pour estimer les taux de mycorhization (M%).
			B : Extraction ADN + séquençage des régions 16S (bactéries) et ITS2 (champignons).
	Microbiome : Séquençage métagénomique des microorganismes présents dans le sol attaché aux racines (**Bolandoz** et **Lizine Grand**).		Analyse statistique sous R.
Taux de mycorhization (M%)	**Bolandoz et Lizine Petit** : taux de mycorhization plus faibles à 20 m qu'à 2 m et 5 m.	***Taux de mycorhization (M%)***	**Bolandoz** : Faible taux (6 % en moyenne dans la prairie), significativement plus élevé sous la haie (22 %).
	Lizine Grand et Cademène : taux les plus élevés ; pas de différences significatives entre les distances.		**Cademène** : Taux globalement plus élevés (32 % en moyenne), sans variations significatives selon la distance à la haie.

	Influence observée à **Bolandoz et Lizine Petit** : mycorhization plus forte près des haies.		
Impact des haies	Influence observée à **Bolandoz et Lizine Petit** : mycorhization plus forte près des haies.	***Présence des ectomycorhizes***	Retrouvées à 0 m des haies sur les deux sites.
			Présence à 2 et 5 m uniquement à Cademène, suggérant une continuité mycorhizienne.
			Absence à 2, 5 et 20 m à **Bolandoz**, probablement due à la jeunesse de la haie et aux pratiques agricoles.
	À **Lizine Grand**, un apport de fumier à moins de 10 m de la haie en 2023 pourrait expliquer l'absence de tendance observée.	***Mycélium extraradiculaire***	Présence plus importante à **Cademène** (29,2 % des échantillons) qu'à **Bolandoz** (17,5 %), confirmant un meilleur développement fongique à **Cademène.**
		Présence de champignons endophytes (DSE)	Observés dans 25 % des échantillons à Bolandoz contre 12,5 % à **Cademène**.
			Leur abondance à **Bolandoz** pourrait indiquer un stress plus important pour la végétation.
Comparaison globale		**Comparaison globale**	**Bolandoz** : biodiversité bactérienne et fongique élevée au pied de la haie, puis chute à 2 et 5 m, remonte à 20 m.
			Cademène : biodiversité plus homogène, légère baisse à 20 m.
Analyse du microbiome bactérien	**Différences majeures entre Bolandoz et Lizine Grand** :	**Composition bactérienne**	**Nombre de bactéries : équivalent entre les deux sites. Cademène** : dominance d'**Actinobactéries** (dégradation MO, effets positifs).

	Bolandoz : sol riche en bactéries impliquées dans le cycle de l'azote (Rhodospirillales, Nitrosomonadales).		**Bolandoz** : forte proportion de **Protéobactéries**, notamment des bactéries nitrifiantes.
		Fonctions bactériennes	**Cademène** : plus de bactéries fixatrices d'azote et décomposeuses.
	Lizine Grand : sol plus riche en bactéries impliquées dans le cycle du phosphore (Burkholderiales, Pseudomonadales).		**Bolandoz** : plus de nitrifiantes, présence ponctuelle de bactéries de biorémédiation (Pseudomonas, Stenotrophomonas à 5 m).
Analyse du microbiome fongique	Champignons endomycorhiziens (Gloméromycètes) plus abondants à **Lizine Grand qu'à Bolandoz.**	**Composition fongique**	**Champignons : plus d'espèces détectées à Cademène. Bolandoz** : Ascomycètes, Chytridiomycètes, Mucoromycètes.
			Cademène : dominance des **Basidiomycètes** (champignons ectomycorhiziens et saprophytes).
		Champignons mycorhiziens	**Gloméromycètes** non détectés (limite de la région ITS2).
			Ectomycorhiziens (EM) : présents à 0 m sur les deux sites.
			À **Cademène**, les EM sont encore détectés à 2 et 5 m.
			À **Bolandoz**, disparus dès 2 m.
		Espèces notables de champignons (EM)	**Cademène** : Laccaria, Russula, Sebacina, Tomentella (EM).
			Bolandoz : Laccaria, Scleroderma uniquement à 0 m.
		Autres champignons	**Bolandoz** : forte présence de champignons **phytopathogènes** à 2, 5 et 20 m.

			Remplacement des EM par des **saprophytes** ou **endophytes** ailleurs que sous la haie.
Limites des données	Champignons ectomycorhiziens (Laccaria, Tuber) plus présents à **Lizine Grand qu'à Bolandoz** et plus abondants à 2 m qu'à 20 m des haies.	**Limites des données**	L'effet des pratiques culturales doit être mieux intégré dans l'analyse.
	La composition du microbiome est influencée par les pratiques agricoles (apports de fumier, fertilisation).		Influence possible des conditions climatiques (fortes précipitations en 2024).
	Différences physico-chimiques du sol entre les parcelles impactant la diversité microbienne.		
Recommandations	En 2024, inclure des échantillons de sol directement sous la haie pour mieux comprendre son influence.	**Recommandations**	Associer les résultats du contexte A aux futures analyses du microbiome du sol.
			Approfondir l'étude des interactions entre pratiques agricoles, haies et microbiologie du sol.
			Réduire l'intensité des pratiques à Bolandoz pour permettre une extension des réseaux microbiens.
			Valoriser les haies comme **réservoirs de biodiversité microbienne** et agents de fertilité.
Conclusion générale	Croiser les résultats microbiologiques avec les propriétés physico-chimiques du sol et les rendements agricoles.	**Conclusion générale**	À **Cademène**, la haie semble favoriser un continuum mycorhizien entre elle et la prairie. Cademène montre une continuité écologique haie-prairie, bénéfique à la fertilité.

			À **Bolandoz**, la faible mycorhization de la prairie peut être liée aux pratiques agricoles ou à la jeunesse de la haie. À Bolandoz, biodiversité localisée sous la haie uniquement, probablement à cause des pratiques agricoles intensives (labour, engrais, piétinement).
			La haie joue un rôle **clé dans la structuration du microbiome** du sol.
Impact potentiel	Les haies influencent la mycorhization et la diversité microbienne, mais cet effet varie selon les conditions locales (pratiques agricoles, conditions pédoclimatiques).	**Impact potentiel**	La haie peut enrichir durablement les sols **si les pratiques sont compatibles avec les processus biologiques du sol**.
	Optimiser les interactions entre microbiome et pratiques agricoles pour améliorer la fertilité des sols et la résilience des cultures.		Encourager la gestion agroécologique des haies pour optimiser leur rôle dans la fertilité et la biodiversité des sols agricoles.

V. Synthèse des résultats

1. Principaux résultats de la mycorhization et microbiome

Le docteur Armelle Golotte des Laboratoires Spiral a présenté oralement une partie des travaux réalisés pendant cette étude au **12 -ème Colloque International sur les Mycorhizes à Manchester en Aout 2024.**

« **Mycorrhizal fungi and associated microorganisms in grassland soils in an agroforestry system**

Armelle Gollotte[1], Séverine Le Bot Humblot[2], Emilie Gras[2], Michel Prost[1], Didier Tourenne[2]
[1] Laboratoires SPIRAL, Couternon, France
[2] Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs -Territoire de Belfort, Besançon, France

Introduction/Aim : Agroforestry has been reported to increase carbon sequestration and water- and nutrient-use efficiency, to improve soil health, and to provide a microclimate around trees. Nonetheless, its efficiency depends on many interacting factors that need to be characterised.

Materials and Methods : We compared an agroforestry system in four grasslands in Doubs (France) with multilayer hedgerows including both endomycorrhizal and ectomycorrhizal trees. Analyses were carried out from 2021 to 2024 at 2, 5 and 20 meters from each hedgerow to determine plant growth and nutrient content, and soil physicochemical properties. Roots and soil were collected to determine root arbuscular mycorrhizal (AM) colonisation levels and to analyse the soil microbiome through metagenomics.

Results : AM levels in plant roots varied greatly between grassland sites. There were also large spatiotemporal variations in mycorrhizal levels within each plot. Lowest mycorrhizal root levels were linked to high soil phosphorus and nitrate content. Conversely, highest root AM levels were correlated with higher soil porosity, soil organic matter and ammonium content, together with higher relative abundance of AM fungal DNA sequences. Relative abundance of bacterial and saprophytic fungal DNA sequences was influenced by the soil physicochemical properties. Hedges shaped soil microbial diversity, with bacteria involved in N and P cycling and ectomycorrhizal fungi more abundant at 2 meters than at 20 meters from the hedgerow.

Discussion : The results indicate that hedgerows positively influence soil health and functioning but the extent of this impact is dependent on agricultural practices.

Conclusions : In conclusion, in order to maximise hedgerow effects, it is important to adopt compatible cultivation practices.

Keywords : Agroforestry, grasslands, agricultural practices, soil microbial diversity, nutrient cycling »

Variations spatiales et temporelles des taux de mycorhization

Les études des taux de mycorhization des racines des prairies de 2021 à 2024 indiquent des variations spatiales et temporelles importantes. En effet, les taux de mycorhization varient entre les parcelles mais également à l'intérieur d'une même parcelle. Dans certains cas, ces variations sont en lien avec la conductivité du sol, notamment en cas de perturbation du sol. La nature des espèces végétales dans chaque prélèvement influence également les taux de mycorhization. Par exemple, les légumineuses et les autres plantes non graminées ont une forte affinité pour les champignons mycorhiziens à arbuscules et elles favorisent ainsi un abondant réseau mycélien dans le sol qui permet une meilleure mycorhization des espèces végétales voisines, notamment les graminées, permettant une meilleure alimentation en éléments minéraux et en eau, et ainsi une meilleure résilience face au changement climatique.

En juillet 2022, les taux de mycorhization étaient les plus faibles sur l'ensemble des analyses. Or, les prélèvements ont été réalisés pendant une période de sécheresse. En revanche, les racines prélevées en juillet 2024 après une période très pluvieuse, étaient bien mycorhizées. Ces résultats indiquent donc le rôle de l'humidité du sol dans la mycorhization des racines. Cela n'est pas surprenant car pour pouvoir se développer et être actifs dans la symbiose, les champignons mycorhiziens à arbuscules ont besoin de composés carbonés issus de la photosynthèse. Lorsque la plante subit un stress hydrique important, la photosynthèse est diminuée et la mycorhization aussi. Ensuite lorsque l'humidité augmente à nouveau, dans les parcelles favorables, comme à Cademène, les taux de mycorhization reviennent rapidement à leur état initial, à fort taux de mycorhization, mais ce n'est pas le cas dans les parcelles moins favorables, comme à Bolandoz.

La matrice de corrélation présentée dans le rapport du laboratoire LARA-SPIRAL de décembre 2022 (annexe 10) montre des relations intéressantes entre les taux de mycorhization et les critères agronomiques des parcelles étudiées.

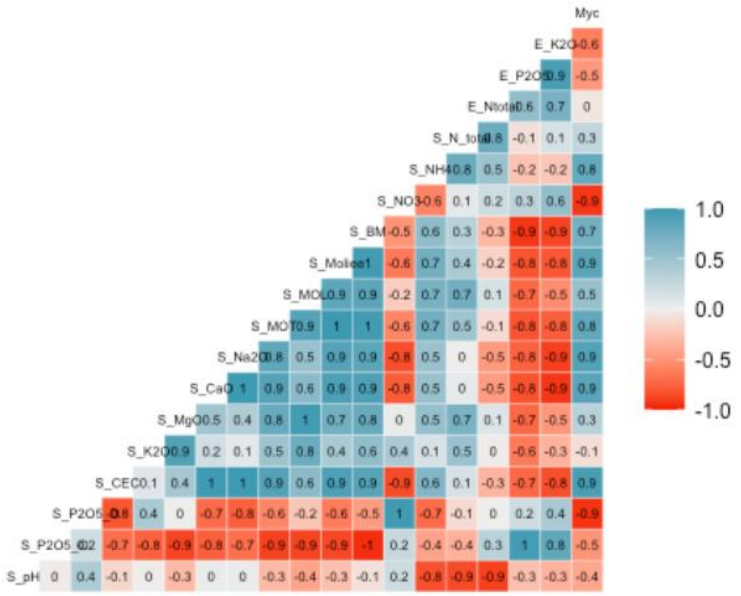


Figure 106 : matrice de corrélation entre les taux de mycorhization moyens de chaque parcelle et les propriétés phisico-chimiques des sols (S) et des épandages (E) de 2021, ainsi que les propriétés biologiques des sols.

On peut ainsi constater des corrélations négatives entre les taux de mycorhization et des indicateurs d'une fertilisation élevée, voire excessive, des parcelles :

- 0,942 avec la teneur en phosphore Dyer du sol,
- 0,928 avec la teneur en nitrates du sol.

Les taux de mycorhization sont inhibés par de fortes concentrations de phosphore dans le sol (Bolandoz). Cet effet négatif de la fertilisation phosphatée sur la mycorhization est bien documentée dans la littérature scientifique.

A l'inverse des corrélations positives sont observées entre les taux de mycorhization et des indicateurs liés à la qualité de la matière organique du sol :

+ 0,82 avec la teneur en matière organique totale,
+ 0,856 avec la matière organique liée (humus stable),
+ 0,726 avec la biomasse microbienne,
+ 0,809 avec la teneur en ammonium du sol,

Les taux de mycorhization sont favorisés par la matière organique et la biomasse microbienne du sol du sol. De même, les teneurs du sol plus élevées en azote sous forme ammoniacale, tels qu'observées à proximité des haies de Cademène et Lizine Petit, favorisent la mycorhization.

Influence de la haie sur la microbiologie du sol de la prairie

Les analyses réalisées en 2024 sur les parcelles de Bolandoz et Cademène montrent des taux de mycorhization importants et une abondante diversité des bactéries et des champignons au niveau du sol de la haie. En revanche, à Bolandoz, la vie du sol est nettement diminuée dès la distance de 2 mètres de la haie, avec beaucoup moins de champignons ectomycorhiziens et endomycorhiziens et une moindre diversité des bactéries. Des champignons phytopathogènes y sont particulièrement abondants. Les bactéries impliquées dans le cycle de l'azote sont bien représentées dans cette parcelle et ceci est à mettre en lien avec la quantité importante de reliquats azotés dans le sol. Dans le cas de Cademène, on observe une continuité dans les taux de mycorhization des plantes herbacées de la haie et ceux de la prairie. De plus, les champignons ectomycorhiziens associés aux racines de certains arbres se retrouvent jusqu'à 5 mètres de la haie. A 20 mètres de la haie, ils sont remplacés par des champignons saprophytes. Les champignons ectomycorhiziens et saprophytes jouent un rôle dans la dégradation de la matière organique rendant les éléments minéraux disponibles aux plantes. De même, le sol de cette parcelle comprend de nombreuses bactéries fixatrices d'azote ou qui interviennent dans la décomposition de la matière organique. Ainsi, bien qu'il y ait 10 fois plus de phosphore dans le sol de Bolandoz que dans celui de Cademène, en 2023, après une période de sécheresse importante, le taux de phosphore dans les feuilles de la végétation de la prairie était identique dans les deux parcelles. Cela suggère qu'à Cademène, les microorganismes du sol ont bien minéralisé la matière organique pour rendre le phosphore disponible aux plantes. La vie du sol apporte par conséquent une plus grande résilience à la végétation (figure 106). Les résultats comparatifs de la mycorhization et du microbiome des parcelles de Bolandoz et de Cademène selon les distances à la haie sont présentés dans le rapport final de l'année 2024 du laboratoire LARA-SPIRAL (annexe 17).

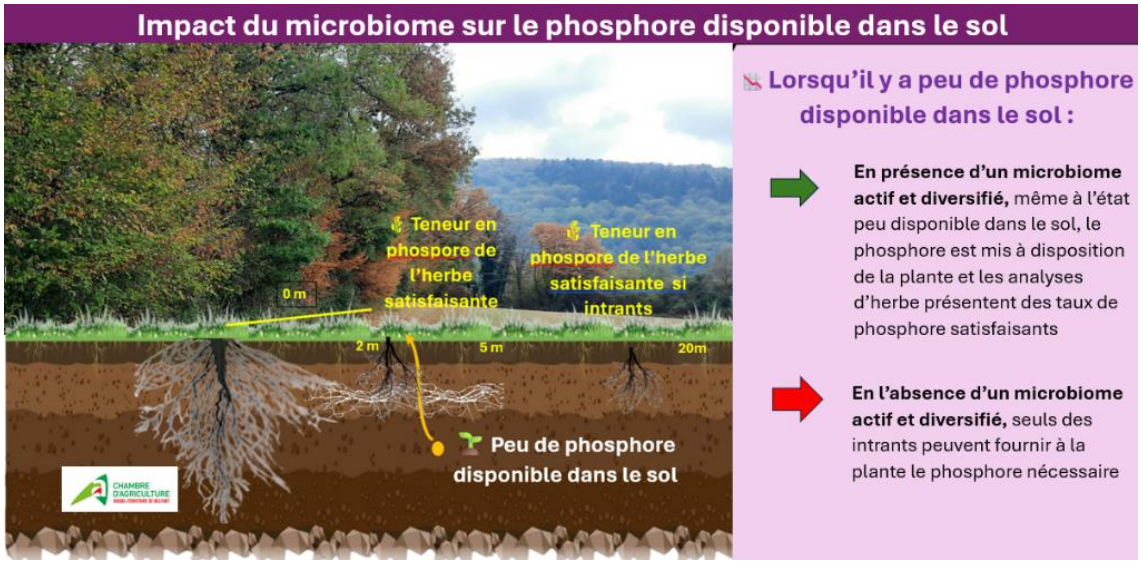


Figure 107 : illustration de l'impact du microbiome sur le phosphore disponible dans le sol à Cademène.

Il apparaît donc que les pratiques culturales menées à Bolandoz, incluant le travail du sol, l'apport de lisier et d'engrais minéraux, le pâturage fréquent empêchent les microorganismes de la haie

de se propager dans la prairie comme c'est le cas à Cademène. Le taux de matière organique et l'activité microbiologique plus bas rendent les processus microbiologiques moins efficaces dans le sol de Bolandoz. Le type de sol plus limoneux et l'état dégradé de la structure du sol (labour visible dans le profil plus de 10 ans après sa réalisation), rend ce sol plus sensible aux pratiques culturales et aux aléas climatiques (figure 107). Un changement des pratiques mis en place par l'agriculteur, volontaire d'améliorer sa parcelle, devrait permettre d'augmenter l'impact de la haie sur la vie du sol de la prairie.

Ces résultats démontrent que les haies ont un impact positif sur la vie du sol et la végétation des prairies, à condition que les pratiques culturales soient compatibles.

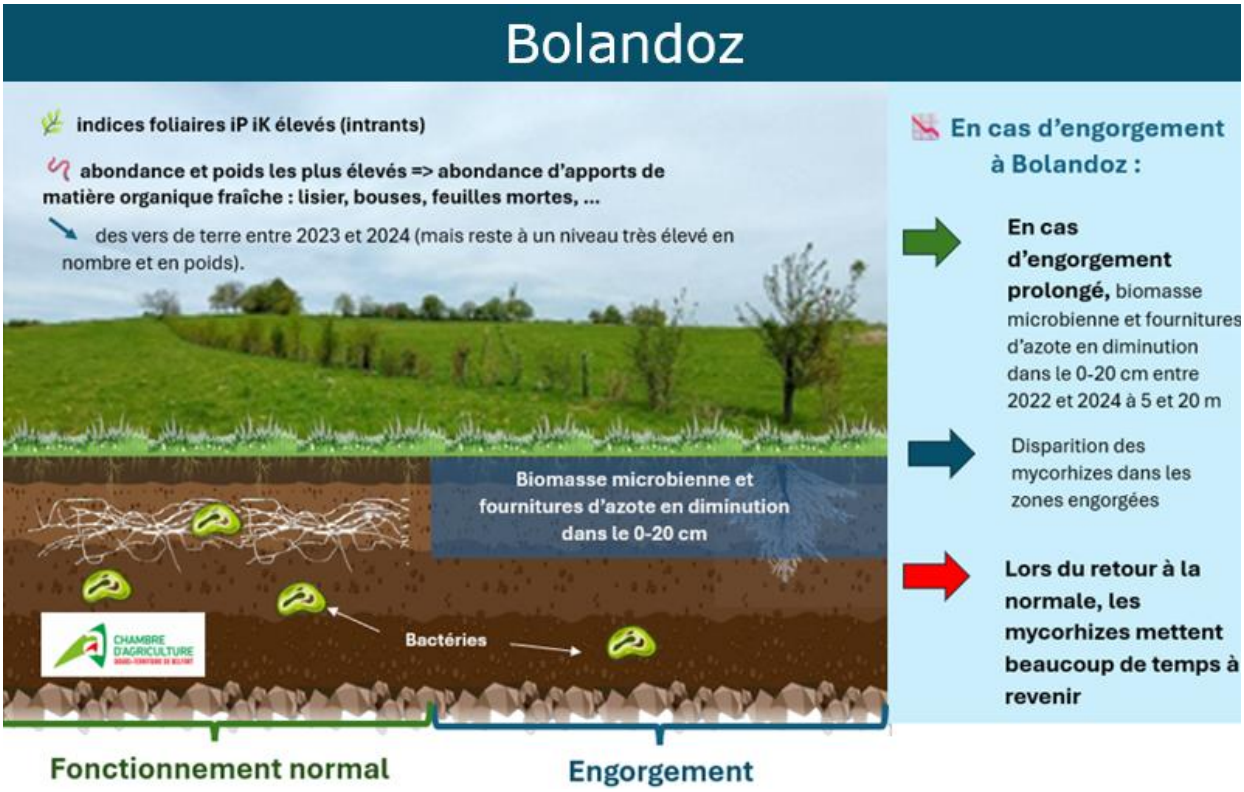
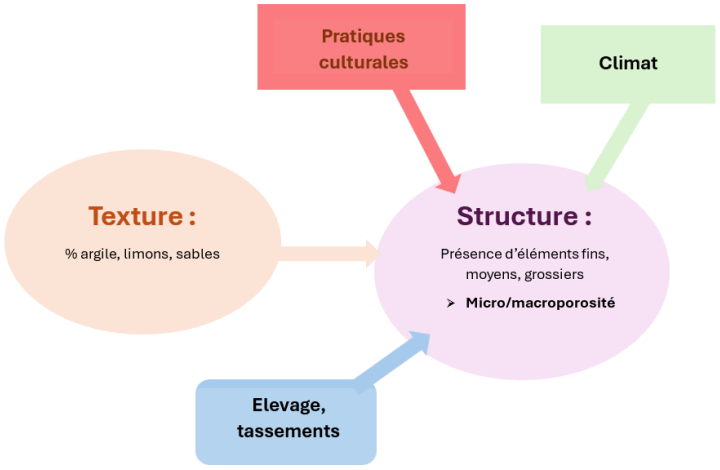


Figure 108 : fonctionnement de la parcelle de Bolandoz à la suite d'une période pluvieuse très excédentaire.

2. Principaux résultats de la partie agronomique

Les données acquises au cours des 4 années d'expérimentation permettent d'identifier des caractéristiques pédologiques ou agronomiques variées selon les 4 sites étudiés, les 3 distances à la haie et les orientations. Ces caractéristiques vont être influencées par les pratiques agricoles (intensification de la fertilisation, mode d'utilisation), les conditions climatiques (excès d'eau, sécheresse), ainsi que par le type de haies et en particulier leur développement qui impactera de façon plus ou moins importance les sols et les plantes qui les bordent.



Les principales conclusions des données agricoles sont présentées par site ci-après et font le lien avec des résultats obtenus dans la partie mycorhization et microbiome.

i. Synthèse des observations à Bolandoz :

La haie en intra parcellaire, très jeune au début de l'expérimentation, ne présentait ni effet d'ombrage (orientation nord-est), ni influence hydrique significative. Le développement du système racinaire arboré semble en phase d'installation, avec une stratégie de colonisation latérale et superficielle. Le sol limoneux sur calcaire marneux présente un drainage imparfait dans les premiers horizons, avec un risque d'engorgement en cas de forte pluviométrie. La dégradation de la structure du sol, liée au pâturage et aux excès d'eau, est confirmée par la mesure de la densité apparente et de la porosité. Le sol est particulièrement riche en éléments minéraux (P, K, Mg), en lien avec les pratiques de fertilisation.

Hauteur d'herbe : Les hauteurs d'herbe sont en tendance plus faibles en se rapprochant de la haie et pour les deux orientations. Ceci suggère une concurrence hydrique des racines des arbres en phase d'installation. Les hauteurs d'herbe sont plus difficiles à interpréter du fait du pâturage par les animaux.

Humidité du sol : L'humidité du sol est plus faible en se rapprochant de la haie pour l'orientation sud-ouest. Côté nord-est l'humidité peut, selon les mois et les années, être plus élevée ou plus faible à proximité de la haie. Ceci peut s'expliquer par la concurrence hydrique des racines, avec un effet ombrage non systématique et limité du fait de la faible hauteur de la haie. En 2024, avec une haie déjà plus âgée et des précipitations abondantes, l'humidité du sol diminue des deux côtés de la haie, confirmant la concurrence hydrique des racines des arbres, plutôt qu'un effet ombrage.

Conditions hydriques et structure du sol en lien avec l'excès de pluviométrie

- Le sol, limoneux sur calcaire marneux, contrairement aux autres sites argilo-limoneux, est plus sensible à l'hydromorphie et au tassement (voir annexe 6 descriptions des profils des sols par Ch. Barnéoud).
- Les excès d'eau prolongés (notamment d'octobre 2023 à juillet 2024), combinés au piétinement des bovins, impactent sévèrement la structure du sol dont l'état dégradé est déjà antérieur.
- Il en résulte une forte dégradation structurale, visible notamment sur la couche 0–20 cm en 2024.

Eléments minéraux du sol et des plantes

- Sol historiquement riche en éléments minéraux, en lien avec :
  - La fertilisation passée et actuelle (lisier),
  - Les restitutions au pâturage (bouses),
- Les indices foliaires iP et iK élevés, sans effet mesuré de la distance à la haie, traduisant une disponibilité homogène du phosphore et du potassium dans le profil de sol et dans la prairie avant l'implantation de la haie, en lien avec les pratiques de fertilisation.
- Azote minéral du sol majoritairement sous forme de nitrates lessivables (66 à 80 %) avec légère augmentation en s'éloignant de la haie.

Activité biologique du sol et vers de terre

- Biomasse microbienne et fourniture d'azote en forte baisse entre 2022 et 2024, à 5 m et 20 m de la haie.
- Bolandoz présente l'abondance et la biomasse de vers de terre les plus élevées des 4 sites suivis, témoignant d'une alimentation riche en matière organique fraîche (lisier, bouses) et un macrofaune dynamique, malgré le tassement observé qui s'est traduit par une baisse significative entre 2023 et 2024. Les vers de terre sont littéralement « gavés » par la richesse trophique de la parcelle.

Pour la haie de Bolandoz en phase d'installation, la fragilité initiale du sol, les aléas climatiques, l'historique de fertilisation et son mode d'utilisation (pâturage) vont influencer de façon importante ses propriétés pédologiques et les dynamiques biologiques (mycorhizes et microbiome).

ii. Synthèse des observations à Lizine Grand :

La haie est en bordure de parcelle, relativement jeune (plantation de 2011) avec un développement modéré en hauteur. Le sol présente une texture équilibrée argilo-limoneuse avec une structure grumeleuse favorable à l'enracinement. Sa densité apparente et sa porosité sont correctes. Il repose sur une marne à 95 cm, avec un horizon fortement enrichi en argile à 55 cm. L'utilisation actuelle de la parcelle orientée en priorité vers de la fauche limite le risque de dégradation de la structure du sol (engorgement possible lié à la présence de l'argile et de la marne). Le sol est pauvre en phosphore et correct en potasse.

Hauteur d'herbe :

- Hauteur d'herbe plus haute à proximité de la haie côté sud-ouest, de façon non systématique tet sans effet significatif. Hauteur d'herbe plus faible en début d'été à proximité de la haie côté nord-est mais plus élevée à proximité de la haie pour l'orientation nord-est en milieu et fin d'été.
- Hypothèse : effet d'ombrage protecteur côté nord-est, limitant le stress hydrique estival.
- Possibilité d'un effet mycorhizien positif dans la zone racinaire proche (2 m), favorisant la nutrition et la vigueur de la végétation herbacée (voir chapitre 4.3.c ci-après).

Humidité du sol :

- Tendance à une diminution de l'humidité du sol à 2 m de la haie côté sud-ouest, probablement liée à la concurrence racinaire des arbres pour l'eau dans les couches superficielles.
- Inversement, augmentation de l'humidité côté nord-est à 2 et 5 m de la haie, corrélée à l'effet d'ombrage (moins d'évapotranspiration) : confirmation d'un rôle protecteur climatique de la haie pour cette orientation.

Éléments minéraux du sol et des plantes :

- Indice iP (phosphore foliaire) plus élevé à 2 et 5 m qu'à 20 m :
- le sol étant pauvre en phosphore disponible, cette hausse du phosphore dans les plantes pourrait s'expliquer par une amélioration de l'absorption via la mycorhization, notamment par les champignons symbiotiques associés à la haie.

- Indice iK (potassium foliaire) plus élevé à 2 et 5 m de la haie, en lien avec l'enrichissement du sol en potasse par les retombées des feuilles.
- Teneur en potasse du sol également légèrement plus élevée à proximité de la haie, en cohérence avec les observations foliaires.
- Azote minéral du sol majoritairement sous forme de nitrates lessivables (52 à 69 %) avec légère augmentation en s'éloignant de la haie.

Activité biologique du sol et vers de terre :

- Biomasse microbienne plus importante à 2 et à 5 m qu'à 20 m. Pas d'effet de la distance à la haie sur la minéralisation de l'azote et du carbone. Minéralisation de l'azote en augmentation entre 2022 et 2024.
- Vers de terre nombreux, stables entre 2022 et 2023 malgré aléas climatiques et en hausse entre 2023 et 2024, malgré un travail du sol pour l'implantation d'un blé. Abondance plus élevée à 20 m de la haie, ce qui ce qui pourrait refléter une meilleure stabilité du sol non perturbé par les racines arborées. Les vers de terre apparaissent comme un bon indicateur de résilience biologique sur cette parcelle.

La haie de Lizine Grand, malgré un âge jeune et un développement modéré, impacte les propriétés pédologiques et agronomiques de la prairie, avec des effets de concurrence hydrique à courte distance (2 m), mais des effets bénéfiques par ailleurs observés (alimentation en phosphore et en potasse, ombrage,). L'amélioration de l'alimentation en phosphore de la prairie à proximité de la haie suggère un rôle significatif de la mycorhization permise par les arbres.

iii. Synthèse Lizine Petit

La haie est déjà ancienne (plantation de 2001) avec un développement moyen en hauteur. Le sol est de texture équilibrée, argilo-limoneuse, sur calcaire et présente une structure grumeleuse favorable à l'exploration racinaire, avec un drainage vertical favorable à la circulation de l'eau. La densité apparente et la porosité sont correctes. Le sol est très pauvre en phosphore et pauvre en potasse.

Hauteur d'herbe :

- La hauteur de l'herbe diminue à 2 m des haies côtés nord-ouest et sud-est : probablement liée à une concurrence racinaire marquée des haies, qui sont ici matures et bien développées.
- Côté nord-est, la hauteur de l'herbe augmente à 5 m certains mois → un effet d'ombrage protecteur semble jouer, limitant l'évapotranspiration et soutenant la croissance de la strate herbacée.

Humidité du sol :

- Humidité plus faible à 2 m et 5 m côté sud-ouest : signal d'une concurrence hydrique active des racines arborées sur le côté le plus exposé au soleil.
- En revanche, côté NE, humidité plus élevée à 5 m (qu'à 2 et 20 m), ce qui renforce l'hypothèse d'un effet positif de l'ombrage de la haie. À 2 m le sol subit la concurrence des racines et à 20 m, l'effet positif de l'ombre de la haie n'est pas observé : on est en dehors de la zone d'influence directe de la haie, dont la hauteur est encore limitée par son âge.

Éléments minéraux du sol et des plantes :

- Indice iP (phosphore foliaire) plus élevé à 2 m, et surtout à 5 m de la haie, malgré un sol pauvre en phosphore. La mycorhization semble jouer un rôle déterminant dans l'alimentation phosphatée des plantes à proximité de la haie.

- Indice iK (potassium foliaire) correct, sans effet net de distance, ni de retombée de feuilles. Les teneurs du sol en K restent un peu faibles à toutes les distances, légèrement plus élevée à 2 m de la haie dans l'analyse de sol réalisée en 2024.
- Azote minéral du sol majoritairement sous forme d'ammoniac (non lessivable) à proximité de la haie (69 % à 2 m, 57 % à 5 m), contre 42 % à 20 m.

Activité biologique du sol et vers de terre

- Pas d'effet de la distance à la haie sur la biomasse microbienne, qui est faible à toutes les distances, sur la minéralisation du carbone et sur la fourniture d'azote. Cela pourrait refléter un équilibre entre effets positifs (ombrage, mycorhizes) et effets contraignants (concurrence racinaire, sol peu fertile).
- Présence abondante de vers de terre, mais en baisse progressive entre 2022 et 2024, pouvant suggérer une sensibilité aux aléas climatiques (canicules de 2022 et 2023 et excès d'eau à partir d'octobre 2023). En tendance, comme pour les autres sites, l'abondance des vers de terre est plus élevée à 20 m qu'à 2 ou 5 m de la haie.

Comme à Lizine Grand, cette parcelle met en lumière la dualité des effets haies, avec des effets bénéfiques liés à l'ombrage sur la croissance herbacée et l'humidité du sol ou sur l'alimentation en phosphore, en lien avec la mycorhization, et des effets de concurrence racinaire à proximité de la haie..

iv. Synthèse Cademène

Haie historique âgée (plus de 100 ans) avec un fort développement en largeur et en hauteur et des arbres matures. Le sol est de texture équilibrée, argileuse, sur calcaire marneux à 40 cm, avec un taux de matière organique élevé (environ 8%). La structure grumeleuse est très favorable à l'exploration racinaire et à l'activité des vers de terre, ce qui est confirmé par les mesures de la densité apparente et la porosité qui sont les plus favorables des 4 haies. Le sol est extrêmement très pauvre en phosphore et riche en potasse, avec pour cette dernière un gradient qui augmente avec la proximité à la haie.

Hauteur d'herbe :

- Hauteur d'herbe plus faible à 2 m et 5 m côté sud-ouest, ce qui s'explique par la concurrence racinaire importante d'une haie très âgée, large et haute.
- Côté nord-est, la hauteur de l'herbe présente un profil irrégulier, avec parfois plus d'herbe à 2 m et 20 m qu'à 5 m, ce qui interroge sur des dynamiques microclimatiques complexes.

