



**HAL**  
open science

# Impact du linéaire sous arboré sur les organismes et la fertilité du sol en système agroforestier tempéré

Camille d'Hervilly

► **To cite this version:**

Camille d'Hervilly. Impact du linéaire sous arboré sur les organismes et la fertilité du sol en système agroforestier tempéré. Sciences agricoles. Montpellier SupAgro, 2021. Français. NNT : 2021NSAM0006 . tel-04031964

**HAL Id: tel-04031964**

**<https://theses.hal.science/tel-04031964v1>**

Submitted on 16 Mar 2023

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

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

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

En Écologie fonctionnelle

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau  
Portée par

Unité de recherche UMR Eco&Sols

## Impact du linéaire sous arboré sur les organismes et la fertilité du sol en système agroforestier tempéré

Présentée par **Camille D'HERVILLY**  
Le 22 février 2021

Sous la direction de **Isabelle BERTRAND**  
et l'encadrement de **Claire MARSDEN**

Devant le jury composé de

Jérôme CORTET, professeur, Université Paul Valéry Montpellier III

Virginie BALDY, professeur, Aix Marseille Université

Séverine PIUTTI, maître de conférence, Université de Lorraine - ENSAIA

Pascal JOUQUET, directeur de recherche, IRD Bondy

Edith LE CADRE, professeur, Agrocampus Ouest Rennes

Aurélié METAY, maître de conférence, Montpellier SupAgro

Isabelle BERTRAND, directrice de recherche, INRAE Montpellier

Claire MARSDEN, maître de conférence, Montpellier SupAgro

Rapporteur, président du jury

Rapporteuse

Examinatrice

Examineur

Examinatrice

Examinatrice

Directrice de thèse

Co-encadrante de thèse



UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER

Montpellier  
SupAgro



# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

En Écologie fonctionnelle

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau  
Portée par

Unité de recherche UMR Eco&Sols

Impact du linéaire sous arboré sur les organismes et la  
fertilité du sol en système agroforestier tempéré

\*

Effect of the understory vegetation strip on soil  
organisms and soil fertility in temperate agroforestry  
systems

Présentée par **Camille D'HERVILLY**  
Le 22 février 2021

Sous la direction de **Isabelle BERTRAND**  
et l'encadrement de **Claire MARSDEN**

Devant le jury composé de

Jérôme CORTET, professeur, Université Paul Valéry Montpellier III

Virginie BALDY, professeur, Aix Marseille Université

Séverine PIUTTI, maître de conférence, Université de Lorraine - ENSAIA

Pascal JOUQUET, directeur de recherche, IRD Bondy

Edith LE CADRE, professeur, Agrocampus Ouest Rennes

Aurélien METAY, maître de conférence, Montpellier SupAgro

Isabelle BERTRAND, directrice de recherche, INRAE Montpellier

Claire MARSDEN, maître de conférence, Montpellier SupAgro

Rapporteur, président du jury

Rapporteuse

Examinatrice

Examineur

Examinatrice

Examinatrice

Directrice de thèse

Co-encadrante de thèse



UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER



INRAE

Fondation  
de  
France



## **Avant-propos**

Cette thèse de doctorat a été réalisée à l'UMR Eco&Sols (Ecologie fonctionnelle & biogéochimie des sols et des agro-systèmes, INRAE, Montpellier SupAgro, IRD, CIRAD) à Montpellier. Elle a été financée par la Fondation de France (appel à projets *Agroforesteries tempérées*). Les expériences ont été financées par l'UMR Eco&Sols (appel à projets interne), la Fondation de France (projet Arbratatouille – Recherche participative pour l'étude du potentiel de l'agroforesterie pour l'adaptation des systèmes maraîchers au changement climatique, <https://arbratatouille.projet-agroforesterie.net/>, porté par le bureau d'études en agroforesterie Agroof), et l'INRAE (appel à projets inter-unités SALSA – Les Systèmes Agroforestiers et leurs Linéaires Sous-Arborés, leviers des interactions entre biodiversité végétale et souterraine pour le partage des ressources sous contrainte hydrique, porté par l'UMR Eco&Sols).

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mes encadrantes, Isabelle Bertrand et Claire Marsden. Merci de m'avoir permis de réaliser mon stage sur ce qui allait devenir ma thèse à Eco&Sols, et merci d'avoir suivi mes avancées de près, sur le terrain, au labo et au cours de nos échanges et de vos relectures, ce à quoi je n'étais pas forcément habituée. Merci de m'avoir proposé de déposer ce projet de thèse, de l'avoir écrit avec moi et finalisé pendant les soirées de retour de terrain ! Et bien sûr, merci de m'avoir accompagnée tout au long de la thèse, même dans les moments plus compliqués, pour moi mais aussi pour vous ! Isabelle, merci pour ton écoute et tes encouragements quand la quantité de travail est devenue un peu effrayante, et merci pour ton organisation, bien meilleure que la mienne. Claire, merci pour ton implication dans le master Ecosystèmes et la qualité de tes cours, pour ta disponibilité même quand tu n'es en fait pas disponible, et pour ta motivation et ta bonne humeur face à l'ampleur de la tâche (je pense en particulier aux dispositifs orientés, et à ta présence à Vézénobres même *avec* Laura).

Je voudrais également remercier mon jury de thèse, Virginie Baldy, Jérôme Cortet, Pascal Jouquet, Séverine Piutti, Aurélie Métay et Edith Le Cadre, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Je voudrais également remercier Jérôme Cortet pour le temps passé à m'expliquer les méthodes d'échantillonnage des collemboles et pour le prêt du matériel de son laboratoire. Même si cette partie de ma thèse n'a pas pu être davantage développée, découvrir ces techniques et observer les quelques collemboles récoltés s'est révélé enrichissant.

Je remercie le jury et l'équipe de la Fondation de France responsables de l'appel à projet Agroforesteries tempérées d'avoir sélectionné mon projet de thèse, de l'avoir financé, de m'avoir permis de rencontrer d'autres personnes travaillant sur l'agroforesterie, et d'avoir accepté de prolonger ma thèse de quelques mois dans le contexte actuel.

Je remercie les membres de mon comité de thèse, Elena Kazakou, Tiphaine Chevallier, Mickaël Hedde, Yvan Capowiez et Nathalie Fromin, en particulier pour leur réponse rapide face à la situation particulière de cette fin de thèse en contexte de Coronavirus. Je voudrais en particulier remercier Mickaël pour m'avoir appris à identifier de manière plus précise et organisée la macrofaune du sol, d'avoir participé à son identification et à l'écriture de mon premier article, et d'avoir relu mes travaux suivants. Je remercie aussi Yvan pour toute son implication sur le terrain, ses identifications, la rapidité de ses réponses encore inégalée, la participation à

## Remerciements

l'écriture des articles sur Vézénobres, et les discussions sur le terrain. Il m'arrive d'écouter France Culture maintenant...

Je voudrais adresser un énorme merci à tous les membres d'Eco&Sols, avec qui j'ai pu échanger et travailler. Je ne vais pas pouvoir tous vous citer, mais j'ai vraiment apprécié travailler dans cette unité. Carlos Trives, sans toi je pense que cette thèse aurait pris une orientation complètement différente, étant donné le nombre de fois où tu es venu sur le terrain (d'autant que tu réalisais le double du travail moyen). Merci Didier Arnal pour l'aide à la conception des quadrats « artisanaux », et pour la réalisation des dispositifs orientés. Pour le travail au laboratoire, je remercie tout particulièrement Nancy Rakotondrazafy, dont l'efficacité n'est plus à démontrer, Jean Larvy-Delariviere pour ses (nombreuses) explications, Jean-Marc Souquet pour sa bonne humeur, Romain Domingo pour sa persévérance face aux problèmes de manips et Josiane pour son implication dans les mesures de respiration microbienne. Et un grand merci à Laurent Berlioz pour l'identification de toute la faune accumulée que je n'avais plus le temps d'identifier...

En dehors des manips, je remercie Alain Brauman pour m'avoir permis de participer à une unité d'enseignement, ce qui fut très enrichissant et que j'ai énormément apprécié, et qui m'a permis de passer un peu plus de temps sur le terrain et un peu moins sur une chaise. Merci Philippe Benezech pour ta patience face à mon incompréhension de la technologie (sauver deux ordinateurs et l'intégralité de ma bibliographie, ce n'est pas rien...). Merci Philippe Deleporte pour ton appui sur les analyses statistiques, et pour avoir répondu plusieurs fois aux mêmes questions ! Je remercie également Benjamin Louis pour ces commentaires très utiles sur les modèles statistiques. Et bien sûr, merci à Farid et Mélanie pour nous aider dans toutes ces procédures administratives...

J'ai reçu ENORMEMENT d'aide sur le terrain, et je m'excuse par avance d'oublier du monde... Je remercie donc Gabrielle, Anne-Cécile, Benoît, Gaoussou, Maëva, Clara, Sophea, Renata, Camille, Paul, Laurent, Saloua, Sara, Didier, Carlos, Mickaël, les stagiaires d'EMMAH, et tous ceux que j'oublie ici de mentionner...

Merci aussi pour les échanges, scientifiques mais également amicaux. Merci Esther et Marie pour la transmission de vos compétences en litter bags et réseaux trophiques (et merci Esther pour le café salvateur de la fin de thèse !). Merci Anne et Alexis pour vos conseils, et merci Damien, Saloua, Sara, Sitor, Mercedes, Najat, Charlotte, Laurie, Kenji, Elisa, Ivanka, Amandine, pour tous ces bons moments passés ensemble.

## Remerciements

Je remercie également à la fois pour le terrain, les manips, les échanges et le soutien les stagiaires impliqués dans ma thèse : Maé Podechard, Ninon Claude, Lisandro Budassi, Sylène Monnier et Léa Delapré-Cosset, qui a pris le risque d'être la première, j'ai vraiment beaucoup apprécié travailler avec toi !

En dehors du labo, je remercie également Annette Bérard pour ses conseils sur la Microresp, Jean-Luc Belotti et Yves Le Bissonnais pour les explications sur la mesure de la stabilité des agrégats, Camille Béral et Ambroise Martin-Chave à Agroof pour leur implication dans le projet Arbratatouille, Sébastien Boinot et Delphine Mézière à l'unité de recherche System pour leur aide sur l'identification des espèces végétales des LSA et la sélection des parcelles agricoles, Lydie Dufour pour son appui sur le site de Restinclières. Je remercie les agriculteurs convaincus par l'agroforesterie m'ayant permis d'échantillonner leurs parcelles : Vincent Blagny et Jack de Lozzo dans le Gers, Denis et Virginie Florès et leur incroyable jardin arboré à Vézénobres.

Je voudrais également remercier Olivier Aznar à VetAgro Sup, pour s'être préoccupé de mon devenir après l'obtention de mon diplôme et m'avoir conseillé de tenter la recherche. Cela a beaucoup influencé ma décision finale en cette période de doutes. Merci également à Bastien Mérigot, co-responsable du master Ecosystèmes, pour avoir pris le temps de répondre à toutes mes questions et m'avoir ainsi conduit à me réorienter vers la recherche en écologie...