Humidité du sol :

- Moins d'humidité à 2 et 5 m côté sud-ouest et à 2 m côté nord-est, confirmant un effet de concurrence racinaire important.
- Humidité plus élevée à 5 m et 20 m côté nord-est, signalant un effet d'ombrage prolongé par la hauteur et la densité de la haie. Cet effet semble se propager au-delà de 20 m, phénomène rare mais logique sur les haies imposantes.

Éléments minéraux du sol et des plantes :

- Indice iP (phosphore foliaire) un peu faible à 2 m et 5 m, correct à 20 m, alors que le sol est extrêmement pauvre en phosphore disponible. La mycorhization est probablement la source principale de phosphore pour la prairie, y compris à une distance relativement importante de la haie.
- Indice iK (potassium foliaire) corrects à 2 et 5 m et faibles à 20 m et teneurs du sol en potasse nettement plus élevées à 2 m et 5 m par rapport à 20 m, en lien avec les retombées des feuilles riches en potassium en bordure de la haie.

- Azote minéral du sol majoritairement sous forme d'ammoniac (non lessivable) à proximité de la haie (84 % à 2 et 5 m), contre 41 % à 20 m.

Activité biologique du sol et vers de terre :

- Taux de matière organique et biomasse microbienne élevés (tous deux plus élevés à 20 m qu'à 2 et 5 m). La minéralisation de l'azote est relativement élevée, avec une certaine hétérogénéité selon la distance à la haie et l'année de mesure.
- Les indicateurs biologiques suggèrent un sol vivant, bien structuré et actif, même si certaines zones montrent un fonctionnement plus forestier qu'agricole.
- Moins d'effectifs de vers de terre que sur les autres parcelles, en particulier en 2022 et 2023, après des périodes chaudes et caniculaires. Les effectifs plus faibles que pour les autres sites pouvant être liés à la faible profondeur du sol. Les niveaux restent cependant corrects pour un système prairial.
- Biomasse lombricienne (en T/ha) équivalente à celle de Lizine Petit, malgré moins d'effectifs, mais avec des individus de plus grande taille.
- Abondance en augmentation en 2024, notamment chez les juvéniles, montrant une capacité de résilience des populations lors du retour de conditions climatiques fraîches et humides, dans un sol drainant à grande porosité, à partir d'octobre 2023.

L'ancienneté de la haie de Cademène et les essences naturelles adaptées modifient significativement la distribution de l'humidité et des éléments minéraux, avec des effets prolongés jusqu'à 20 m. Les pratiques culturales peu impactantes renforcent ces effets. Ces données suggèrent la présence d'une mycorhization fonctionnelle et dont les effets sont présents à plus grande distance de la haie.

Les tableaux ci-dessous synthétisent les principaux résultats agronomiques et pédologiques observés dans les 4 sites étudiés.

Tableau 27 : résumé des principaux effets des 4 haies étudiées sur les propriétés agronomiques et pédologiques des prairies.

Parcelle	Structure de la haie	Végétation	Hauteur herbe	Humidité du sol
Bolandoz	Haie jeune, peu développée	19 espèces. Végétation dominée par le raygrass anglais. Diversité des autres espèces relativement faible.	Faible à proximité (concurrence racinaire)	Plus faible à proximité de la haie (concurrence racinaire plutôt qu'effet ombrage)
Lizine Grand	Haie plus agée	26 espèces. Végétation dominée par le dactyle et le raygras anglaiss. Diversité des autres espèces moyenne.	↑ à 2 m SO, non systématique et non significatif ↑ à 2 m NE milieu et fin d'été => effet mycorhization et/ou ombrage	↓ à 2 m SO et/ou NE (concurrence racines) ↑ à 2/5 m NE (ombrage protecteur) en été
Lizine Petit	Haie adulte bien implantée	27 espèces. Végétation dominée par le brome mou, le dactyle, la flouve odorante et le raygrass. Diversité des autres espèces moyenne.	↓ à 2 m SO et NE (concurrence racinaire) ↑ à 5 m NE certains mois (effet ombrage)	↓ à 2/5 m SO à 2 m NE (concurrence racines) ↑ à 5 m NE (effet ombrage)
Cademène	Haie témoin âgée, très haute et très large	35 espèces. Végétation très diversifées dans les graminées et les plantes diverses.	↓ à 2/5 m SO (concurrence racinaire) Résultats plus variables NE (interactions plus complexes)	↓ à 2 et/ou 5 m SO NE (concurrence racinaire) ↑ à 5/20 m NE (effet ombrage)

Conclusions

Parcelle	Phosphore (iP/sol)	Potassium (iK/sol)	Forme d'azote du sol	Vers de terre	Biologie du sol
Bolandoz	Sol très riche et indices élevés. Pas d'effet disance. Lié à la fertilisation et au pâturage	Sol très riche et indices correct. Pas d'effet distance. Lié aux pratiques	Azote majoritairement sous forme de nitrates (léger gradient)	Très nombreux, en baisse en 2024 mais densité et poids restent élévés	Biomasse microbienne en baisse en cas d'engorgement (2024). Taux de mycorhization et abondance des champignons du sol faibles.
Lizine Grand	Sol pauvre mais iP ↑ à 2 et 5 m effet mycorhizes	Teneur sol et iK ↑ à 2/5 m, lié retombées de feuilles riches en K	Azote majoritairement sous forme de nitrates (léger gradient)	Nombreux, stables malgré aléas climatique et en hausse en 2024 malgré le travail du sol. Forte résilience lombricienne	Activité microbienne correcte. Taux de mycorhization relativement élevés et champignons abondants dans le sol.
Lizine Petit	Sol pauvre mais iP ↑ à 2 et 5 m effet mycorhizes	Sol un peu pauvre, iK correct, pas d'effet net de la distance globalement faible (sauf sol à 2 m en 2024)	Azote majoritairement sous forme d'ammoniac à proximité de la haie avec un gradient marqué Fonctionnement de type forestier	Abondants mais en diminution entre 2022 et 2024 Plus forte sensibilité aux aléas climatiques ? Abondance plus élevée à 20 m	Biomasse microbienne et taux de mycorhization moyens. Pas d'effet distance sur la biomasse microbienne ou la minéralisation.
Cademène	Sol extrêmement pauvre en P iP un peu faible mycorhizes cruciales pour P	Teneur du sol et iK ↑ à 2/5 m par rapport à 20 m Lié aux feuilles tombées	Azote majoritairement sous forme d'ammoniac à proximité de la haie avec un gradient marqué Fonctionnement de type forestier	Moins nombreux (effet sol plus léger) mais satisfaisant ; augmentation en 2024 (effet météo) ↑ à 20 m (sol forestier et plus sec à 2/5 m)	Très forte biomasse microbienne, azote total bon. Taux de mycorhization relativement élevés. Bonne diversité des bactéries et des champignons du sol. Continuité des microorganismes entre la haie et la prairie.

Le tableau ci-dessous présente un résumé d'observations des effets des haies ainsi que de leur zone d'influence selon la distance où ces effets ont été mesurés. Les effets mesurés ont souvent été positifs, avec quelques effets négatifs ou des facteurs limitants.

Tableau 28 : observations transversales et spatiales

Facteur	Effets observés	Localisation
Ombre	Effet protecteur sur herbe, humidité et mycorhization	Côté NE, jusqu'à 20 m (Cademène)
Concurrence racinaire	Réduction de la pousse d'herbe et de l'humidité du sol	À 2–5 m côté (haies matures ou en phase d'installation)
Phosphore (iP)	Plus disponible à 2–5 m grâce à la mycorhization	Particulièrement marqué en sol pauvre ou très pauvre (Cademène)
Potasse (iK)	Teneur augmentée à proximité des haies par retombée de feuilles	Marqué à Cademène et Lizine Grand
Forme d'azote du sol	Augmentation de la part ammoniacale (non lessivable) à proximité des haies	Effet marqué à Cademène et Lizine Petit avec gradient de distance à la haie
Vers de terre	Densité variable selon la gestion ; diminuent à Bolandoz suite aux excès d'eau et au tassement	Corrélation avec MO et pratiques. Résilience variable selon les parcelles suite aux aléas.
Biomasse microbienne	Corrélée à l'apport organique, au climat et à la gestion	Correcte à Cademène et Lizine Grand, faible à Bolandoz avec diminution en 2024
Mycorhization	Abondante si haie âgée, fonctionnelle	Se propage dans la prairie d'autant plus que la haie est âgée et que les pratiques agricoles sont favorables (Cademène)

Effets positifs avérés

- Ombrage : effet dépendant de l'exposition : l'effet est présent au nord-est, réduisant le risque de brûlure, l'évapotranspiration, soutenant l'humidité du sol, qui est favorable à la mycorhization.
- Alimentation en phosphore : disponible dans les plantes alors que les teneurs du sol sont faibles ou très faibles. Les taux de phosphore foliaire similaires entre Bolandoz (sol riche) et Cademène (sol très pauvre) témoignent du rôle majeur de la minéralisation biologique, efficace en contexte mycorhizé.
- Alimentation du potassium : une augmentation des teneurs du sol et de l'alimentation en potassium des plantes a été mesuré à Cademène, Lizine Grand et dans une moindre mesure à Lizine Petit, attribué à la chute des feuilles (litière).

- Limitation du risque de lessivage de nitrates : à proximité de la haie le fonctionnement du sol, du point de vue de l'azote minéral, se rapproche d'un sol de type forestier avec une nette dominante de la forme ammoniacale non lessivable.
- Faune lombricienne : son abondance dépend fortement des conditions pédologiques (tassement, asphyxie), du niveau trophique (régime alimentaire basé sur la matière organique fraîche) et climatiques, avec une résilience variable selon les parcelles.
- Amélioration des structures biologiques : les haies, notamment à Cademène, favorisent la continuité microbiologique entre la lisière boisée et la prairie, avec une présence marquée de champignons ectomycorhiziens et de bactéries bénéfiques jusqu'à 20 m.

Facteurs limitants

- Concurrence racinaire : dans les haies matures (ex. Lizine Petit, Cademène), une concurrence pour l'eau limite légèrement localement la croissance de l'herbe à 2 m, voire à 5 m. A Bolandoz, en phase d'installation, avec développement latéral des racines des arbres, une concurrence pour l'eau est également observée à proximité de la haie, ce qui pourrait être évité avec des bonnes pratiques de plantation (voir section VI.2).
- Pratiques culturales perturbatrices (ex. lisier, pâturage intensif à Bolandoz) : elles limitent la diffusion des microorganismes bénéfiques et réduisent l'efficacité du réseau mycorhizien. La limitation du piétinement en période humide, des pratiques de fertilisation ajustées (doses et périodes d'épandage) peuvent facilement être mises en œuvre grâce à un diagnostic agronomique et favoriser le fonctionnement du sol (structure, aération, mycorhizes,) (voir section VI.2).

VI. Conclusion générale

Depuis 2020, la Chambre d'Agriculture Doubs-Territoire de Belfort a engagé une démarche originale et innovante en croisant des données agronomiques, écologiques et microbiologiques pour comprendre l'influence des haies sur les sols des prairies du département du Doubs. Grâce à une méthodologie pluridisciplinaire, cette étude a permis de dégager des enseignements précieux sur les services rendus par les haies, conditionnés fortement par les pratiques agricoles, la maturité des haies, la structure des sols et les dynamiques microbiologiques.

La mobilisation d'indicateurs multiples, sur ces mêmes sites, pendant plusieurs années, apporte une plus-value en matière de compréhension du fonctionnement des sols et de l'impact des haies sur les prairies. Ces indicateurs ont fait appel à des techniques classiques ou plus innovantes, issues de plusieurs laboratoires et rarement mobilisées simultanément : analyses de terre et de végétaux (laboratoire SADEF), suivis de l'humidité du sol et de la croissance de l'herbe, dénombrement et identification des vers de terre, fractionnement de la matière organique, analyse de la biomasse microbienne, de la minéralisation du carbone et de l'azote du sol (laboratoire Celesta'lab), analyses des mycorhizes et du microbiome (laboratoire Lare Spiral), cartographie de la conductivité du sol (Be Api).

L'analyse et le croisement de ces mesures ont permis d'identifier des facteurs pouvant améliorer ou dégrader les sols, les conditions de vie pour les organismes vivants qu'ils abritent et les services rendus (minéralisation du carbone et de l'azote, fournitures d'éléments minéraux, azote, phosphore, potasse notamment, …).

1. Potentiels et enjeux des haies pour les prairies

L'agroforesterie, qui combine arbres, cultures et/ou élevage sur une même parcelle, est une solution efficace pour promouvoir la biodiversité, améliorer la fertilité des sols, et augmenter la résilience face aux défis climatiques. De nombreux services sont rendus par l'agroforesterie.

Résilience face au stress climatiques : les systèmes agroforestiers permettent une meilleure adaptation aux stress climatiques (canicules, excès d'eau, vent), limitent l'évapotranspiration et l'érosion des sol.

Amélioration de la fertilité et de la qualité des sols : ils recyclent les éléments minéraux (notamment le potassium), améliorent la disponibilité du phosphore, enrichissement les sols en matière organique, ce qui permet d'augmenter la porosité et la rétention de l'eau. Ils stimulent l'activité microbienne et favorisent la mycorhization.

Services écosystémiques accrus : régulation du cycle de l'eau, limitation de la contamination des nappes phréatiques et des cours d'eau, séquestration du carbone, et amélioration de la biodiversité.

Stockage du carbone : les haies jouent un rôle majeur dans le stockage de carbone, à la fois dans leur biomasse aérienne (troncs, branches, feuillage) et leur biomasse souterraine (système racinaire). Leur capacité à capter le CO_2 atmosphérique dépend de leur densité, de leur âge, de la diversité des essences et des pratiques de gestion (fréquence de taille, renouvellement). En moyenne, une haie peut stocker entre 2 et 6 tonnes de carbone par hectare et par an, principalement sous forme de biomasse ligneuse persistante. Contrairement à des cultures annuelles, les haies assurent une accumulation continue du carbone, et offrent un réservoir stable tant qu'elles sont préservées et entretenues durablement. Pellerin et al. (2019) – "Stocker du carbone dans les sols agricoles – Quel potentiel au regard de l'objectif 4 pour 1000 et à quel coût ?", INRAE & ADEME. ;

2. Vers un modèle agroforestier cohérent : recommandations

Perspectives pour la gestion et la valorisation des haies

Les observations acquises durant les 4 années de suivi du programme, en cohérence avec la connaissance scientifique, permettent de proposer une série de recommandations pour l'optimisation des pratiques agricoles et agroforestières afin de maximiser la continuité entre la biodiversité des haies et celle des prairies, et optimiser la vie du sol, que ce soit dans un contexte de préservation ou de développement.

➢ **Au niveau des pratiques agricoles :**

- **Eviter les apports excessifs d'éléments minéraux**, en particulier les formes riches en azote sous forme de nitrates rapidement disponibles (engrais de synthèse, effluents liquides), ainsi que le phosphore, qui sont préjudiciables au développement des réseaux mycorhiziens. Il est également recommandé d'éviter de multiplier sur une même campagne agricole des apports répétés de formes d'azote disponible. La limitation de l'usage des engrais et les effluents d'élevage est également possible lorsqu'ils sont apportés en ciblant les périodes propices à leur valorisation par les plantes (seuil des 200°C, conditions climatiques fraîches, …).
- **Ajuster les passages de fertilisants à proximité des haies et des lisières de forêt**. Afin de favoriser le développement de la mycorhization et compte-tenu des apports en potasse résultant de la chute des feuilles à proximité des arbres, il est recommandé de laisser une zone tampon de 10 à 20 mètres le long des haies où la fertilisation sera limitée voire supprimée, en particulier en phosphore et en potasse.
- **Adopter des outils de pilotage de la fertilisation phospho-potassique des prairies** : les analyses de sol sous-estiment la biodisponibilité réelle du phosphore et de la potasse car elles ne mesurent pas la contribution de la biomasse microbienne. Seule l'analyse des indices de nutrition phospho-potassique, iP-iK, sont pertinents pour piloter la fertilisation des prairies pour ces éléments. Une prairie dont le sol est pauvre ou très pauvre en phosphore à l'analyse de sol, est généralement bien alimenté pour cet élément. Utiliser l'analyse de sol comme outil de pilotage conduit à des apports excessifs en phosphore, à la destruction du réseau mycorhiziens et à la perte de tous les bénéfices qui y sont associés.
- **Adapter des pratiques agricoles qui tiennent compte de la fragilité des sols dans un contexte de changement climatique**. Les aléas climatiques, canicules, sécheresses, excès d'eau, dégradent la flore des prairies, la vie microbienne des sols et leur capacité à laisser circuler librement l'air et l'eau. Ces phénomènes peuvent être accentués dans certains contextes pédologiques ou dans certaines situations topographiques : sols très limoneux, très argileux, sur un sous-sol imperméable argileux ou marneux, fonds de vallée, zones inondables, … **Il est donc impératif de limiter toutes les pratiques pouvant conduire à la dégradation de la porosité et de la structure des sols.** En condition d'excès d'eau, sur des sols fragiles, le passage d'outils, le pâturage excessif, le piétinement des animaux, peut conduire à une dégradation sévère de la flore, de la structure du sol et des organismes qui y vivent. Une attention particulière doit être apportée également aux entrées de parcelle où se concentrent les passages.
- **Intégrer la réalisation de profils de sol dans les prairies**, comme outil de diagnostic et de pilotage des interventions dans les parcelles. Le profil de sol permet de porter un jugement sur la qualité de la structure et de la vie du sol, et ainsi d'avoir un retour en lien avec les pratiques mises en œuvre. Seul l'examen visuel la dégradation d'une structure de sol, en complément de la dégradation de la flore, devrait conduire à la décision d'une intervention mécanique dans les situations les plus graves, ne pouvant pas être résolues naturellement, quand la capacité de résilience de la prairie est fortement détériorée. Ces interventions peuvent être relativement légères (aération, décompaction) voire conduire à un labour en dernier recours.

- **Limiter la présence de sols nus qui exposent les sols aux aléas climatiques**, notamment lorsqu'une décision de retournement de la prairie a été jugée indispensable. Dans de telles situations, le recours à un retournement anticipé au cours du printemps avec un semis de cultures dérobées fourragères estivales, associant des légumineuses et des graminées, permet de limiter les effets négatifs du retournement de la prairie, notamment vis-à-vis des pertes de nitrates, mais également de restructurer les sols par le développement racinaire des cultures dérobées.
- **Adopter des pratiques favorables à la vie du sol**. En complément à la préservation de la structure des sols, le maintien d'un statut calcique des sols favorable (pH, Ca++/CEC) et un usage très limité des produits phytosanitaires (proscrire les fongicides) sont des pratiques qui favorisent également la vie du sol.

➢ **Au niveau des pratiques agroforestières**

- **Adapter les plantations** : structurer les haies dès la plantation par une répartition cohérente des essences selon leurs besoins (eau, lumière, place…) et l'objectif visé, choisir des essences compatibles avec le sol et la station (voir « La boîte à outil pour réussir sa plantation » CA BFC en annexe 7). Favoriser un équilibre d'essences endo- et ecto-mycorhiziennes dans le cas de haies multi-strates.
- **Mettre en place une gestion de la haie** :
  - **Accompagner les plantations** en formant les agriculteurs (tailles de formation et d'entretien) pour limiter les entretiens à terme (élimination des branches à moins de 4 mètres potentiellement gênantes pour les engins agricoles).
  - **Préserver l'existant** : il est essentiel de préserver et de maintenir les haies existantes en favorisant un suivi et en proposant des formations. La gestion durable des haies à l'échelle de l'exploitation (audits, PGDH) permet d'accompagner les agriculteurs dans l'entretien et la valorisation de leurs haies (plus de détails sur ce dispositif en Annexe 8).
- **Développer des diagnostics croisés** basés sur des compétences agronomiques et forestières.

3. Perspectives

L'exemple des parcelles étudiées met en avant le rôle fondamental des haies et des microorganismes dans les systèmes agroforestiers. Pour maximiser ces bénéfices, il est recommandé de :

- Etablir des cahiers des charges des plantations, afin de répondre aux enjeux d'adaptation au changement climatique.
- Poursuivre les recherches sur les interactions microbiologiques dans des systèmes agroforestiers variés par la mise en place de nouveaux suivis qui seront proposés par la Chambre d'Agriculture 25/90.
- Préserver et pérenniser les dispositifs d'aide financière à la plantation et les formations techniques adaptées aux agriculteurs.
- Sensibiliser le monde agricole sur les avantages agronomiques, environnementaux et économiques de l'agroforesterie en développant les diagnostics croisés sur les parcelles.

Les résultats croisés issus de l'étude démontrent que les haies ne sont pas seulement des éléments paysagers, mais bien des infrastructures agroécologiques actives à part entière, qui interagissent profondément avec le sol, les plantes et les microorganismes. Elles participent activement à la régulation hydrique, au stockage de carbone, à la résilience des sols, et à la santé des prairies. Toutefois, leur

efficacité dépend fortement des pratiques agricoles et de leur niveau de maturité. Les haies sont donc un levier à valoriser dans une stratégie territoriale intégrée d'agroécologie et d'adaptation au changement climatique. L'agroforesterie représente à ce titre une voie de transition agricole durable et mesurable.

En conclusion, l'agroforesterie représente une solution durable et multifonctionnelle pour répondre aux enjeux agricoles modernes. En valorisant les haies comme des moteurs de biodiversité et de résilience, les exploitants peuvent à la fois améliorer leurs rendements, contribuer à la préservation et à l'amélioration des écosystèmes, des sols et de la qualité des eaux.

VII. Bibliographie

Beaujouan V. 2001. Modélisation des transferts d'eau et d'azote dans les sols et les nappes. Développement d'un modèle conceptuel distribué. Applications à de petits bassins versants agricoles.

Bhardwaj K. K., Singh M. K., Dev Raj, Sonia Devi, Garima Dahiya, S. K. Sharma, M. K. Sharma. *Effect of Tree Leaf Litterfall on available Nutrients and Organic Carbon Pools of Soil*. Research Journal of Science and Technology. 2022; 14(4):226-2. doi: 10.52711/2349-2988.2022.00037

Bettie-Laclau P, Taschen E, Plassard C, Dezette D, Abadie J, Arnal D, Benezech P, Duthoit M, Pablo AL, Jourdan C, Laclau JP, Bertrand I, Taudière Adrien, Hinsinger P (2019) Role of trees and herbaceous vegetation beneath trees in maintaining arbuscular mycorrhizal communities in temperate alley cropping systems. Plant Soil 453 : 153-171

Bichet, Vincent, et Michel Campy. 2008. *Montagnes du Jura Géologie et paysages*. La belle étoile. éditions de la Belle étoile.

Billeter, R., J. Liira, D. Bailey, R. Bugter, P. Arens, I. Augenstein, S. Aviron, J. Baudry, R. Bukacek, F. Burel, M. Cerny, G. De Blust, R. De Cock, T. Diekötter, H. Dietz, J. Dirksen, C. Dormann, W. Durka, M. Frenzel, R. Hamersky, F. Hendrickx, F. Herzog, S. Klotz, B. Koolstra, A. Lausch, D. Le Coeur, J. P. Maelfait, P. Opdam, M. Roubalova, A. Schermann, N. Schermann, T. Schmidt, O. Schweiger, M. J. M. Smulders, M. Speelmans, P. Simova, J. Verboom, W. K. R. E. Van Wingerden, M. Zobel, et P. J. Edwards. 2008. « Indicators for Biodiversity in Agricultural Landscapes: A pan-European Study ». *Journal of Applied Ecology* 45(1):141-50. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01393.x.

Brady, Nyle C., et Ray R. Weil. 2016. *The Nature and Properties of Soils*. 15th edition. Pearson. Harlow, England London New York: Pearson.

Bucaille, Francis. 2020. *Revitaliser les sols : diagnostic, fertilisation, nutriprotection*. 2ème edition. Malakoff: DUNOD.

C Cordier, A Trouvelot, S Gianinazzi, V Gianinazzi-Pearson. Arbuscular mycorrhiza technology applied to micropropagated Prunus avium and to protection against Phytophthora cinnamomi. Agronomie, 1996, 16 (10), pp.679-688. hal-00885767

Calvin, Katherine, Dipak Dasgupta, Gerhard Krinner, Aditi Mukherji, Peter W. Thorne, Christopher Trisos, José Romero, Paulina Aldunce, Ko Barrett, Gabriel Blanco, William W. L. Cheung, Sarah Connors, Fatima Denton, Aïda Diongue-Niang, David Dodman, Matthias Garschagen, Oliver Geden, Bronwyn Hayward, Christopher Jones, Frank Jotzo, Thelma Krug, Rodel Lasco, Yune-Yi Lee, Valérie Masson-Delmotte, Malte Meinshausen, Katja Mintenbeck, Abdalah Mokssit, Friederike E. L. Otto, Minal Pathak, Anna Pirani, Elvira Poloczanska, Hans-Otto Pörtner, Aromar Revi, Debra C. Roberts, Joyashree Roy, Alex C. Ruane, Jim Skea, Priyadarshi R. Shukla, Raphael Slade, Aimée Slangen, Youba Sokona, Anna A. Sörensson, Melinda Tignor, Detlef Van Vuuren, Yi-Ming Wei, Harald Winkler, Panmao Zhai, Zinta Zommers, Jean-Charles Hourcade, Francis X. Johnson, Shonali Pachauri, Nicholas P. Simpson, Chandni Singh, Adelle Thomas, Edmond Totin, Paola Arias, Mercedes Bustamante, Ismail Elgizouli, Gregory Flato, Mark Howden, Carlos Méndez-Vallejo, Joy Jacqueline Pereira, Ramón Pichs-Madruga, Steven K. Rose, Yamina Saheb, Roberto Sánchez Rodríguez, Diana Ürge-Vorsatz, Cunde Xiao, Noureddine Yassaa, Andrés Alegría, Kyle Armour, Birgit Bednar-Friedl, Kornelis Blok, Guéladio Cissé, Frank Dentener, Siri Eriksen, Erich Fischer, Gregory Garner, Céline Guivarch, Marjolijn Haasnoot, Gerrit Hansen, Mathias Hauser, Ed Hawkins, Tim Hermans, Robert Kopp, Noëmie Leprince-Ringuet, Jared Lewis, Debora Ley, Chloé Ludden, Leila Niamir, Zebedee

Nicholls, Shreya Some, Sophie Szopa, Blair Trewin, Kaj-Ivar Van Der Wijst, Gundula Winter, Maximilian Witting, Arlene Birt, Meeyoung Ha, José Romero, Jinmi Kim, Erik F. Haites, Yonghun Jung, Robert Stavins, Arlene Birt, Meeyoung Ha, Dan Jezreel A. Orendain, Lance Ignon, Semin Park, Youngin Park, Andy Reisinger, Diego Cammaramo, Andreas Fischlin, Jan S. Fuglestvedt, Gerrit Hansen, Chloé Ludden, Valérie Masson-Delmotte, J. B. Robin Matthews, Katja Mintenbeck, Anna Pirani, Elvira Poloczanska, Noëmie Leprince-Ringuet, et Clotilde Péan. 2023. *IPCC, 2023: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (Eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland.* First. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). doi:10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.

Cameron KC., Haynes RJ. 1986. Chapter 4: Retention and Movement of Nitrogen in Soils, in Haynes RJ, (1986). Mineral nitrogen in the plant-soil system. Ed. Kozlowsky T.T. Madison (USA), 483 p.

Cavagnaro, Timothy R., S. Franz Bender, Hamid R. Asghari, et Marcel G. A. Van Der Heijden. 2015. « The Role of Arbuscular Mycorrhizas in Reducing Soil Nutrient Loss ». *Trends in Plant Science* 20(5):283-90. doi:10.1016/j.tplants.2015.03.004.

CITEPA. 2024. *Rapport Secten éd. 2024 : Émissions de gaz à effet de serre et de polluants atmosphériques en France | 1990-2023*. Citepa.

Clergue, Boris, Bernard Amiaud, Frank Pervanchon, Françoise Lasserre-Joulin, et Sylvain Plantureux. 2005. « Biodiversity: Function and Assessment in Agricultural Areas. A Review ». *Agronomy for Sustainable Development* 25(1):1-15. doi:10.1051/agro:2004049.

Coulon Frédéric. Solagro. Fiche de synthèse Atouts et contraintes de la gestion durable des haies. Juin 2023. Resp'haies. Action 2.1. Livrable L.2.13

EL ZEIN Rana. Dynamiques saisonnières des réserves carbonées et azotées chez le chêne sessile (Quercus petraea) et le hêtre (Fagus sylvatica).2011. Université de Lorraine, p3.

EPAGE Haut-Doubs, Haute-Loue, 2020. s. d. « Territoire et périmètre d'intervention de l'EPAGE HDHL ». Consulté 12 février 2025. https://www.eaudoubsloue.fr/perimetre-intervention-epage-hdhl/.

FAO. 2025. « Portail d'information sur les sols ». https://www.fao.org/soils-portal/fr/.

FDC 25. 2024. « Restauration de la trame verte et bleue - Doubs 2020-2024 - Fédération Nationale des Chasseurs.pdf ». https://www.chasseurdefrance.com/agir/nos-actions-sur-le-terrain/restauration-de-la-trame-verte-et-bleue-doubs-2020-2024/.

François M., Glasson R., Baud A., Chopard P., Brevet S., Fourel M., Mangin J.-M., Franck-Grandidier I., Chaumartin C. 2003 Guide de la Fertilisation en Franche-Comté. Chambre Régionale d'Agriculture de Franche-Comté.

Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (1989) Phosphorus metabolism in mycorrhizas. In "Nitrogen, phosphorus and sulphur utilization by fungi", Boddy L, Marchant R, Read DJ (eds), pp. 227-240

Gianinazzi, Silvio, Armelle Gollotte, Marie-Noëlle Binet, Diederik van Tuinen, Dirk Redecker, et Daniel Wipf. 2010. « Agroécologie: Le Rôle Clé Des Mycorhizes Arbusculaires Dans Les Services ». (20):519-30. doi:10.1007 / s00572-010-0333-3.

Bibliographie

Girard, Jean-Claude, Christian Schwatrz, et Bernard Jabiol. 2011. *Etude des sols, Description, cartographie, utilisation*. Paris: DUNOD.

Havlin, J. L., S. L. Tisdale, W. L. Nelson, et J. D. Beaton. 2017. *SoilFertilityandFertilizersbyJohnL.Havlinz-lib.org.pdf*. Pearson. CHENNAI.

INRAe. 2022. « Agroforesterie : des arbres pour une agriculture durable | INRAE ». https://www.inrae.fr/actualites/agroforesterie-arbres-agriculture-durable.

INSEE. 2024.« Transformations de l'agriculture et des consommations alimentaires ». Transformations de l'agriculture et des consommations alimentaires.

J.D. Derner and G.E. Schuman. Carbon sequestration and rangelands: A synthesis of land management and precipitation effects. 2007.

Jego G. 2008. Influence des activités agricole sur la pollution nitrique des eaux souterraines. Analyse par modélisation des impacts des systèmes de grande culture sur les fuites de nitrate dans les plaines alluviales.

Lacoste, Marine, Valérie Viaud, Didier Michot, et Christian Walter. 2016. « Model-based Evaluation of Impact of Soil Redistribution on Soil Organic Carbon Stocks in a Temperate Hedgerow Landscape ». *Earth Surface Processes and Landforms* 41(11):1536-49. doi:10.1002/esp.3925.

Lavelle, P., T. Decaëns, M. Aubert, S. Barot, M. Blouin, F. Bureau, P. Margerie, P. Mora, et J. P. Rossi. 2006. « Soil Invertebrates and Ecosystem Services ». *European Journal of Soil Biology* 42:S3-15. doi:10.1016/j.ejsobi.2006.10.002.

Laurent F., Kerveillant P., Besnard A., Vertès F., Mary B., Recous S. 2004. Effet de la destruction de prairies pâturées sur la minéralisation de l'azote : approche au champ et propositions de quantification. Synthèse de 7 dispositifs expérimentaux. Rapport Arvalis - INRA - Chambres d'agriculture de Bretagne.

Lecq, S., A. Loisel, F. Brischoux, S. J. Mullin, et X. Bonnet. 2017. « Importance of Ground Refuges for the Biodiversity in Agricultural Hedgerows ». *Ecological Indicators* 72:615-26. doi:10.1016/j.ecolind.2016.08.032.

Legay, Nicolas. 2013. « Une Approche Fonctionnelle Des Relations Plantes-Microorganismes Dans Le Cadre Du Cycle de l'azote. Cas Des Prairies de Montagnes. » Université de Grenoble.

Marschner Petra. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Third Edition. 2012. School of Agriculture, Food and Wine. The University of Adelaide Australia

Mayel S, Jarrah M, Kuka K (2021) How does grassland management affect physical and biochemical properties of temperate grassland soils? A review study. Grass Forage Science 76: 215-244.

Merot, Philippe. 1999a. « The Influence of Hedgerow Systems on the Hydrology of Agricultural Catchments in a Temperate Climate ». *Agronomie* 19(8):655-69. doi:10.1051/agro:19990801.

Merot, Philippe. 1999b. « The Influence of Hedgerow Systems on the Hydrology of Agricultural Catchments in a Temperate Climate ». *Agronomie* 19(8):655-69. doi:10.1051/agro:19990801.

Merot, Philippe. The influence of hedgerow systems on the hydrology of agricultural catchments in a temperate climate. Agronomie, 1999, 19 (8), pp.655-669.

OPVT. 2019. « Pourquoi étudier les vers de terre ? » http://ecobiosoil.univ-rennes1.fr.

Bibliographie

Nicolardot B., Mary B., Houot S., Sethecous S. 1996. La dynamique de l'azote dans les sols cultivés. In Maitrise de l'azote dans les agroécosystèmes, Reims (France), 19-20 novembre 1996, Ed. INRA, Paris 1997 (Les Colloques, n°83).

Turpin N., Vernier F. & Joncour F. 1997. Transferts de nutriments des sols vers les eaux – Influence des pratiques agricoles - Synthèse bibliographique. Ingenieries - E A T, IRSTEA _edition 1997, p. 3 - p. 16.

Robert McGuinn, Gregory Evanylo, Virginia Polytechnic Institute & State University Department of Crop and Soil Environmental Science Blacksburg, VA 24060. Soil Quality Testing Kit for Soil Quality Assessment and Management

Simon J.-C., Lecorre L. 1992. Fertilisation des cultures annuelles et lessivage de l'azote nitrique. Fourrages (1992) 129, p.3-10.

Schvartz C., Muller J.-C., Decroux J., sous l'égide du Comifer. 2005. Guide de la fertilisation raisonnée. Editions France Agricole

Stoate, C., N. D. Boatman, R. J. Borralho, C. Rio Carvalho, G. R. de Snoo, et P. Eden. 2001. « Ecological Impacts of Arable Intensification in Europe ». *Journal of Environmental Management* 63(4):337-65. doi:10.1006/jema.2001.0473.

Thélier-Huché Lydie, Farruggia A., Castillon P. 1999. L'analyse d'herbe. Un outil de pilotage de la fertilisation phospho-potassique des prairies naturelles et temporaires. Institut de l'Elevage, ITCF, INRA, ACTA.

Trouy-Jacquemet Marie-Christine. Anatomie du bois, Formation, fonctions et identification. 2015. Editions QUAE

Viaud V. et Thomas Z. (2019) Une réflexion sur l'état des connaissances des fonctions du bocage pour l'eau dans une perspective de mobilisation pour l'action. Sciences Eaux & Territoires 30 : 32.

Wardle, David A., Richard D. Bardgett, John N. Klironomos, Heikki Setälä, Wim H. Van Der Putten, et Diana H. Wall. 2004. « Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota ». *Science* 304(5677):1629-33. doi:10.1126/science.1094875.

VIII. Annexes

1. Tableau de synthèse des analyses réalisées

Thématique	Analyse ou observation	Description
Physique du sol	Fosses pédologique et description des profils de sol	Evaluation visuelle de la structure du sol, de son organisation en horizons et de son fonctionnement
	Mesure de densité apparentes	Mesure de la compaction et de la porosité du sol
	Mesure de l'hygrométrie	Quantité d'eau contenue dans le sol par rapport à sa masse ou son volume total.
	Cartographie de la conductivité des sols	Evaluation de la capacité d'un sol à conduire l'électricité (influencé par la texture du sol, la teneur en eau, la salinité et la présence de nutriments, …)
Chimie du sol	Analyses physico-chimiques	Informations sur la granulométrie, la texture, l'état calcique, le pH, la matière organique, le complexe argilo-humique, la capacité d'échange cationique et sur les éléments majeurs échangeables
	Reliquats azotés	Mesure de la quantité d'azote minéral (nitrate et ammonium) disponible dans le sol
	Caractérisation de la matière organique	Evaluer la quantité, la qualité et la dynamique de transformation de la matière organique.
	Potentiel de minéralisation C et N	Evaluer la quantité de carbone et d'azote pouvant être minéralisé par le sol
Végétal	Indices iP / iK de l'herbe	Evaluation de la disponibilité des éléments nutritifs et leur assimilabilité pour les plantes (plus fiable sur des échantillons d'herbes que sur des échantillons de terre car P et K non mobiles dans le sol).
Biologie du sol	Biomasse microbienne	Quantification des virus, bactéries et champignons présents dans le sol, pouvant impacter la disponibilité en éléments minéraux et la capacité de résilience d'une parcelle.
	Identification et quantification des mycorhizes	Permet d'évaluer l'étendue des réseaux endo et ecto mycorhiziens et leur influence sur la capacité de résilience des parcelles.
	Microbiome	Identification et précisions génomiques des différentes espèces de bactéries, virus, champignons et de leurs possibles interactions.
	Identification et quantification des vers de terres	Indication de la qualité biologique des sols par leur action sur la structure du sol, l'amélioration de sa fertilité grâce à leur action sur la décomposition de la MO, ainsi que la santé du sol.
Agronomie	Mesures de la pousse de l'herbe	Evaluation de la biomasse fourragère disponible.
	Cahier de fertilisation	Bilan de l'année culturale concernant les apports en éléments fertilisants (minéraux et organiques)

2. Analyses réalisées et organismes liés

Analyses	Fréquence	Date-Période		Laboratoire ou organisme(s) associé(s)
Fosse pédologiques	1 fois	2021	17/06 et 23/09	CRA BFC, CIA 25/90
Densité apparente	2 fois	2021	08-juil	SADEF
		2024	21-mars	
Cartographie de la conductivité des sols	1 fois	16 février 2023		Dijon céréales
Analyses physico-chimiques	2 fois	2022	le 02/03 et le 28/04	SADEF
		2024	le 18/06 et le 27/06	
Reliquats Azotés	2 x par an avec suivi mycorhize	2021	13/08/2021	SADEF
		2022	le 29/04 et le 11/07	
		2023	12-juin	
		2024	le 18/06 et le 27/06	
Humidité du sol (TDR 350)	Du printemps au début de l'automne de chaque année	2021	du 24/02 au 06/09	CIA 25/90
		2022	du 10/04 au 21/09	
		2023	du 28/03 au 11/09	
		2024	du 30/05 au 26/08	
Caractérisation de la MO du sol	Début et fin d'expérimentation	2022	02/03/2022	Celesta'lab
		2024	le 18/06 et le 27/06	
Biomasse microbienne, minéralisation C et N	Début et fin d'expérimentation	2022	02/03/2022	Celesta'lab
		2024	20/06 et 01/07	
Identification et quantification des vers de terre	Annuelle	2022	24/03, 30/03, 01/04 et 29/04	CIA 25/90
		2023	28/03, 29/03 et 30/03	
		2024	Le 18/06 et le 27/06	
Suivi mycorhize / microbiome	1 à 2 x par an (sol frais, sol sec)	2021	13/08/2021	Laboratoire Spiral
		2022	28/04 et 11/07	
		2023	06-juin	
		2024	23-juillet	

Teneurs N, P, K de l'herbe et indices iP iK	1 à 2 x par an avec suivi mycorhize	2021	Le 28/05, le 04/06 et le 08/07	SADEF
		2022	28 et 29/04/2022 et 19/07/2022	
		2023	12-juin	
		2024	Le 04/06, le 11/06 et le 27/06	
Typologies floristiques	1 fois	2023	25-avr	CIA 25/90
Pousse de l'herbe	Juin à septembre de chaque année	2021	Du 04/06 au 06/09	CIA 25/90
		2022	Du 24/06 au 21/09	
		2023	du 12/06 au 11/09	
		2024	du 30/05 et 26/08	
Description des pratiques agricoles	Annuel	Chaque fin de saison		CIA 25/90

3. Les services rendus par la haie



Les services rendus par la haie

Intérêt de la haie bocagère



Actions CLIMATIQUES

- **Effet brise-vent :** plus la haie est haute et longue, plus son aire de protection est grande.
- **Effet parasol :** dans ce cas, l'orientation de la haie est primordiale.
- **Effet puits de Carbone :** les arbres stockent du carbone dans leur biomasse.

Sauvegarder la BIODIVERSITE

Les haies constituent des habitats favorables à la faune et la flore.

Favoriser les activités de nature

Respect des logiques agronomiques et des exigences des usagers de l'espace agricole.

La haie comme facteur de production pour l'agriculture

- En favorisant les auxiliaires des cultures
- En favorisant les pollinisateurs

Aspect paysager

La diversité des éléments arborés rompt la monotonie des paysages.

Aspect Production

- **Production agricole :** les haies et plus globalement les systèmes agroforestiers augmentent les capacités de production agricole.
- **Production de bois :** le bois est à la fois matériau et source d'énergie, écologique et renouvelable.

Réduire l'intensité des pics de crue

- Cheminement plus long et plus complexe de la circulation de l'eau.
- Capacités d'infiltration du sol augmentées.

Bonifier les sols

Augmentation du taux de matière organique du sol à proximité des Haies.

Réduire les pollutions diffuses

Par l'interception, le stockage et la transformation des substances « polluantes » dissoutes dans l'eau.

Réduire l'érosion des sols

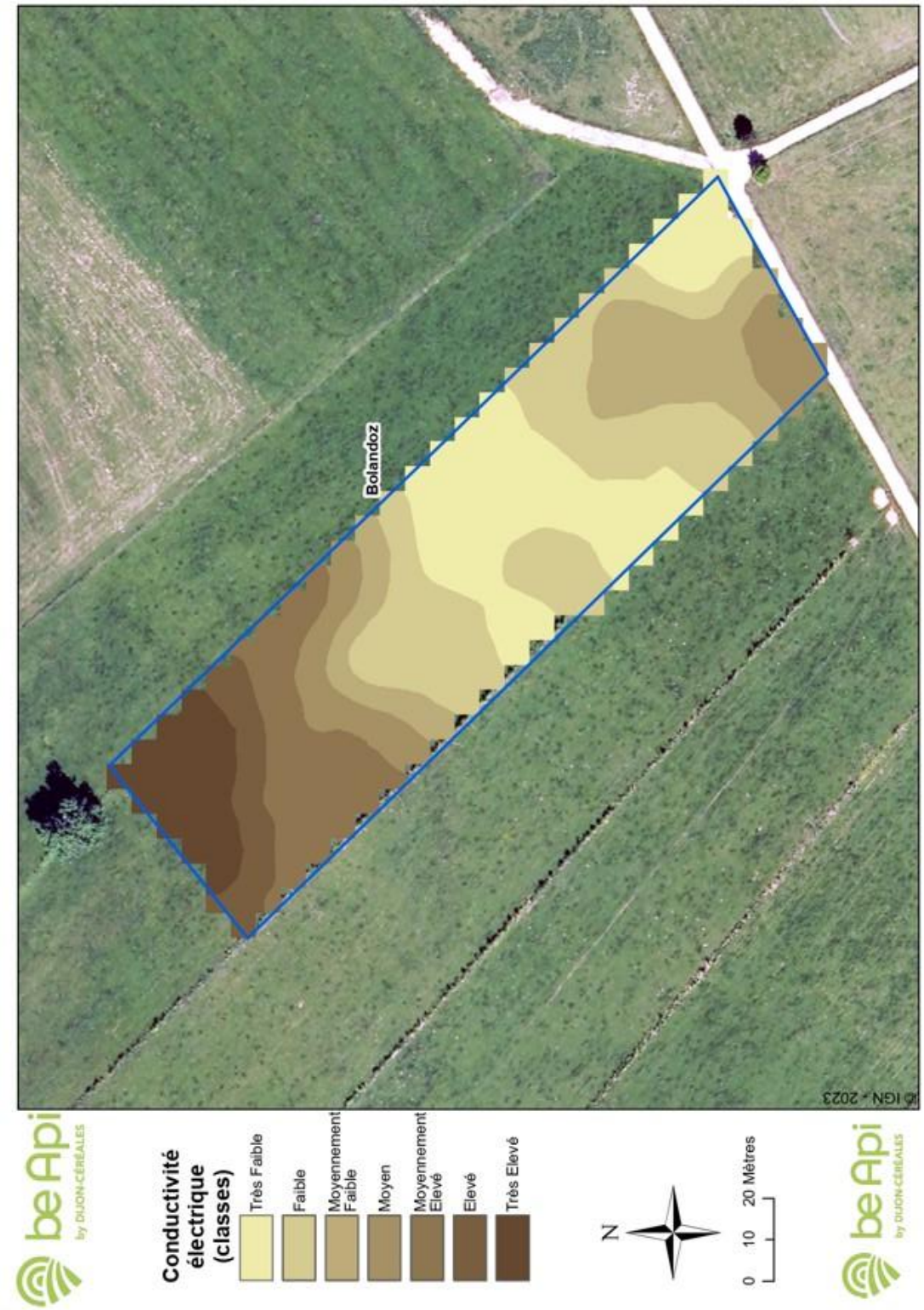
L'alignement d'arbres et haies disposés perpendiculairement à la pente constituent des barrières anti-érosives.

Gérer la Réserve Utile en eau

L'enrichissement du sol en humus influe positivement sur sa RU.

4. Etudes de conductivité

a. Bolandoz



b. Lizine Grand



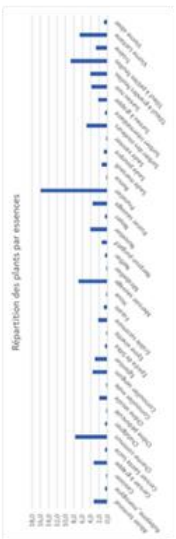
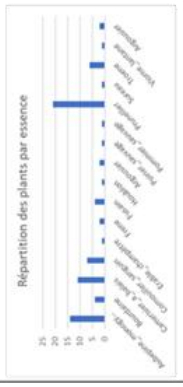
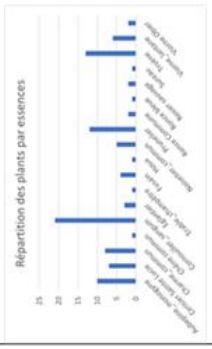
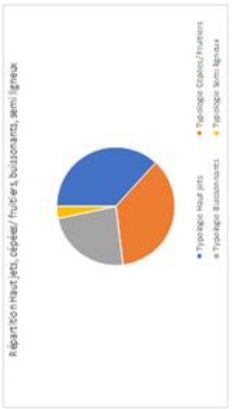
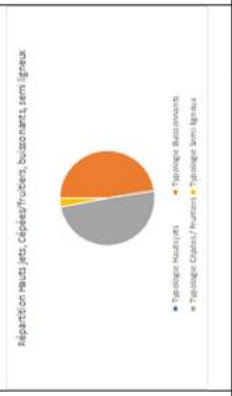
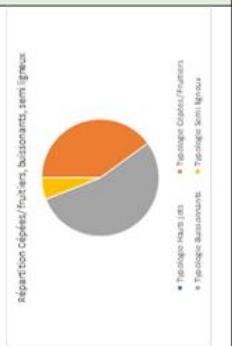
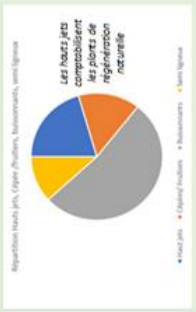
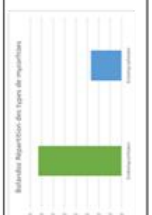
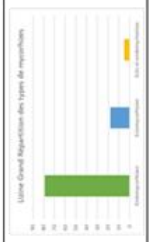
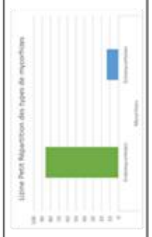
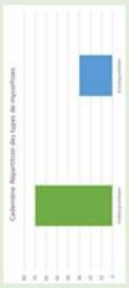
c. Lizine Petit



d. Cademène


Cademène
Conductivité électrique (classes)
Très Faible
Faible
Moyennement Faible
Moyen
Moyennement Elevé
Elevé
Très Elevé
N
0
10
20 Mètres
beApi
by DIJON-CÉRÉALES

5. Synthèse du bilan agroforestier

Nom de la haie	Bolandoz	Lizine Grand	Lizine Petit	Cademène
Année de plantation	2020	2011	2001	Haie naturelle mature
Age en 2024	4 ans	13 ans	23 ans	80 à 100 ans
Visuel				
Répartitions essences en %				
Type Haie	3 Strates	2 strates	2 strates	3 Strates
Répartition strates				
Mycorhization arbres (%)				
% plants vivants non adaptées au	12 % plants non adaptées au sol et station	10 % plants non adaptées au sol et station	0 % plants non adaptées au sol et station	0 % plants non adaptées au sol et station
Résilience	Haie présentant une capacité de résilience moyenne à long terme. Trop forte densité de hauts jets (37 %) et de cépées/ fruitiers (37%), 37 essences différentes présentes dont 13 non adaptées au sol et à la station	Haie présentant peu de capacité de résilience	Haie présentant une bonne capacité de résilience	Haie présentant une très bonne capacité de résilience
Indice fonctionnalité	2/5	2/5	4/5	5/5

6. Profils pédologiques

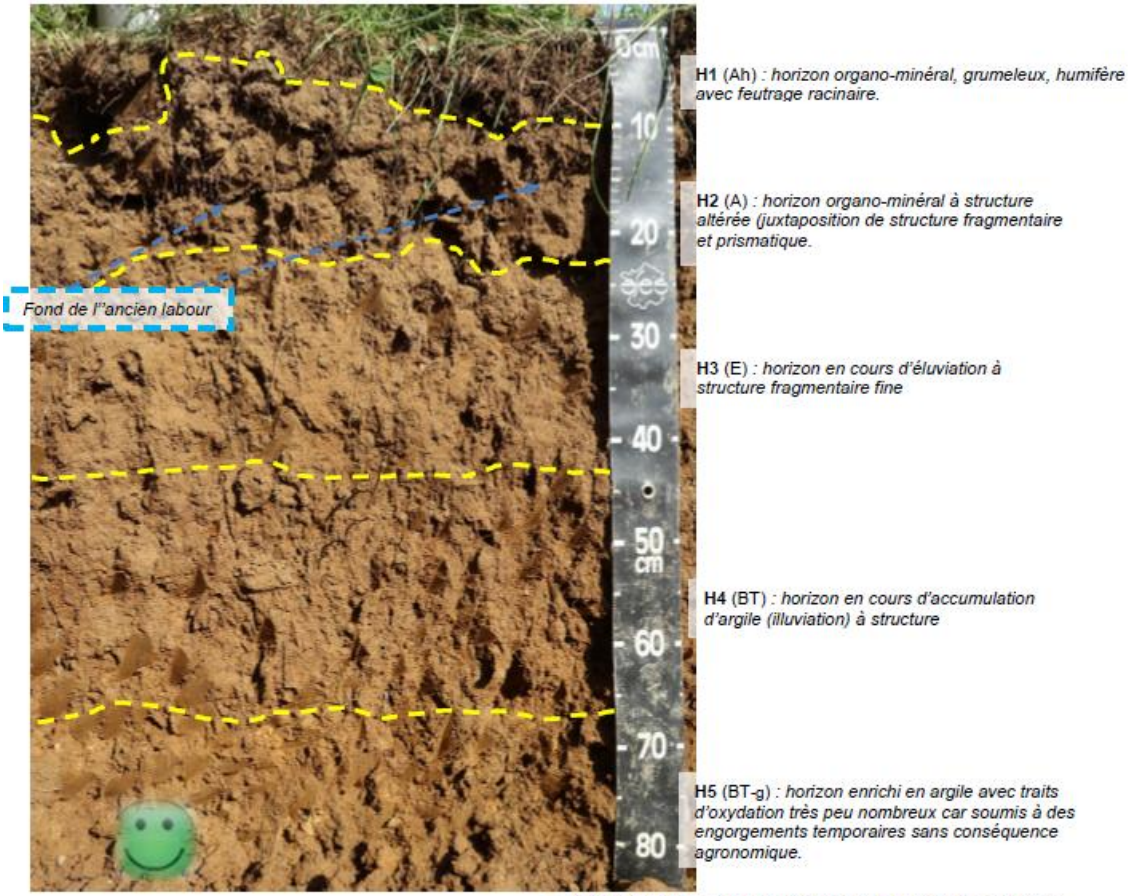
AGRICULTURES & TERRITOIRES
CHAMBRE D'AGRICULTURE BOURGOGNE-FRANCHE-COMTÉ

Programme « Haies »
Bilan pédologique
Bolandoz (25)



+ *Diagnostic pédologique :*

BILAN : Sol aéré profond de plateau, à texture équilibrée développé sur les calcaires marneux du Callovien (J3) et à drainage vertical naturellement modéré et à réserve hydrique importante (>180mm). L'horizon de surface offre une qualité organo-physique légèrement altérée par des phénomènes de tassements récurrents: *Brassage biologique des horizons A moins efficace, limite discontinue de l'ancien fond de labour (dernier labour en 2011), juxtaposition de structure fragmentaire et prismatique impliquant une moindre efficacité du drainage vertical (risque d'engorgement temporaire après des cumuls de pluies supérieurs à 90mm)*. Au-delà de 17/22cm l'organisation structurale est favorable pour le développement du système racinaire et l'activité de la macrofaune lombricienne et les racines fines sont bien présentes au-delà de 45/50cm.



H1 (Ah) : *horizon organo-minéral, grumeleux, humifère avec feutrage racinaire.*

H2 (A) : *horizon organo-minéral à structure altérée (juxtaposition de structure fragmentaire et prismatique.*

H3 (E) : *horizon en cours d'éluviation à structure fragmentaire fine*

H4 (BT) : *horizon en cours d'accumulation d'argile (illuviation) à structure*

H5 (BT-g) : *horizon enrichi en argile avec traits d'oxydation très peu nombreux car soumis à des engorgements temporaires sans conséquence agronomique.*

Programme « Haies »/ CAI-25, FDC-25 / Bilan pédologique_CRA-BFC

AGRICULTURES & TERRITOIRES
CHAMBRE D'AGRICULTURE BOURGOGNE-FRANCHE-COMTÉ

Programme « Haies »
Bilan pédologique
Lizine_Sud Grand (25)



+ Diagnostic pédologique :

BILAN : Sol aéré profond de plateau, à texture équilibrée, décarbonaté à drainage vertical imparfait en lien avec le matériau parental marneux situé vers 95cm de profondeur. La réserve hydrique est importante (>160 mm). L'horizon de surface offre une qualité organo-physique correcte (structure grumeleuse puis fragmentaire fine), mais avec une tendance à l'installation de feutrage racinaire: ***brassage biologique des horizons A*** moins efficace malgré la présence de conduits verticaux revêtus de vers anéciques, traversant les horizons. A partir de 55 cm de profondeur les horizons pédologiques deviennent brutalement très argileux avec une organisation structurale prismatique en colonne verticale (en lien avec la forte teneur en argile). La marne grisâtre débute vers 95cm de profondeur.

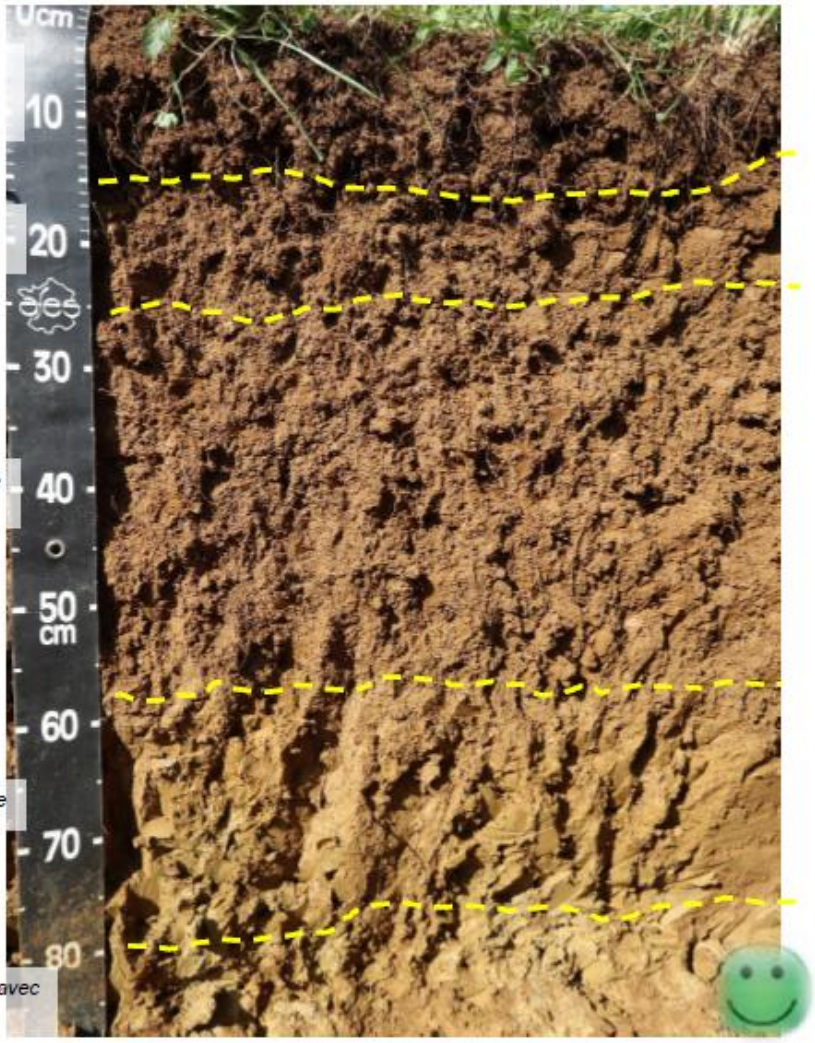
H1 (Ah) : *horizon organo-minéral, grumeleux, humifère avec amorce de feutrage racinaire.*

H2 (A) : *horizon organo-minéral sans contrainte organo-physique*

H3 (S) : *horizon à structure pédologique où le lessivage est tout juste amorcé*

H4 (II-S) : *horizon à structure pédologique*

H4 (II-Sg) : *horizon à structure pédologique avec traits d'oxydation (engorgement temporaire)*



Programme « Haies »/ CAI-25, FDC-25 / Bilan pédologique_CRA-BFC

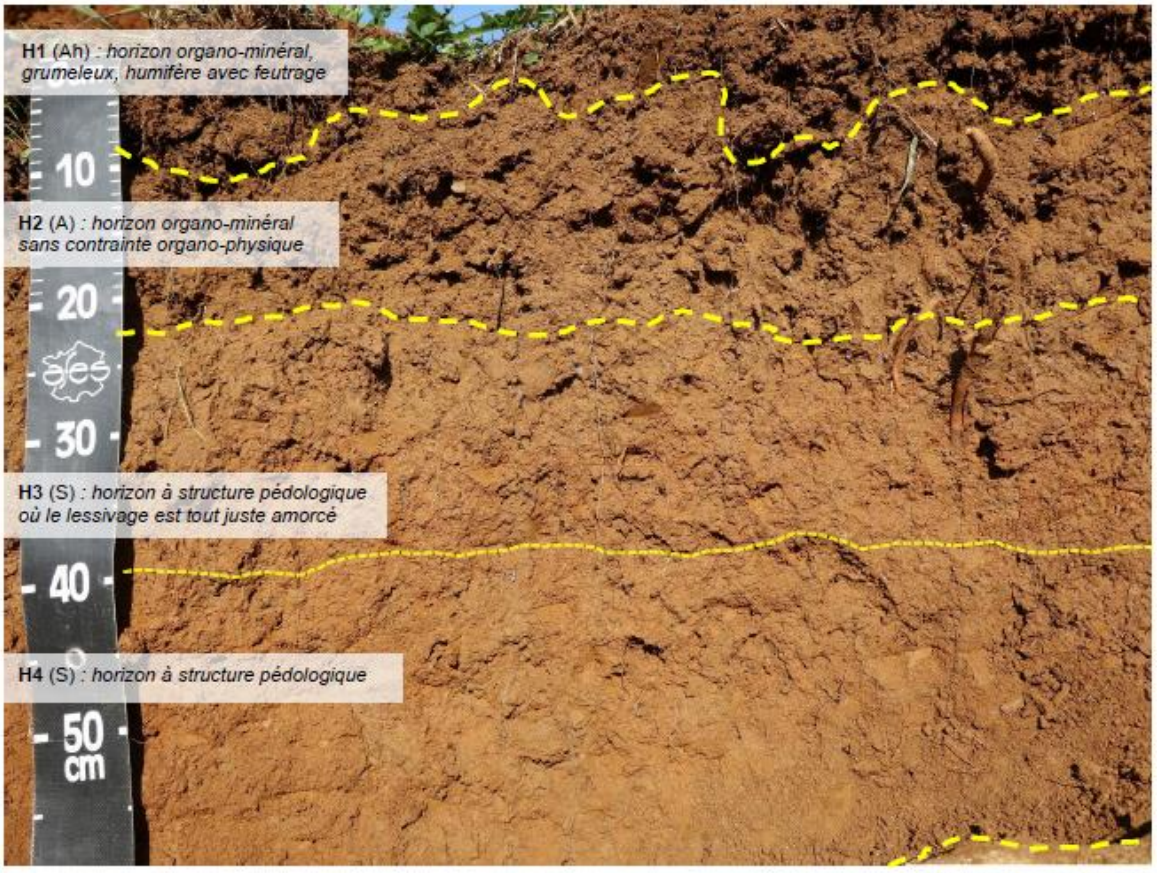
AGRICULTURES & TERRITOIRES
CHAMBRE D'AGRICULTURE
BOURGOGNE-FRANCHE-COMTÉ

Programme « Haies »
Bilan pédologique
Lizine_Nord Petit (25)



+ Diagnostic pédologique :

BILAN : Sol aéré profond de plateau, à texture équilibrée, décarbonaté à drainage vertical favorable et à réserve hydrique importante (>180mm). L'ensemble est développé sur les calcaires du Callovien (J3) situé entre 50 et 90cm de profondeur. L'horizon de surface offre une qualité organo-physique correcte (structure grumeleuse puis fragmentaire fine), mais avec une tendance nette à l'installation de feutrage racinaire: brassage biologique des horizons A moins efficace malgré la présence de conduits verticaux revêtus traversant les horizons. La qualité structurale des horizons sous-jacents à l'horizon de surface et la progressivité des limites entre horizon offrent un environnement favorable à la prospection racinaire, à l'activité de la macrofaune lombricienne et au drainage vertical des eaux de pluie.



MP (Rca) : *Roche calcaire*

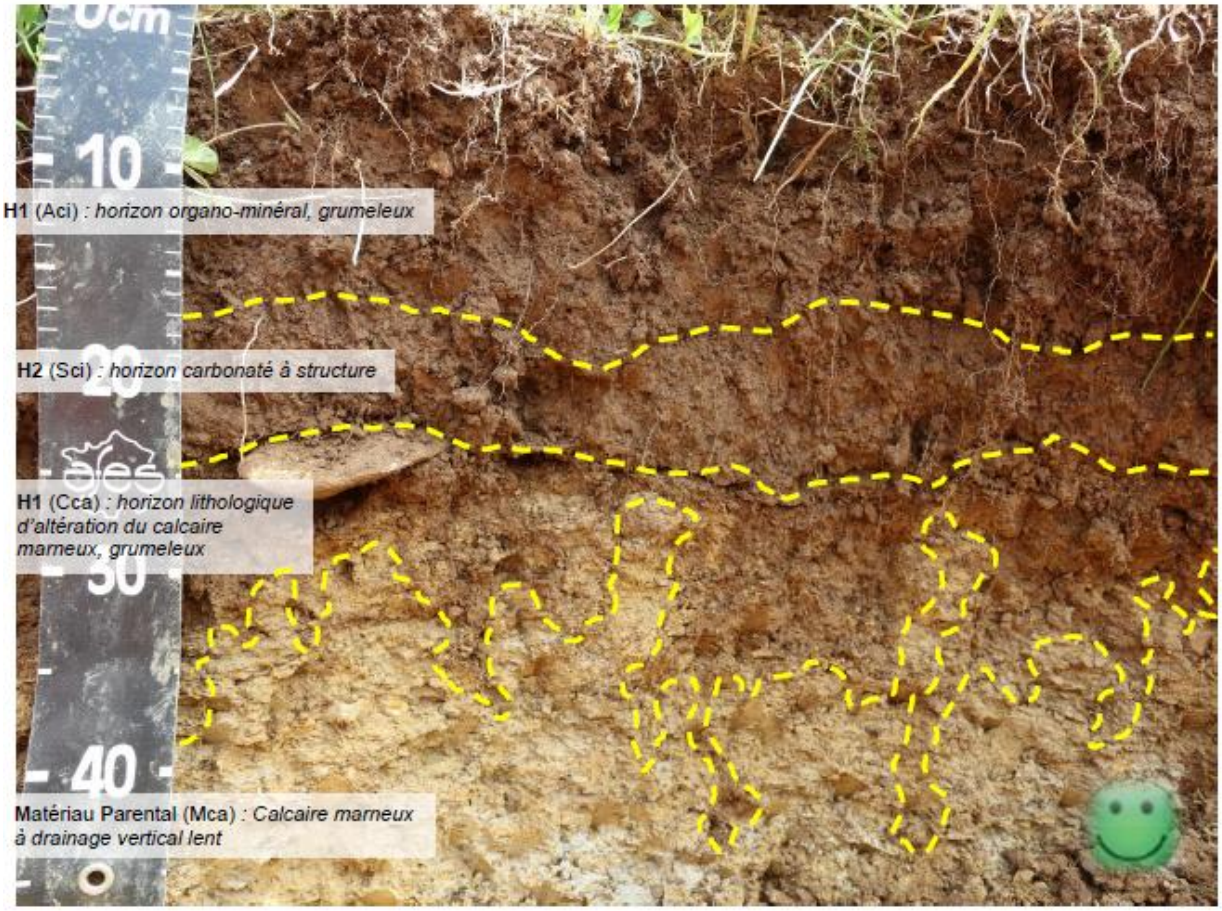
Programme « Haies »
Bilan pédologique
Cademène (25)

AGRICULTURES & TERRITOIRES
CHAMBRE D'AGRICULTURE
BOURGOGNE-FRANCHE-COMTÉ



+ Diagnostic pédologique :

BILAN : Sol aéré superficiel de plateau, non calcaire, à texture équilibrée issu d'un calcaire marneux (J3: Callovien) à drainage vertical naturellement modéré mais à capacité moyenne de rétention en eau (<100mm). L'organisation des horizons offre une qualité organo-physique permettant le développement d'une excellente activité de la macrofaune lombricienne ainsi que l'installation sans contrainte du système racinaire qui s'installe dans les volumes altérés du calcaire marneux (horizon Cca).



Programme « Haies »/ CAI-25, FDC-25 / Bilan pédologique_CRA-BFC

7. Boîte à outil pour réussir sa Haie

La boîte à outils pour bien réussir sa haie

Recommandations



BIEN DÉFINIR SES OBJECTIFS POUR ORGANISER SON IMPLANTATION

- Brise-vent
- Auxiliaire de culture
- Antiérosive
- Ombrage
- Fourrage

Une haie peut très bien avoir plusieurs objectifs.

Il est possible d'installer soit :

- ✓ 1 rang
- ✓ 2 rangs
- ✓ 3 rangs
- ✓ des arbres isolés
- ✓ un alignement intraparcellaire
- ✓ Bosquet

Schéma d'implantation d'une haie 1 rang 3 strates pour un objectif de brise-vent :



- Prévoir à l'avance une séquence type de plantation pour répartir les plants et la répéter.
- Les arbres de haut-jet (les plus grands), sont positionnés tous les 8 à 10 m (espace nécessaire à l'arbre adulte). Le tronc sera gainé par les arbustes.

L'espacement entre les plants : de 1 à 2 m maximum sauf besoin brise vent rapide et production de plaquette avec création de têtard ou trogne.

Espacement entre les lignes de plants : de 1 à 1,5 m maximum.

Avantage : Effet naturel
Une haie multi-strates = une haie multi-avantages agronomiques et faunistiques

BIEN DÉFINIR LE TYPE DE SOL POUR LE CHOIX DES ESSENCES

Ce qu'il faut connaître sur son sol : profondeur prospectable par les racines, proportion sable/limon/argile, acide/basique, présence de cailloux...

- ✓ **Contraintes climatiques :** inondable, possibilité de gelées tardives, sècheresses estivales.
- ✓ **Contraintes mécaniques :** largeur de travail en fonction des engins, pour définir les écartements.

CHOIX DES PLANTS

Attention à la provenance des plants, privilégier des plants locaux, garantis d'être adaptés à vos sols et climats en choisissant par exemple la marque « Végétal local® » ou utilisation des Matériaux Forestiers de Reproduction - M.F.R. (climats différents, sols différents).