Je remercie également les amis qui ont suivi de près les avancées de cette thèse. Merci Magali, Pierre et Alex pour m'avoir immédiatement intégrée après mon choix de reprendre une formation pour me réorienter vers la recherche. Merci Céline, Claire et Tiphaine d'avoir supporté mes changements d'humeur, de m'avoir permis de refaire le plein de motivation sur le caillou, et ne pas m'avoir laissé tomber sur la fin (littéralement). Merci à tous les colocs qui ont eu à me supporter pendant cette thèse. Kévin, Lucie et Hugo, merci pour les petits déj interminables du week-end, les randos, Dalida (je ne pensais pas dire ça un jour). Et merci Julien de m'avoir supportée à la fin... et de ne pas avoir craqué face à l'accumulation terminale de vaisselle. Merci aussi à mes amis qui ont suivi cette thèse de plus loin, mais qui continuent à s'informer de mes avancées avec le temps !

Enfin, je remercie ma famille, merci de me soutenir même si vous ne comprenez pas trop ce que je fais ni à quoi ça sert, de me demander régulièrement si je suis vivante, et de me soutenir quoi qu'il arrive.

## Résumé

Les systèmes agroforestiers en arrangements linéaires sont composés d'une alternance de lignes d'arbres et d'allées cultivées. Leur intérêt dans la fourniture de services écosystémiques commence à être bien démontré. En particulier, ils auraient un impact positif sur l'accessibilité des nutriments, la teneur en carbone des sols et l'augmentation de la biodiversité des invertébrés du sol associés à la fourniture de services écosystémiques (cycle du carbone et des nutriments, régulation des ravageurs, etc). Cependant, peu d'études ont pris en compte l'hétérogénéité spatiale de la fertilité et des organismes du sol au sein de ces systèmes. Une question essentielle est pourtant de déterminer si le fonctionnement du sol est impacté seulement sous la ligne d'arbres, ou si les allées cultivées bénéficient de la présence de cette ligne d'arbres. De plus, les effets positifs des systèmes en allées cultivées sont souvent attribués à l'arbre. Cependant, la ligne d'arbres n'est pas cultivée et le sol n'y est pas travaillé, entraînant le développement d'une végétation majoritairement herbacée, naturelle ou semée, formant un linéaire sous arboré (LSA). Ce LSA pourrait jouer un rôle particulièrement important dans l'apport de matière organique dans les premiers centimètres du sol, et fournir un habitat intéressant pour les organismes du sol. L'objectif de mon projet de doctorat est de déterminer l'impact du LSA sur la variation spatiale de la fertilité du sol et de certains organismes associés (microorganismes et macrofaune), au travers de différentes observations et d'une expérimentation *in situ*.

Pour cela, j'ai étudié dans un premier chapitre les variations de la fertilité et des organismes du sol au sein du LSA (avec la distance à l'arbre) et entre LSA et allée cultivée, dans deux jeunes parcelles en grandes cultures dans le Gers. Cette étude a montré d'une part que la distance à l'arbre ne modifie pas les propriétés de LSA semés. D'autre part, elle a montré que de jeunes LSA peuvent induire une augmentation de la teneur en C et en P disponible dans les premiers centimètres du sol sous le LSA en comparaison avec l'allée cultivée, mais que leur effet sur la variation de la biomasse et respiration des microorganismes du sol et sur l'abondance de la macrofaune est moins clair. Les organismes du sol peuvent même être négativement impactés par la proximité au LSA. Deuxièmement, j'ai étudié la variation de la fertilité et des organismes du sol en fonction de la distance au LSA à différentes saisons au sein de trois modalités d'ombrage, dans une parcelle de 22 ans cultivée en maraîchage dans le Gard. Cette parcelle a été échantillonnée selon un design permettant de prendre en compte la distance à l'arbre, mais également l'impact de bandes enherbées sans arbres. Cette étude a montré que le LSA impacte fortement l'abondance de la macrofaune du sol et l'efficacité des microorganismes dans le LSA indépendamment de la présence et proximité à l'arbre, mais qu'il induit peu d'hétérogénéité au sein de l'allée cultivée dans sa proximité immédiate. De plus, la présence des arbres impacte davantage la fertilité du sol que le LSA. Enfin, il existe une grande variabilité de la réponse des organismes du sol en fonction de la saison, le LSA pouvant être un refuge pour la macrofaune à certaines saisons, alors que la distribution de la macrofaune dans la parcelle est plus homogène à d'autres saisons. J'ai étudié dans un dernier chapitre les mouvements de vers de terre à proximité du LSA dans une parcelle de 23 ans en grandes cultures près de Montpellier. Cette étude suggère qu'au printemps, les vers de terre endogés se déplacent davantage vers le LSA que vers l'allée cultivée.

**Mots clés :** linéaire sous arboré – agroforesterie – macrofaune du sol – biomasse microbienne – carbone organique du sol – fertilité du sol

## Abstract

Alley cropping systems are composed of tree rows alternating with crop alleys. Their interest in providing ecosystem services is increasingly acknowledged. In particular, they could have a positive impact on nutrient accessibility, soil carbon content and could increase the biodiversity of soil invertebrates associated with the provision of ecosystem services (carbon and nutrient cycling, pest regulation, etc). However, few studies have taken into account the spatial heterogeneity of soil fertility and soil organisms within these systems. A key question, however, is whether soil functioning is impacted only below the tree row, or whether crop alleys benefit from the presence of the tree row. Moreover, the positive effects of alley cropping systems are often attributed to the tree. However, the tree row is not cultivated and not tilled, resulting in the development of predominantly herbaceous vegetation, either natural or seeded, forming an understory vegetation strip (UVS). This UVS could play a particularly important role in providing organic matter in the first few centimeters of the soil, and provide an interesting habitat for soil organisms. The objective of my PhD thesis is to determine the impact of the UVS on the spatial variation of soil fertility and some associated organisms (microorganisms and macrofauna), through various observations and an experimentation *in situ*.

I studied in a first chapter the variations of soil fertility and soil organisms within the UVS (with the distance to the tree) and between UVS and crop alleys, in two young plots in South-West France. This study has shown on the one hand that the distance to the tree does not modify the properties of the UVS with sown UVS. On the other hand, it showed that young UVS can induce an increase in the C and available P contents in the first centimeters of soil under the UVS compared to the crop alley, but that their effect on the variation of soil microbial biomass and respiration and on the abundance of macrofauna is less clear. Soil organisms may even be negatively impacted by the proximity to the UVS. Secondly, I studied the variation of soil fertility and soil organisms with the distance from the UVS at different seasons within three shade treatments in a 22 year old market gardening plot in the South of France. This plot was sampled using a design that took into account the distance to the tree, but also the impact of herbaceous strips without trees. This study showed that the UVS has a strong impact on the abundance of soil macrofauna and the efficiency of microorganisms in the UVS independently of the presence and proximity to the tree, but that it induces little heterogeneity within the crop alley in its immediate vicinity. Moreover, the presence of trees has a greater impact on soil fertility than the UVS. Finally, there is a great variability in the response of soil organisms depending on the season, and the UVS can be a refuge for macrofauna at some seasons, while the distribution of macrofauna in the plot is more homogeneous at other seasons. In a final chapter, I studied the movement of earthworms near the UVS in a 23 year old plot near Montpellier. This study suggests that in spring, endogeic earthworms move more towards the UVS than towards the crop alley.

**Keywords:** understory vegetation strip – agroforestry – soil macrofauna – microbial biomass – soil organic carbon – soil fertility

# Table des matières

<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : Etat de l'art, Objectifs et stratégie de la thèse .....</b>	<b>5</b>
<b>Partie I : Etat de l'art.....</b>	<b>6</b>
1. Organismes du sol et services écosystémiques.....	6
1.1. Diversité des organismes du sol.....	7
1.1.1. Microorganismes.....	8
1.1.2. Macrofaune.....	12
1.2. Organismes du sol et fonctions de recyclage de la matière organique.....	15
1.2.1. Action des décomposeurs : minéralisation et immobilisation.....	16
1.2.2. Action de la macrofaune dans les processus de décomposition.....	18
1.2.3. Impact final : minéralisation ou stockage de carbone ? .....	21
1.3. Impact des pratiques agricoles sur les organismes du sol.....	22
1.3.1. Travail du sol.....	23
1.3.2. Pesticides et fertilisants.....	25
2. Organismes et fertilité du sol des systèmes agroforestiers en allées cultivées.....	26
2.1. Les systèmes agroforestiers.....	26
2.2. Arbres et linéaire sous arboré des systèmes agroforestiers en arrangements linéaires.....	28
2.2.1. Impact direct de l'arbre.....	30
2.2.2. Impact direct du LSA.....	33
2.2.3. Impact de l'arbre et du LSA sur les organismes du sol.....	35
2.3. Impacts de la ligne d'arbres sur la création d'une hétérogénéité spatiale.....	38
2.3.1. Interactions entre LSA et allée cultivée.....	39
2.3.2. Interactions entre l'arbre et le LSA.....	43
2.3.3. Synthèse des connaissances sur l'effet de la ligne d'arbres.....	43
2.3.4. Synthèse des connaissances sur l'effet de l'arbre versus du LSA.....	46
<i>Références .....</i>	<i>49</i>
<b>Partie II : Objectifs et stratégie de la thèse.....</b>	<b>62</b>
1. Objectifs.....	62
2. Stratégie de recherche et démarche expérimentale.....	64
<b>Chapitre 2 : Effets de la présence de linéaires sous arborés semés sur les organismes du sol et la fertilité du sol dans deux jeunes sites agroforestiers.....</b>	<b>69</b>
1. Introduction.....	74
2. Material and methods .....	75
2.1. Site description.....	75
2.2. Sampling design.....	76

## Table des matières

2.3. Vegetation characteristics.....	77
2.4. Soil organic carbon and nutrient contents.....	78
2.5. Microbial biomass.....	78
2.6. Macro-invertebrate communities.....	79
2.7. Statistical analyses.....	79
3. Results.....	80
3.1. Vegetation characteristics.....	80
3.2. Soil organic carbon and nutrients content.....	80
3.3. Microbial biomass.....	82
3.4. Macro-invertebrate communities.....	83
4. Discussion.....	85
4.1. Vegetation characteristics of sown understory vegetation strips.....	85
4.2. Do soil fertility and organisms under understory herbaceous strips present specific properties? .....	86
4.3. Do understory vegetation strips influence soil fertility and organisms in their vicinity? .....	88
5. Conclusions.....	90
<i>References</i> .....	91
<i>Supplementary materials</i> .....	97

### **Chapitre 3 : Effets de l'arbre versus du linéaire sous arboré sur les organismes du sol et la fertilité du sol dans un site agroforestier méditerranéen ..... 109**