- ✓ Adaptation des essences en fonction du type de sol et réchauffement climatique.
- ✓ Si il y a de l'élevage, il faut faire **ATTENTION** à la toxicité de certaines essences en fonction des animaux.
- ✓ L'arrachage en forêt est à proscrire (propriété, mauvais arrachage, fastidieux...).

LES DIFFÉRENTS TYPES DE PLANTS

Plants en godets



Plants à racines nues



Les plants en godets sont plus chers mais offrent une meilleure flexibilité de plantation (de mi-septembre à fin février) et la conservation est moins délicate avant la plantation.

- ✓ **Si le sol le permet, il existe une possibilité de bouture pour le saule et le peuplier principalement.**

Des plants de petites tailles (30-50 cm) reprendront plus facilement que des plants de grandes tailles (1 m ou plus).

PRÉPARATION DE SOL

Elle consiste à un décapage en surface de la strate herbacée (pour limiter la concurrence racinaire de l'herbe par rapport au système racinaire du futur plant) et à un décompactage en profondeur sans lissage et mélange des différents horizons !

Période : dès août septembre si sol très argileux (minimum un mois avant la plantation) – puis repos (gel/dégel) – Pas de préparation de sol la veille de la plantation.

ATTENTION au labour dans les sols argileux.
Préconiser un travail à la mini pelle équipée de dents (type becker ou équivalent)







Réception des plants (à la livraison) : il faut être vigilant à la quantité et la qualité (rectitude, chevelu, sanitaire, confirmité entre le devis et le bon de livraison).



LORS DE LA PLANTATION

Stockage avant plantation :

En sac de conservation



En jauge



Habillage des racines avant l'installation dans le cas d'une utilisation de plants en racines nues : il faut couper au sécateur les extrémités des racines trop longues ou endommagées.

Si le sol est très pauvre, il est nécessaire de prévoir un pralinage (trempage du système racinaire dans un mélange liquide = pralin composé de terre, bouse de vache et d'eau).



La plantation :

- ✓ Elle se réalise à la main de novembre à fin avril
- ✓ Tige verticale, collet au niveau du sol, racines étalées, terre fine autour du plant et un peu tassée.







8. Plan de Gestion Durable des Haies



www.bourgognefranchecomte.chambres-agriculture.fr

Crédits photo : ©chambres d'agriculture de Bourgogne-Franche-Comté, ©pixabay.com

agence de l'eau RHÔNE MÉDITERRANÉE CORSE établissement public de l'État

AAP Biodiversité 2019

AGRICULTURES & TERRITOIRES CHAMBRES D'AGRICULTURE BOURGOGNE-FRANCHE-COMTÉ

Le plan de gestion durable des haies

Un outil de valorisation des haies

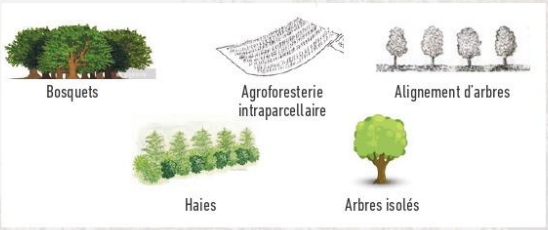


QU'EST CE QUE LE PLAN DE GESTION DURABLE DES HAIES (PGDH) ?

Le PGDH est un document de diagnostic et de préconisations techniques établi par un conseiller expert afin de permettre à l'agriculteur d'intégrer ses haies dans l'exploitation en les gérant, les valorisant et en les entretenant. Ce diagnostic doit intégrer les enjeux qui peuvent être d'ordre réglementaire, climatique, de production, de biodiversité, de sols, de l'eau, des paysages, du stockage carbone...

Il permet à l'agriculteur de projeter la gestion de ses haies à court, moyen et long terme avec un chiffrage et un calendrier des interventions ainsi qu'une estimation de valorisation des bois issus des travaux d'entretien. Un PGDH s'est aussi un suivi et un accompagnement personnalisé durant lequel un conseil sur les pratiques, les modalités de taille et la surveillance de reprise de plantations est délivré.

Quels éléments arborés sont pris en compte dans le plan de gestion ?



Un plan de gestion nécessite 4 à 6 jours pour un technicien spécialisé (en fonction du linéaire à traiter).
Il se déroule en plusieurs phases.

Inventaire de l'existant → Objectifs de l'exploitation et calendrier des travaux → Cartographie de l'exploitation → Annexes techniques

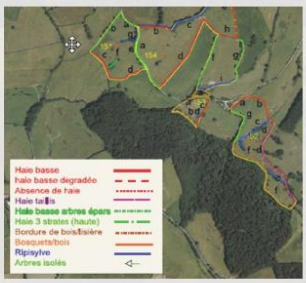
PHASE 1 : L'INVENTAIRE DE L'EXISTANT, DIAGNOSTIC



PHASE 2 : LA DÉFINITION DES OBJECTIFS DE L'EXPLOITANT ET L'ÉTABLISSEMENT D'UN CALENDRIER DE TRAVAUX



PHASE 3 : CARTOGRAPHIE DE L'EXPLOITATION ET DES HAIES PAR TYPOLOGIE



© Etienne Bourgy

PHASE 4 : ANNEXES TECHNIQUES

Ces annexes regroupent des documents qui ont permis l'élaboration du PGDH tels que la typologie des haies, des éléments économiques, des tableaux de conversion des volumes...

Unité	Equivalent bois humide			Equivalent bois sec		Equivalent bois énergie		
	st	map	tonne	map	tonne	KWh	L fioul	tep
1m3 bois plein	1,5	3	1	2,58	0,645	2475	249	0,213
1 MAP humide	0,5	1	0,33	0,86	0,215	825	83	0,071
1 MAP Bois sec	0,58	1,25	0,44	1	0,25	959	96	0,083
1 t plaquette sèche	2,33	4,6	1,76	4	1	3837	384	0,331
1 tep	7	14	4,75	12	3	11600	1160	1

9. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes, Laboratoires Spiral (2021)

Couternon, le 5 novembre 2021

RAPPORT D'ANALYSE Ref. 2125
Monsieur Didier Tourenne Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort 130 bis rue de Belfort CS 40939 25021 Besançon Cedex

Echantillons : Racines prélevées le 13/08/2021 sur les parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit

1. Introduction

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques entre les racines de la plupart des espèces végétales et des champignons du sol. De telles associations sont apparues avec les premières plantes terrestres il y a plus de 450 millions d'années (Redecker et al. 2020).
Les champignons mycorhiziens à arbuscules sont intéressants dans le cadre de l'agroforesterie puisqu'ils colonisent les racines des plantes herbacées dont celles des prairies ainsi que certains arbres et arbustes présents dans les haies. Ces champignons forment un réseau mycélien abondant dans le sol qui leur permet d'absorber des éléments peu mobiles, tels que le phosphore mais également l'azote. Cette absorption minérale accrue permet une meilleure croissance de la plante et limiterait les pertes d'azote et de phosphore par le lessivage des sols (Cavagnaro et al. 2015). Leur activité est complémentaire de celle des champignons ectomycorhiziens qui entrent en symbiose avec les racines de nombreux arbres, comme le tilleul, le charme ou le noisetier. Ces champignons ont une meilleure capacité à dégrader la matière organique et peuvent ainsi libérer des éléments minéraux que les champignons mycorhiziens à arbuscules peuvent absorber.
Les champignons mycorhiziens à arbuscules permettent également une augmentation de la résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques (Gianinazzi et al. 2010). En particulier, les champignons mycorhiziens à arbuscules augmentent la tolérance au stress hydrique chez leurs plantes hôtes (Auge 2001). Cette propriété deviendra de plus en plus intéressante dans le contexte des changements climatiques.
L'agriculture intensive utilisant des quantités importantes d'intrants chimiques a résulté en une large diminution des populations naturelles de champignons mycorhiziens à arbuscules. Cependant les techniques plus respectueuses de l'environnement permettent de restaurer ces populations au bénéfice de la croissance et la santé des plantes. En particulier, il a été montré que l'agroforesterie résultait en une augmentation des taux de mycorhization des racines de blé (Bettie-Laclau et al. 2019).

Dans le cadre de ce projet, nous avons pour objectif de tester les hypothèses suivantes :

- Les haies permettent d'augmenter le taux de mycorhization des racines des plantes herbacées des prairies.
- L'augmentation du taux de mycorhization résulte en une meilleure absorption du phosphore et de l'azote par les plantes et réduit les pertes des éléments minéraux par le lessivage des sols.
- L'augmentation du taux de mycorhization augmente la tolérance des plantes au stress hydrique et a un effet positif sur la qualité du fourrage.

2. Matériel et méthodes

Dans chaque parcelle, les racines des prairies ont été prélevées tous les 5 m à 0, 2 et 20 m de distance de la haie à raison de 10 répétitions par ligne (6 répétitions pour la parcelle de Cademène pour laquelle la longueur de haie étudiée est plus faible). Pour chaque échantillon, la végétation a été relevée (présence de plantes autres que des graminées). Les racines ont été colorées à l'encre noire pour estimer l'intensité de mycorhization (M%) selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).
Les analyses statistiques (test de Kruskal-Wallis) et les graphiques associés ont été réalisés avec le logiciel R (R Core Team (2021)).

De plus, des racines de quelques arbres et arbustes des haies ont également été prélevées pour l'observation de leur mycorhization dans le cadre d'une étude préliminaire. Les espèces végétales formant des mycorhizes à arbuscules (viorne, cornouiller, Prunus) ont été traitées de la même façon que les racines des prairies.
Pour les espèces végétales formant des ectomycorhizes (tilleul, noisetier, charme), les racines ont été observées sous loupe binoculaire et le taux de mycorhization estimé selon une notation allant de 0 à 5 (Giraud 1990).
Cette étude étant préliminaire, les observations ne sont pas suffisantes pour une analyse statistique.

3. Résultats

3.1 Résultats par parcelle

Les taux de mycorhization des racines sont présentés par parcelle dans les tableaux suivants. Quelques exemples d'observations microscopiques sont présentés (Figures 1 à 4).

- **Parcelle de Bolandoz**

Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux de mycorhization (M%)	Taux de mycorhization (ectomycorhizes) (/5)
Haie	Noisetier		-	**2,0**
Haie	Charme		-	**3,5**
Haie	Viorne		**71,00**	
Haie	Prunus		**1,24**	
0	1	Graminées	**15,27**	
0	2	Graminées, trèfle	**19,67**	
0	3	Graminées, autre plante	**16,62**	
0	4	Graminées	**2,14**	
0	5	Graminées	**3,21**	
0	6	Graminées	**14,67**	
0	7	Graminées	**14,58**	
0	8	Graminées	**12,77**	
0	9	Graminées	**27,14**	
0	10	Graminées	**3,28**	
2	1	Graminées	**16,29**	
2	2	Graminées, trèfle	**6,40**	
2	3	Graminées	**22,22**	
2	4	Graminées	**6,59**	
2	5	Graminées	**15,17**	
2	6	Graminées, trèfle, plantain	**22,20**	
2	7	Graminées, trèfle	**11,36**	
2	8	Graminées	**22,00**	
2	9	Graminées	**2,96**	
2	10	Graminées, trèfle	**13,10**	
20	1	Graminées	**30,19**	
20	2	Graminées	**3,45**	
20	3	Graminées	**4,18**	
20	4	Graminées	**2,76**	
20	5	Graminées	**8,40**	
20	6	Graminées, plantain	**3,37**	
20	7	Graminées	**5,77**	
20	8	Graminées	**1,70**	
20	9	Graminées	**15,27**	
20	10	Graminées	**9,30**	

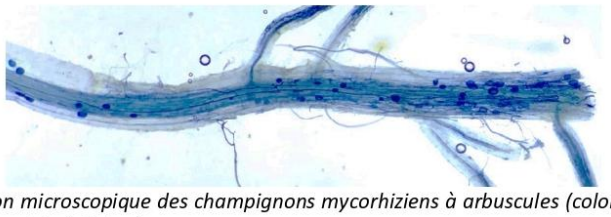


Fig. 1. Observation microscopique des champignons mycorhiziens à arbuscules (colorés en bleu) dans des racines de la prairie à Bolandoz.

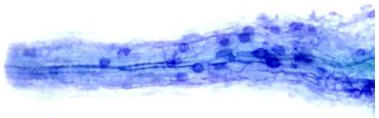


Fig. 2. Observation microscopique des champignons mycorhiziens à arbuscules (colorés en bleu) dans des racines de viorne de la haie de la parcelle de Bolandoz.

- **Parcelle de Cademène**

Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux de mycorhization (M%)	Taux de mycorhization (ectomycorhizes) (/5)
Haie	Tilleul		-	4,00
Haie	Charme		-	4 ,00
Haie	Cornouiller		7,29	
0	1	Graminées	27,59	
0	2	Graminées	6,15	
0	3	Graminées	11,77	
0	4	Graminées	16,15	
0	5	Graminées	32,93	
0	6	Graminées	16,67	
2	1	Graminées	5,69	
2	2	Graminées	53,21	
2	3	Graminées	25,36	
2	4	Graminées	15,83	
2	5	Graminées	4,17	
2	6	Graminées	51,61	
20	1	Graminées	21,35	
20	2	Graminées	24,52	
20	3	Graminées	17,78	
20	4	Graminées	30,83	
20	5	Graminées	20,37	
20	6	Graminées	34,69	



Fig. 3. Observation microscopique des ectomycorhizes de charme de la haie de Cademène.

- **Parcelle de Lizine Grand**

Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux de mycorhization (M%)
Haie	Cornouiller		**26,96**
Haie	Viorne		**11,7**
0	1	Graminées, pissenlit, plantain	**7,12**
0	2	Graminées, plantain	**4,54**
0	3	Graminées, plantain	**3,85**
0	4	Graminées	**5,68**
0	5	Graminées	**2,96**
0	6	Graminées, plantain	**2,27**
0	7	Graminées	**3,26**
0	8	Graminées, plantain	**5,30**
0	9	Graminées	**0,69**
0	10	Graminées	**10,00**
2	1	Graminées	**9,29**
2	2	Graminées, plantain	**28,78**
2	3	Graminées, plantain	**19,65**
2	4	Graminées, trèfle	**5,00**
2	5	Graminées	**1,84**
2	6	Graminées	**8,79**
2	7	Graminées, plantain	**8,07**
2	8	Graminées, plantain	**6,23**
2	9	Graminées, plantain, trèfle	**19,4**
2	10	Graminées	**6,03**
20	1	Graminées, plantain	**11,67**
20	2	Graminées, pissenlit, trèfle	**13,00**
20	3	Graminées, plantain	**12,68**
20	4	Graminées	**24,66**
20	5	Graminées, plantain	**15,27**
20	6	Graminées	**6,07**
20	7	Graminées, trèfle	**3,89**
20	8	Graminées, trèfle	**12,9**
20	9	Graminées	**19,09**
20	10	Graminées, plantain	**21,35**

- **Parcelle de Lizine Petit**

Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux de mycorhization (M%)
Haie	Cornouiller		23,85
Haie	Prunus		3,00
0	1	Graminées	9,44
0	2	Graminées, trèfle	13,00
0	3	Graminées, trèfle	10,58
0	4	Graminées	6,20
0	5	Graminées	24,44
0	6	Graminées	17,96
0	7	Graminées, trèfle	20,97
0	8	Graminées, autre plante	25,76
0	9	Graminées, liseron	23,97
0	10	Graminées	22,59
2	1	Graminées, liseron	2,47
2	2	Graminées	17,50
2	3	Graminées, liseron	4,68
2	4	Graminées	4,59
2	5	Graminées	5,59
2	6	Graminées	24,8
2	7	Graminées, trèfle	16,67
2	8	Graminées, trèfle	15,40
2	9	Graminées, trèfle, pissenlit	13,27
2	10	Graminées, trèfle	10,25
20	1	Graminées, pissenlit, trèfle	7,95
20	2	Graminées, trèfle, pissenlit	19,20
20	3	Graminées, pissenlit, trèfle	20,62
20	4	Graminées, pissenlit, trèfle	9,76
20	5	Graminées, trèfle, pissenlit	29,32
20	6	Graminées, pissenlit, trèfle	7,96
20	7	Graminées, autre plante	9,14
20	8	Graminées, trèfle	8,61
20	9	Graminées, trèfle, plantain	10,44
20	10	Graminées, trèfle, pissenlit	27,59

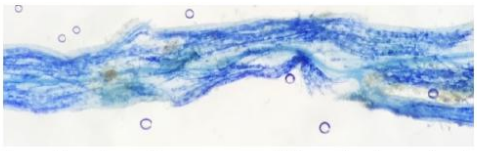


Fig. 4. Observation microscopique des champignons mycorhiziens à arbuscules (colorés en bleu) dans des racines de la prairie à Lizine Petit.

3.2 Analyses statistiques et interprétation des résultats

- *Mycorhization des arbres et arbustes des haies*

Concernant les arbres formant des ectomycorhizes, on observe généralement une bonne mycorhization, particulièrement dans la haie de Cademène qui est bien développée. Dans cette haie, on observe notamment la présence du champignon *Cenococcum geophilum* sur les racines de charme et de tilleul (Fig.3).
Au niveau des arbustes formant des mycorhizes à arbuscules, on observe globalement des variations importantes des taux de mycorhization. Notamment, le Prunus apparaît peu mycorhizé en comparaison avec la viorne et le cornouiller. Cependant, l'échantillonnage est trop petit pour pouvoir réaliser une analyse statistique. Il faudrait une étude plus approfondie pour vérifier ces résultats.

- *Analyse globale des taux de mycorhization des racines de prairies*

La Figure 5 montre la distribution des taux de mycorhization sur les différentes lignes (0, 2 ou 20 m) des parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit. On constate une forte variabilité entre les échantillons, les taux de mycorhization variant de 2% à 52%.
Les taux de mycorhization les plus élevés sont sur la parcelle de Cademène et les plus faibles sont au niveau de la ligne 0 m de la parcelle de Lizine Grand. Les autres valeurs sont intermédiaires.

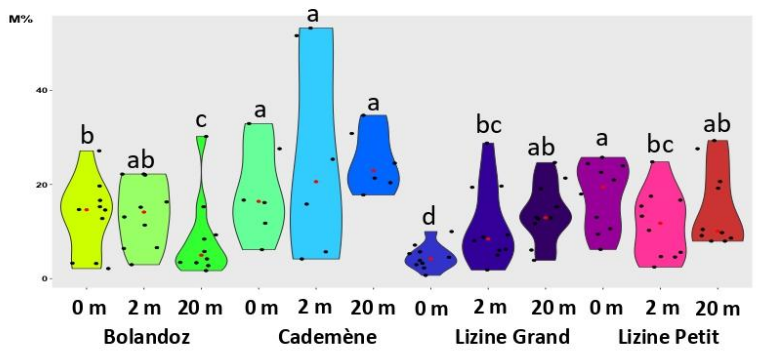


Fig. 5. Diagramme en violon des taux de mycorhization (M%) des racines de prairie à 0, 2 et 20 m des haies sur les parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit. La médiane est représentée par un point rouge. Des lettres différentes indiquent des différences significatives d'après le test de Kruskal-Wallis (P<0,05).

La distribution spatiale des taux de mycorhization sur les lignes des différentes parcelles est présentée en Figure 6. Elle montre la forte variabilité des taux de mycorhization sur chaque parcelle, même entre deux prélèvements proches. Une tendance au parallélisme entre les lignes 0 et 2 m est observée sur les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit. Ceci pourrait être expliqué par des différences de terrain sur la longueur des parcelles.

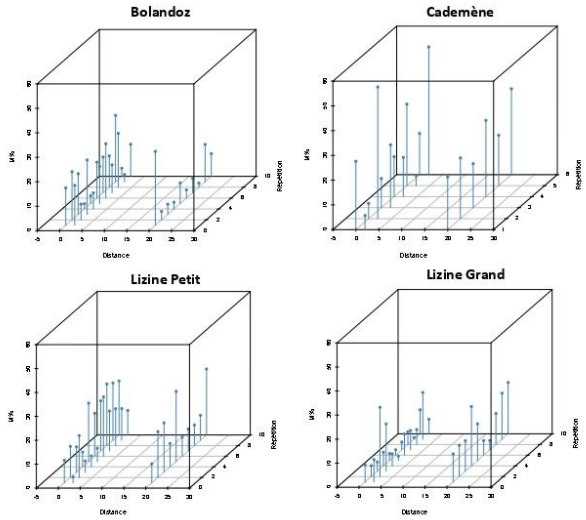


Fig. 6. Distribution spatiale des taux de mycorhization (M%) des racines de prairie à 0, 2 et 20 m des haies sur les différentes parcelles (10 répétitions pour les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit et 6 répétitions pour la parcelle de Cademène) .

On observe des différences significatives entre les parcelles, toutes distances confondues (Fig. 7A). Ainsi les taux de mycorhization sont plus élevés dans la parcelle de Cademène que dans la parcelle de Lizine Grand et sont intermédiaires dans les parcelles de Bolandoz et Lizine Petit. En revanche, on n'observe pas de différences significatives entre les distances aux haies, toutes parcelles confondues (Fig. 7B). Ceci indique que la haie n'a pas d'influence directe sur les taux de mycorhization sauf sur la parcelle de Lizine Grand (Fig. 5).

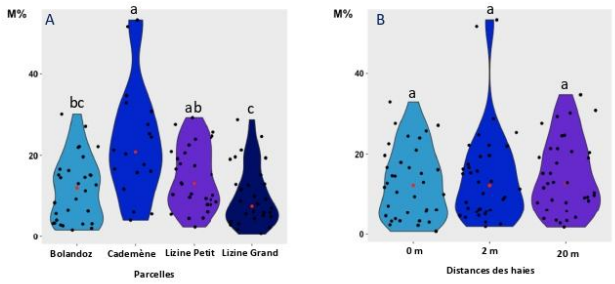


Fig. 7. Diagrammes en violon des taux de mycorhization (M%) des racines de prairie dans les différentes parcelles (A) ou aux différentes distances des haies (B). La médiane est représentée par un point rouge. Des lettres différentes indiquent des différences significatives d'après le test de Kruskal-Wallis (P<0,05).

- *Impact de la végétation*

Les espèces végétales varient quant à leur affinité pour les champignons mycorhiziens à arbuscules. En particulier, le trèfle est une plante qui mycorhize très bien par rapport aux graminées et par conséquent sa présence dans un échantillon de racines pourrait augmenter le taux de mycorhization. Le trèfle est présent sur les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit. Sur l'ensemble des échantillons de ces parcelles, on constate effectivement que les taux de mycorhization sont plus élevés lorsque le trèfle est présent (Fig. 8).

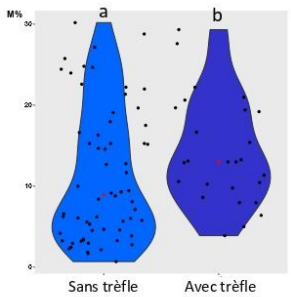


Fig. 8. Diagramme en violon des taux de mycorhization (M%) des échantillons de racines de prairie comprenant ou non du trèfle pour les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit. La médiane est représentée par un point rouge. Les lettres différentes indiquent une différence significative d'après le test de Kruskal-Wallis (P<0,05).

- *Impact de l'azote et lien avec les indices NPK de la végétation*

Des études de corrélation ont été réalisées entre les taux de mycorhization et les reliquats azotés des sols et les indices NPK de la végétation. Pour l'instant, les données disponibles ne sont pas suffisantes pour établir un lien entre les taux de mycorhization et les autres paramètres étudiés.

- *Echantillonnage*

Pour les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit, nous avons prélevé 10 échantillons de racines par ligne. On pourrait éventuellement envisager de réduire le nombre de répétitions à 5. Nous avons donc comparé nos résultats aux résultats théoriques si nous avions réalisé les analyses sur 5 échantillons par ligne situés tous les 10 m (Fig. 9).
On peut ainsi voir qu'avec 10 répétitions, nous pouvons observer des différences significatives entre les échantillons (Fig. 9A) mais ce n'est pas le cas avec 5 répétitions (Fig. 9B). Les études devront donc se poursuivre avec 10 répétitions par ligne pour les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit. Il faudra donc également interpréter avec précaution les résultats obtenus sur la parcelle de Cademène où 6 échantillons ont été prélevés à cause de la longueur réduite de la haie étudiée.

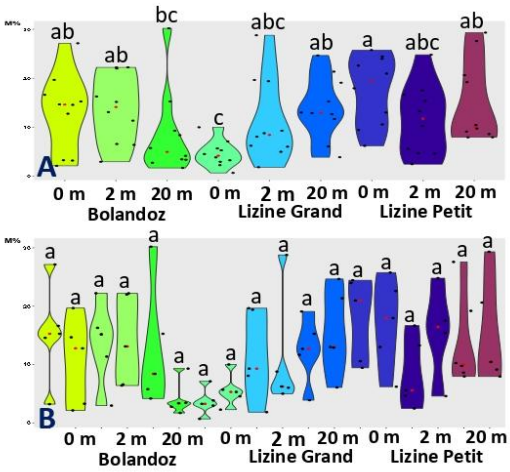


Fig. 9. Diagrammes en violon des taux de mycorhization (M%) des racines de prairie pour les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit en étudiant 10 échantillons (A) ou deux fois 5 échantillons répartis tous les 10 mètres (B). La médiane est représentée par un point rouge. Les lettres différentes indiquent une différence significative d'après le test de Kruskal-Wallis (P<0,05).

4. Conclusions

En conclusion,

- Les arbres formant des ectomycorhizes sont bien mycorhizés et peuvent contribuer à l'activité biologique du sol. Les arbres et arbustes formant des mycorhizes à arbuscules ont des taux de mycorhization variables qui pourraient être liés aux espèces végétales. Un échantillonnage plus important serait nécessaire pour approfondir ces résultats.
- Les taux de mycorhization des plantes au niveau des prairies sont très variables et cela peut être lié à la végétation mais également aux variations du terrain.
- On observe des variations de mycorhization entre les parcelles. Cela pourrait être expliqué par des variations au niveau des propriétés physico-chimiques du sol, des méthodes de fertilisation ou de l'élevage. Ces données non encore disponibles seront importantes pour interpréter les résultats.
- On n'observe pas de différences significatives entre les différentes distances par rapport aux haies, sauf pour la ligne 0 à Lizine Grand. Cependant il faudrait répéter cette étude dans d'autres conditions climatiques, notamment en période de forte sécheresse où les haies pourraient avoir un impact plus important.
- Aucune corrélation entre les taux de mycorhization et les reliquats azotés du sol ou les indices NPK de la végétation n'a été notée avec les données existantes. Cette analyse statistique pourra être répétée lorsque davantage de données seront disponibles.
- Un prélèvement avec 10 répétitions par ligne est important pour les analyses statistiques compte tenu de la grande variabilité des taux de mycorhization.

Références bibliographiques

Auge RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11 : 3-42

Bettie-Laclau P, Taschen E, Plassard C, Dezette D, Abadie J, Arnal D, Benezech P, Duthoit M, Pablo AL, Jourdan C, Laclau JP, Bertrand I, Taudière Adrien, Hinsinger P (2019) Role of trees and herbaceous vegetation beneath trees in maintaining arbuscular mycorrhizal communities in temperate alley cropping systems. Plant Soil 453 : 153-171

Cavagnaro TR, Bender SF, Asghari HR, van der Heijden MGA (2015) The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. Trends Plant Sci 20 : 283-290

Gianinazzi S, Gollotte A, Binet MN, van Tuinen D, Redecker D, Wipf D (2010) Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. Mycorrhiza 20 : 510-530

Giraud M (1990) Mycorhizes : Prélèvement et analyse. Dans « La truffe, guide pratique », Verlhac A (ed), CTIFL Publ., Paris

R Core Team (2021) R: A language and environment for statistical computing. R foundation for Statistial Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org.

Redecker D, Kodner R, Graham LE (2000) Glomelan fungi from the Ordovician. Science 289 : 1920-1921

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V Gianinazzi-Pearson, S Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

A Couternon, le 5 novembre 2021



Dr Armelle Gollotte

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

10. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes, Laboratoires Spiral (2022).

Couternon, le 24 novembre 2022

RAPPORT D'ANALYSE **Ref. C2211002**
Monsieur Didier Tourenne **Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort** **130 bis rue de Belfort** **CS 40939** **25021 Besançon Cedex**

Echantillons : Racines de prairies prélevées le 11/07/2022 sur les parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit

Dans chaque parcelle, les racines des prairies ont été prélevées tous les 5 m à 2, 5 et 20 m de distance de la haie à raison de 10 répétitions par ligne (6 répétitions pour la parcelle de Cademène pour laquelle la longueur de haie étudiée est plus petite). Pour chaque échantillon, la végétation a été relevée (présence de plantes autres que des graminées). Les racines ont été colorées à l'encre noire pour estimer l'intensité de mycorhization (M%) selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).
Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R 4.2.2.

Résultats

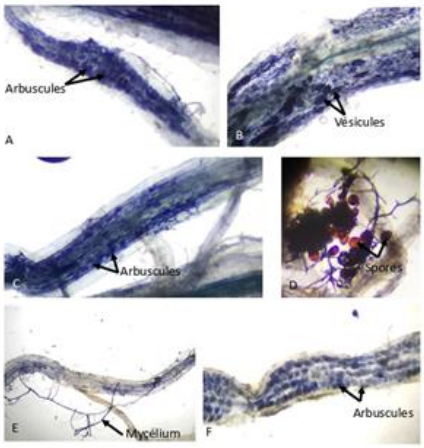


Fig. 1. Exemple d'observation microscopique des champignons mycorhiziens à arbuscules (colorés en bleu) dans des racines de prairie à Bolandoz (A), Lizine Grand (B), Lizine Petit (C,D) et Cademène (E,F). On observe facilement les arbuscules et les vésicules caractéristiques de la symbiose. On peut également parfois observer le mycélium qui se développe à l'extérieur de la racine (E) ainsi que des spores (D) qui sont généralement éliminés lors de la préparation des racines.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux de mycorhization (M%)
Bolandoz	2	1	Graminées	9,13
Bolandoz	2	2	Graminées	5,33
Bolandoz	2	3	Graminées, pissenlit, trèfle	14,58
Bolandoz	2	4	Graminées, pissenlit, trèfle	9,46
Bolandoz	2	5	Graminées	9,17
Bolandoz	2	6	Graminées	18,96
Bolandoz	2	7	Graminées, trèfle	11,8
Bolandoz	2	8	Graminées	28,4
Bolandoz	2	9	Graminées, pissenlit, trèfle	21,24
Bolandoz	2	10	Graminées	2,57
Bolandoz	5	1	Graminées, trèfle	27,11
Bolandoz	5	2	Graminées, trèfle	1,41
Bolandoz	5	3	Graminées	11,21
Bolandoz	5	4	Graminées, trèfle	20,08
Bolandoz	5	5	Graminées	12,05
Bolandoz	5	6	Graminées	10,62
Bolandoz	5	7	Graminées	12,04
Bolandoz	5	8	Graminées, trèfle	13,79
Bolandoz	5	9	Graminées, trèfle	2,41
Bolandoz	5	10	Graminées	0,43
Bolandoz	20	1	Graminées	9,2
Bolandoz	20	2	Graminées	5,64
Bolandoz	20	3	Graminées	3,8
Bolandoz	20	4	Graminées	4,5
Bolandoz	20	5	Graminées	5,94
Bolandoz	20	6	Graminées	5,57
Bolandoz	20	7	Graminées	0,67
Bolandoz	20	8	Graminées, trèfle	1,56
Bolandoz	20	9	Graminées	2,29
Bolandoz	20	10	Graminées, trèfle	6,29

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux de mycorhization (M%)
Cademène	2	1	Graminées	6,00
Cademène	2	2	Graminées	4,95
Cademène	2	3	Graminées	4,7
Cademène	2	4	Graminées, autre	4,36
Cademène	2	5	Graminées	5,42
Cademène	2	6	Graminées	0,6
Cademène	5	1	Graminées	36,29
Cademène	5	2	Graminées	1,41
Cademène	5	3	Graminées	23,83
Cademène	5	4	Plantain, trèfle	18,35
Cademène	5	5	Graminées, Plantain	12,14
Cademène	5	6	Graminées, bouton d'or	12,26
Cademène	20	1	Graminées	1,28
Cademène	20	2	Graminées	11,31
Cademène	20	3	Graminées	7,92
Cademène	20	4	Graminées	5,07
Cademène	20	5	Graminées	7,68
Cademène	20	6	Graminées, autre	13,44

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

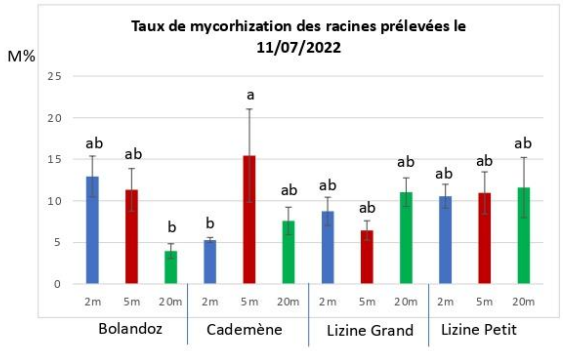
Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux de mycorhization (M%)
Lizine_Grand	2	1	Graminées	2,69
Lizine_Grand	2	2	Graminées	12,11
Lizine_Grand	2	3	Graminées, trèfle	5,00
Lizine_Grand	2	4	Graminées	9,79
Lizine_Grand	2	5	Graminées	16,28
Lizine_Grand	2	6	Graminées	4,82
Lizine_Grand	2	7	Graminées, trèfle	2,37
Lizine_Grand	2	8	Graminées, trèfle	13,2
Lizine_Grand	2	9	Graminées	15,92
Lizine_Grand	2	10	Graminées	12,56
Lizine_Grand	5	1	Graminées	7,2
Lizine_Grand	5	2	Graminées, pissenlit	4,77
Lizine_Grand	5	3	Graminées, pissenlit, bouton d'or	0,5
Lizine_Grand	5	4	Graminées, bouton d'or, autre	10,85
Lizine_Grand	5	5	Graminées, autre	7,31
Lizine_Grand	5	6	Graminées	7,45
Lizine_Grand	5	7	Graminées	5,98
Lizine_Grand	5	8	Graminées, trèfle	6,29
Lizine_Grand	5	9	Graminées, pissenlit, trèfle	1,45
Lizine_Grand	5	10	Graminées, pissenlit, trèfle	9,28
Lizine_Grand	20	1	Graminées, pissenlit, trèfle	13,84
Lizine_Grand	20	2	Graminées, plantain, Trèfle	5,67
Lizine_Grand	20	3	Graminées, trèfle	14,1
Lizine_Grand	20	4	Graminées, trèfle, bouton d'or	17,29
Lizine_Grand	20	5	Graminées, trèfle	4,68
Lizine_Grand	20	6	Graminées	5,33
Lizine_Grand	20	7	Graminées, trèfle, bouton d'or	9,25
Lizine_Grand	20	8	Graminées, trèfle	9,94
Lizine_Grand	20	9	Graminées, pissenlit, trèfle	21,04
Lizine_Grand	20	10	Graminées, trèfle	35

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux de mycorhization (M%)
Lizine_Petit	2	1	Graminées, autre	2,38
Lizine_Petit	2	2	Graminées, trèfle	15,42
Lizine_Petit	2	3	Graminées, plantain, Trèfle	10,7
Lizine_Petit	2	4	Graminées, autres	10,46
Lizine_Petit	2	5	Graminées	8,52
Lizine_Petit	2	6	Graminées, trèfle, pissenlit	15,83
Lizine_Petit	2	7	Graminées, trèfle	9,7
Lizine_Petit	2	8	Graminées	4,47
Lizine_Petit	2	9	Graminées, trèfle	14,64
Lizine_Petit	2	10	Graminées, autres	15,48
Lizine_Petit	5	1	Graminées, autre	5,83
Lizine_Petit	5	2	Graminées, trèfle	11,32
Lizine_Petit	5	3	Graminées	10,48
Lizine_Petit	5	4	Graminées	5,21
Lizine_Petit	5	5	Graminées, trèfle	7,19
Lizine_Petit	5	6	Graminées	19,68
Lizine_Petit	5	7	Graminées, trèfle	2,63
Lizine_Petit	5	8	Graminées	3,88
Lizine_Petit	5	9	Graminées	27,89
Lizine_Petit	5	10	Graminées	5,96
Lizine_Petit	20	1	Graminées, plantain	35,77
Lizine_Petit	20	2	Graminées	1,7
Lizine_Petit	20	3	Graminées	5,17
Lizine_Petit	20	4	Graminées, autre	19,03
Lizine_Petit	20	5	Graminées, trèfle	7,03
Lizine_Petit	20	6	Graminées	25,83
Lizine_Petit	20	7	Graminées	4,83
Lizine_Petit	20	8	Graminées	8,7
Lizine_Petit	20	9	Graminées	1,97
Lizine_Petit	20	10	Graminées	5,15

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Les données sont résumées dans le graphique suivant (moyenne ± erreur standard de la moyenne).