1. Introduction .....	116
2. Methods.....	118
2.1. Site description .....	118
2.2. Sampling design.....	120
2.3. Earthworm biomass and density .....	120
2.4. Microbial biomass.....	121
2.5. Microbial respiration.....	121
2.6. Soil organic carbon and nutrients.....	122
2.7. Statistical analyses.....	122
3. Results .....	123
3.1. Effects of the distance from the herbaceous strip.....	123
3.1.1. Earthworms.....	123
3.1.2. Microorganisms.....	126
3.1.3. Soil organic carbon and nutrients.....	128
3.2. Effect of the distance from the tree in the alley cropping treatment.....	128
3.2.1. Earthworms.....	129
3.2.2. Microorganisms.....	129
3.2.3. Soil organic carbon and nutrients.....	129
3.2.4. Response of all variables in the alley cropping treatment.....	131
4. Discussion .....	132
4.1. Impact of HS regardless of tree presence.....	132
4.2. Impact of tree presence .....	134

## Table des matières

5. Conclusions .....	136
<i>References</i> .....	137
<i>Supplementary materials</i> .....	144
<b>Chapitre 4 : Variation saisonnière dans la répartition des organismes du sol dans une parcelle agroforestière méditerranéenne.....</b>	<b>153</b>
1. Introduction .....	159
2. Methods .....	161
2.1. Site description.....	161
2.2. Sampling design .....	161
2.3. Macro-invertebrate sampling.....	164
2.4. Statistical analyses .....	164
3. Results .....	165
3.1. Macrofauna community composition.....	165
3.2. Macrofauna density in taxonomic groups.....	167
3.3. Earthworm diversity.....	169
3.4. Feeding groups.....	171
4. Discussion .....	173
4.1. Non seasonal macrofauna distribution.....	173
4.2. Seasonal variations in macrofauna distribution.....	173
4.3. Variations between shade treatments.....	175
5. Conclusion.....	176
<i>References</i> .....	177
<i>Supplementary materials</i> .....	181
<b>Chapitre 5 : Etude des mouvements de faune à l'interface entre linéaire sous arboré et allée cultivée dans une parcelle agroforestière méditerranéenne.....</b>	<b>187</b>
1. Introduction .....	191
2. Material and methods .....	193
2.1. Site .....	193
2.2. Experimental design.....	193
2.3. Sampling of earthworms .....	195
2.4. Litter bags.....	195
2.5. Statistical analyses.....	196
3. Results .....	196
3.1. Earthworm density in undisturbed soil cores at different distances from the understory vegetation strip.....	196
3.2. Earthworm density in traps.....	198
3.3. Litter bags.....	200
4. Discussion .....	200

## Table des matières

4.1. Variations in earthworm density with the distance from the understory vegetation strip.....	200
4.2. Movements of earthworms at the interface between the understory vegetation strip and the crop alley .....	201
4.3. Effect of litter addition on earthworm movements.....	203
5. Conclusion .....	204
<i>References</i> .....	205
<i>Supplementary materials</i> .....	208
<b>Chapitre 6 : Discussion générale et conclusion.....</b>	<b>211</b>
1. Réponse aux questions de recherche.....	214
1.1. Quelles différences entre linéaire sous arboré et allée cultivée ? .....	214
1.2. Quel effet de la proximité au linéaire sous arboré ? .....	219
1.3. Quel effet de la distance à l'arbre ? .....	222
1.4. Quel effet de la saison ? .....	225
1.5. Mouvements de faune.....	226
1.6. Interactions entre les variables mesurées et fonctions du sol.....	227
2. Limites générales de la thèse.....	229
2.1. Design expérimental et nombre de parcelles.....	229
2.2. Choix des pratiques d'échantillonnage et des analyses.....	231
2.3. Détermination des causes et effets de nos observations.....	233
3. Conclusion et perspectives.....	234
<i>Références</i> .....	237

## Introduction générale

Le développement d'une agriculture intensive a conduit à la perte de biodiversité et à de nombreuses dégradations à la fois environnementales et paysagères (Matson et al, 1997). Afin de limiter l'usage massif d'intrants et les contaminations associées, deux stratégies sont possibles. La première est de recourir à l'agriculture de précision, et consiste à apporter de manière ciblée les éléments nécessaires aux cultures (Duru et al, 2015). Cette stratégie ne permet cependant pas de répondre à d'autres exigences telles que le maintien de la biodiversité ou la résistance aux événements climatiques extrêmes, dont l'occurrence pourrait fortement augmenter en lien avec le changement climatique, et nécessite des équipements et technologies coûteux. Une autre solution vise à réintroduire de la diversité au sein des parcelles agricoles, de manière à valoriser les services écosystémiques de régulation et de support à la production rendus par les organismes vivants et leurs interactions au sein d'écosystèmes complexes (Millenium Ecosystem Assessment, 2005; Zhang et al, 2007). Les organismes du sol assurent en particulier la fourniture d'un grand nombre de fonctions à l'origine de services écosystémiques, parmi lesquelles le recyclage de la matière organique, la fourniture de nutriments, le stockage de carbone et la régulation des ravageurs des cultures (Dominati et al, 2010).

Les systèmes plurispécifiques incorporent différentes espèces et types de végétation au sein d'une même parcelle, pouvant apporter des avantages directs mais aussi favoriser l'instauration d'une biodiversité associée bénéfique (pollinisateurs, régulateurs des ravageurs, transformateurs de la litière) (Gaba et al, 2015). Lorsque des espèces ligneuses sont incorporées au système, on parle d'agroforesterie. L'agroforesterie pourrait fournir de nombreux bénéfices à la fois économiques (diversification de la production si les arbres sont exploités), environnementaux (filtration de l'eau et de l'air, limitation de l'érosion, maintien de la biodiversité), agronomiques (maintien de population de régulateurs des ravageurs, de pollinisateurs, amélioration de la structure et fertilité du sol) et une adaptation au changement climatique (création d'un microclimat, séquestration de carbone) (Jose, 2009; Smith et al, 2012).

## Introduction générale

En milieu tempéré, la plupart des systèmes agroforestiers intégrant les arbres au sein même de la parcelle sont des systèmes en arrangements linéaires (Torquebiau, 2000). Ils sont constitués de lignes d'arbres parallèles en alternance avec des allées cultivées. Au pied des arbres, une bande de 1 à 2 m de large n'est pas cultivée, et est la plupart du temps recouverte d'une végétation herbacée qui peut être spontanée ou semée. Le rôle de ce linéaire sous arboré (LSA) sur la fourniture de services écosystémiques au sein de la parcelle a été démontré pour le maintien de communautés de pollinisateurs (Varah et al, 2013), mais son impact sur les organismes du sol et sa fertilité demeure peu étudié. La présence du LSA est pourtant susceptible d'impacter fortement les communautés d'organismes du sol présentes sous la ligne d'arbres, tout comme la quantité et les formes de la matière organique du sol, en fournissant un habitat stable et une ressource pérenne non exportée. De plus, la question se pose de l'impact du LSA sur la création d'une hétérogénéité spatiale au sein de l'allée cultivée. Enfin, l'impact de l'arbre sur les propriétés du LSA et la combinaison des effets arbre et LSA sur la répartition des organismes du sol et la fourniture de nutriments au sein de la parcelle sont également peu étudiés.

Cette thèse vise à étudier la variation dans l'abondance, la diversité et l'activité de la macrofaune et des microorganismes du sol et de la fertilité du sol associée au sein de parcelles agroforestières en arrangements linéaires intra parcellaires du sud de la France. Au cours de celle-ci, l'effet du LSA et de l'arbre sur la création d'une hétérogénéité des propriétés du sol (i) au sein de la ligne d'arbres et (ii) au sein de l'allée cultivée à différentes distances de la ligne d'arbres a été étudié.

## Références

- Dominati E., Patterson M., Mackay A., 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecol. Econ.*, 69, 1858-1868.  
Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2010.05.002>.
- Duru M. et al, 2015. How to implement biodiversity-based agriculture to enhance ecosystem services: a review. *Agron. Sustain. Dev.*, 35, 1259-1281.
- Gaba S. et al, 2015. Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services: from concepts to design. *Agron. Sustain. Dev.*, 35, 607-623.
- Jose S., 2009. Agroforestry for ecosystem services and environmental benefits: an overview. *Agrofor. Syst.*, 76, 1-10.
- Matson P.A., Parton W.J., Power A.G., Swift M.J., 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science (80-. )*, 277, 504-509.
- Millenium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Washington, DC, Island Pre.,
- Smith J., Pearce B.D., Wolfe M.S., 2012. Reconciling productivity with protection of the environment : Is temperate agroforestry the answer ? *Renew. Agric. Food Syst.*, 28, 80-92.
- Torquebiau E.F., 2000. A renewed perspective on agroforestry concepts and classification. *Comptes Rendus l'Academie des Sci. - Ser. III*, 323, 1009-1017.
- Varah A., Jones H., Smith J., Potts S.G., 2013. Enhanced biodiversity and pollination in UK agroforestry systems. *J. Sci. Food Agric.*, 93, 2073-2075.
- Zhang W., Ricketts T.H., Kremen C., Carney K., Swinton S.M., 2007. Ecosystem services and dis-services to agriculture. *Ecol. Econ.*, 64, 253-260.



# **Chapitre 1 :**

## **Etat de l'art**

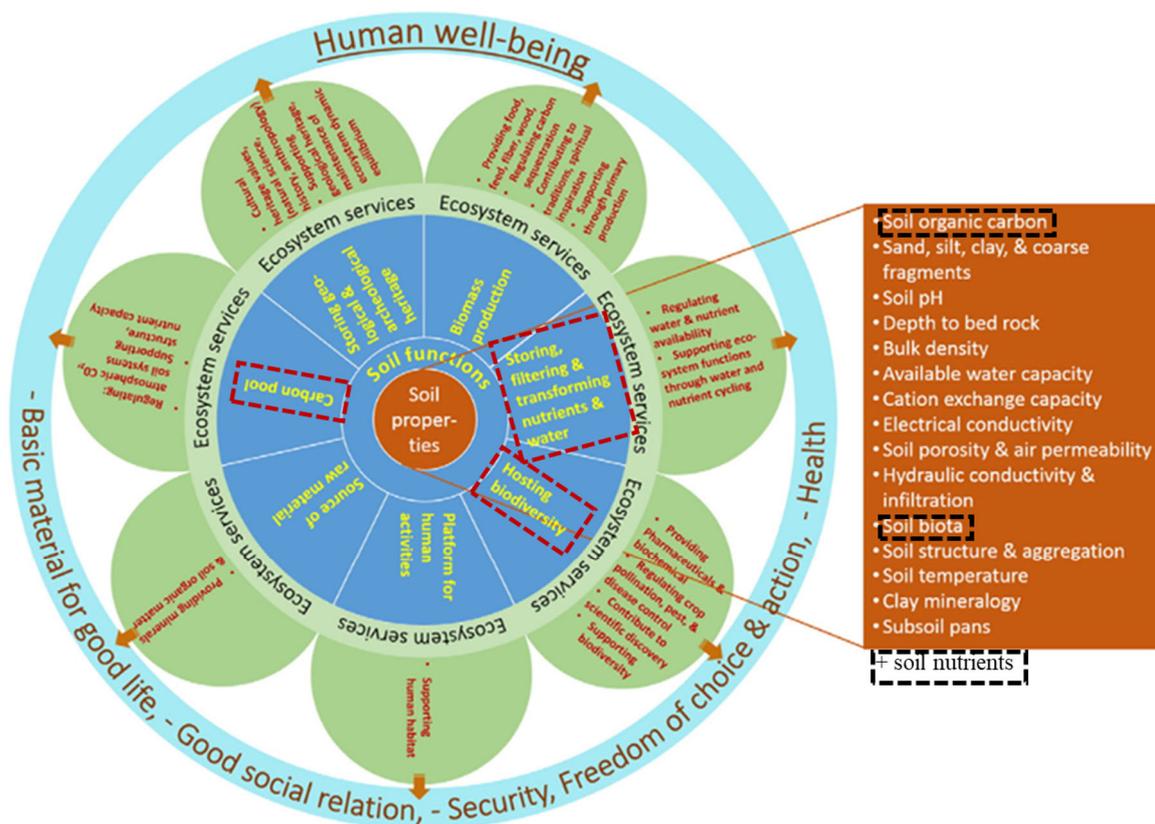
### **Objectifs et stratégie de la thèse**

## Partie I : Etat de l'art

Dans une première partie, je présente les organismes du sol étudiés au cours de cette thèse et leur rôle dans la fourniture de services écosystémiques, en particulier dans le recyclage des nutriments. Dans une deuxième partie, je présente les systèmes agroforestiers en arrangements linéaires, objets de cette thèse, et leur rôle potentiel et connu sur les organismes du sol et la fourniture de services écosystémiques associés.