Conclusions

Les taux de mycorhization sont relativement faibles par rapport aux prélèvements d'août 2021 et mai 2022. Ceci est probablement lié à la sécheresse qui s'installait au début du mois de juillet 2022.

On observe des différences significatives entre les lignes sur les parcelles de Bolandoz et Cademène. A Bolandoz, les taux de mycorhization les plus élevés sont situés à 2 et 5 m de la haie. A Cademène, les taux de mycorhization les plus faibles sont à 2 m de la haie.

Une analyse statistique détaillée des taux de mycorhization en lien avec les propriétés du sol et de la végétation sera présentée dans le rapport annuel.

Références bibliographiques

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V Gianinazzi-Pearson, S Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

A Couternon, le 24 novembre 2022

Dr Armelle Gollotte

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

11. Rapport annuel : synthèse des résultats des analyses de 2021 et 2022, Laboratoires Spiral.

Couternon, le 9 décembre 2022

RAPPORT ANNUEL- SYNTHESE DES RESULTATS DES ANALYSES DE 2021 ET 2022 Echantillons : Racines de prairies prélevées en 2021 et 2022 sur les parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit Ref. C2211002
Monsieur Didier Tourenne Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort 130 bis rue de Belfort CS 40939 25021 Besançon Cedex

1. Introduction

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques entre les racines de la plupart des espèces végétales et des champignons du sol. De telles associations sont apparues avec les premières plantes terrestres il y a plus de 450 millions d'années (Redecker et al. 2020).
Les champignons mycorhiziens à arbuscules sont intéressants dans le cadre de l'agroforesterie puisqu'ils colonisent les racines des plantes herbacées dont celles des prairies ainsi que de nombreux arbustes présents dans les haies. Ces champignons forment un réseau mycélien abondant dans le sol qui leur permet d'absorber des éléments peu mobiles, tels que le phosphore mais également l'azote. Cette absorption minérale accrue permet une meilleure croissance de la plante et limiterait les pertes d'azote et de phosphore par le lessivage des sols (Cavagnaro et al. 2015). Leur activité est complémentaire de celle des champignons ectomycorhiziens qui entrent en symbiose avec les racines de nombreux arbres, comme le tilleul, le charme ou le noisetier. Ces champignons ont une meilleure capacité à dégrader la matière organique et peuvent ainsi libérer des éléments minéraux que les champignons mycorhiziens à arbuscules peuvent absorber.
Les champignons mycorhiziens à arbuscules permettent également une augmentation de la résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques (Gianinazzi et al. 2010). En particulier, les champignons mycorhiziens à arbuscules augmentent la tolérance au stress hydrique chez leurs plantes hôtes (Auge 2001). Cette propriété deviendra de plus en plus intéressante dans le contexte des changements climatiques.
Cependant, la mycorhization des plantes est dépendante des pratiques culturales. Ainsi, des apports importants de phosphore et de certains pesticides ont résulté en une large diminution des populations naturelles de champignons mycorhiziens à arbuscules. Les techniques plus respectueuses de l'environnement permettent de restaurer progressivement ces populations au bénéfice de la croissance et la santé des plantes. En particulier, il a été montré que la diminution de l'apport d'intrants chimiques, l'utilisation de matière organique ou l'agroforesterie peuvent résulter en une meilleure mycorhization des racines (Bettie-Laclau et al. 2019).

Dans le cadre de ce projet, nous avons pour objectif de déterminer si les haies permettent d'augmenter le taux de mycorhization des racines des plantes herbacées des prairies et ainsi contribuer à un meilleur équilibre du système.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

2. Matériel et méthodes

Des racines des prairies de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit ont été prélevées les 13/08/2021, 06/05/2022 et le 11/07/2022, tous les 5 m à 2, 5 et 20 m de distance de la haie à raison de 10 répétitions par ligne (6 répétitions pour la parcelle de Cademène pour laquelle la longueur de haie étudiée est plus petite). Pour chaque échantillon, la végétation a été relevée (Graminées et autres plantes). Les racines ont été colorées à l'encre noire et observées au microscope optique pour estimer le taux de mycorhization (M%) selon la méthode de Trouvelot et al. (1986). La valeur M% équivaut au pourcentage de la longueur du système racinaire qui est mycorhizée.
Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R 4.2.2 (R Core Team 2021). La distribution des taux de mycorhization n'étant pas normale, le test de Kruskal Wallis a été utilisé pour l'analyse des données. Des analyses en composantes multiples et des tests de corrélation ont également été réalisés en incluant les données du sol fournies par la Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs-Territoire de Belfort.

3. Résultats

3.1. Données globales de mycorhization

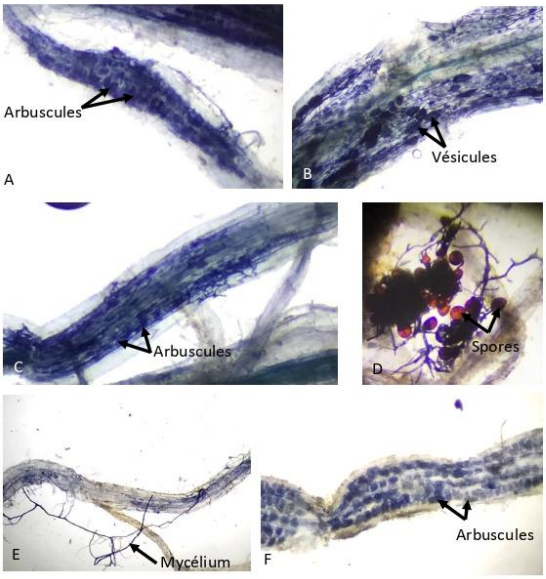


Figure 1. Exemple d'observation microscopique des champignons mycorhiziens à arbuscules (colorés en bleu) dans des racines de prairie à Bolandoz (A), Lizine Grand (B), Lizine Petit (C, D) et Cademène (E, F). On observe facilement les arbuscules et les vésicules caractéristiques de la symbiose. On peut également parfois observer le mycélium qui se développe à l'extérieur de la racine (E) ainsi que des spores (D).

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Au total, 324 échantillons de racines ont été analysés. Les mycorhizes à arbuscules ont pu être observées dans les racines des quatre parcelles et reconnues grâce à leur morphologie caractéristique (Figure 1.). Les taux de mycorhization de l'ensemble des échantillons sont représentés dans la Figure 2. On constate que les taux de mycorhization sont très variables, allant de 0% à 52% en fonction des échantillons. Ces variations apparaissent complexes et pourraient être expliquées par différents facteurs. Diverses analyses statistiques ont été réalisées pour essayer d'identifier ce qui influence les taux de mycorhization dans les prairies.

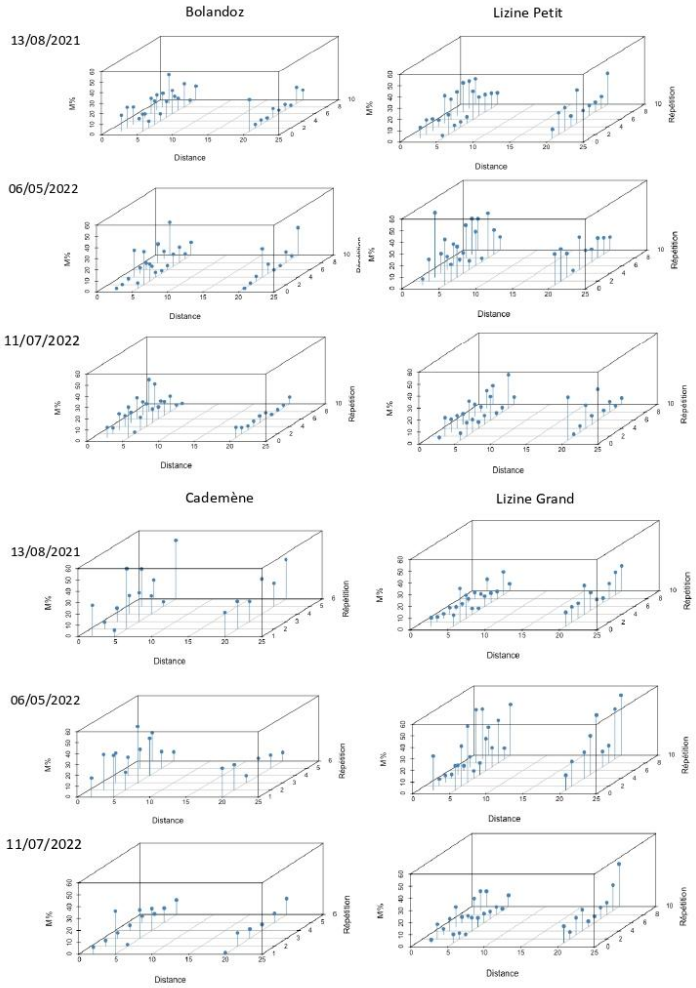


Figure 2. Taux de mycorhization des différents échantillons de racines dans les parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit, à 2 m, 5 m et 20 m de la haie et à chaque date de prélèvement.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

La Figure 3 présente la moyenne des taux de mycorhization des racines à chaque date de prélèvement sur les quatre parcelles et en fonction de la distance à la haie. On constate des différences significatives des taux de mycorhization entre les parcelles et à chaque date de prélèvement. En particulier, les taux de mycorhization sont les plus faibles à Bolandoz qu'au niveau des autres parcelles. De plus, à Bolandoz, ils sont plus faibles à 20 m de la haie qu'à 2 m et 5 m pour les trois dates. Si on calcule une moyenne des taux de mycorhization combinant les trois dates de prélèvement, on confirme la plus faible valeur à Bolandoz à 20 m de la haie (Figure 4). Au contraire, à Lizine Grand, les taux de mycorhization sont plus élevés à 20 m de la haie qu'à 2 m et 5m. A Cademène, les taux de mycorhization ont tendance à être plus élevés à 5 m de la haie qu'aux autres distances et cette différence est significative en juillet 2022. En revanche, à Lizine Petit, on observe peu de différences entre les trois lignes de prélèvements.

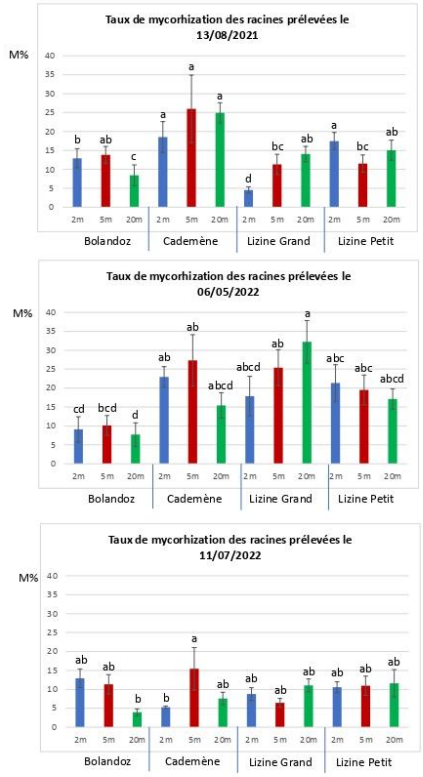


Figure 3. Taux de mycorhization (M%) des racines prélevées en 2021 et 2022 au niveau des parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit en fonction des distances à la haie (moyenne ± erreur standard de la moyenne)

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

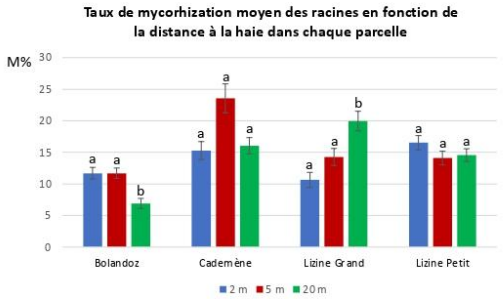


Figure 4. Taux de mycorhization (M%) moyen des racines prélevées en 2021 et 2022 au niveau des parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit en fonction des distances à la haie (moyenne ± erreur standard de la moyenne).

3.2. Variations saisonnières de la mycorhization

On voit ainsi de larges variations des taux de mycorhization en fonction de la date de prélèvement, montrant des effets saisonniers. En particulier, on constate que les taux de mycorhization les plus élevés sont début mai 2022 et les plus faibles en juillet 2022. Ceci est probablement lié à la physiologie des plantes hôtes avec une humidité du sol encore importante en mai 2022 alors que la sécheresse commençait à s'installer en juillet 2022. L'année 2021 a été très pluvieuse et le sol était encore humide en août 2021, ce qui peut expliquer des taux de mycorhization relativement élevés à cette date par rapport à juillet 2022.

Toutefois si l'on étudie le lien entre le taux d'humidité du sol mesuré le 11/07/2022 et les taux de mycorhization à cette date, on n'observe pas de corrélation (Figure 5). Il faudrait une étude concomitante des deux paramètres à plusieurs dates différentes pour étudier leur lien potentiel. Les résultats de l'étude de conductimétrie dans les quatre parcelles pourront peut-être également permettre de mieux interpréter les résultats.

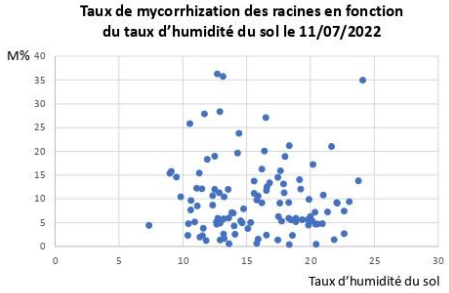


Figure 5. Taux de mycorhization (M%) en fonction du taux d'humidité du sol sur les parcelles de Bolandoz, Cademène, Lizine Grand et Lizine Petit le 11/07/2022. On n'observe pas de corrélation entre les deux paramètres à cette date.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

3.3. Facteurs de la végétation influençant la mycorhization

On le voit, les taux de mycorhization varient en fonction des parcelles, de la date de prélèvement et de la distance aux haies. Est-ce que la végétation peut aussi influencer les taux de mycorhization ? Une analyse en composantes multiples (ACM) a été réalisée pour tester cette hypothèse. Il est connu que toutes les espèces végétales ne mycorhizent pas avec la même intensité. Par exemple, les Légumineuses ou le plantain mycorhizent mieux que les Graminées. Dans chaque échantillon, la présence ou l'absence d'autres plantes que les Graminées a été notée (trèfle, plantain, bouton d'or, pissenlit…). Par ailleurs, la Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs-Territoire de Belfort a identifié les arbres ou arbustes présents dans la haie en face des échantillons prélevés. Le type de mycorhization (endomycorhize, ectomycorhize ou les deux) formé par ces arbres et arbustes a été inclus dans l'analyse.

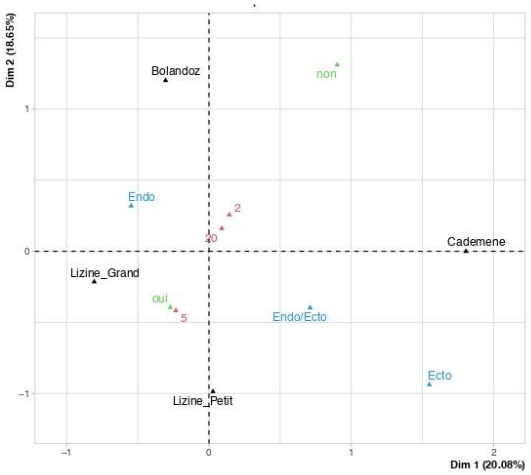


Figure 6. Analyse en composantes multiples comprenant les variables de parcelles (noir), de distance à la haie (rouge), de présence ou absence de plantes autres que les Graminées (vert) et de la nature de la symbiose formée par les arbres de la haie en face des échantillons prélevés (bleu ; ectomycorhizes, endomycorhizes ou les deux).

La Figure 6 montre la contribution de différentes variables aux taux de mycorhization des racines grâce à l'analyse en composantes multiples. Plus les modalités des variables sont éloignées les unes des autres, plus elles indiquent un rôle dans les variations des taux de mycorhization. On peut ainsi constater que la distance à la haie (2, 5 ou 20 m) joue un rôle mais ce n'est pas le facteur principal contribuant aux taux de mycorhization. En revanche, on observe un effet des parcelles, comme on l'on déjà observé plus haut. De plus, la présence d'autres espèces végétales en plus des Graminées contribue aux taux de mycorhization. Enfin, les taux de mycorhization varient également en fonction du type de mycorhizes formé par les arbres et arbustes de la haie en face des échantillons. Ce dernier aspect semble particulièrement intéressant car il pourrait démontrer un effet de la haie sur les taux de mycorhization. Sur l'ensemble des données, les taux de mycorhization apparaissent plus élevés à la distance de 20 m de la haie en face d'arbres formant des ectomycorhizes (Figure 7). On remarquera d'ailleurs un certain parallélisme au niveau des taux de mycorhization entre les lignes de prélèvement (Figure 2), ce qui pourrait être expliqué par la nature des arbres ou arbustes présents en face des

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

échantillons. Cependant, on peut voir que les différences observées ne sont pas significatives avec le test de Kruskal Wallis (Figure 7). Cela peut s'expliquer par un effectif trop faible d'arbres formant des ectomycorhizes. Une étude plus ciblée permettrait de mieux comprendre cet effet potentiel des arbres formant des ectomycorhizes sur la mycorhization des plantes herbacées.

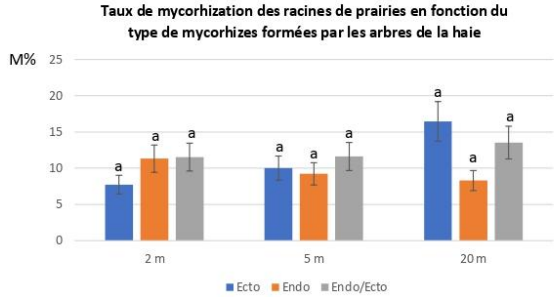


Figure 7. Taux de mycorhization (M%) des racines de prairies toutes parcelles confondues en fonction de la distance à la haie et du type de mycorhizes formées par les arbres de la haie (Ecto : ectomycorhizes ; Endo : mycorhizes à arbuscules ; Endo/Ecto : mycorhizes à arbuscules et ectomycorhizes).

On a ainsi un effet important de la végétation sur les taux de mycorhization. Cependant, les deux premières dimensions de l'ACM ne représentent qu'une contribution de 38,73% aux taux de mycorhization. D'autres facteurs influencent donc également la mycorhization des racines de prairies. C'est probablement le cas des propriétés physico-chimiques et biologiques du sol.

3.4. Lien des taux de mycorhization avec les propriétés du sol

Si l'on étudie les corrélations entre les taux de mycorhization moyens de chaque parcelle et les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols, on observe quelques liens intéressants (Figure 8). Notamment, on constate une corrélation négative (-0,942) entre les taux de mycorhization et la teneur en phosphore du sol (P_2O_5 déterminé par la méthode Dyer). D'ailleurs, la teneur en phosphore est bien plus importante dans le sol de Bolandoz que dans les autres parcelles et c'est sur cette parcelle que les taux de mycorhization sont les plus bas. Cet effet négatif du phosphore sur la mycorhization est bien connu (Gianinazzi-Pearson et al. 1989). En revanche, on observe une corrélation positive (0,809) entre les taux de mycorhization et la teneur en ammonium dans le sol alors que la corrélation est négative (-0,928) pour la teneur en nitrate du sol. Les interactions entre les champignons mycorhiziens et l'azote du sol sont complexes mais on sait que les champignons mycorhiziens absorbent préférentiellement l'ammonium par rapport au nitrate (Rui et al. 2022), ce qui pourrait expliquer les résultats obtenus. La concentration en NPK des épandages réalisés en 2021 semble peu liée avec les taux de mycorhizaiton (Figure 8).

On remarque également un lien modéré des taux de mycorhization avec la matière organique totale (0,820), la matière organique liée (0,856) et la biomasse microbienne (0,726). En particulier, la biomasse microbienne est plus importante au niveau des parcelles de Cademène et Lizine Grand, où les taux de mycorhization sont plus élevés. Ceci souligne le lien des champignons mycorhiziens avec les autres microorganismes du sol.

Il n'y a pas de corrélation significative entre les taux de mycorhization et les indices en phosphore, azote et potassium des plantes mais c'est peut-être lié à des effectifs trop faibles.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

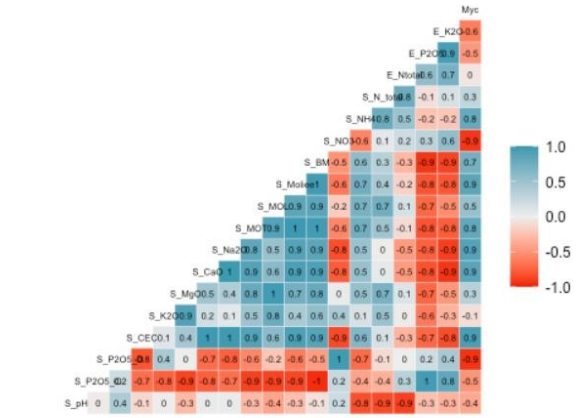


Figure 8. Matrice de corrélation entre les taux de mycorhization moyens de chaque parcelle et les propriétés physico-chimiques des sols (S) et des épandages (E) de 2021 ainsi que les propriétés biologiques des sols.

4. Conclusions et perspectives

En conclusion, les taux de mycorhization varient en fonction de nombreux facteurs, notamment des parcelles, des dates de prélèvement, de la distance aux haies, de la végétation de la prairie, des propriétés physico-chimiques du sol et du type de mycorhizes formé par les arbres et arbustes des haies. En particulier, on constate que :

- Les taux de mycorhization sont plus faibles en juillet 2022 qu'en mai 2022, suggérant un effet négatif de la diminution de l'humidité du sol qui doit affecter la physiologie des plantes hôtes.
- Les taux de mycorhization sont inhibés par de fortes concentrations de phosphore dans le sol. C'est ce qui semble expliquer les faibles taux de mycorhization au niveau de la parcelle de Bolandoz.
- Les taux de mycorhization sont favorisés par l'ammonium du sol alors qu'ils sont inhibés par le nitrate. Ceci peut en partie expliquer les différences de mycorhization entre les parcelles de Bolandoz et de Cademène.
- Les autres plantes que les Graminées favorisent la mycorhization. De telles plantes sont abondantes à Cademène, Lizine Grand, Lizine Petit, mais beaucoup moins à Bolandoz, ce qui peut également expliquer les différences de mycorhization entre parcelles.
- Il y a un lien potentiel entre biomasse microbienne et taux de mycorhization, surtout au niveau des parcelles de Cademène et de Lizine Grand, ce qui pourrait être en partie lié aux haies.
- Les arbres à ectomycorhizes des haies semblent avoir un effet positif sur la mycorhization des plantes herbacées, ce qui pourrait partiellement expliquer les taux de mycorhization élevés sur la parcelle de Cademène. Ceci pourrait être lié à une dégradation de la matière organique par les champignons ectomycorhiziens. Cependant, ces résultats doivent être vérifiés en incluant dans l'analyse plus d'arbres formant des ectomycorhizes.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

- Les liens avec les paramètres de croissance de l'herbe produite et les taux de mycorhization n'ont pas été suffisamment approfondis pour déterminer si une meilleure mycorhization a un impact positif pour la prairie.

D'autres facteurs influencent certainement les taux de mycorhization, par exemple le pâturage. Pour aller plus loin dans l'étude de l'impact des haies sur les prairies et sur l'interprétation des résultats présentés ici, on peut suggérer les approches suivantes :

- Une nouvelle analyse des taux de mycorhization lorsque le sol est humide au moins dans les deux parcelles où on constate des taux de mycorhization élevés (Cademène et Lizine Grand), en lien avec les autres mesures réalisées par la Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs-Territoire de Belfort. Ceci aurait pour but de vérifier les résultats de 2021 et 2022 et de déterminer si la mycorhization joue un rôle dans la croissance des plantes de prairie.
- Une analyse du microbiome du sol (identification de la diversité des bactéries et des champignons, y compris les champignons mycorhiziens, par analyse métagénomique) au moins dans une parcelle où on constate des taux de mycorhization élevés et influencés par la haie (Cademène ou Lizine Grand). Ceci aurait pour but de déterminer l'impact des haies sur les microorganismes du sol en général et leur rôle dans la croissance et la santé des plantes de prairies.

Références bibliographiques

Auge RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11 : 3-42

Bettie-Laclau P, Taschen E, Plassard C, Dezette D, Abadie J, Arnal D, Benezech P, Duthoit M, Pablo AL, Jourdan C, Laclau JP, Bertrand I, Taudière Adrien, Hinsinger P (2019) Role of trees and herbaceous vegetation beneath trees in maintaining arbuscular mycorrhizal communities in temperate alley cropping systems. Plant Soil 453 : 153-171

Cavagnaro TR, Bender SF, Asghari HR, van der Heijden MGA (2015) The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. Trends Plant Sci 20 : 283-290

Gianinazzi S, Gollotte A, Binet MN, van Tuinen D, Redecker D, Wipf D (2010) Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. Mycorrhiza 20 : 510-530

Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (1989) Phosphorus metabolism in mycorrhizas. In "Nitrogen, phosphorus and sulphur utilization by fungi", Boddy L, Marchant R, Read DJ (eds), pp. 227-240

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

Redecker D, Kodner R, Graham LE (2000) Glomelan fungi from the Ordovician. Science 289 : 1920-1921

Rui W, Mao Z, Li Z (2022) The roles of phosphorus and nitrogen nutrient transporters in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. International Journal of Molecular Sciences 23 : 11027

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V Gianinazzi-Pearson, S Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

A Couternon, le 9 décembre 2022

Dr Armelle Gollotte

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

12. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes, Laboratoires Spiral (2023).

Couternon, le 30 janvier 2024

RAPPORT D'ANALYSE **Ref. C2401005** **Bon de commande CHMA.439.1**
Monsieur Didier Tourenne **Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort** **130 bis rue de Belfort** **CS 40939** **25021 Besançon Cedex**

Echantillons : Racines et sol de prairies prélevés le 06/06/2023 sur les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand, Lizine Petit et Cademène

Méthologie

- Taux de mycorhization

Les racines ont été prélevées comme les années précédentes, à raison de 10 échantillons par ligne (2, 5 et 20 mètres de la haie) pour les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit et 6 échantillons pour la parcelle de Cademène.
Les racines ont été colorées à l'encre noire pour estimer l'intensité de mycorhization (M%) selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).

- Analyse du microbiome du sol

Comme l'analyse du microbiome ne pouvait pas être réalisée sur tous les échantillons, le choix s'est porté sur les conditions montrant des différences significatives au niveau des taux de mycorhization les années précédentes, à savoir Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie. Sur chaque ligne, le sol attaché aux racines des 10 échantillons prélevés a été récupéré et mélangé puis utilisé pour réaliser l'extraction d'ADN. Les extraits d'ADN ont été ensuite séquencés par méthode métagénomique. Les séquences obtenues ont été comparées aux séquences de microorganismes connus (bactéries, champignons et protistes) pour leur identification taxonomique.
Les résultats sont présentés sous forme d'abondance relative des microorganismes.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (R Core Team 2022).

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Résultats

Taux de mycorhization

Les taux de mycorhization des plantes de prairies sont présentés dans la Figure 1. Si on n'observe pas de différence significative entre les distances à la haie (2, 5 et 20 mètres) sur les parcelles de Lizine Grand et Cademène, des différences sont clairement démontrées à Bolandoz et Lizine Petit. En effet, les taux de mycorhization sont significativement plus faibles à 20 mètres qu'à 2 mètres et 5 mètres de la haie à Bolandoz. A Lizine Petit, les taux de mycorhization les plus faibles sont à 5 mètres de la haie. Les différences significatives entre les lignes 2 mètres et 20 mètres observées les années précédentes à Lizine Grand n'ont pas été retrouvées. En fait, sur cette parcelle, du fumier a été apporté à moins de 10 mètres de la haie au printemps 2023. C'est peut-être ce qui explique cette différence de résultat.

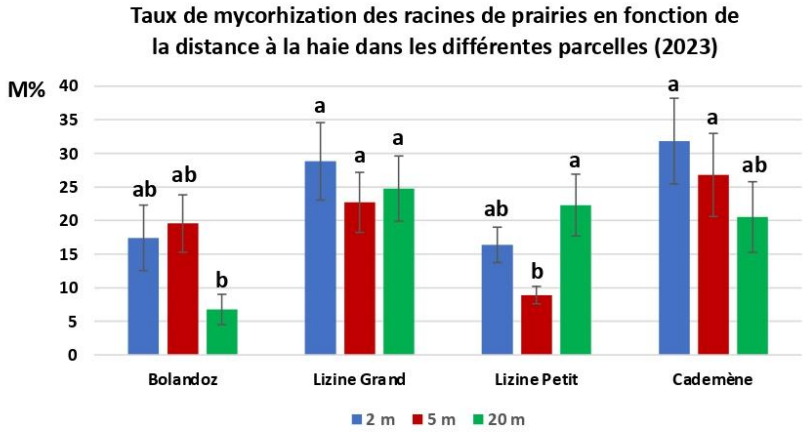


Figure 1. Moyenne des taux de mycorhization (M%) des racines prélevées le 6 juin 2023 au niveau des parcelles de Bolandoz, Lizine Grand, Lizine Petit et Cademène à 2, 5 et 20 mètres de la haie (moyenne ± erreur standard de la moyenne ; test de Kruskal-Wallis, P<0,05).

Analyse du microbiome

L'analyse métagénomique a permis l'identification taxonomique des champignons, des protistes et des bactéries présents dans les échantillons. Les microorganismes les plus représentés et leurs propriétés sont indiqués dans l'Annexe 1. Les résultats sont présentés sous forme d'abondance relative des séquences (Figures 2 à 5). Au niveau des bactéries, on peut observer globalement des différences entre les proportions de protéobactéries et d'Actinomycètes entre les parcelles de Bolandoz et de Lizine Grand et en fonction de la distance à la haie (Figure 2A). Concernant les alphaprotéobactéries, des variations sont observées pour les Hyphomicrobiales et les Sphingomonadales (Figure 2B). Des différences importantes sont visibles au niveau des betaprotéobactéries, notamment pour les Burkholdériales, les Nitrosomonadales et les Rhodocyclales (Figure 2C). Pour les gammaprotéobactéries, quelques différences sont observées au niveau des Pseudomonadales (Figure 2D). Enfin pour les Actinomycètes, des variations sont surtout notées pour les Mycobactériales et les Solirubrobactériales (Figure 2E).

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

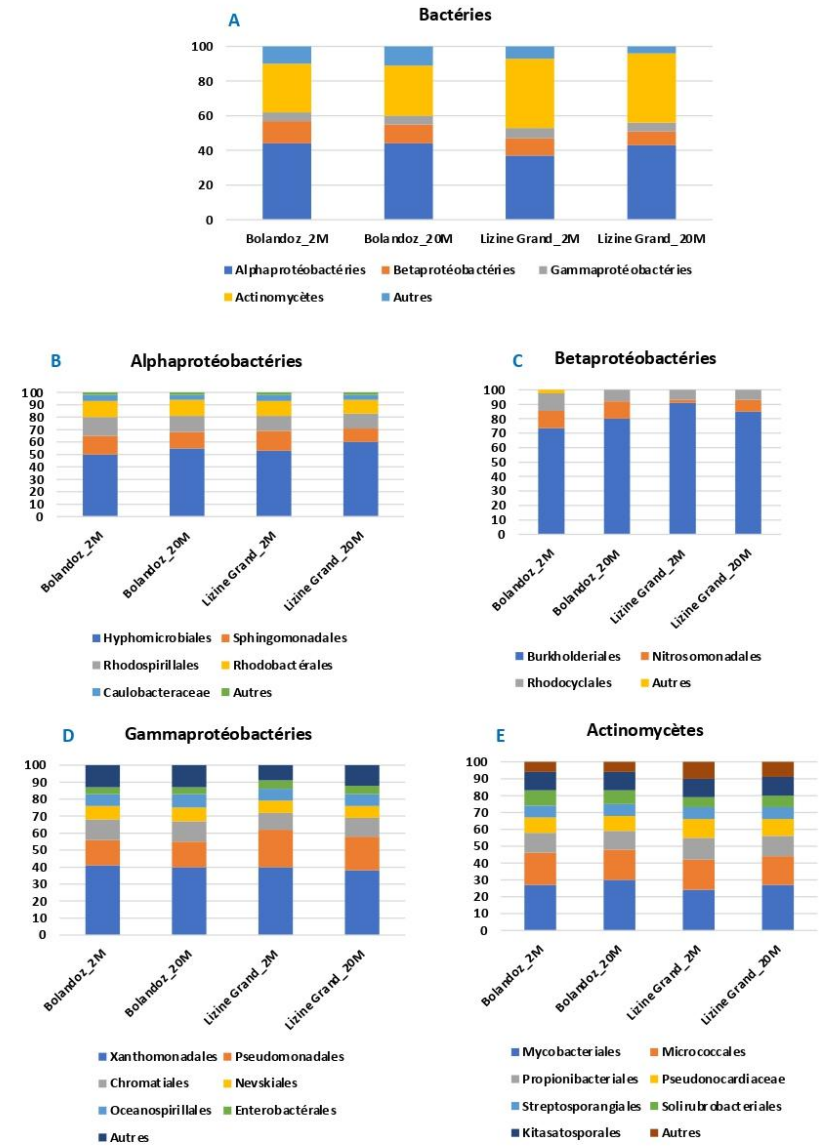


Figure 2. Abondance relative de séquences d'ADN de bactéries dans l'analyse du microbiome du sol sur les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie.