### 1. Organismes du sol et services écosystémiques

Le concept de service écosystémique est apparu afin de reconnaître et quantifier les bénéfices apportés à la société par le fonctionnement des écosystèmes, de manière à les intégrer dans les décisions politiques (Millenium Ecosystem Assessment, 2005). D'après ce concept, le bon fonctionnement des écosystèmes entraîne des services culturels (production de paysages et espaces récréatifs) et de « provision » (en aliments, fibres, bois, carburants, eau) directement bénéfiques à l'homme. Ces services sont eux-mêmes dépendants de services support (cycle des nutriments, filtration et réserve en eau, formation et structuration du sol) et de régulation (pollinisation, régulation biologique des ravageurs) (Millenium Ecosystem Assessment, 2005; Zhang et al, 2007). Nombre de ces services sont associés à des fonctions du sol, dépendantes de ses propriétés physico-chimiques mais aussi biologiques, décrites sur la **Figure 1** (Adhikari et Hartemink, 2016; Walter et al, 2015). Le rôle des organismes du sol dans la fourniture des services de support et de régulation est en particulier reconnu depuis quelques années (Walter et al, 2015). L'effet final de ces organismes est cependant mal connu du fait de leur grande diversité et de la complexité de leurs interactions (Coudrain et al, 2016; Sauvadet et al, 2016).



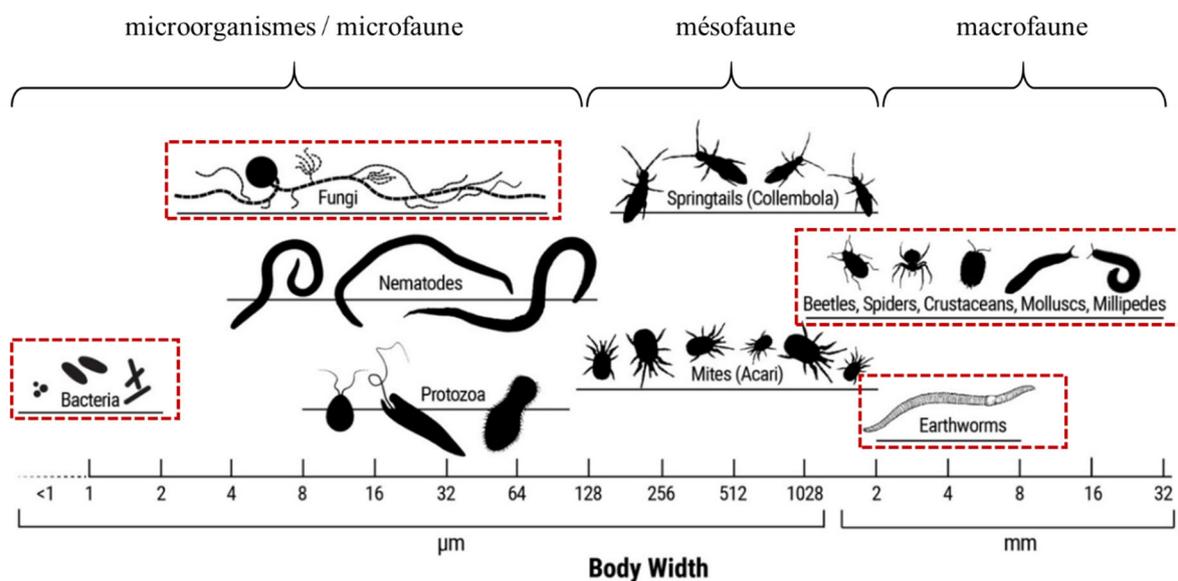
**Figure 1** Diagramme conceptuel établissant les liens entre les propriétés du sol et les services écosystémiques à travers les fonctions du sol, repris de Adhikari et Hartemink (2016). Les propriétés du sol et les fonctions plus spécifiquement considérées dans cette thèse sont encadrées.

## 1.1. Diversité des organismes du sol

Le terme « organismes du sol » regroupe tous les organismes vivant au moins pendant une partie de leur cycle de vie dans le sol ou dans la litière à la surface du sol. Cela inclut les racines des végétaux, dont le rôle spécifique ne sera pas détaillé dans ce paragraphe, mais dont la prise en compte s'avère nécessaire du fait de leurs interactions avec de nombreux autres organismes.

La combinaison de minéraux, air, eau et matière organique constituant le sol et leur arrangement fournit un habitat pour une très grande diversité d'organismes (Orgiazzi et al, 2016). Ainsi, un gramme de sol peut contenir plusieurs milliers d'espèces de bactéries (Orgiazzi et al, 2016), et plus d'un quart des espèces d'animaux vivaient dans le sol (Decaëns, 2010). Pour faciliter leur étude, ceux-ci ont été classés par taille, en 3 grandes catégories (**Figure 2**). On trouve ainsi : les microorganismes comprenant bactéries et champignons et la microfaune (protozoaires et nématodes) jusqu'à 100 µm de largeur, la mésofaune (enchytréides et arthropodes dont surtout collemboles et acariens) jusqu'à 2 mm de largeur et la macrofaune au-delà (vers de terre, mollusques et arthropodes dont insectes vivant au moins en partie dans le sol, diplopedes,

chilopodes, isopodes et araignées). Ces organismes sont surtout répartis dans la couche organique de surface ou dans les premiers cm du sol, là où la teneur en matière organique vivante et morte à la base des réseaux trophiques est la plus importante (Frey, 2007). Au cours de cette thèse, seuls les microorganismes et la macrofaune ont été étudiés. Une quatrième classe, la mégafaune, comprend des vertébrés comme les taupes ou campagnols, mais n'intervient pas aux échelles considérées dans cette thèse.

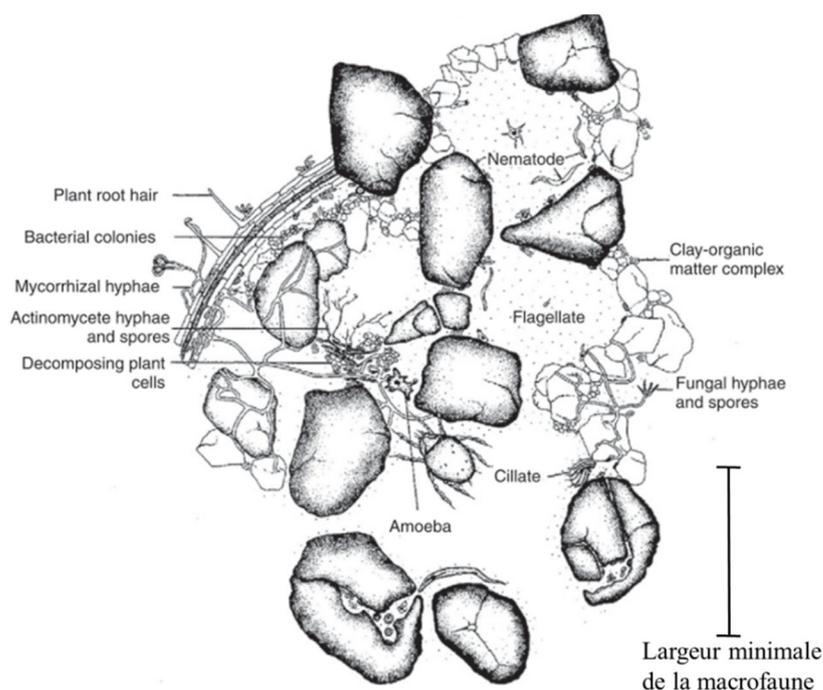


**Figure 2** Classification des organismes du sol par taille. Extrait de Brackin et al (2017), d'après Swift et al (1979). Les groupes étudiés dans cette thèse sont encadrés en rouge.

### 1.1.1. Microorganismes

Les microorganismes hétérotrophes (majoritaires) acquièrent leurs ressources (molécules organiques simples et nutriments minéraux) par absorption de formes dissoutes. Ces organismes sont donc fortement dépendants des teneurs en eau des milieux (Frey, 2007). L'acquisition de matière organique peut se faire par association avec des plantes –par exemple utilisation du carbone issu des plantes en échange de nutriments via les symbioses– ou après digestion extracellulaire de matière organique morte. Cette dernière est réalisée par les microorganismes décomposeurs, qui feront plus particulièrement l'objet de cette thèse. Leur activité est contrainte par la température, l'accès à la ressource et sa qualité, en plus de la disponibilité en eau précédemment évoquée (Kirschbaum, 1995). La disponibilité en eau et la température peuvent devenir des paramètres très contraignants pour l'activité microbienne à certaines périodes, en particulier sous climat méditerranéen, connu pour ses étés chauds et secs.

Les bactéries sont les plus petits microorganismes, avec un diamètre moyen de 0,2  $\mu\text{m}$  (**Figure 3**). Elles sont capables de coloniser des micropores, où elles sont protégées de leurs prédateurs de plus grande taille (Frey, 2007). Du fait de leur morphologie (taille réduite, forme souvent unicellulaire) elles ont une forte dépendance aux films et pores aqueux et sont contraintes spatialement dans leur répartition dans le sol et leur accès à la ressource (Vos et al, 2013). Elles sont cependant capables de libérer des enzymes et polysaccharides afin de maintenir l'eau et les nutriments à proximité, et d'adopter des formes particulières de résistance lorsque les conditions deviennent défavorables afin de survivre en maintenant un métabolisme de base (Schimel et al, 2007). Au contraire, les champignons présentent pour la plupart une forme pluricellulaire et des structures filamenteuses, les hyphes, permettant l'exploration d'un plus grand volume de sol (**Figure 3**). Cela leur confère une bonne aptitude pour l'acquisition de nutriments ou d'eau (Voroney, 2007). Les champignons décomposeurs sont en particulier capables de coloniser la litière à la surface du sol tout en continuant à se fournir en ressources complémentaires dans le sol (Frey et al, 2003). Les champignons sont cependant fortement susceptibles aux changements d'humidité et de température du sol (Frey, 2007).



**Figure 3** Représentation des organismes du sol dans une aire d'environ 1 cm<sup>2</sup>. Extrait de Frey (2007), et adapté de S. Rose et T. Elliott, communication personnelle.

Environ 65 % de la biomasse microbienne est comprise dans les 25 premiers cm du sol, où se développent en majorité les racines fines, siège des interactions symbiotiques et source de

matière organique (mortalité racinaire, exsudats associés à la rhizosphère) (Doblas-Miranda et al, 2009). La composition des communautés microbiennes est également variable avec la profondeur, avec davantage de champignons et de bactéries gram négatives en surface, et plus de gram positives et d'actinobactéries en profondeur (Frey, 2007).

### ❖ Etude des microorganismes *in situ*

Le nombre estimé d'espèces de microorganismes est très important (plus de 1 million pour les bactéries, et jusqu'à 5 millions pour les champignons), et la majorité en demeure inconnue (moins de 6,5 % d'espèces connues pour les champignons, et moins de 1,5 % pour les bactéries) (Orgiazzi et al, 2016). De ce fait, il est assez compliqué d'étudier les microorganismes via leur diversité taxonomique. Les microorganismes jouant un rôle clé dans le fonctionnement des écosystèmes, il peut être plus intéressant de les étudier via une approche fonctionnelle. Il s'agit de l'approche choisie pour cette thèse, où nous cherchons à étudier les organismes du sol dans le but de promouvoir des fonctions du sol associées permettant de valoriser les services écosystémiques de fourniture en nutriments (voir **partie 1.2.**). Par exemple, la biomasse microbienne donne une indication de la quantité de microorganismes présents dans le sol. Cette mesure est déterminée de différentes façons selon les études : par comptage direct, ou par la quantification de l'ADN ou ARN, de la teneur en C et nutriments, de certains composés des parois cellulaires, ou de la respiration en présence de glucose en excès. La connaissance de la teneur en C des microorganismes est intéressante car elle apporte des connaissances sur la forme du carbone du sol. En effet, bien que le C microbien ne représente qu'entre 1 et 3 % du carbone organique du sol, il représente une forme active du carbone, indicatrice de futures modifications dans la teneur en C organique (Powlson et al, 1987). De plus les rapports stœchiométriques entre le C et les principaux nutriments constituant les microorganismes donne une idée des organismes et catégories écologiques présentes (par exemple, les champignons ont un ratio C : N moyen de 8,3, plus élevé que les bactéries qui présentent un C : N moyen de 4,6, Mouginit et al, 2014), pouvant avoir des impacts différents sur les fonctions du sol (voir paragraphe suivant et **partie 1.2.**). La respiration microbienne donne une estimation de la biomasse des microorganismes actifs. La diversité fonctionnelle des microorganismes du sol peut plus particulièrement être étudiée par la mesure de la respiration induite par différents substrats plus ou moins récalcitrants (Shihan et al, 2017). La respiration basale microbienne (respiration sans ajout de substrats) rapportée à la biomasse microbienne donne elle une estimation de l'efficacité des microorganismes présents dans leur utilisation du C (Saul-Tcherkas et

Steinberger, 2009; Zhou et al, 2017), et ainsi de leur impact sur la décomposition de la matière organique et la libération de nutriments (voir paragraphe suivant et **partie 1.2.**).

### ❖ Stratégies écologiques

La variabilité des propriétés des microorganismes ont permis de différencier deux stratégies écologiques présentées dans le **Tableau 1** (Fierer et al, 2007; Zhou et al, 2017). Les copiotrophes se développent surtout dans des milieux riches en carbone labile et nutriments. Ils répondent très rapidement à l'évolution des conditions du milieu et présentent une croissance rapide en présence d'une ressource abondante, mais sont peu efficaces et incapables de dégrader les substrats récalcitrants. Les oligotrophes sont capables de se maintenir dans des milieux pauvres en nutriments. Ils possèdent un arsenal enzymatique plus performant leur permettant de dégrader des substrats récalcitrants, mais sont moins compétitifs face à de la matière organique labile. Les copiotrophes ont historiquement été associés aux bactéries et les oligotrophes aux champignons, mais des études plus récentes démontrent l'existence des deux catégories chez l'ensemble des microorganismes (Sauvadet et al, 2019; Fierer et al, 2007). La connaissance de la stratégie écologique des communautés présentes, via les indicateurs décrits dans le **Tableau 1**, permet d'émettre des hypothèses sur la manière dont sont impactées les fonctions du sol associées (voir **partie 1.2.**)

**Tableau 1** Caractéristiques associées aux stratégies écologiques copiotrophes et oligotrophes des microorganismes. \* valeurs basées sur les bactéries et champignons.

	copiotrophes	oligotrophes
Besoin en nutriments	Elevé	Faible
Réponse à l'apport de substrat	Rapide mais courte	Lente mais dans la durée
Dominance	Milieux riches en nutriments	Milieux pauvres en nutriments
Efficience d'utilisation du C	Faible	Elevée
Matière organique utilisée	Labile, dissoute	Capacité à dégrader des substrats complexes
<b>indicateurs</b>		
C microbien / C organique du sol	Faible (carbone utilisé comme source d'énergie)	Elevé (carbone utilisé pour la constitution)
Respiration/ biomasse microbienne	Elevée (faible efficience dans l'utilisation du C)	Faible (forte efficience dans l'utilisation du C)
C microbien / N microbien *	Faible (autour de 4,6)	Elevé (autour de 8,3)

### 1.1.2. Macrofaune

La macrofaune est constituée d'organismes très variés dans leur comportement, alimentation, taille et période d'activité. Elle comprend de nombreux arthropodes, mais aussi les vers de terre et les gastéropodes. Elle est capable de s'affranchir de la structure du sol en se déplaçant à la surface ou en creusant des galeries. La répartition verticale de la macrofaune dans le sol a été peu étudiée, mis à part pour les vers de terre (Doblas-Miranda et al, 2009). Ainsi, certains vers de terre vivent dans la litière à la surface du sol (espèces épigées), tandis que d'autres vivent exclusivement dans le sol dans lequel ils creusent des galeries horizontales (espèces endogées), ou sont capables de se déplacer verticalement entre ces deux milieux (espèces anéciques) (Bouché, 1977). Parmi le reste de la macrofaune, de nombreux groupes vivent dans la litière ou l'horizon organique de surface (isopodes, diplopodes, araignées), alors que d'autres groupes sont capables d'alterner entre surface et horizons minéraux (chilopodes, fourmis) (Doblas-Miranda et al, 2009) (**Tableau 2**). D'autre part, certains insectes changent de lieux de vie au cours de leur développement. Ainsi, le sol est le lieu de vie d'une grande variété de larves d'insectes (Doblas-Miranda et al, 2009), alors que de nombreux adultes vivent à la surface du sol, voire présentent un stade aérien. Enfin, certains organismes voient leur localisation dans le profil de sol évoluer au cours de l'année. Par exemple, de nombreux organismes s'enfouissent davantage dans le sol en conditions défavorables, pour l'hivernation par exemple. Tout comme les microorganismes, la macrofaune est en effet sensible aux variations de température et d'humidité, et son activité et son abondance varient fortement avec la saison et la zone climatique considérée.

La localisation de la macrofaune est fortement associée à son régime trophique (**Tableau 2**). Ainsi, les isopodes et diplopodes, présents au niveau de la litière en surface, sont des saprophages (ou « consommateurs de litière », Barrios 2007). Les araignées et de nombreux insectes adultes zoophages vivent dans la couche de litière car elle leur assure protection contre les prédateurs et les extrêmes climatiques, et car elle est le lieu de vie de nombreux organismes constituant leurs proies. D'autres animaux s'y nourrissent des parties aériennes de la végétation ou des graines tombées au sol (gastéropodes, carabes granivores). Les larves d'insectes, plus vulnérables que les adultes, se trouvent la plupart du temps protégées dans le sol, souvent en association avec les racines qu'elles consomment (élatéridés, lépidoptères, hannetons) ou qui servent de lieu de vie à leurs proies (larves zoophages et nécrophages).

**Tableau 2** Les grands groupes de la macrofaune du sol, leurs lieux de vie et régimes trophiques. \* comprend des organismes vivant à certaines périodes de l'année ou à certains stades de leur développement hors du sol

Groupe	Lieu de vie	Alimentation
Vers de terre (épigés)	Litière	Litière, microorganismes associés
Vers de terre (endogés)	Sol	Matière organique du sol, litière enfouie, microorganismes associés
Vers de terre (anéciques)	Terrier dans le sol, se nourrit à la surface du sol	Litière, mais aussi matière organique du sol, microorganismes associés
Diplopodes	Litière, capable de creuser dans le sol	Litière, probablement microorganismes associés, herbivorie possible
Isopodes	Litière	Litière, probablement microorganismes associés
Chilopodes	Entre litière et sol, variable selon les espèces	Animaux, en particulier mésofaune pour les plus petits
Araignées	Litière, refuge possible dans le sol	Animaux
Fourmis	Fourmilière dans le sol, déplacements en surface	Varie selon les espèces
Mollusques	Litière	Litière mais aussi plantes (feuilles, tiges)
Diptères (larves) *	Litière, sol	Animaux en cours de décomposition (nécropages)
Coléoptères (larves) *	Litière, sol	Animaux (la plupart des carabes, staphylins, cantharidés), racines des plantes (élatéridés, hannetons), litière (cétoines)
Coléoptères (adultes) *	Litière, alternance avec modes de vie aériens possibles	Animaux (carabes, cantharidés, staphylins, cétoines), Graines (carabes), litière (staphylins)
Lépidoptères (larves) *	sol	Plantes (racines)
Dermaptères	Litière, sol	Variée (omnivores)

### ❖ Catégories écologiques des vers de terre

La classification des vers de terre entre épigés, endogés et anéciques permet également de distinguer leurs modes d'alimentation et stratégies écologiques, proches des stratégies r et K décrites pour des organismes de plus grande taille (Bouché, 1977). Ainsi, les vers de terre épigés consomment de la matière organique fraîche (litière, ce sont donc des saprophages), se développent dans des milieux riches, ont un métabolisme et une reproduction rapides, et sont fortement soumis à la prédation ce qui les rapproche de la stratégie écologique dite « r ». Ils

survivent aux saisons défavorables sous forme de cocons. Les vers de terre endogés ont conduit à la création du groupe trophique des géophages car ils absorbent de la terre. Les géophages digèrent en réalité la matière organique associée au sol, composée de matière organique du sol à proprement parler (matière organique dissoute ou particulaire de petite taille), et de matière organique fraîche issue de l'enfouissement de la litière apportée en surface ou de la mortalité racinaire (pour les vers de terre épi-endogés) (Blouin et al, 2013). Ils sont ainsi capables de se développer avec une alimentation pauvre, et de réduire leur activité en conditions défavorables. Vivant dans le sol, ils sont davantage protégés à la fois des prédateurs et des écarts climatiques. Les anéciques consomment un mélange de matière organique fraîche prélevée en surface et de matière organique mélangée au sol plus en profondeur. Ils trouvent refuge dans le sol d'où ils rejoignent la surface grâce à leurs galeries verticales, et sont capables de diapause en conditions défavorables. Ces deux dernières catégories sont ainsi plus proches de la stratégie écologique dite « K ». Cette classification en trois grandes catégories est cependant actuellement remise en question, et les espèces de vers de terre pourraient être classées de manière plus précise par leur degré d'appartenance à chacune des trois catégories (Bottinelli et al, 2020). De plus, l'analyse du contenu du tube digestif des vers de terre a montré qu'ils consomment également des microorganismes et de la microfaune, que ce soit volontaire ou une conséquence de leur mode d'alimentation (Blouin et al, 2013). Les proportions exactes de chaque type de nourriture ne sont pas bien connues et probablement assez variables (Bernier, 1998).