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

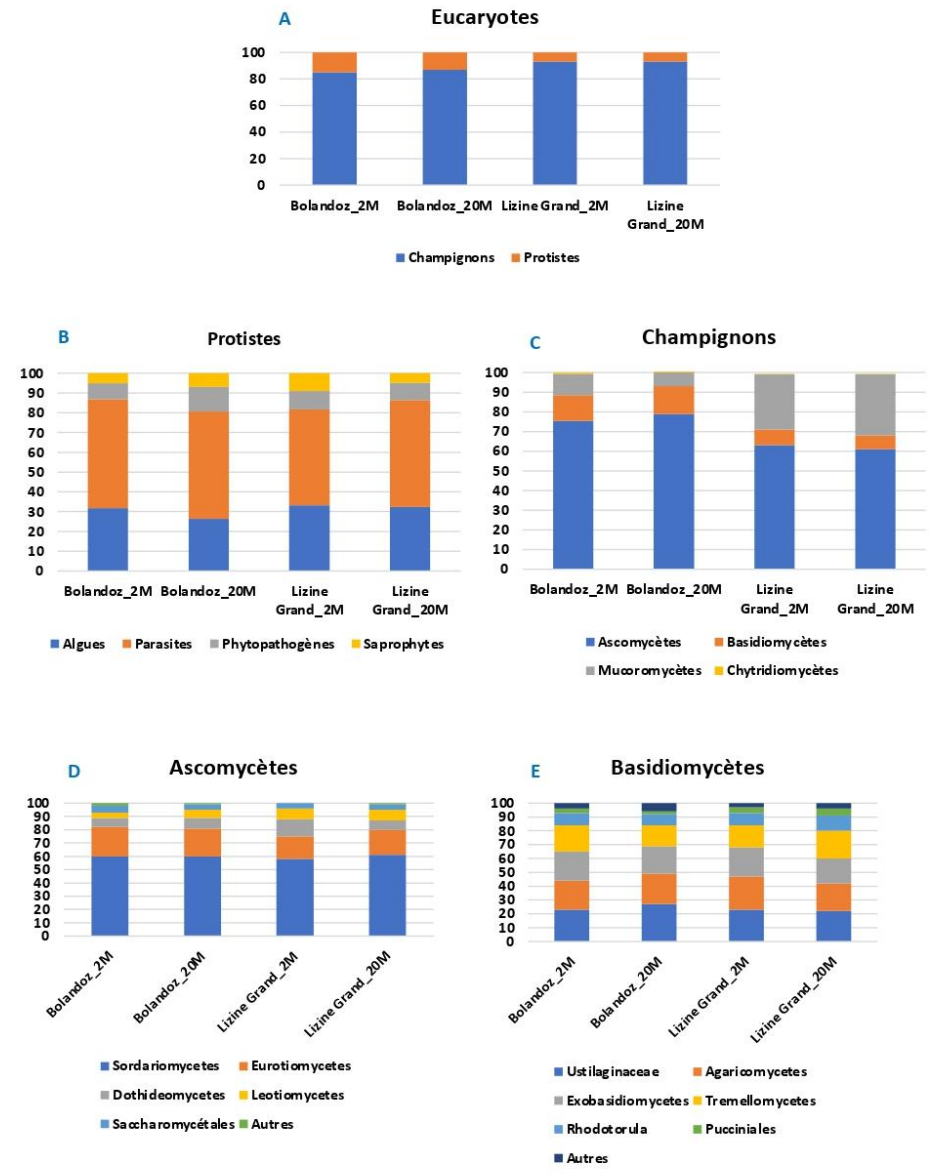


Figure 3. Abondance relative de séquences d'ADN de microorganismes eucaryotes dans l'analyse du microbiome du sol sur les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie. Les protistes étant très diversifiés et encore peu caractérisés, ils sont présentés selon leur fonction (algues, parasites d'animaux, phytopathogènes ou saprophytes).

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

En ce qui concerne les eucaryotes, des différences de proportions entre champignons et protistes sont observables entre les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand (Figure 3A). La composition en protistes est d'ailleurs très variable entre les échantillons (Figure 3B). De même, les proportions des Ascomycètes, des Basidiomycètes et des Mucoromycètes varient entre les deux parcelles. Dans le cas des Ascomycètes, on observe peu de différences entre les échantillons à part pour les Dothidéomycètes (Figure 3D). De même, la composition en Basidiomycètes est peu variable (Figure 3E).

Par ailleurs, les séquences de champignons mycorhiziens ont été recherchées pour voir s'il y a une influence des haies sur leur diversité. Les champignons ectomycorhiziens qui entrent en symbiose avec certains arbres et arbustes des haies, comme le noisetier, le chêne, le charme, le tilleul ou le saule, sont en fait peu représentés dans l'ensemble des séquences. Quelques séquences de champignons ectomycorhiziens des genres *Laccaria* (Basidiomycètes) et *Tuber* (Ascomycètes) ont été identifiées. Ces champignons sont plus abondants à Lizine Grand qu'à Bolandoz (Figure 4). Les séquences de Basidiomycètes sont présentes à 2 mètres de la haie sur les deux parcelles mais sont absentes à 20 mètres à Bolandoz ou moins abondantes à Lizine Grand. Cela indique que ces champignons se développent difficilement loin de la haie. Dans le cas des *Tuber*, genre formant des truffes, on observe en revanche, une présence plus abondante à 20 mètres qu'à 2 mètres au niveau des deux parcelles. Il a été montré que ces champignons Ascomycètes sont capables de coloniser les racines de nombreuses plantes sans pour autant former des mycorhizes (Schneider-Maunoury et al. 2020). Ces plantes pourraient ainsi leur permettre de progresser dans les sols en prospection vers de nouvelles plantes hôtes.

En ce qui concerne les champignons endomycorhiziens, qui entrent en symbiose avec les racines de certains arbres et arbustes des haies (aubépine, prunellier, merisier, argousier, troène, viorne lantane, églantier, cornouiller) ainsi que de la végétation des prairies, on observe également de grandes différences entre les deux parcelles. L'abondance relative des champignons endomycorhiziens (Gloméromycètes) est bien plus faible à Bolandoz qu'à Lizine Grand. De plus, à Bolandoz, les champignons endomycorhiziens sont plus abondants à 2 mètres qu'à 20 mètres de la haie. A Lizine Grand, ces champignons sont aussi abondants à 2 mètres qu'à 20 mètres de la haie. Il est à noter que ces résultats sont tout à fait cohérents avec les taux de mycorhization des racines montrés dans la Figure 1.

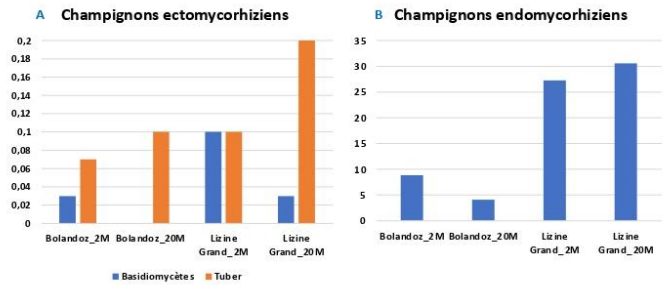


Figure 4. Abondance relative de séquences d'ADN de champignons ectomycorhiziens ou endomycorhiziens dans l'analyse du microbiome du sol sur les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

L'ensemble des résultats d'abondances relatives des microorganismes est présenté dans la Figure 5 sous forme de carte de couleur (heatmap) avec un gradient de couleurs allant du jaune pâle pour les plus faibles au rouge foncé pour les plus élevées. Il est ainsi possible de comparer directement les quatre échantillons étudiés. Des différences importantes peuvent être ainsi constatées à plusieurs niveaux :

- *Entre les parcelles :*
  - Le sol de la parcelle de Bolandoz est plus riche en Rhodospirillales, en Rhodobactérales, Chromatiales, Rhodocyclales, Nitrosomonadales et en Eurotiomycètes.
  - Le sol de la parcelle de Lizine Grand est plus riche en Burkholdériales, Pseudomonadales, Actinomycètes, champignons et Gloméromycètes.

Il est à noter que les deux parcelles diffèrent quant aux propriétés physico-chimiques de leur sol, telles que les reliquats azotés, la teneur en phosphore, la CEC et le taux de matière organique (Figure 6). En particulier, le sol de Bolandoz est beaucoup plus riche en phosphore que celui de Lizine Grand. En revanche, le sol de Lizine Grand est plus riche en nitrates (2 mètres de la haie), en ammonium et en matière organique et a une plus forte CEC. Or ces propriétés peuvent facilement expliquer les plus forts taux de mycorhization des racines et la plus forte abondance relative d'ADN de champignons dont les Gloméromycètes qui sont connus pour absorber et transférer du phosphore à leurs plantes hôtes. De plus, les bactéries Burkholdériales, Pseudomonadales et Actinomycètes sont impliquées dans le cycle du phosphore, alors que les Rhodospirillales, les Rhodobactérales, les Rhodocyclales et les Nitrosomonadales sont plus impliquées dans le cycle de l'azote. Ainsi le microbiome du sol de Bolandoz est plus orienté vers le cycle de l'azote que vers le phosphore qui est en quantités suffisantes et c'est l'inverse pour le sol de Lizine Grand.

- *Entre les distances à la haie de façon similaire sur les deux parcelles :*
  - A 2 mètres de la haie, le sol est plus riche en betaprotéobactéries, Sphingomonadales, en Actinomycètes (Propionibactériales Micrococcales, Mycobactériales), algues et Exobasidiomycètes.
  - A 20 mètres de la haie, le sol est plus riche en Hyphomicrobiales (*Rhizobium*).

Les microorganismes plus abondants à 2 mètres de la haie sont impliqués dans les cycles de l'azote et du phosphore. A cela s'ajoutent les champignons ectomycorhiziens issus de la haie, comme montré plus haut (Figure 4), et qui peuvent également dégrader la matière organique. A 20 mètres de la haie, les bactéries *Rhizobium* plus abondantes sont liées à davantage de trèfle présent dans les échantillons prélevés. Malgré tout, on ne peut pas mettre ces résultats en relation avec des différences de propriétés physico-chimiques du sol pour les distances de 2 mètres et 20 mètres de la haie sur chaque parcelle (Figure 6).

On peut donc émettre l'hypothèse que la haie favorise, à 2 mètres, le développement d'un microbiome plus adapté au cycle de l'azote et du phosphore, peut être en lien avec la matière organique apportée par les feuilles ou les déjections des animaux se mettant à l'ombre de la haie en été.

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

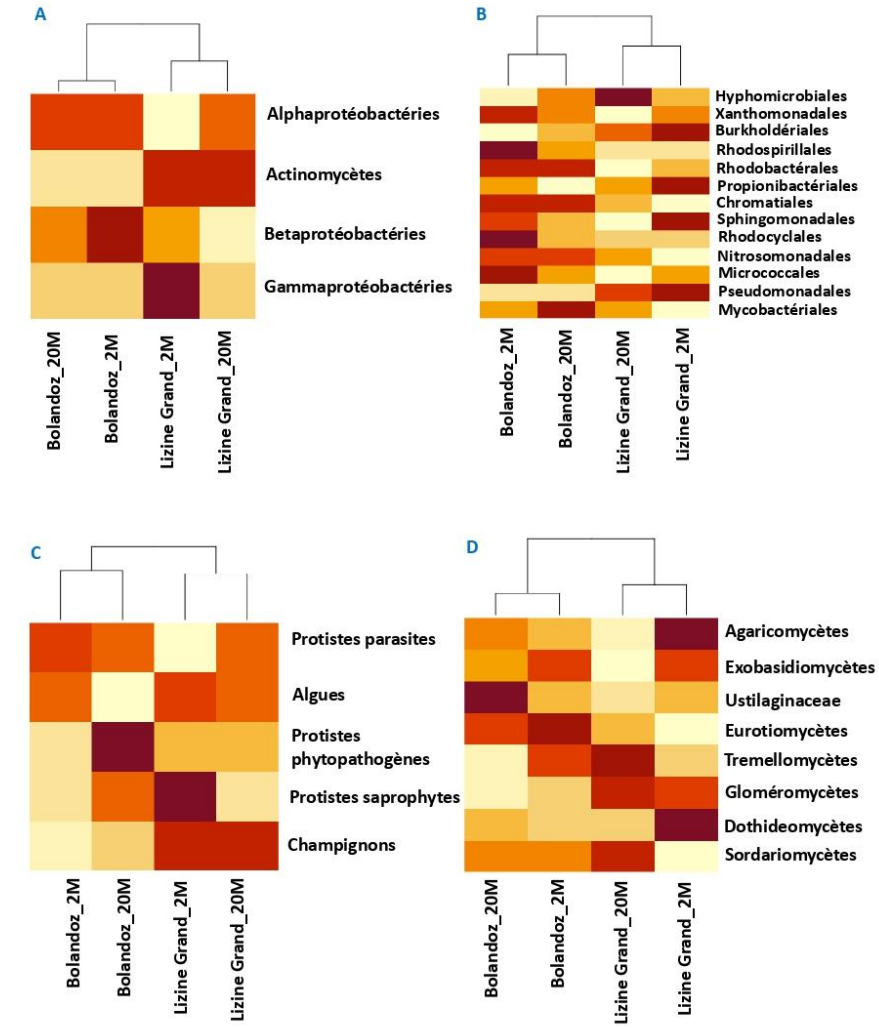


Figure 5. Carte de couleur (heatmap) représentant l'abondance relative de séquences d'ADN de microorganismes dans les extraits de sol des parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie (l'intensité de la couleur du jaune au rouge représente respectivement des abondances faibles à élevées).
Les lignes ne sont pas comparables entre elles.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

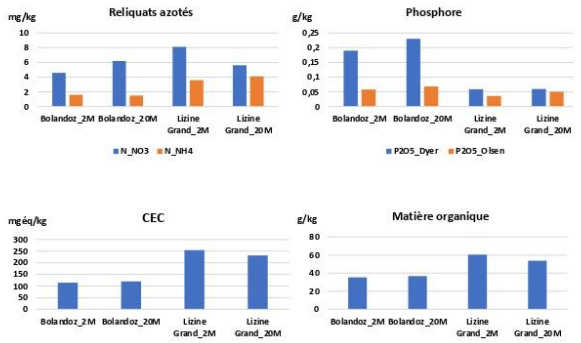


Figure 6. Propriétés physico-chimiques du sol sur les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie (Analyses réalisées par la Chambre d'Agriculture du Doubs et Territoire de Belfort en 2023 pour les reliquats azotés et 2022 pour la teneur en phosphore, la CEC et le taux de matière organique).

Conclusions

Les résultats obtenus en 2023 permettent d'obtenir des indications intéressantes sur l'activité des microorganismes dans les sols des prairies :

- Des différences importantes existent dans la composition du microbiome entre les deux parcelles, avec une orientation de la diversité microbienne vers les fonctions nécessaires à la libération des éléments minéraux moins abondants (azote pour Bolandoz et phosphore pour Lizine Grand).
- Des différences entre les lignes situées à 2 mètres et 20 mètres de la haie, probablement en lien avec une dégradation de la matière organique plus importante à 2 mètres.

Perspectives

- En 2024, il sera intéressant de répéter ces analyses en incluant du sol prélevé au niveau de la haie pour mieux identifier le gradient éventuel du microbiome jusqu'à 20 mètres.
- Les résultats des analyses du microbiome seront mises en relation avec ceux obtenus par la Chambre d'Agriculture du Doubs et du Territoire de Belfort en ce qui concerne les propriétés physico-chimiques du sol, la végétation, les rendements et qualités nutritionnelles du fourrage. Cela permettre de mieux comprendre l'interaction entre les activités microbiennes du sol, les pratiques agricoles et la végétation et l'impact des haies sur cette interaction.

Références bibliographiques

R Core Team (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Schneider-Maunoury L, Deveau A, Moreno M, Todesco F, Belmondo S, Murat C, Courty PE, Jakalski M, Selosse MA (2020) Two ectomycorrhizal truffles, *Tuber melanosporum* and *T. aestivum*, endophytically colonise roots of non-ectomycorrhizal plants in natural environments. New Phytologist 225: 2542-2556.

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans : *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V Gianinazzi-Pearson, S Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Annexe 1. Bactéries et champignons les plus représentés dans les échantillons de sol analysés par métagénomique.

Règne	Classe	Ordre	Représentants	Activité
Bactéries	Alphaprotéobactéries	Hyphomicrobiales	Rhizobiales	Fixation de l'azote atmosphérique
		Sphingomonadales	Sphingomonas	Décontamination de sols, tolérance au stress ; quelques phytopathogènes
		Rhodospirillales	*Azospirillum*	Fixation de l'azote ou photosynthèse
		Rhodobactérales	*Roseovarius*	Photosynthèse
		Caulobacteraceae	*Caulobacter*	Dégradation de la matière organique
	Betaprotéobactéries	Burkholdériales	*Burkholderia*	Dénitrification ; cycle du phosphore ; certaines bactéries sont pathogènes pour les plantes
		Nitrosomonadales	*Thiobacillus*	Cycle de l'azote, du soufre et du fer
		Rhodocyclales	*Aromatoleum, Dechloromonas, Thauera*	Dégradation des composés organiques ; cycle de l'azote
	Gammaprotéobactéries	Xanthomonadales	*Xanthomonas*	Pathogènes des plantes ou des animaux ; cycle du phosphore
		Pseudomonadales	*Pseudomonas*	Pathogènes des plantes ou des animaux ; certaines souches peuvent protéger les plantes contre les maladies
		Chromatiales	*Thioalkalivibrio, Thioflavicoccus*	Cycle du soufre
	Actinomycètes	Mycobactériales, Micrococcales, Propionibactériales, Pseudonocardiaceae, Streptosporangiales, Solirubrobactériales, Kitasastosporales	*Mycobacterium, Rhodoccocus*	Décontamination de polluants ; cycle de l'azote et du phosphore ; certains peuvent être pathogènes des animaux

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Règne	Phylum/Classe	Ordre	Représentants	Activité
Champignons	Ascomycètes	Sordariomycètes	*Fusarium, Trichoderma, Gaeumannomyces, Metarhizium, Colletotrichum*	Pathogènes de plantes et d'insectes ; Des souches non pathogènes peuvent protéger les plantes
		Eurotiomycètes	*Aspergillus, Penicillium, Chaetothyriales*	Saprophytes ; cycle de l'azote et du phosphore ; certains sont pathogènes de plantes ou d'animaux
		Dothidéomycètes	*Pleosporales, Mycosphaerellales*	Saprophytes ou pathogènes de plantes
		Léotiomycètes	*Sclerotinia, Botrytis, Drepanopeziza*	Saprophytes ou pathogènes de plantes
		Saccharomycétales	*Candida, Saccharomycetaceae, Yarrowia*	Saprophytes
		Pezizales	*Tuber*	Ectomycorhiziens
	Basidiomycètes	Ustilaginaceae	*Ustilago*	Pathogènes des plantes
		Agaricomycètes	*Polyporales, Agaricales, Boletales*	Saprophytes, pathogènes de plantes ou ectomycorhiziens
		Exobasidiomycètes	*Tilletiopsis, Acaromyces, Jaminaea, Ceraceosorus*	Saprophytes ou pathogènes de plantes
		Tremellomycètes	*Apiotrichum, Trichosporon*	Saprophytes
		Pucciniales	*Puccinia, Melampsora*	Pathogènes de plantes
	Mucoromycètes	Glomeromycètes	*Rhizophagus*	Champignons endomycorhiziens

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

13. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes, Laboratoires Spiral (2023).

Couternon, le 28 août 2023

RAPPORT D'ANALYSE Ref. CHMA.438.1
Monsieur Didier Tourenne Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort 130 bis rue de Belfort CS 40939 25021 Besançon Cedex

Echantillons : Racines de prairies prélevées le 06/06/2023 sur les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit et Cademène

Les racines ont été colorées à l'encre noire pour estimer l'intensité de mycorhization (M%) selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).

Résultats

Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux mycorhization (M%)
Bolandoz	2	1	Graminées	17,8
Bolandoz	2	2	Graminées	7,9
Bolandoz	2	3	Graminées	24,5
Bolandoz	2	4	Graminées	45,3
Bolandoz	2	5	Graminées	3,7
Bolandoz	2	6	Graminées	3,7
Bolandoz	2	7	Graminées, trèfle	41,5
Bolandoz	2	8	Graminées, plantain	17,9
Bolandoz	2	9	Graminées, trèfle	6,8
Bolandoz	2	10	Graminées, trèfle	5,2
Bolandoz	5	1	Graminées, trèfle	13,3
Bolandoz	5	2	Graminées	4,7
Bolandoz	5	3	Graminées, trèfle	8,8
Bolandoz	5	4	Graminées	16,9
Bolandoz	5	5	Graminées	18,1

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Couternon, le 28 août 2023

RAPPORT D'ANALYSE
Ref. CHMA.438.1

Monsieur Didier Tourenne
Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort
130 bis rue de Belfort
CS 40939
25021 Besançon Cedex

Echantillons : Racines de prairies prélevées le 06/06/2023 sur les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit et Cademène

Les racines ont été colorées à l'encre noire pour estimer l'intensité de mycorhization (M%) selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).

Résultats

Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux mycorhization (M%)
Bolandoz	2	1	Graminées	17,8
Bolandoz	2	2	Graminées	7,9
Bolandoz	2	3	Graminées	24,5
Bolandoz	2	4	Graminées	45,3
Bolandoz	2	5	Graminées	3,7
Bolandoz	2	6	Graminées	3,7
Bolandoz	2	7	Graminées, trèfle	41,5
Bolandoz	2	8	Graminées, plantain	17,9
Bolandoz	2	9	Graminées, trèfle	6,8
Bolandoz	2	10	Graminées, trèfle	5,2
Bolandoz	5	1	Graminées, trèfle	13,3
Bolandoz	5	2	Graminées	4,7
Bolandoz	5	3	Graminées, trèfle	8,8
Bolandoz	5	4	Graminées	16,9
Bolandoz	5	5	Graminées	18,1

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux mycorhization (M%)
Bolandoz	5	6	Graminées	14,8
Bolandoz	5	7	Graminées	54,5
Bolandoz	5	8	Graminées	20,8
Bolandoz	5	9	Graminées	23,2
Bolandoz	5	10	Graminées, trèfle, plantain, pissenlit	20,4
Bolandoz	20	1	Graminées	0,9
Bolandoz	20	2	Graminées, trèfle	2,6
Bolandoz	20	3	Graminées	9,3
Bolandoz	20	4	Graminées	0
Bolandoz	20	5	Graminées	11,3
Bolandoz	20	6	Graminées	9,2
Bolandoz	20	7	Graminées	1,6
Bolandoz	20	8	Graminées	0,1
Bolandoz	20	9	Graminées, trèfle	10,2
Bolandoz	20	10	Graminées, trèfle	22,4
Lizine Grand	2	1	Graminées	42,5
Lizine Grand	2	2	Graminées	18,6
Lizine Grand	2	3	Graminées	21,4
Lizine Grand	2	4	Graminées	49,3
Lizine Grand	2	5	Graminées, pissenlit	15,9
Lizine Grand	2	6	Graminées	13,3
Lizine Grand	2	7	Graminées, pissenlit	14
Lizine Grand	2	8	Graminées	39,8
Lizine Grand	2	9	Graminées	62,7
Lizine Grand	2	10	Graminées	10,7
Lizine Grand	5	1	Graminées	5,0
Lizine Grand	5	2	Graminées, trèfle	7,7
Lizine Grand	5	3	Graminées, plantain, pissenlit	43,2
Lizine Grand	5	4	Graminées, trèfle	17,7
Lizine Grand	5	5	Graminées	14,9
Lizine Grand	5	6	Graminées, bouton d'or	25,8
Lizine Grand	5	7	Graminées	13,6
Lizine Grand	5	8	Graminées	46,6
Lizine Grand	5	9	Graminées	20,4
Lizine Grand	5	10	Graminées, trèfle, pissenlit	32,0

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux mycorhization (M%)
Lizine Grand	20	1	Graminées	20,7
Lizine Grand	20	2	Graminées	10,2
Lizine Grand	20	3	Graminées	7,6
Lizine Grand	20	4	Graminées, trèfle, pissenlit	20,5
Lizine Grand	20	5	Graminées, trèfle	51,7
Lizine Grand	20	6	Graminées, pissenlit	30,4
Lizine Grand	20	7	Graminées	15,3
Lizine Grand	20	8	Graminées, plantain	41,9
Lizine Grand	20	9	Graminées, plantain	9,8
Lizine Grand	20	10	Graminées, trèfle	39,5
Lizine Petit	2	1	Graminées	26,8
Lizine Petit	2	2	Graminées	20,8
Lizine Petit	2	3	Graminées	22,2
Lizine Petit	2	4	Graminées	26,4
Lizine Petit	2	5	Graminées	17,9
Lizine Petit	2	6	Graminées, trèfle	14,4
Lizine Petit	2	7	Graminées	0,9
Lizine Petit	2	8	Graminées, trèfle	9,4
Lizine Petit	2	9	Graminées	8,0
Lizine Petit	2	10	Graminées	16,8
Lizine Petit	5	1	Graminées	14,2
Lizine Petit	5	2	Graminées	6,9
Lizine Petit	5	3	Graminées	11,5
Lizine Petit	5	4	Graminées	6,7
Lizine Petit	5	5	Graminées, liseron	6,1
Lizine Petit	5	6	Graminées	10,3
Lizine Petit	5	7	Graminées	8,2
Lizine Petit	5	8	Graminées	4,4
Lizine Petit	5	9	Graminées	16,4
Lizine Petit	5	10	Graminées	4,4

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 🖷 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Parcelle	Distance (m)	Echantillon	Végétation	Taux mycorhization (M%)
Lizine Petit	20	1	Graminées, trèfle	27,0
Lizine Petit	20	2	Graminées, trèfle	47,2
Lizine Petit	20	3	Graminées	30,9
Lizine Petit	20	4	Graminées	21,0
Lizine Petit	20	5	Graminées	12,2
Lizine Petit	20	6	Graminées	42,0
Lizine Petit	20	7	Graminées, plantain	5,9
Lizine Petit	20	8	Graminées	21,1
Lizine Petit	20	9	Graminées	5,6
Lizine Petit	20	10	Graminées	10,1
Cademène	2	1	Graminées	39,7
Cademène	2	2	Graminées, allium	12,2
Cademène	2	3	Graminées, allium	29,2
Cademène	2	4	Graminées	36,6
Cademène	2	5	Graminées, allium	18
Cademène	2	6	Graminées	55,3
Cademène	5	1	Graminées	48,3
Cademène	5	2	Graminées	30
Cademène	5	3	Graminées, allium	28,7
Cademène	5	4	Graminées	2,1
Cademène	5	5	Graminées, allium	20,6
Cademène	5	6	Graminées	31,1
Cademène	20	1	Graminées	18,4
Cademène	20	2	Graminées	34,1
Cademène	20	3	Graminées	37,6
Cademène	20	4	Graminées	16,8
Cademène	20	5	Graminées	12,0
Cademène	20	6	Graminées	4,2

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Les données sont résumées dans la Figure 1.

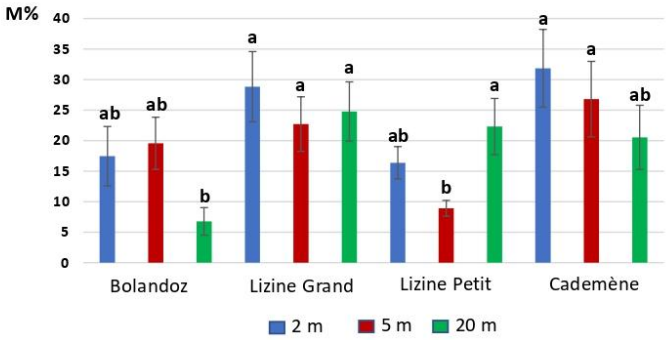


Figure 1. Taux de mycorhization (M%) des racines prélevées au niveau des parcelles de Bolandoz, Lizine Grand, Lizine Petit et Cademène à 2, 5 et 20 mètres de la haie (moyenne ± erreur standard de la moyenne ; test de Kruskal-Wallis, P<0,05).

Conclusions

Les taux de mycorhization tendent à être plus faibles à 20 mètres de la haie qu'à 2 ou 5 mètres sur les parcelles de Bolandoz, Lizine Petit et Cademène. En revanche, aucune différence significative n'est observée entre les lignes sur la parcelle de Lizine Grand.

Une analyse statistique détaillée des taux de mycorhization en lien avec les propriétés du sol, de la végétation et la constitution du microbiome sera présentée dans le rapport annuel.

Référence bibliographique

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans : *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V Gianinazzi-Pearson, S Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

Dr Armelle Gollotte

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 / 03 80 32 01 19 - 03 80 32 03 11
Email : laraspiral@wanadoo.fr / michelprost.spiral@wanadoo.fr
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

14. Rapport d'analyses portant sur le microbiome Laboratoires Spiral (2023).

Couternon, le 30 janvier 2024

RAPPORT D'ANALYSE Ref. C2401005 Bon de commande CHMA.439.1
Monsieur Didier Tourenne Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort 130 bis rue de Belfort CS 40939 25021 Besançon Cedex

Echantillons : Racines et sol de prairies prélevés le 06/06/2023 sur les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand, Lizine Petit et Cademène

Méthologie

- Taux de mycorhization

Les racines ont été prélevées comme les années précédentes, à raison de 10 échantillons par ligne (2, 5 et 20 mètres de la haie) pour les parcelles de Bolandoz, Lizine Grand et Lizine Petit et 6 échantillons pour la parcelle de Cademène.
Les racines ont été colorées à l'encre noire pour estimer l'intensité de mycorhization (M%) selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).

- Analyse du microbiome du sol

Comme l'analyse du microbiome ne pouvait pas être réalisée sur tous les échantillons, le choix s'est porté sur les conditions montrant des différences significatives au niveau des taux de mycorhization les années précédentes, à savoir Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie. Sur chaque ligne, le sol attaché aux racines des 10 échantillons prélevés a été récupéré et mélangé puis utilisé pour réaliser l'extraction d'ADN. Les extraits d'ADN ont été ensuite séquencés par méthode métagénomique. Les séquences obtenues ont été comparées aux séquences de microorganismes connus (bactéries, champignons et protistes) pour leur identification taxonomique.
Les résultats sont présentés sous forme d'abondance relative des microorganismes.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (R Core Team 2022).

Résultats

Taux de mycorhization

Les taux de mycorhization des plantes de prairies sont présentés dans la Figure 1. Si on n'observe pas de différence significative entre les distances à la haie (2, 5 et 20 mètres) sur les parcelles de Lizine Grand et Cademène, des différences sont clairement démontrées à Bolandoz et Lizine Petit. En effet, les taux de mycorhization sont significativement plus faibles à 20 mètres qu'à 2 mètres et 5 mètres de la haie à Bolandoz. A Lizine Petit, les taux de mycorhization les plus faibles sont à 5 mètres de la haie. Les différences significatives entre les lignes 2 mètres et 20 mètres observées les années précédentes à Lizine Grand n'ont pas été retrouvées. En fait, sur cette parcelle, du fumier a été apporté à moins de 10 mètres de la haie au printemps 2023. C'est peut-être ce qui explique cette différence de résultat.

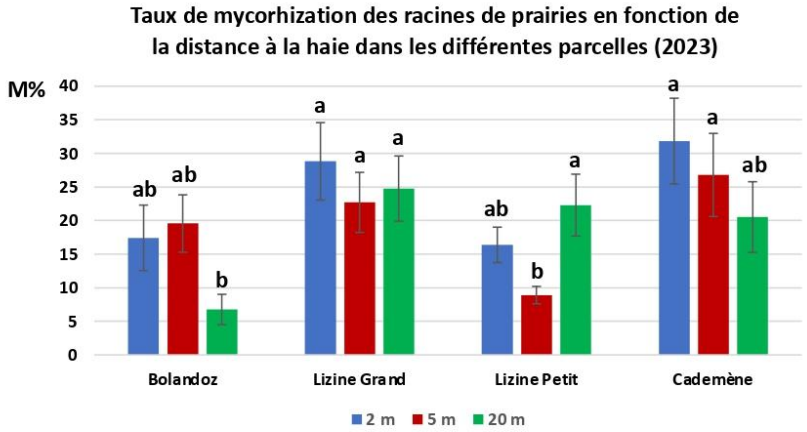


Figure 1. Moyenne des taux de mycorhization (M%) des racines prélevées le 6 juin 2023 au niveau des parcelles de Bolandoz, Lizine Grand, Lizine Petit et Cademène à 2, 5 et 20 mètres de la haie (moyenne ± erreur standard de la moyenne ; test de Kruskal-Wallis, P<0,05).

Analyse du microbiome

L'analyse métagénomique a permis l'identification taxonomique des champignons, des protistes et des bactéries présents dans les échantillons. Les microorganismes les plus représentés et leurs propriétés sont indiqués dans l'Annexe 1. Les résultats sont présentés sous forme d'abondance relative des séquences (Figures 2 à 5). Au niveau des bactéries, on peut observer globalement des différences entre les proportions de protéobactéries et d'Actinomycètes entre les parcelles de Bolandoz et de Lizine Grand et en fonction de la distance à la haie (Figure 2A). Concernant les alphaprotéobactéries, des variations sont observées pour les Hyphomicrobiales et les Sphingomonadales (Figure 2B). Des différences importantes sont visibles au niveau des betaprotéobactéries, notamment pour les Burkholdériales, les Nitrosomonadales et les Rhodocyclales (Figure 2C). Pour les gammaprotéobactéries, quelques différences sont observées au niveau des Pseudomonadales (Figure 2D). Enfin pour les Actinomycètes, des variations sont surtout notées pour les Mycobactériales et les Solirubrobactériales (Figure 2E).