### ❖ **Complexité de l'étude de la macrofaune *in situ***

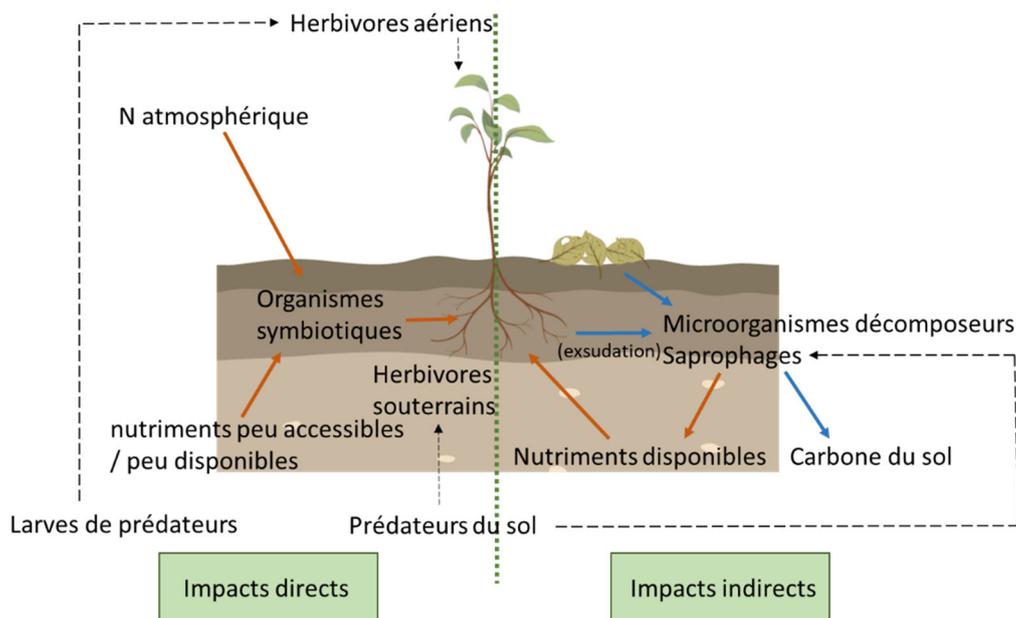
La macrofaune est souvent classée taxonomiquement, et identifiée à l'espèce pour les groupes les plus connus (vers de terre, carabes), ce qui permet d'en étudier facilement la diversité. Cependant, certains groupes de la macrofaune comme les staphylins sont difficilement identifiables à l'espèce, et la faune du sol compte beaucoup de larves d'insectes, dont la caractérisation taxonomique a été beaucoup moins étudiée que celle des adultes. De plus, la classification taxonomique de la macrofaune ne rend pas forcément compte des fonctions du sol impactées par leur activité. Il est ainsi possible de classer la macrofaune par groupes fonctionnels. Les classifications les plus fréquentes sont celles par groupes trophiques (Brussaard et al, 2007), bien que l'étude par réseaux trophiques soit souvent davantage utilisée pour la mésofaune (Hunt et al, 1987). Les régimes trophiques de la macrofaune comportent en particulier une part importante d'omnivorie, et la macrofaune présente une certaine plasticité dans le choix de sa nourriture. Par exemple les diplopodes de type iule, saprophages, sont

également connus comme herbivores ravageurs dans des conditions particulières. De plus, certains régimes trophiques ne peuvent être définis qu'à une résolution taxonomique élevée (fourmis), changer au cours du temps (les carabes, s'ils sont majoritairement prédateurs à l'état de larve, sont parfois granivores au stade adulte), ou sont mal connus (staphylins). On trouve également dans le sol des organismes y trouvant refuge mais ne s'y nourrissant pas, car ils se servent du sol uniquement comme habitat (taupins adultes, abeilles terricoles) ou qu'ils présentent des stades où ils ne s'alimentent pas (nymphe, certains individus hivernants). Une autre classification fonctionnelle possible considère l'impact principal des organismes sur le milieu et les fonctions associées. Par exemple, les transformateurs de litière (saprophages se nourrissant à la surface ou dans les premiers centimètres du sol) modulent la surface de la matière organique accessible aux microorganismes décomposeurs (voir **partie 1.2.**), et les ingénieurs de l'écosystème (vers de terre, fourmis) modifient la structure du sol (Brussaard, 1998; Barrios, 2007). Au final, une étude combinée par catégories taxonomiques et par groupes fonctionnels, dont la définition dépend des fonctions du sol considérées (voir **partie 1.2.**), reste souvent la plus adaptée. Enfin, bien que la macrofaune soit l'un des groupes d'organismes du sol les plus étudiés, les études concernent souvent uniquement la faune la plus mobile se déplaçant en surface. Lorsque la faune endogée moins mobile est considérée, les études se résument la plupart du temps aux vers de terre.

### **1.2. Organismes du sol et fonctions de recyclage de la matière organique**

Les organismes du sol contribuent à rendre de nombreux services écosystémiques. Ils améliorent la structure du sol en participant à la formation et cohésion des agrégats de sol (formation dans les turricules de vers de terre, cohésion assurée par les hyphes, produits extracellulaires bactériens, mucus des vers de terre), mais aussi par l'incorporation de matière organique dans le sol, sa décompaction et la formation de galeries (Barrios, 2007). Ceci permet de limiter l'érosion et le ruissellement de surface, en particulier car l'infiltration de l'eau dans le sol est facilitée. Le sol produit également des dis-services en hébergeant des organismes herbivores pouvant devenir des ravageurs des cultures, mais les organismes du sol participent par ailleurs à la régulation de ces herbivores et de l'ensemble du réseau trophique du sol (le sol est le lieu de vie et d'hivernation de prédateurs et de stades larvaires de prédateurs) (**Figure 4**). Les organismes du sol jouent également un rôle important dans l'acquisition de nutriments par les plantes. Ce dernier service peut passer par une voie directe (**Figure 4**), via l'augmentation

de la capacité exploratoire de la réserve du sol (mycorhizes), la mobilisation de nutriments présents sous forme indisponible (mycorhizes, bactéries, vers de terre) ou la fixation de l'azote atmosphérique (formation de nodules en association avec des bactéries). Cependant, la principale source de nutriments provient de la minéralisation de la matière organique parvenant au sol au cours de sa décomposition (voie indirecte, **Figure 4**). La décomposition est majoritairement réalisée par les microorganismes décomposeurs, mais est aussi influencée par l'action de la faune du sol.

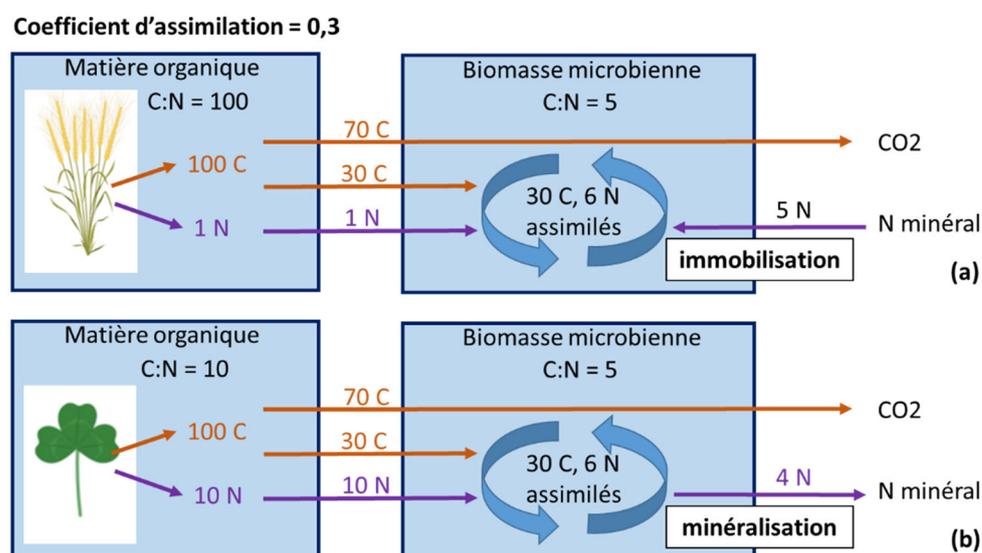


**Figure 4** Synthèse des impacts directs et indirects des organismes du sol sur l'acquisition de nutriments par les plantes et l'enrichissement du sol en carbone. Adapté de Wardle et al (2004). Les flèches en pointillés représentent des interactions trophiques, les flèches oranges des flux de nutriments, les flèches bleues des flux de matière.