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

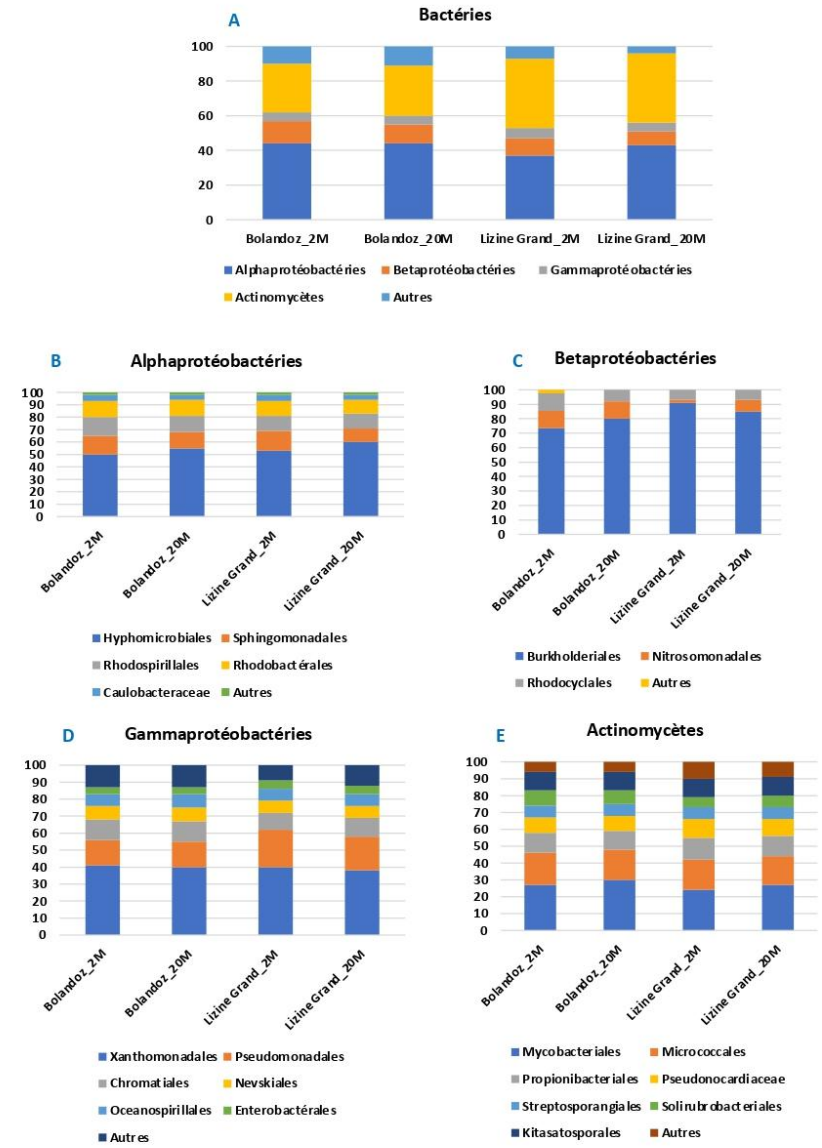


Figure 2. Abondance relative de séquences d'ADN de bactéries dans l'analyse du microbiome du sol sur les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

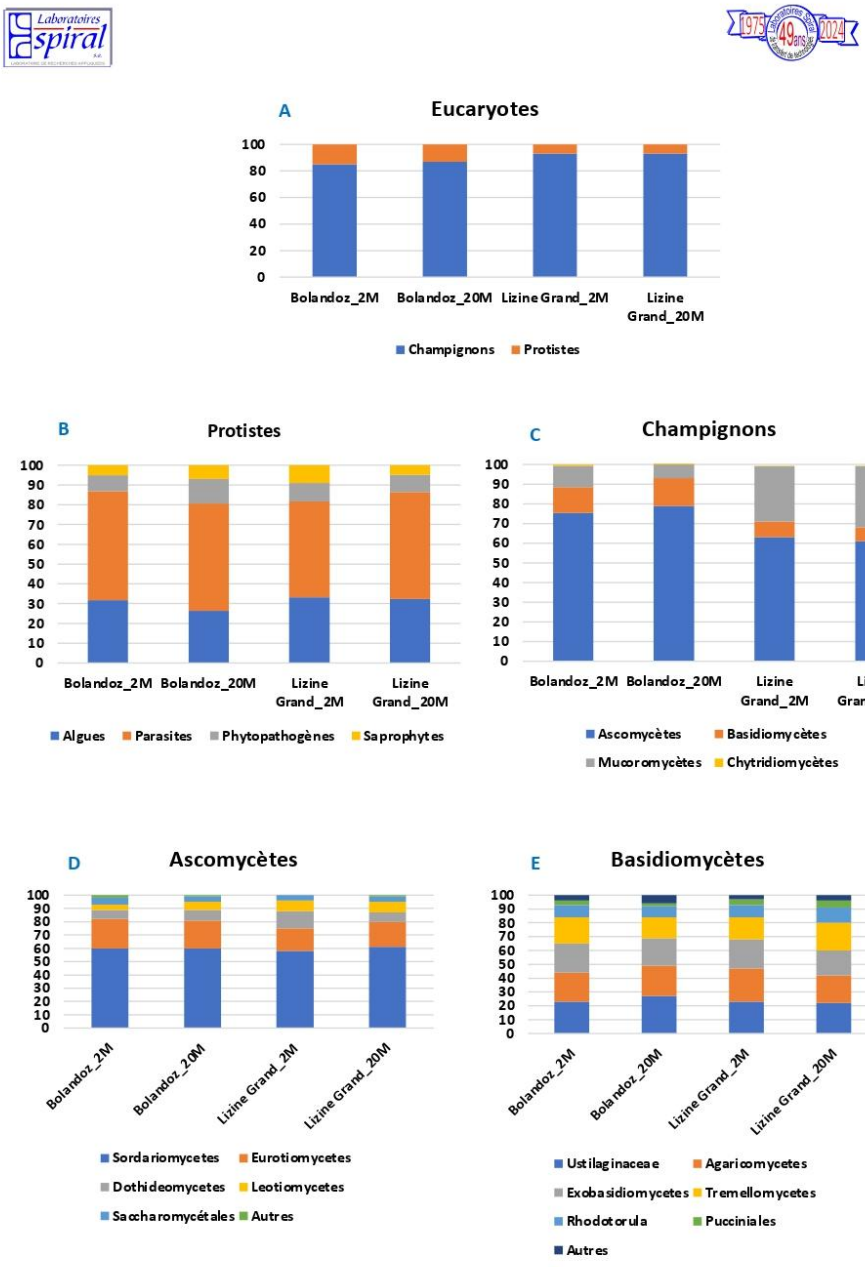


Figure 3. Abondance relative de séquences d'ADN de microorganismes eucaryotes dans l'analyse du microbiome du sol sur les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie. Les protistes étant très diversifiés et encore peu caractérisés, ils sont présentés selon leur fonction (algues, parasites d'animaux, phytopathogènes ou saprophytes).

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

En ce qui concerne les eucaryotes, des différences de proportions entre champignons et protistes sont observables entre les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand (Figure 3A). La composition en protistes est d'ailleurs très variable entre les échantillons (Figure 3B). De même, les proportions des Ascomycètes, des Basidiomycètes et des Mucoromycètes varient entre les deux parcelles. Dans le cas des Ascomycètes, on observe peu de différences entre les échantillons à part pour les Dothidéomycètes (Figure 3D). De même, la composition en Basidiomycètes est peu variable (Figure 3E).

Par ailleurs, les séquences de champignons mycorhiziens ont été recherchées pour voir s'il y a une influence des haies sur leur diversité. Les champignons ectomycorhiziens qui entrent en symbiose avec certains arbres et arbustes des haies, comme le noisetier, le chêne, le charme, le tilleul ou le saule, sont en fait peu représentés dans l'ensemble des séquences. Quelques séquences de champignons ectomycorhiziens des genres *Laccaria* (Basidiomycètes) et *Tuber* (Ascomycètes) ont été identifiées. Ces champignons sont plus abondants à Lizine Grand qu'à Bolandoz (Figure 4). Les séquences de Basidiomycètes sont présentes à 2 mètres de la haie sur les deux parcelles mais sont absentes à 20 mètres à Bolandoz ou moins abondantes à Lizine Grand. Cela indique que ces champignons se développent difficilement loin de la haie. Dans le cas des *Tuber*, genre formant des truffes, on observe en revanche, une présence plus abondante à 20 mètres qu'à 2 mètres au niveau des deux parcelles. Il a été montré que ces champignons Ascomycètes sont capables de coloniser les racines de nombreuses plantes sans pour autant former des mycorhizes (Schneider-Maunoury et al. 2020). Ces plantes pourraient ainsi leur permettre de progresser dans les sols en prospection vers de nouvelles plantes hôtes.

En ce qui concerne les champignons endomycorhiziens, qui entrent en symbiose avec les racines de certains arbres et arbustes des haies (aubépine, prunellier, merisier, argousier, troène, viorne lantane, églantier, cornouiller) ainsi que de la végétation des prairies, on observe également de grandes différences entre les deux parcelles. L'abondance relative des champignons endomycorhiziens (Gloméromycètes) est bien plus faible à Bolandoz qu'à Lizine Grand. De plus, à Bolandoz, les champignons endomycorhiziens sont plus abondants à 2 mètres qu'à 20 mètres de la haie. A Lizine Grand, ces champignons sont aussi abondants à 2 mètres qu'à 20 mètres de la haie. Il est à noter que ces résultats sont tout à fait cohérents avec les taux de mycorhization des racines montrés dans la Figure 1.

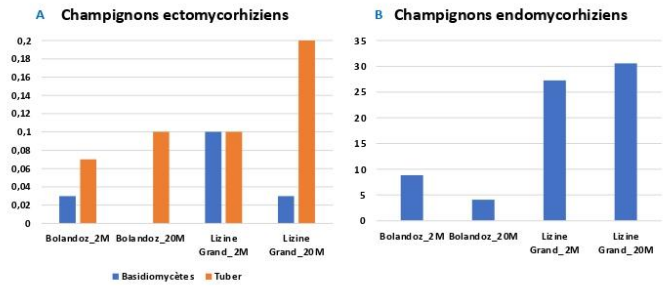


Figure 4. Abondance relative de séquences d'ADN de champignons ectomycorhiziens ou endomycorhiziens dans l'analyse du microbiome du sol sur les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

L'ensemble des résultats d'abondances relatives des microorganismes est présenté dans la Figure 5 sous forme de carte de couleur (heatmap) avec un gradient de couleurs allant du jaune pâle pour les plus faibles au rouge foncé pour les plus élevées. Il est ainsi possible de comparer directement les quatre échantillons étudiés. Des différences importantes peuvent être ainsi constatées à plusieurs niveaux :

- *Entre les parcelles :*
  - Le sol de la parcelle de Bolandoz est plus riche en Rhodospirillales, en Rhodobactérales, Chromatiales, Rhodocyclales, Nitrosomonadales et en Eurotiomycètes.
  - Le sol de la parcelle de Lizine Grand est plus riche en Burkholdériales, Pseudomonadales, Actinomycètes, champignons et Glomeromycètes.

Il est à noter que les deux parcelles diffèrent quant aux propriétés physico-chimiques de leur sol, telles que les reliquats azotés, la teneur en phosphore, la CEC et le taux de matière organique (Figure 6). En particulier, le sol de Bolandoz est beaucoup plus riche en phosphore que celui de Lizine Grand. En revanche, le sol de Lizine Grand est plus riche en nitrates (2 mètres de la haie), en ammonium et en matière organique et a une plus forte CEC. Or ces propriétés peuvent facilement expliquer les plus forts taux de mycorhization des racines et la plus forte abondance relative d'ADN de champignons dont les Glomeromycètes qui sont connus pour absorber et transférer du phosphore à leurs plantes hôtes. De plus, les bactéries Burkholdériales, Pseudomonadales et Actinomycètes sont impliquées dans le cycle du phosphore, alors que les Rhodospirillales, les Rhodobactérales, les Rhodocyclales et les Nitrosomonadales sont plus impliquées dans le cycle de l'azote. Ainsi le microbiome du sol de Bolandoz est plus orienté vers le cycle de l'azote que vers le phosphore qui est en quantités suffisantes et c'est l'inverse pour le sol de Lizine Grand.

- *Entre les distances à la haie de façon similaire sur les deux parcelles :*
  - A 2 mètres de la haie, le sol est plus riche en betaprotéobactéries, Sphingomonadales, en Actinomycètes (Propionibactériales Micrococcales, Mycobactériales), algues et Exobasidiomycètes.
  - A 20 mètres de la haie, le sol est plus riche en Hyphomicrobiales (*Rhizobium*).

Les microorganismes plus abondants à 2 mètres de la haie sont impliqués dans les cycles de l'azote et du phosphore. A cela s'ajoutent les champignons ectomycorhiziens issus de la haie, comme montré plus haut (Figure 4), et qui peuvent également dégrader la matière organique. A 20 mètres de la haie, les bactéries *Rhizobium* plus abondantes sont liées à davantage de trèfle présent dans les échantillons prélevés. Malgré tout, on ne peut pas mettre ces résultats en relation avec des différences de propriétés physico-chimiques du sol pour les distances de 2 mètres et 20 mètres de la haie sur chaque parcelle (Figure 6).

On peut donc émettre l'hypothèse que la haie favorise, à 2 mètres, le développement d'un microbiome plus adapté au cycle de l'azote et du phosphore, peut être en lien avec la matière organique apportée par les feuilles ou les déjections des animaux se mettant à l'ombre de la haie en été.

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☏ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

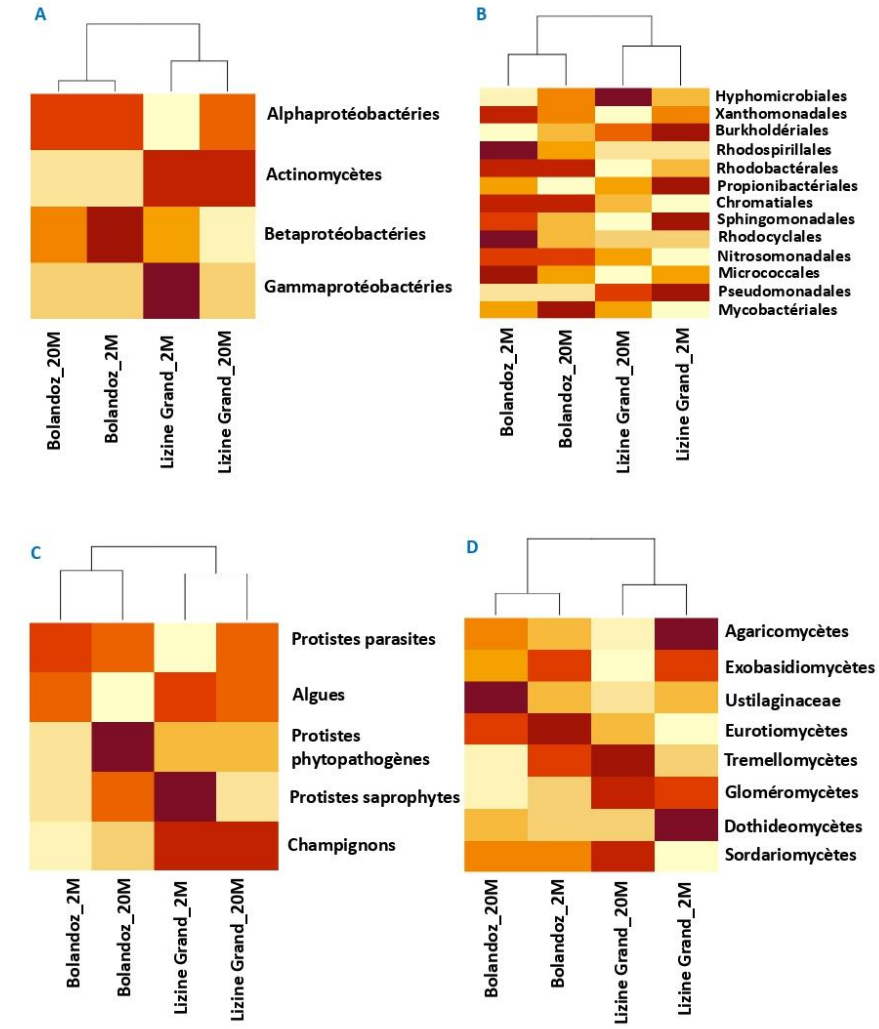


Figure 5. Carte de couleur (heatmap) représentant l'abondance relative de séquences d'ADN de microorganismes dans les extraits de sol des parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie (l'intensité de la couleur du jaune au rouge représente respectivement des abondances faibles à élevées).
Les lignes ne sont pas comparables entre elles.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

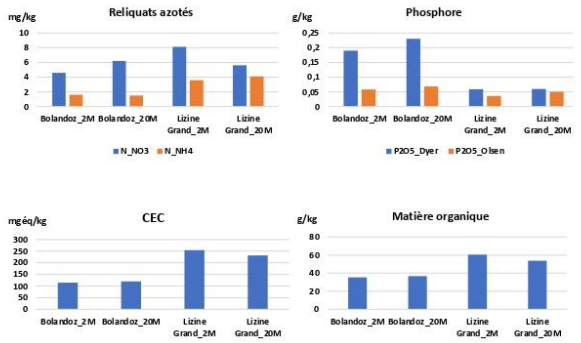


Figure 6. Propriétés physico-chimiques du sol sur les parcelles de Bolandoz et Lizine Grand à 2 mètres et 20 mètres de la haie (Analyses réalisées par la Chambre d'Agriculture du Doubs et Territoire de Belfort en 2023 pour les reliquats azotés et 2022 pour la teneur en phosphore, la CEC et le taux de matière organique).

Conclusions

Les résultats obtenus en 2023 permettent d'obtenir des indications intéressantes sur l'activité des microorganismes dans les sols des prairies :

- Des différences importantes existent dans la composition du microbiome entre les deux parcelles, avec une orientation de la diversité microbienne vers les fonctions nécessaires à la libération des éléments minéraux moins abondants (azote pour Bolandoz et phosphore pour Lizine Grand).
- Des différences entre les lignes situées à 2 mètres et 20 mètres de la haie, probablement en lien avec une dégradation de la matière organique plus importante à 2 mètres.

Perspectives

- En 2024, il sera intéressant de répéter ces analyses en incluant du sol prélevé au niveau de la haie pour mieux identifier le gradient éventuel du microbiome jusqu'à 20 mètres.
- Les résultats des analyses du microbiome seront mises en relation avec ceux obtenus par la Chambre d'Agriculture du Doubs et du Territoire de Belfort en ce qui concerne les propriétés physico-chimiques du sol, la végétation, les rendements et qualités nutritionnelles du fourrage. Cela permettre de mieux comprendre l'interaction entre les activités microbiennes du sol, les pratiques agricoles et la végétation et l'impact des haies sur cette interaction.

Références bibliographiques

R Core Team (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Schneider-Maunoury L, Deveau A, Moreno M, Todesco F, Belmondo S, Murat C, Courty PE, Jakalski M, Selosse MA (2020) Two ectomycorrhizal truffles, *Tuber melanosporum* and *T. aestivum*, endophytically colonise roots of non-ectomycorrhizal plants in natural environments. New Phytologist 225: 2542-2556.

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans : *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V Gianinazzi-Pearson, S Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Annexe 1. Bactéries et champignons les plus représentés dans les échantillons de sol analysés par métagénomique.

Règne	Classe	Ordre	Représentants	Activité
Bactéries	Alphaprotéobactéries	Hyphomicrobiales	Rhizobiales	Fixation de l'azote atmosphérique
		Sphingomonadales	Sphingomonas	Décontamination de sols, tolérance au stress ; quelques phytopathogènes
		Rhodospirillales	*Azospirillum*	Fixation de l'azote ou photosynthèse
		Rhodobactérales	*Roseovarius*	Photosynthèse
		Caulobacteraceae	*Caulobacter*	Dégradation de la matière organique
	Betaprotéobactéries	Burkholdériales	*Burkholderia*	Dénitrification ; cycle du phosphore ; certaines bactéries sont pathogènes pour les plantes
		Nitrosomonadales	*Thiobacillus*	Cycle de l'azote, du soufre et du fer
		Rhodocyclales	*Aromatoleum, Dechloromonas, Thauera*	Dégradation des composés organiques ; cycle de l'azote
	Gammaprotéobactéries	Xanthomonadales	*Xanthomonas*	Pathogènes des plantes ou des animaux ; cycle du phosphore
		Pseudomonadales	*Pseudomonas*	Pathogènes des plantes ou des animaux ; certaines souches peuvent protéger les plantes contre les maladies
		Chromatiales	*Thioalkalivibrio, Thioflavicoccus*	Cycle du soufre
	Actinomycètes	Mycobactériales, Micrococcales, Propionibactériales, Pseudonocardiaceae, Streptosporangiales, Solirubrobactériales, Kitasastosporales	*Mycobacterium, Rhodoccocus*	Décontamination de polluants ; cycle de l'azote et du phosphore ; certains peuvent être pathogènes des animaux

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Règne	Phylum/Classe	Ordre	Représentants	Activité
Champignons	Ascomycètes	Sordariomycètes	*Fusarium, Trichoderma, Gaeumannomyces, Metarhizium, Colletotrichum*	Pathogènes de plantes et d'insectes ; Des souches non pathogènes peuvent protéger les plantes
		Eurotiomycètes	*Aspergillus, Penicillium, Chaetothyriales*	Saprophytes ; cycle de l'azote et du phosphore ; certains sont pathogènes de plantes ou d'animaux
		Dothidéomycètes	*Pleosporales, Mycosphaerellales*	Saprophytes ou pathogènes de plantes
		Léotiomycètes	*Sclerotinia, Botrytis, Drepanopeziza*	Saprophytes ou pathogènes de plantes
		Saccharomycétales	*Candida, Saccharomycetaceae, Yarrowia*	Saprophytes
		Pezizales	*Tuber*	Ectomycorhiziens
	Basidiomycètes	Ustilaginaceae	*Ustilago*	Pathogènes des plantes
		Agaricomycètes	*Polyporales, Agaricales, Boletales*	Saprophytes, pathogènes de plantes ou ectomycorhiziens
		Exobasidiomycètes	*Tilletiopsis, Acaromyces, Jaminaea, Ceraceosorus*	Saprophytes ou pathogènes de plantes
		Tremellomycètes	*Apiotrichum, Trichosporon*	Saprophytes
		Pucciniales	*Puccinia, Melampsora*	Pathogènes de plantes
	Mucoromycètes	Glomeromycètes	*Rhizophagus*	Champignons endomycorhiziens

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

15. Rapport d'analyses portant sur les mycorhizes , Laboratoires Spiral (2024).

Couternon, le 20 août 2024

RAPPORT D'ANALYSE
Ref. C2407011

Monsieur Didier Tourenne
Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort
130 bis rue de Belfort
CS 40939
25021 Besançon Cedex

Échantillons : Racines prélevées le 23 juillet 2024 sur les parcelles de Bolandoz et Cademène

Méthodologie

Les racines ont été prélevées sur chaque parcelle à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie à raison de 10 prélèvements par ligne (50 m) pour la parcelle de Bolandoz et de 6 prélèvements par ligne (30 m) pour la parcelle de Cademène.
Après un bref lavage, toutes les racines ont été observées sous loupe binoculaire pour rechercher la présence d'ectomycorhizes et de mycélium. Les racines ont ensuite été colorées à l'encre noire pour estimer les taux de mycorhization (M%) par les champignons mycorhiziens à arbuscules selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).

Résultats

Ectomycorhizes

Des ectomycorhizes ont été retrouvées au niveau des racines prélevées au bord (0 m) des haies de Bolandoz et Cademène (Figure 1 C et D ; Tableau 1). C'est logique puisque des arbres formant des ectomycorhizes sont présents dans ces haies (tilleul, noisetier, chêne, charme). A Cademène, les ectomycorhizes ont également été retrouvées à 2 et 5 m de distance de la haie, ce qui indique une continuité dans le développement des champignons dans le sol entre la haie et la prairie. En revanche, aucune ectomycorhize n'a été observée à 2, 5 et 20 m de la haie à Bolandoz (Tableau 1). Cette absence de développement des champignons ectomycorhiziens issus de la haie vers la prairie peut s'expliquer par la jeunesse de la haie et/ou les pratiques culturales sur cette parcelle.

Mycélium extraradiculaire

Le mycélium présent en surface des racines (Figure 1 A et B) a été recherché pour étudier le développement des champignons dans le sol. Ce mycélium peut être issu des champignons mycorhiziens à arbuscules ou des champignons ectomycorhiziens ou d'autres champignons. Ce mycélium est relativement peu abondant à Bolandoz, où il n'a été observé que dans 17,5% des échantillons. A Cademène, il a été identifié dans 29,2% des échantillons. Ce résultat est en accord avec les observations des années précédentes montrant un développement fongique plus important dans le sol de Cademène que dans celui de Bolandoz.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

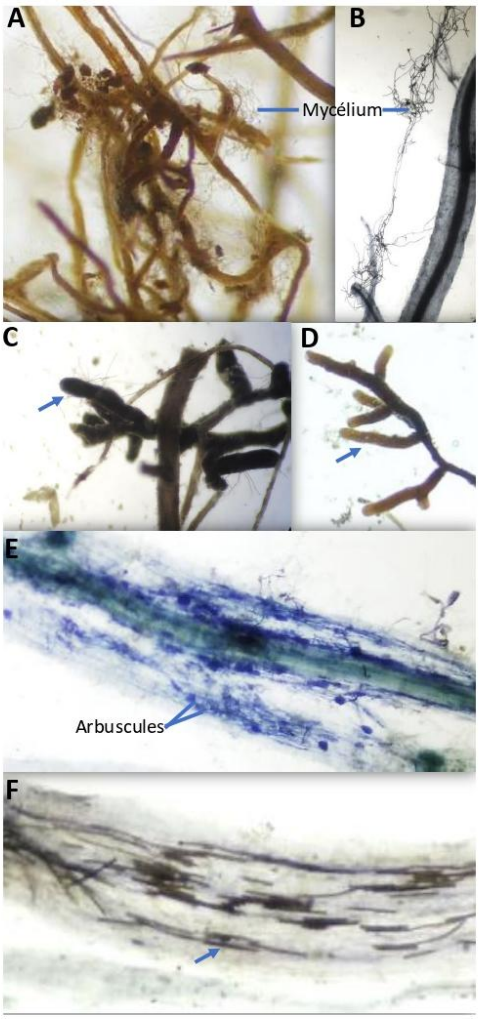


Figure 1. Observation à la loupe binoculaire des champignons associés aux racines avant (A, C, D) ou après coloration à l'encre noire (B, E, F). A, B : mycélium à l'extérieur des racines ; C, D : ectomycorhizes ; E : mycorhize à arbuscules ; F : endophyte non mutualiste (DSE).

Champignons endophytes non mutualistes

Comme les années précédentes, des champignons endophytes de type DSE (Dark Septate Endophytes) ont été observés dans les racines (Figure 1 F). Ces champignons non symbiotiques peuvent avoir dans certains cas avoir un effet négatif sur la croissance des plantes ou dans d'autres augmenter leur tolérance à différents stress (Malicka et al. 2022). Ces champignons ont été observés dans 25% des échantillons de racines de Bolandoz contre 12,5% de ceux de Cademène. Cela pourrait être une indication d'un stress plus important pour la végétation de la prairie de Bolandoz que pour celle de Cademène.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Champignons mycorhiziens à arbuscules

En ce qui concerne les champignons mycorhiziens à arbuscules (Figure 1 E), des différences importantes sont observées entre les deux parcelles (Figure 2). A Bolandoz, les taux de mycorhization sont bas dans les racines de la prairie, indépendamment de la distance à la haie (6% en moyenne), mais sont significativement plus élevés au niveau des racines de la haie (22%).

A Cademène, les taux de mycorhization des racines sont plus élevés (32% en moyenne) et on n'observe pas de différence significative entre les taux de mycorhization à 0, 2, 5 et 20 m de la haie.

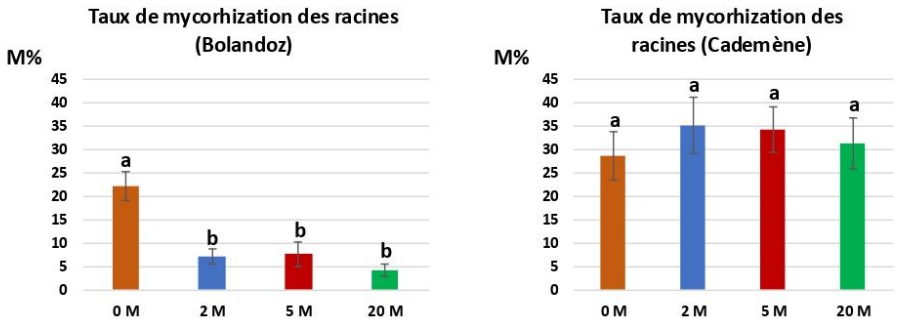


Figure 2. Taux de mycorhization des racines (M%) à Bolandoz et Cademène en fonction de la distance à la haie. Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; test de Kruskal-Wallis, p<0,05)

Conclusions

- A Bolandoz, les racines situées au bord de la haie sont relativement bien mycorhizées par les champignons ectomycorhiziens et mycorhiziens à arbuscules. En revanche, on constate l'absence d'ectomycorhizes au niveau de la prairie. De plus, les taux de mycorhization des racines par les champignons mycorhiziens à arbuscules de la prairie sont extrêmement faibles. Toutefois des champignons endophytes de type DSE sont relativement abondants. Ces résultats peuvent être expliqués par les pratiques culturales ainsi que par les fortes précipitations de l'année.
- A Cademène, on observe une continuité des champignons ectomycorhiziens et mycorhiziens à arbuscules entre la haie et la prairie. Les taux de mycorhization par les champignons mycorhiziens à arbuscules sont relativement élevés, ce qui suggère un bon fonctionnement de la microbiologie du sol dans l'ensemble du système haie/prairie.
- Ces résultats seront à mettre en relation avec ceux de l'analyse métagénomique du microbiome du sol qui sera réalisée sur les mêmes échantillons.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Echantillon	Parcelle	Distance (m)	Ectomycorhizes	Mycélium et autres champignons	M%
B_0_1	Bolandoz	0	Présence	*Absence*	9,6
B_0_2	Bolandoz	0	*Absence*	Mycélium	22,8
B_0_3	Bolandoz	0	*Absence*	*Absence*	9,6
B_0_4	Bolandoz	0	Présence	*Absence*	33,4
B_0_5	Bolandoz	0	*Absence*	*Absence*	10,6
B_0_6	Bolandoz	0	Présence	*Absence*	22,6
B_0_7	Bolandoz	0	*Absence*	*Absence*	19,4
B_0_8	Bolandoz	0	*Absence*	*Absence*	26,3
B_0_9	Bolandoz	0	Présence	*Absence*	30,6
B_0_10	Bolandoz	0	*Absence*	*Absence*	36,3
B_2_1	Bolandoz	2	*Absence*	DSE	1,8
B_2_2	Bolandoz	2	*Absence*	Mycélium	3,1
B_2_3	Bolandoz	2	*Absence*	DSE	7,8
B_2_4	Bolandoz	2	*Absence*	*Absence*	9,1
B_2_5	Bolandoz	2	*Absence*	*Absence*	11,3
B_2_6	Bolandoz	2	*Absence*	*Absence*	3,3
B_2_7	Bolandoz	2	*Absence*	*Absence*	4,1
B_2_8	Bolandoz	2	*Absence*	*Absence*	18,7
B_2_9	Bolandoz	2	*Absence*	*Absence*	8,5
B_2_10	Bolandoz	2	*Absence*	DSE	4,7
B_5_1	Bolandoz	5	*Absence*	*Absence*	27,8
B_5_2	Bolandoz	5	*Absence*	DSE	3,1
B_5_3	Bolandoz	5	*Absence*	Mycélium	1,3
B_5_4	Bolandoz	5	*Absence*	DSE	4,5
B_5_5	Bolandoz	5	*Absence*	DSE	1,6
B_5_6	Bolandoz	5	*Absence*	Mycélium	4,7
B_5_7	Bolandoz	5	*Absence*	DSE	13,5
B_5_8	Bolandoz	5	*Absence*	*Absence*	14,8
B_5_9	Bolandoz	5	*Absence*	*Absence*	5,2
B_5_10	Bolandoz	5	*Absence*	DSE	0,4

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☎ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Echantillon	Parcelle	Distance (m)	Ectomycorhizes	Mycélium et autres champignons	M%
B_20_1	Bolandoz	20	*Absence*	Mycélium	9,2
B_20_2	Bolandoz	20	*Absence*	*Absence*	4,2
B_20_3	Bolandoz	20	*Absence*	*Absence*	0,7
B_20_4	Bolandoz	20	*Absence*	Mycélium	0,7
B_20_5	Bolandoz	20	*Absence*	*Absence*	8,9
B_20_6	Bolandoz	20	*Absence*	DSE	0,9
B_20_7	Bolandoz	20	*Absence*	Mycélium	11
B_20_8	Bolandoz	20	*Absence*	*Absence*	5,3
B_20_9	Bolandoz	20	*Absence*	DSE	0,6
B_20_10	Bolandoz	20	*Absence*	*Absence*	1,1
C_0_1	Cademène	0	Présence	Mycélium	44,5
C_0_2	Cademène	0	*Absence*	DSE	13,2
C_0_3	Cademène	0	Présence	Mycélium	42,3
C_0_4	Cademène	0	*Absence*	*Absence*	24,8
C_0_5	Cademène	0	Présence	DSE	18,1
C_0_6	Cademène	0	*Absence*	Mycélium	29,3
C_2_1	Cademène	2	*Absence*	*Absence*	25,8
C_2_2	Cademène	2	*Absence*	DSE	25,6
C_2_3	Cademène	2	Présence	DSE	DSE
C_2_4	Cademène	2	*Absence*	*Absence*	58,6
C_2_5	Cademène	2	*Absence*	*Absence*	34,2
C_2_6	Cademène	2	Présence	Mycélium	47,2
C_5_1	Cademène	5	*Absence*	*Absence*	50,4
C_5_2	Cademène	5	*Absence*	Mycélium	28,6
C_5_3	Cademène	5	*Absence*	*Absence*	15,4
C_5_4	Cademène	5	Présence	*Absence*	40,5
C_5_5	Cademène	5	*Absence*	*Absence*	38,3
C_5_6	Cademène	5	*Absence*	*Absence*	33,6
C_20_1	Cademène	20	*Absence*	*Absence*	46,5
C_20_2	Cademène	20	*Absence*	Mycélium	10,7
C_20_3	Cademène	20	*Absence*	*Absence*	20,0
C_20_4	Cademène	20	*Absence*	*Absence*	39,1
C_20_5	Cademène	20	*Absence*	*Absence*	34,8
C_20_6	Cademène	20	*Absence*	Mycélium	36,7

Tableau 1. Présence/absence de champignons ectomycorhiziens, de mycélium extraradiculaire ou de champignons endophytes non mutualistes (DSE) dans les racines, et taux de mycorhization (M%) par les champignons mycorhiziens à arbuscules dans les racines à 0, 2, 5 ou 20 m de la haie dans les parcelles de Bolandoz et de Cademène.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Références bibliographiques

Malicka M, Magurno F, Piotrowska-Seget Z (2022) Plant association with dark septate endophytes: When the going gets tough (and stressful), the tough fungi get going. Chemosphere 302: 134830

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans : *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V Gianinazzi-Pearson, S Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

16. Rapport microbiome Laboratoires Spiral 2024

Couternon, le 18 décembre 2024

RAPPORT D'ANALYSE de MICROBIOME
Ref. C2407012

Monsieur Didier Tourenne
Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort
130 bis rue de Belfort
CS 40939
25021 Besançon Cedex

Échantillons de sol prélevés le 23 juillet 2024 sur les parcelles de Bolandoz et Cademène

Objectif

L'objectif de l'analyse du microbiome du sol sur les parcelles de Bolandoz et Cademène a été de déterminer si dans un système agroforestier, la haie et/ou les pratiques culturales ont un impact sur la vie du sol, et en retour sur la croissance de la végétation des prairies.