### 1.2.1. Action des décomposeurs : minéralisation et immobilisation

Les microorganismes décomposeurs libèrent des enzymes extracellulaires capables de dépolymériser les constituants organiques de la matière organique fraîche en éléments plus simples, ensuite accessibles sous forme de carbone organique dissous (Schimel et Schaeffer, 2012). La matière organique dissoute est utilisée d'une part pour la constitution de la biomasse microbienne, et d'autre part comme source d'énergie pour le maintien du métabolisme des décomposeurs. La proportion du carbone attribuée à la constitution est définie par un rendement d'assimilation (ou efficacité d'utilisation du C), variable selon l'organisme et les conditions de stress. La biomasse microbienne est également contrainte par des relations stœchiométriques entre les différents éléments la constituant (Myrold et Bottomley, 2008; Cleveland et Liptzin, 2007; Spohn, 2016). Pour constituer leur biomasse, les microorganismes ont ainsi besoin de

prélever du carbone et des nutriments dans des proportions fixées, qui ne correspondent pas forcément à celles de la ressource assimilée. Par exemple, pour un rendement d'assimilation de 30 % (rendement moyen estimé, Sinsabaugh et al. 2013), des bactéries avec un C : N de 5 (Mouginot et al, 2014) auront un besoin en N trop élevé pour une litière ayant un C : N de 100 (résidus de paille par exemple) (**Figure 5**). Pour la décomposer, les bactéries auront besoin d'immobiliser dans leur biomasse du N minéral issu de la solution du sol, ce qui peut fortement limiter la quantité de N disponible pour les plantes. Au contraire, une litière plus riche en N (C : N = 10 par exemple) pourra être dégradée sans recourir au N du sol, et entraînera la minéralisation du N excédentaire et donc la disponibilité du N pour les plantes. La transition entre minéralisation et immobilisation est ainsi dépendante de la ressource disponible, mais aussi des organismes présents. Par exemple, les champignons ont un rapport C : N plus élevé (autour de 8, Mouginot et al, 2014) et sont donc capables de dégrader des substrats ayant des rapports C : N plus élevés sans recourir à l'azote minéral de la solution du sol (Myrold et Bottomley, 2008). De plus, des études récentes démontrent une certaine plasticité des microorganismes, vis-à-vis de leurs coefficients d'assimilation et rapports stœchiométriques. Ainsi, une diminution du coefficient d'assimilation en présence de substrats récalcitrants (C : N trop élevé) pourra permettre leur dégradation en l'absence de nutriments minéraux à immobiliser.

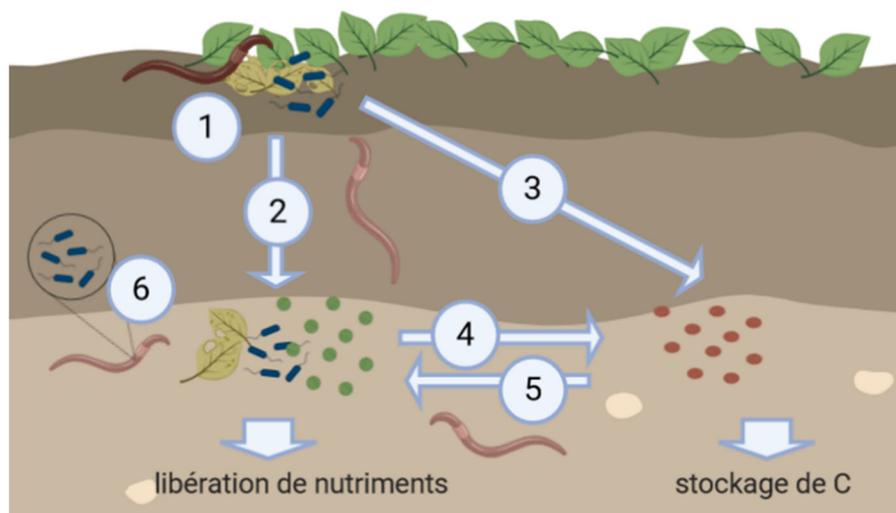


**Figure 5** Relations entre les rapports stœchiométriques de la matière organique et la minéralisation ou immobilisation de nutriments par la biomasse microbienne. Par souci de simplification, les exemples sont donnés pour le N uniquement, en prenant l'exemple des bactéries (C : N = 5), et en supposant une disponibilité suffisante de l'azote minéral dans le sol. (a) En présence d'un substrat pauvre en N, l'assimilation de 30 % du C requière l'immobilisation de N minéral issu de la solution du sol. (b) En présence d'un substrat riche en N, le N est en excès et en partie minéralisé. Adapté de Recous et al (2017) et Nicolardot et al (1997).

Les communautés des microorganismes du sol peuvent également s'adapter aux substrats présents et à la richesse du milieu en nutriments (modification de l'abondance et de l'activité relatives des oligotrophes versus copiotrophes tels que définis dans le **paragraphe 1.1.1.**). Enfin, la dégradation de la matière organique ne dépend pas que des rapports stoechiométriques entre carbone et nutriments, mais aussi de sa composition biochimique, en particulier dans les milieux agricoles souvent non limités en N minéral du sol (Swift et al, 1979). La litière est en effet composée de différentes fractions. La fraction soluble comprend des nutriments facilement accessibles et dégradés rapidement par les microorganismes, mais également des composés de défense (métabolites secondaires tels les tanins et polyphénols) pouvant inhiber l'activité de certains décomposeurs. La fraction solide comprend les composés pariétaux présentant des degrés de décomposition variables (cellulose et hémicellulose plus facilement dégradables que la lignine). Différents types de végétation seront ainsi dégradés à différentes vitesses et par différents organismes.

### **1.2.2. Action de la macrofaune dans les processus de décomposition**

La contribution de la macrofaune aux processus de décomposition est attestée par des expériences montrant une augmentation de la biomasse microbienne et de la minéralisation (Vedder et al, 1996), ou une décomposition plus importante de la litière (Frouz et al, 2015) en leur présence. L'impact de la macrofaune sur la décomposition de la matière organique est cependant complexe à étudier, car il passe par différents types d'interactions. Les herbivores peuvent induire une mortalité des plantes accrue, et donc un retour de matière organique plus important au sol ou une sélection des espèces végétales présentes (Brussaard, 1998). Cependant, ce sont surtout les organismes consommant de la matière organique morte (saprophages et géophages) qui impactent la décomposition de la matière organique, en modulant l'activité et la croissance des microorganismes (**Figure 6**).



**Figure 6** Illustration des mécanismes par lesquels les saprophages et géophages impactent le cycle de la matière organique : fragmentation et mélange de la couche de litière augmentant le contact avec les microorganismes (1), enfouissement de la matière organique dans le sol et consommation par les vers endogés conduisant à une activité accrue des microorganismes (2) ou à une protection contre l'action microbienne (3), matière organique stabilisée par la mortalité des microorganismes ou sa protection dans les fèces âgés (4), priming effect (5), stimulation de l'activité microbienne dans le tube digestif ou les fèces récents (6).

Nous avons vu que l'activité des microorganismes peut être contrainte par les ratios C : nutriments et par la composition biochimique de la matière organique. Elle peut cependant avant tout être contrainte par son accessibilité. En particulier, l'action des microorganismes est limitée dans le sol minéral où elle dépend essentiellement des processus les mettant en contact avec la matière organique (Wiesmeier et al, 2019). La macrofaune saprophage, ou « transformatrice des litières », fragmente la matière organique en la consommant et participe au brassage de la couche de litière, en exposant ainsi une plus grande surface à l'action des microorganismes (Lavelle et al, 2006; Barrios, 2007; Brussaard, 1998). Les vers de terre endogés et anéciques sont souvent classés dans le groupe fonctionnel des « ingénieurs de l'écosystème », car ils modifient leur environnement en mélangeant la matière organique fraîche aux particules organo-minérales du sol (bioturbation), ce qui peut faciliter le contact avec les microorganismes (Barrios, 2007; Lavelle et al, 2010). La bioturbation module également la structure du sol, et peut créer et façonner des micro-habitats susceptibles de favoriser la présence d'autres organismes (dans les galeries ou pores par exemple).

Les vers de terre sont également capables de moduler plus directement la biomasse et l'activité des microorganismes, en ingérant des microorganismes en même temps que les éléments minéraux, la matière organique du sol et la litière. Ils développent des interactions mutualistes avec des microorganismes dans leur tube digestif par activation et sélection (essentiellement

des bactéries), ce qui leur permet de digérer plus efficacement la matière organique (Lavelle, 1997). La consommation simultanée de matière organique fraîche, matière organique du sol plus ancienne et microorganismes pourrait en particulier favoriser le phénomène de priming effect, soit la dégradation accrue de matière organique ancienne « stabilisée » en présence de matière organique fraîche (Lavelle et al, 2006). Ce priming effect pourrait également être favorisé par la production de mucus par les vers de terre, matière organique très facilement dégradable facilitant le développement de microorganismes copiotrophes. La présence de vers de terre endogés a par exemple augmenté la minéralisation et le priming effect par la stimulation de certains groupes bactériens dans une étude sur sol tropical (Bernard et al, 2012). D'autres microorganismes sont digérés par les vers de terre (Frouz, 2018), permettant la libération des nutriments immobilisés. D'autres saprophages que les vers de terre pourraient avoir un impact similaire, ingérant des microorganismes pouvant faciliter leur digestion simultanément avec la matière organique fraîche, voire consommant directement des champignons (Frouz, 2018; Wardle et al, 2004). Enfin, si l'activité de la macrofaune module celle des microorganismes, la colonisation de substrats frais par des microorganismes peut rendre plus appétants et assimilables des substrats au départ récalcitrants et formés de métabolites secondaires difficilement dégradables par la macrofaune (David, 2014).

La macrofaune du sol facilite également la propagation et la dispersion des microorganismes sous forme de spores, propagules ou sous leur forme active après passage dans leur tube digestif (Filser et al, 2016). Le passage dans le tube digestif des saprophages induit également la sélection des microorganismes présents dans leurs fèces, souvent des bactéries très actives. Les fèces de la macrofaune, et en particulier les turricules de vers de terre, permettraient ainsi une minéralisation de l'azote fortement accrue dans les premiers temps (Frouz, 2018; David, 2014). Cependant, cette augmentation de l'activité est surtout due à des bactéries au détriment des champignons (Schimel et Schaeffer, 2012), et donc assez transitoire, et les fèces contiennent de nombreux éléments récalcitrants n'ayant pu être dégradés par la macrofaune. L'activité dans les fèces peut ainsi rapidement devenir inférieure à celle du sol environnant, protégeant le carbone de la dégradation (Frouz, 2018; David, 2014).

La mésofaune, bien que non spécifiquement étudiée dans cette thèse, participe également fortement à la décomposition de la matière organique. Elle comporte de nombreux microbivores (nématodes, protozoaires et collemboles) qui permettent la libération de nutriments immobilisés dans la biomasse microbienne, d'une part par le recyclage de la matière organique contenue dans les microorganismes (boucle microbienne), et d'autre part par la stimulation de

l'activité et du renouvellement des microorganismes par la consommation des cellules sénescents (Frouz, 2018).

### 1.2.3. Impact final : minéralisation ou stockage de carbone ?

Le stockage de C dans le sol est important non seulement car il pourrait atténuer le changement climatique, mais aussi car la présence de matière organique dans les sols permet une amélioration de leur structure et une meilleure rétention de l'eau, favorables au développement des plantes et des organismes du sol (Wiesmeier et al, 2019). Cependant, le stockage de C est souvent vu comme un mécanisme antagoniste avec le recyclage des nutriments, car ce dernier induit la minéralisation de C sous forme de CO<sub>2</sub> par les organismes hétérotrophes du sol (Janzen, 2006). Cotrufo et al (2015) ont cependant démontré dans de récentes études que l'activité microbienne pouvait également conduire au stockage de carbone dans les sols. En effet, l'association de la matière organique dissoute avec les minéraux du sol après passage par le filtre microbien conduit à l'incorporation de carbone organique très stable dans le sol. Bien qu'ils représentent souvent moins de 5% du carbone organique du sol, les microorganismes transforment la plus grande partie du carbone issu de la matière organique et l'incorporent au sol sous forme de produits bactériens et de nécromasse lors de leur renouvellement (Liang et al, 2017) (**Figure 6**). Les microorganismes peuvent en particulier excréter des glycoprotéines très stables (Zhu et Miller, 2003). L'action des microorganismes contribuerait ainsi à plus de 80% aux formes de C stabilisé dans le sol (Wiesmeier et al, 2019).