Méthodologie

Les échantillons de sol ont été prélevés à la bêche sur chaque parcelle à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie à raison de 10 prélèvements par ligne (50 mètres) pour la parcelle de Bolandoz et de 6 prélèvements par ligne (30 mètres) pour la parcelle de Cademène. Les échantillons de sol de chaque ligne ont été mélangés puis l'ADN de chaque échantillon composite a été extrait. Les ADN ont ensuite été soumis à un séquençage systématique de la région 16S (V3-V4) de l'ADN ribosomique des bactéries et de la région ITS2 de l'ADN ribosomique des Eucaryotes et plus particulièrement des champignons (Bertola et al. 2021).
Des analyses statistiques ont ensuite été réalisées avec le logiciel R (R Core Team 2023) pour déterminer s'il existe des différences de diversité et d'abondance relative des espèces entre les échantillons.

Résultats

1. ***Nombre d'espèces***

On constate tout d'abord que les échantillons diffèrent quant au nombre d'espèces de bactéries et de champignons qu'ils contiennent (Figure 1). Ainsi, à Bolandoz, le nombre d'espèces de bactéries est le plus élevé au niveau de la haie. Il diminue ensuite jusqu'à 5 mètres puis remonte à 20 mètres. De même, le nombre d'espèces le plus élevé de champignons est au niveau de la haie. Il est beaucoup plus faible à 2 mètres puis remonte jusqu'à 20 mètres. A Cademène, le nombre d'espèces de bactéries et de champignons est similaire au niveau de la haie et à 2 mètres de la haie. Il augmente ensuite à 5 mètres et diminue légèrement à 20 mètres.

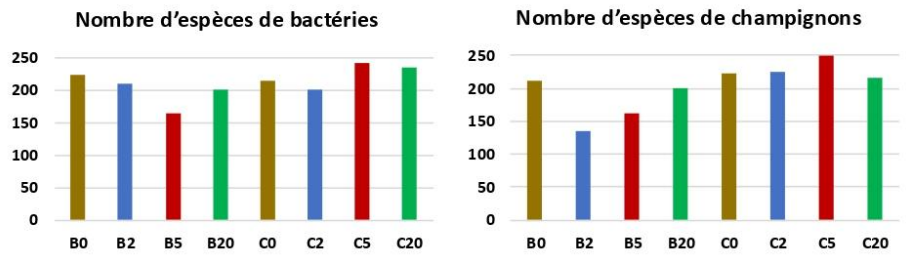


Figure 1. Nombre d'espèces de bactéries et de champignons identifiées dans chaque échantillon, à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie sur les parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C).

De plus, si l'on compare les parcelles de Bolandoz et de Cademène, pour lesquelles les pratiques agricoles et l'âge de la haie sont différents, on ne constate pas de différences significatives pour le nombre d'espèces de bactéries entre les deux parcelles (Figure 2). En revanche, on trouve davantage d'espèces de champignons au niveau du sol de la parcelle de Cademène que de celui de Bolandoz.

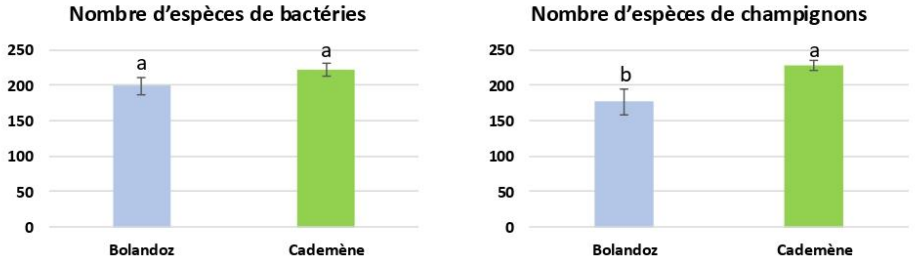


Figure 2. Comparaison du nombre d'espèces de bactéries et de champignons identifiées dans les échantillons de sol prélevés sur les parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C), indépendamment de la distance à la haie. Des lettres différentes indiquent des différences significatives (Moyenne ± erreur standard de la moyenne).

Dans les paragraphes suivants, nous présenterons les résultats les plus significatifs concernant la biodiversité des microorganismes identifiés sur les deux parcelles aux différentes distances de la haie.

2. *Diversité des bactéries*

L'étude de la composition des communautés de bactéries dans les différents échantillons indique que sur la parcelle de Cademène, il y a une plus grande proportion de séquences d'Actinobactéries et une plus faible proportion de séquences de Protéobactéries que sur la parcelle de Bolandoz (Figure 3). De plus à Bolandoz, à 5 mètres de la haie, la proportion de protéobactéries est plus élevée qu'à 0, 2 et 20 mètres de la haie.
Les Actinobactéries incluent des bactéries capables de dégrader la matière organique ou de coloniser les racines, et d'avoir ainsi un effet positif sur la croissance des plantes.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

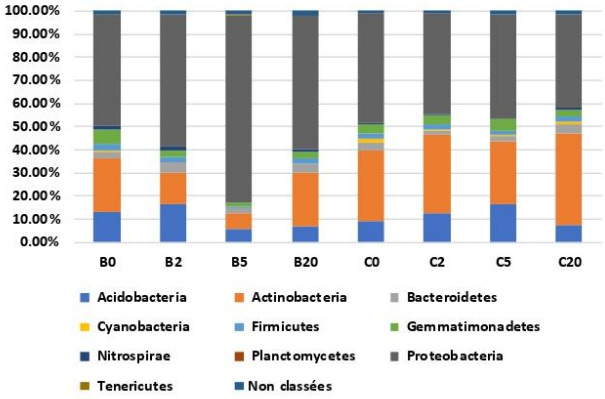


Figure 3. Abondance relative des phyla de bactéries dans le sol des parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C) à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie.

Parmi les Protéobactéries, les Alphaprotéinobactéries sont les plus représentées à Cademène alors que ce sont les Betaprotéinobactéries qui sont les plus abondantes à Bolandoz (Figure 4). A 5 mètres de la haie à Bolandoz, les Gammaprotéobactéries sont les fréquentes.
Parmi les Alphaprotéinobactéries, les bactéries *Rhizobium* (bactéries fixatrices d'azote en symbiose avec les légumineuses) et *Sphingomonas* (bactéries stimulant la croissance des plantes) sont plus représentées à Cademène qu'à Bolandoz. En revanche, Pseudolabrys (bactérie impliquée dans la nitrification) est plus abondante à Bolandoz qu'à Cademène.
Les Betaprotéobactéries plus fréquentes à Bolandoz qu'à Cademène incluent les bactéries nitrifiantes *Nitrosomonas* et *Nitrospira* ainsi que *Burkholderia* fixatrices d'azote atmosphérique.
Les Gammaprotéobactéries particulièrement abondantes à 5 mètres de la haie à Bolandoz sont des *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* et *Serratia* qui sont des bactéries stimulant la croissance des plantes (PGPR) ou pouvant être pathogènes dans certains cas. Toutefois, à Cademène, *Steroidobacter*, impliquée dans la dénitrification, est plus abondante.

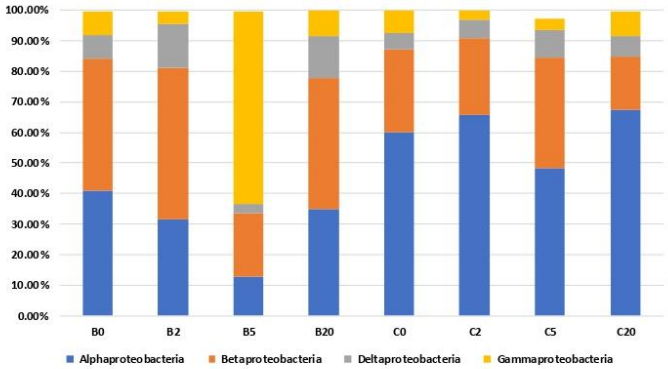


Figure 4. Abondance relative des classes de Protéobactéries dans le sol des parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C) à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Ainsi, si l'on regarde l'abondance relative des bactéries pour lesquelles une fonction dans le sol est identifiée, on constate qu'il y a plus de bactéries capables de dégrader la matière organique ou de fixer l'azote atmosphérique dans la parcelle de Cademène que dans celle de Bolandoz (Figure 5). En revanche, les bactéries impliquées dans la nitrification (synthèse de nitrate à partir de l'ammonium) sont plus abondantes à Bolandoz qu'à Cademène. On n'observe pas de différence significative pour l'abondance relative des bactéries capables de bioremédiation (dégradation ou extraction de composés polluants) entre les deux parcelles, sauf à 5 mètres de la haie à Bolandoz où les bactéries Pseudomonas et Stenotrophomonas sont particulièrement abondantes.
Globalement, ces résultats indiquent des différences de diversité des bactéries entre les deux parcelles qui peuvent résulter dans des capacités différentes à mobiliser des éléments minéraux pour la nutrition des plantes.

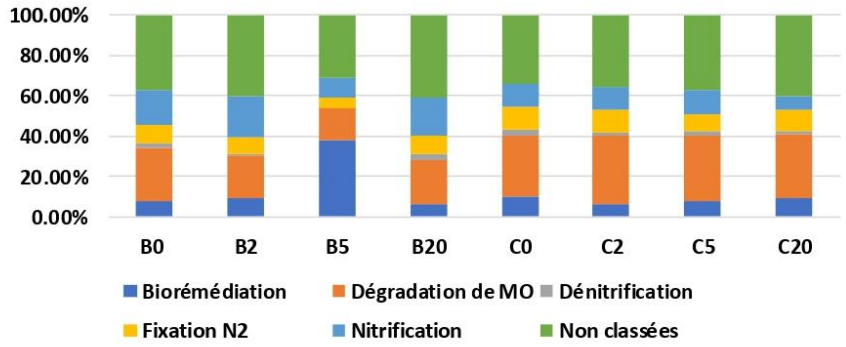


Figure 5. Abondance relative des bactéries impliquées dans la dégradation de la matière organique (MO), la dénitrification, la nitrification, la fixation de l'azote atmosphérique (N2) ou la biorémédiation dans le sol des parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C) à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie.

3. *Diversité des champignons*

Les parcelles de Bolandoz et Cademène se distinguent également par leur composition en champignons. En effet, les Ascomycètes, les Chytridiomycètes et les Mucoromycètes sont plus abondants à Bolandoz alors que les Basidiomycètes sont plus représentés à Cademène (Figure 6). On constate que les champignons mycorhiziens à arbuscules (Gloméromycètes) ne sont pas détectés par le séquençage de la région ITS2 de l'ADN ribosomique. Il faudrait cibler une autre région du génome pour les identifier.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

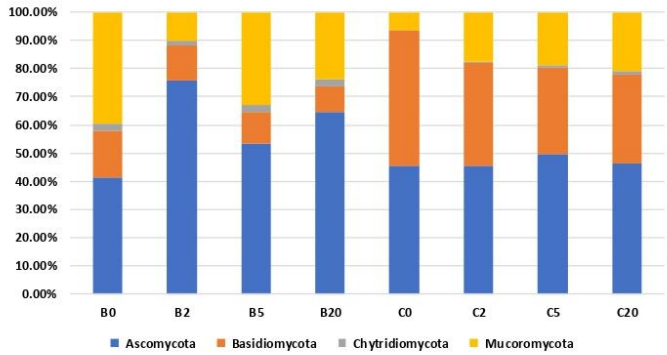


Figure 6. Abondance relative des phyla de champignons dans le sol des parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C) à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie.

Parmi les Ascomycètes, les Eurotiomycètes qui sont impliqués dans la dégradation de la matière organique, sont largement plus fréquents à Cademène qu'à Bolandoz (Figure 7). Inversement, les Sordariomycètes et les Pezizomycètes sont plus abondants à Bolandoz. Les Sordariomycètes incluent des champignons bénéfiques pour la croissance des plantes mais également des pathogènes des plantes et animaux. Les Pezizomycètes, quant à eux, incluent des champignons saprophytes et des champignons symbiotiques qui forment des mycorhizes avec les racines de plantes. C'est le cas des espèces du genre *Tuber* (truffes) et *Terfezia* (truffes dites du désert mais également présentes dans certaines forêts européennes). Ces champignons mycorhiziens sont également capables de se développer de façon saprophyte dans les racines de plantes non hôtes pour la symbiose mycorhizienne. Ils possèdent des enzymes leur donnant une grande efficacité dans la dégradation de la matière organique.

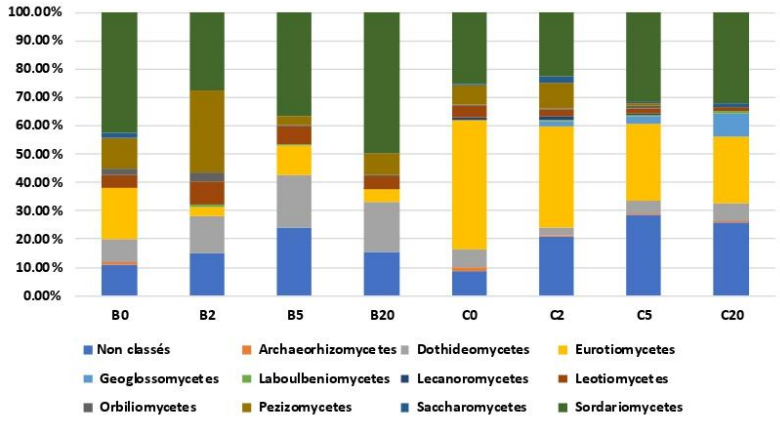


Figure 7. Abondance relative des classes de champignons Ascomycètes dans le sol des parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C) à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie.

En ce qui concerne les champignons Basidiomycètes, moins abondants sur la parcelle de Bolandoz que sur celle de Cademène (Figure 6), on constate que les Agaromycètes sont bien

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

représentés au niveau de la haie de Bolandoz et partout sur la parcelle de Cademène (Figure 8). Or ces champignons ont des activités très intéressantes pour les sols. Ils incluent de nombreux champignons ectomycorhiziens qui forment une symbiose avec les racines des arbres. Ils ont également une certaine aptitude à dégrader la matière organique et ainsi libérer dans le sol des éléments nutritifs essentiels aux plantes. Les autres champignons de cette classe sont des saprophytes et sont largement impliqués dans la dégradation de la matière organique.

Parmi les champignons ectomycorhiziens, on retrouve les genres *Laccaria*, *Hebeloma*, *Alnicola*, *Scleroderma* et *Sebacina* au niveau du sol de la haie de Bolandoz. En revanche, ils ne sont plus détectés dès la distance de 2 mètres de la haie. Les genres *Inocybe*, *Inosperma*, *Pseudosperma*, *Hymenogaster*, *Lactarius*, *Russula*, *Sebacina*, *Tomentella* et *Thelephora* sont les champignons ectomycorhiziens présents à Cademène. Sur cette parcelle, les champignons ectomycorhiziens sont détectés à 2 mètres de la haie autant que dans la haie elle-même, puis de façon moindre à 5 mètres de la haie et ils ne sont quasiment plus présents à 20 mètres à l'exception de *Tomentella*.

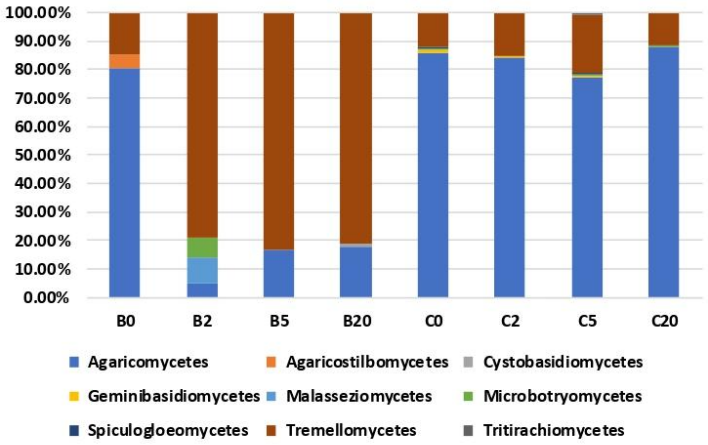


Figure 8. Abondance relative des classes de champignons Basidiomycètes dans le sol des parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C) à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie.

De façon globale, les champignons ectomycorhiziens Basidiomycètes et Ascomycètes sont présents dans les sols au niveau des haies des deux parcelles (Figure 9). Ils ne sont pas détectés sur le reste de la parcelle de Bolandoz. A Cademène, ces champignons ectomycorhiziens sont présents à 2 mètres et 5 mètres. Sur les deux parcelles, des champignons saprophytes ou endophytes prennent la place des champignons ectomycorhiziens lorsqu'ils ne sont pas présents (Figure 9). De plus, les champignons phytopathogènes sont plus abondants sur la parcelle de Bolandoz à 2, 5 et 20 mètres de la haie.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

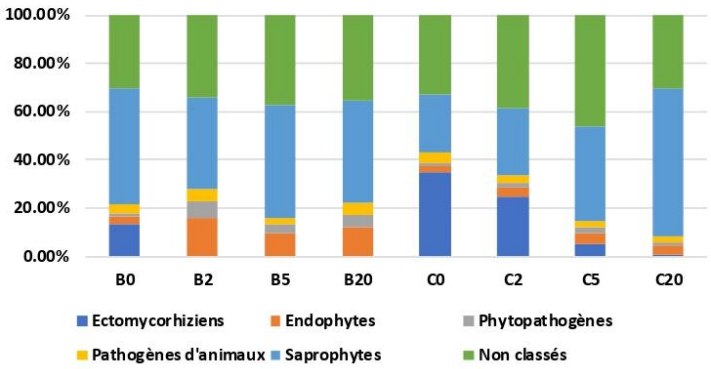


Figure 9. Abondance relative des champignons ectomycorhiens, endophytes, saprophytes, phytopathogènes ou pathogènes des animaux dans le sol des parcelles de Bolandoz (B) et Cademène (C) à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie.

Conclusions

Les sols de Bolandoz et Cademène se comportent de façon similaire au niveau de la haie en ce qui concerne la biodiversité des bactéries et des champignons. On y détecte des bactéries et des champignons impliqués dans la dégradation de la matière organique ou qui entrent en symbiose avec les racines des arbres et/ ou des plantes herbacées. Ces microorganismes ont par conséquent un intérêt pour la nutrition des plantes. Toutefois, à Bolandoz, ces microorganismes bénéfiques ont tendance à diminuer dès la distance de 2 mètres de la haie. Au contraire, à Cademène, on observe une continuité dans la biodiversité des microorganismes entre la haie et les distances de 2 et 5 mètres de la haie. A 20 mètres de la haie, les champignons ectomycorhiziens sont quasiment absents mais ceci n'est pas surprenant car les racines des arbres ne sont plus présentes à cette distance. Ils sont toutefois remplacés par des champignons saprophytes qui libèrent des éléments minéraux à partir de la matière organique.

A Bolandoz, les pratiques culturales telles que le labour, l'apport important d'engrais organiques et minéraux ainsi que le piétinement des bovins ont certainement un impact sur les microorganismes du sol de la prairie. A Cademène, les microorganismes du sol de la haie se développent également dans la prairie, ce qui est certainement intéressant pour la libération d'éléments minéraux à partir de la matière organique et leur transfert vers les plantes herbacées.

Il semblerait donc que l'intérêt agroécosystémique des haies ne s'exprime pleinement que lorsque les pratiques culturales sont compatibles.

Références bibliographiques

Bertola M, Ferrarini A, Visioli G (2021) Improvement of soil microbial diversity through sustainable agricultutal practices and its evaluation by -omics approaches: a perspective for the environment, food quality and human safety. Microorganisms 9: 1400.

R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.R-project.org/.

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☏ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

17. Rapport annuel, Laboratoires Spiral (2024).

Couternon, le 19 décembre 2024

RAPPORT ANNUEL **Ref. C2407012**
Monsieur Didier Tourenne **Chambre Interdépartementale d'Agriculture Doubs- Territoire de Belfort** **130 bis rue de Belfort** **CS 40939** **25021 Besançon Cedex**

Échantillons de sol et de racines prélevés le 23 juillet 2024 sur les parcelles de Bolandoz et Cademène

Objectif

L'objectif des analyses de 2024 sur les parcelles de Bolandoz et Cademène a été de déterminer si dans un système agroforestier, la haie et/ou les pratiques culturales ont un impact sur la vie du sol, et en retour sur la croissance de la végétation des prairies.

Méthodologie

Les échantillons de sol et de racines ont été prélevés à la bêche sur chaque parcelle à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie à raison de 10 prélèvements par ligne (50 mètres) pour la parcelle de Bolandoz et de 6 prélèvements par ligne (30 mètres) pour la parcelle de Cademène.
Les racines de chaque échantillon ont été observées sous la loupe binoculaire pour rechercher la présence d'ectomycorhizes et de mycélium. Les racines ont ensuite été colorées à l'encre noire pour estimer les taux de mycorhization (M%) par les champignons mycorhiziens à arbuscules selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).
Les échantillons de sol de chaque ligne ont été mélangés puis l'ADN de chaque échantillon composite a été extrait. Les ADN ont ensuite été soumis à un séquençage systématique de la région 16S (V3-V4) de l'ADN ribosomique des bactéries et de la région ITS2 de l'ADN ribosomique des Eucaryotes et plus particulièrement des champignons (Bertola et al. 2021).
Les analyses statistiques ont ensuite été réalisées avec le logiciel R (R Core Team 2023).

Résultats

Les résultats présentés dans les rapports du 20 août 2024 et du 18 décembre 2024 sont synthétisés dans le Tableau 1. L'observation microscopique des échantillons de racines a permis de montrer la présence d'ectomycorhizes au niveau des haies des deux parcelles. Toutefois, on n'en trouve plus dès la distance de 2 mètres de la haie à Bolandoz alors qu'on en retrouve jusqu'à 5 mètres de la haie à Cademène. En ce qui concerne les taux de mycorhization des plantes herbacées par les champignons mycorhiziens à arbuscules (endomycorhiziens), ils sont de 22% au niveau de la haie de Bolandoz puis diminuent très significativement dès la distance de 2 mètres de la haie. En revanche, à Cademène, les taux de mycorhization sont plus élevés (32% en moyenne) et varient peu depuis la haie jusqu'à la distance de 20 mètres.
Les analyses du microbiome du sol montrent également des différences importantes entre les deux parcelles. Le nombre d'espèces de champignons est en moyenne de 228 à Cademène contre

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

177 à Bolandoz. De plus, à Bolandoz, ce nombre est plus faible dans la prairie que dans la haie. Les données d'abondance relative des champignons ectomycorhiziens sont en accord avec les observations microscopiques. On les retrouve au niveau de la haie de Bolandoz mais pas dans le sol de la prairie alors qu'à Cademène, ils sont présents dans le sol de la haie, à 2 mètres de la haie puis diminuent à 5 mètres. Quelques champignons ectomycorhiziens, tels que Tomentella, sont encore détectables à 20 mètres mais en très faible proportion (0,7%). Les champignons saprophytes sont, quant à eux, prépondérants à Bolandoz, quelle que soit la distance à la haie. Ils sont abondants à Cademène à 5 et 20 mètres de la haie mais beaucoup moins au niveau de la haie et à 2 mètres de la haie. Il apparaît donc que les champignons saprophytes remplacent les champignons ectomycorhiziens lorsque ceux-ci sont moins fréquents. En fait, les champignons ectomycorhiziens, en plus de leur interaction symbiotique avec les arbres, ont des capacités de dégradation de la matière organique et sont donc complémentaires des champignons saprophytes.
En ce qui concerne les bactéries, leur nombre d'espèces varie peu entre les deux parcelles, à l'exception de Bolandoz à 5 mètres de la haie où il diminue fortement. En fait, il apparaît qu'à cette distance la diversité des bactéries est également modifiée. En particulier, à 5 mètres de la haie à Bolandoz, la fréquence des bactéries dégradant la matière organique est plus faible que sur le reste de la parcelle. Il se peut qu'à 5 mètres de la haie, certaines pratiques culturales ou la présence plus fréquente des bovins aient modifié la diversité microbienne.
De plus, l'abondance relative des bactéries dégradant la matière organique est plus importante à Cademène qu'à Bolandoz. Par ailleurs, la diversité et l'abondance des bactéries impliquées dans le cycle de l'azote sont différentes entre les deux parcelles. Ainsi, Cademène se caractérise par plus de bactéries fixatrices de l'azote atmosphérique ou ayant un rôle dans la dénitrification. En revanche, les bactéries impliquées dans la nitrification sont nettement plus abondantes à Bolandoz.

Ces résultats sont à mettre en relation avec les données des analyses physico-chimiques du sol et de la végétation obtenues par la Chambre Interdépartementale d'Agriculture du Doubs et du Territoire de Belfort (Tableau 2). Le sol de la parcelle de Cademène comprend une biomasse microbienne et une teneur en matière organique nettement supérieures que le sol de Bolandoz. De plus, l'azote total du sol, l'ammonium et l'azote contenu dans la biomasse microbienne sont plus élevés sur la parcelle de Cademène. En ce qui concerne le phosphore du sol, il est 10 fois plus faible à Cademène qu'à Bolandoz mais il est plus abondant dans la biomasse microbienne, ce qui indique que les microorganismes du sol représentent une source importante de phosphore à Cademène.
Or on a vu ci-dessus que le sol de Cademène est plus riche en champignons endomycorhiziens et ectomycorhiziens ainsi qu'en bactéries capables de dégrader la matière organique que celui de Bolandoz. En juin 2024, marquée par une forte pluviométrie, la végétation de Cademène a des teneurs en azote, phosphore et potassium plus faibles qu'à Bolandoz. Ceci s'explique par des éléments minéraux moins disponibles dans le sol de Cademène que dans celui de Bolandoz. Toutefois, la croissance de la végétation est restée correcte à Cademène. En revanche, en juin 2023, avec une faible pluviométrie depuis l'été précédent, on constate que la végétation de Cademène est plus riche en azote et en potassium à 2 et 5 mètres de la haie. A 20 mètres de la haie, la teneur en phosphore est quasiment égale à Cademène qu'à Bolandoz malgré un taux de phosphore 10 fois plus faible dans le sol. Ceci indique donc que les microorganismes du sol de Cademène ont une aptitude à utiliser efficacement le phosphore et à le transférer à la végétation.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com
S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

Conclusions et perspectives

L'ensemble des résultats obtenus suggère que sur la parcelle de Cademène, les microorganismes du sol jouent un rôle important dans la dégradation de la matière organique pour la libération des éléments minéraux qui sont ensuite transférés à la végétation. Cette composante dans la nutrition minérale des plantes apparaît particulièrement importante en cas de stress hydrique et apporte une certaine résilience à la végétation. La haie joue ainsi un rôle crucial dans cet agroécosystème en stimulant une forte diversité microbienne du sol et en fournissant de la matière organique. On constate d'ailleurs une continuité dans la diversité des microorganismes du sol de la haie et de la prairie. Ainsi, les champignons ectomycorhiziens qui sont en symbiose avec les racines de nombreux arbres (charme, chêne, tilleul, noisetier) s'étendent jusqu'à 5 mètres de la haie. Ils jouent un rôle prépondérant dans la dégradation de la matière organique et le transfert d'éléments minéraux à la végétation. De même, les champignons endomycorhiziens symbiotes de certains arbres et arbustes (alisier, aubépine, camerisier, cornouiller, érable, troène..) et de la végétation herbacée présentent une continuité entre la haie et la prairie, et ce jusqu'à 20 mètres. Après 5 mètres, les champignons ectomycorhiziens sont remplacés par des champignons saprophytes qui assurent la dégradation de la matière organique. Ainsi, la présence de la haie à Cademène associée à des pratiques culturales extensives apporte une stabilité dans la diversité et l'activité des microorganismes du sol pour assurer la croissance de la végétation.

Sur la parcelle de Bolandoz, le sol au niveau de la haie est riche en champignons ectomycorhiziens et endomycorhiziens ainsi qu'en bactéries dégradant la matière organique ou impliquées dans la fixation de l'azote atmosphérique ou la dénitrification. Cependant, ces microorganismes diminuent largement dès la distance de 2 mètres de la haie et encore plus à 5 mètres. Sur cette parcelle, on n'observe donc pas de continuité dans la biodiversité des microorganismes du sol entre la haie et la prairie. Ceci peut être lié au jeune âge de la haie mais les pratiques culturales apportant davantage d'engrais, notamment sous forme de lisier ainsi que le pâturage fréquent, modifient probablement la diversité des microorganismes du sol et rendent le système moins résilient.

A l'avenir, il serait intéressant de déterminer si des pratiques culturales moins intensives sur la parcelle de Bolandoz permettraient de développer une flore microbienne du sol de la prairie en continuité avec celle de la haie et plus active dans la mobilisation et le transfert des éléments minéraux à la végétation. Cela pourrait permettre d'arriver à un équilibre incluant une réduction de l'apport des engrais tout en maintenant une croissance optimale de la végétation.

Références bibliographiques

Bertola M, Ferrarini A, Visioli G (2021) Improvement of soil microbial diversity through sustainable agricultutal practices and its evaluation by -omics approaches: a perspective for the environment, food quality and human safety. Microorganisms 9: 1400.

R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.R-project.org/.

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans : *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V Gianinazzi-Pearson, S Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

✉ Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
☏ 03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

	Bolandoz				Cademène			
	0 m	2 m	5 m	20 m	0 m	2 m	5 m	20 m
Ectomycorhizes	+	-	-	-	+	+	+	-
Taux de mycorhization (M%) des plantes herbacées	22%	7%	8%	4%	29%	35%	34%	31%
Nombre d'espèces de champignons dans le sol	211	135	161	200	223	226	249	215
Abondance relative des champignons ectomycorhiziens dans le sol	13,40%	0%	0%	0%	34,70%	24,80%	5,10%	0,70%
Abondance relative des champignons saprophytes dans le sol	48%	38,30%	47,30%	42,10%	23,70%	28%	39,20%	61,80%
Nombre d'espèces de bactéries dans le sol	223	209	165	201	214	201	242	234
Abondance relative des bactéries dégradant la matière organique	26,60%	20,90%	15,80%	21,40%	30,20%	33,80%	32,90%	31,50%
Abondance relative des bactéries impliquées dans la dénitrification	2,30%	1,40%	0,70%	3,30%	2,90%	1,90%	1,70%	1,60%
Abondance relative des bactéries fixatrices d'azote atmosphérique	9%	7,60%	4,90%	8,80%	11,50%	11,10%	8,60%	10,90%
Abondance relative des bactéries impliquées dans la nitrification	17,10%	20,60%	10,20%	19,30%	10,90%	11,70%	11,70%	6,90%

Tableau 1. Données sur les ectomycorhizes des racines des arbres, les mycorhizes à arbuscules des plantes herbacées (M%), le nombre d'espèces des bactéries et des champignons et abondances relatives de groupes fonctionnels de bactéries et champignons dans les échantillons à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie sur les parcelles de Bolandoz et Cademène.

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017

	Bolandoz				Cademène			
	0 m	2 m	5 m	20 m	0 m	2 m	5 m	20 m
NO3 (kg/ha) dans le sol (12/06/2023)	NA	18,6	32,8	25,1	NA	14,2	9,3	38,1
NH4 (kg/ha) dans le sol (12/06/2023)	NA	6,5	8,1	6,1	NA	48,2	43,3	27,5
N total (g/kg) du sol (juin 2024)	NA	1,9	1,12	1,25	NA	4,14	3,6	5,18
P2O5 (Dyer) du sol (juin 2024)	NA	0,21	0,23	0,26	NA	<0,01	<0,01	0,026
Matière organique (ppmi) du sol (Juin 2024)	NA	33,1	35,8	33,6	NA	93,5	81,1	96,4
Biomasse microbienne (mg/kg) du sol (juin 2024)	NA	550	472	590	NA	754	797	1094
Minéralisation de l'azote (mg/kg/28 jours) du sol (juin 2024)	NA	43,3	31,2	35,6	NA	24,7	29,7	40
Azote contenu dans la biomasse microbienne (kg/ha) du sol (juin 2024)	NA	235	201	252	NA	269	284	436
Phosphore contenu dans la biomasse microbienne (kg/ha) du sol (juin 2024)	NA	181	156	195	NA	208	220	337
Azote total de l'herbe (2023)	NA	1,39%	1,33%	1,99%	NA	1,94%	1,95%	1,89%
Phosphore total de l'herbe (2023)	NA	0,27%	0,25%	0,27%	NA	0,18%	0,18%	0,22%
Potassium total de l'herbe (2023)	NA	1,91%	1,97%	2,38%	NA	2,30%	2,12%	1,22%
Azote total de l'herbe (2024)	NA	3,11%	2,94%	3,44%	NA	1,84%	1,60%	1,07%
Phosphore total de l'herbe (2024)	NA	0,36%	0,32%	0,37%	NA	0,19%	0,18%	0,19%
Potassium total de l'herbe (2024)	NA	3,55%	3,19%	3,64%	NA	1,81%	1,92%	1,07%

Tableau 2. Propriétés physico-chimiques du sol et teneur de l'herbe en azote, phosphore et potassium à 0, 2, 5 et 20 mètres de la haie sur les parcelles de Bolandoz et Cademène (Données de la Chambre Interdépartementale du Doubs et du Territoire de Belfort).

Laboratoires Spiral - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON
03 80 32 01 10 - Email : laraspiral@laraspiral.com

S.A. au capital de 139.120,00 € - R.C. DIJON B 393 668 025 - SIRET 393 668 025 00017