La matière organique peut également être protégée physiquement de la dégradation au sein des agrégats du sol, dont la formation est elle-même dépendante de l'action des organismes du sol. Chevallier et al (2004) ont par exemple montré que les agrégats pouvaient protéger jusqu'à 50 % du carbone minéralisable d'une prairie. Comme évoqué précédemment, les turricules âgés de vers de terre peuvent également protéger le carbone, d'autant plus qu'ils sont enrichis en carbone issu de la matière non dégradée au cours de leur digestion et de la nécromasse des microorganismes initialement favorisés dans les premiers stades (Bossuyt et al, 2005; Frouz, 2018). Les diplopodes induisent également la création de complexes organo-minéraux pouvant stabiliser le C dans leurs fèces (Filser et al, 2016) (**Figure 6**).

### **Bilan sur les organismes étudiés :**

Au cours de cette thèse, nous nous sommes centrés sur les organismes du sol pouvant fournir des services écosystémiques, en particulier le recyclage des nutriments associé à la décomposition de la matière organique, essentiel à la mise en place de systèmes agricoles moins dépendants des intrants (voir **partie 2**). Nous avons choisi de nous intéresser aux microorganismes décomposeurs, car ils sont essentiels à la dégradation de la matière organique (voir **partie 1.2.1.**). Nous avons également étudié la macrofaune, du fait de son influence très importante sur les processus de décomposition de la matière organique (voir **partie 1.2.2.**), mais aussi de son rôle dans la régulation du réseau trophique du sol. La macrofaune pourrait en particulier répondre plus rapidement à des modifications des pratiques agricoles que les organismes de taille inférieure (mésafaune) par sa plus forte capacité de dispersion. Par la suite, nous mentionneront donc surtout l'impact des pratiques agricoles sur ces organismes cibles, bien que la mésafaune soit également impactée.

### **1.3. Impact des pratiques agricoles sur les organismes du sol**

Les agroécosystèmes sont des écosystèmes très particuliers, dont l'assimilation aux écosystèmes est largement controversée (Tassin, 2012). De ce fait, ils n'ont pendant longtemps pas été étudiés ni perçus de la même manière. Ils diffèrent fortement des définitions traditionnelles mais aussi plus récentes des écosystèmes pour plusieurs raisons.

- Les espèces et même les variétés végétales présentes dans un écosystème sont sélectionnées et contrôlées, et non dépendantes de processus de dispersion et de sélection naturelle. Les autres espèces végétales pouvant s'établir sont souvent contrôlées (herbicides, travail du sol, mulch, interculture).
- Les espèces sont sélectionnées pour leur capacité de production, et sont donc très demandeuses en éléments nutritifs et eau, que n'est pas capable de leur fournir l'écosystème. Elles sont donc dépendantes d'apports extérieurs.
- Il y a export d'une partie de la production, souvent la plus riche en éléments nutritifs, ce qui augmente encore le besoin de recourir aux intrants et empêche le bouclage des cycles biogéochimiques.

- Le système est fortement et régulièrement perturbé par les activités agricoles (**Tableau 3**).

**Tableau 3** Synthèse de l'effet des pratiques agricoles sur les communautés d'organismes du sol.

	Impact sur les microorganismes	Impact sur la macrofaune
<b>Travail du sol</b>		
Dommages mécaniques	Négatif pour les champignons (destruction des hyphes)	Négatif dans l'ensemble (exposition à la prédation ou dommages directs)
Modification de la structure du sol et perte de la couche de litière en surface	Disparition de la stratification verticale, impact globalement négatif sur la biomasse	Impact négatif sur les saprophages et prédateurs
Incorporation de la litière au sol	Favorise l'activité des microorganismes copiotrophes	Favorise le développement de certains vers de terre endogés
<b>Intrants</b>		
Fertilisants minéraux	Impact négatif à l'application, puis globalement positif sur la biomasse microbienne	Pas d'informations
Fertilisants organiques	Impact positif sur la biomasse microbienne	Impact positif sur les saprophages
Pesticides	Impacts très variables	Impacts négatifs
<b>Impact final</b>	Favorise des communautés copiotrophes	Perte de diversité au détriment de quelques organismes adaptés

### 1.3.1. Travail du sol

Coudrain et al (2016) ont étudié les impacts du travail du sol, de la fertilisation azotée et de la gestion des résidus dans une parcelle agricole du nord de la France, et trouvé que le travail du sol était la pratique ayant le plus fort impact sur les communautés d'organismes du sol, entraînant une forte diminution de la diversité de l'ensemble des organismes du sol. Le travail du sol fragmente les réseaux d'hyphes des champignons et expose leurs spores aux conditions néfastes de la surface du sol (Roger-Estrade et al, 2010). Van Capelle et al (2012) ont par exemple trouvé que des parcelles agricoles sans travail du sol présentent une biomasse microbienne supérieure à celle de parcelles dont le sol est fortement travaillé dans les 10 premiers cm du sol. Le travail du sol induit également la mortalité d'une partie de la macrofaune, par dommages mécaniques directs, l'exposition des individus à la surface et donc

à des conditions défavorables et des prédateurs, ou la compaction du sol par le passage des machines agricoles (Roger-Estrade et al, 2010). Le travail du sol a un impact particulièrement négatif sur les populations de saprophages et prédateurs, probablement car il provoque la disparition de la couche de matière organique présente en surface dans laquelle vivent et se nourrissent ces espèces (Robertson et al, 1994). Cependant, certains carabes sont favorisés par la présence de sol nu, et donc particulièrement adaptés aux milieux agricoles. Le travail du sol provoque également l'homogénéisation des premiers cm du sol, qu'il déstructure, entraînant la modification des différents micro-habitats et de la stratification verticale des organismes décrite dans la **partie 1.** Par exemple, des parcelles agricoles sans labour présentent une variation de la biomasse microbienne avec la profondeur, qui n'est pas visible dans le sol uniformisé par le labour (van Capelle et al, 2012). L'impact du travail du sol se fait en particulier sentir dans les premiers centimètres, qui sont ceux où se déroule la majorité de l'activité des organismes du sol dans les écosystèmes naturels (Madejón et al, 2007; van Capelle et al, 2012).

L'enfouissement de la litière en milieu agricole provoque cependant des apports de matière organique fraîche en profondeur, ce qui peut être bénéfique à certains organismes. Par exemple, si les vers de terre anéciques et épigés sont négativement impactés par la disparition de la litière en surface (Roger-Estrade et al, 2010) et la destruction de leurs galeries (Chan, 2001), les vers de terre endogés peuvent être favorisés par l'incorporation de matière organique fraîche, la décompaction du sol et la modification des conditions physiques provoquée par le labour (Chan, 2001). Cela favorise particulièrement des épi-endogés, se déplaçant dans le sol mais nécessitant de la matière organique fraîche. Le mélange de la matière organique au sol et sa fragmentation la rendent également disponible à l'action des microorganismes (Roger-Estrade et al, 2010). De plus, une fraction de matière organique additionnelle est rendue disponible par la destruction des agrégats au sein desquelles elle était protégée (Balesdent et al, 2000). L'accessibilité accrue de la matière organique et l'aération du sol pourraient favoriser l'activité et la croissance microbienne (Rovira et Greacen, 1957), en particulier celle des bactéries ayant davantage survécu au travail du sol que les champignons. De plus, les cycles répétés humidification/séchage auxquels les sols travaillés sont davantage soumis pourraient favoriser l'activité microbienne des organismes copiotrophes. Les sols non travaillés peuvent en particulier présenter des activités enzymatiques plus importantes et une respiration du sol plus faible que des sols travaillés, probablement associées à des communautés d'organismes plus stables et plus efficaces (Mangalassery et al, 2015). Cependant, l'impact final du travail du

sol est sujet à controverse, et n'entraîne pas forcément une modification de la vitesse de minéralisation de la matière organique (Mary et al, 2020; Autret et al, 2020).

### 1.3.2. Pesticides et fertilisants

Les milieux agricoles reçoivent des intrants, par exemple sous forme de fertilisation organique ou minérale ou d'herbicides. L'utilisation de pesticides a un effet variable sur les microorganismes, et peut augmenter ou diminuer la biomasse et l'activité microbienne du sol selon le produit utilisé (Eisenhauer et al, 2009), le temps après son application ou la dose utilisée (Cycoń et Piotrowska-Seget, 2009). Les apports de produits organiques animaux peuvent également présenter des traces d'antibiotiques, dont les effets sur l'inhibition de la croissance et de l'activité microbienne ont été démontrés (Thiele-Bruhn et al, 2012). L'addition d'engrais minéraux a un impact immédiat négatif sur les populations de microorganismes, en modifiant localement les propriétés du sol (pH, potentiel osmotique). Cependant, à long terme l'addition de fertilisants minéraux a un impact bénéfique sur la teneur en C microbien dans les systèmes en cultures annuelles (Geisseler et Scow, 2014). Cela peut être lié à une plus grande disponibilité en nutriments minéraux dans le sol, mais aussi à l'augmentation de productivité de la culture et donc des retours de matière organique au sol. Francioli et al (2016) ont comparé l'effet de la fertilisation minérale, organique et de l'absence de fertilisation sur les communautés microbiennes. Ils ont trouvé une plus grande biomasse microbienne en présence de fertilisation, en particulier en présence de fertilisation organique. De plus, les parcelles ayant reçu une fertilisation organique présentent davantage de bactéries spécifiques des milieux riches, en opposition à une plus grande proportion d'organismes oligotrophes dans les parcelles sans fertilisation.

Beaucoup moins d'études ont été réalisées sur la macrofaune *in situ*. Les pesticides, et en particulier les insecticides et fongicides, provoquent la mortalité, limitent la croissance et la fécondité et impactent le comportement des vers de terre (Pelosi et al, 2014). Les fertilisants organiques peuvent par contre favoriser la macrofaune saprophage (Ponge et al, 2013).

## **2. Organismes et fertilité du sol des systèmes agroforestiers en allées cultivées**

Pour augmenter la fourniture de services écosystémiques par les agroécosystèmes, et en particulier les services de support à la production nécessaires à la croissance des cultures dans un objectif de limitation des intrants, il est nécessaire d'augmenter la diversité taxonomique et fonctionnelle et l'abondance des organismes du sol. Les systèmes plurispécifiques augmentent la diversité et les types de végétation présents dans les systèmes agricoles. Cela permet une meilleure valorisation des ressources présentes (eau, nutriments), voire la facilitation de la croissance d'une espèce par une autre (Gaba et al, 2015). Ces systèmes induisent de plus la présence d'une diversité associée (végétaux, microorganismes ou animaux colonisant le système de manière spontanée) (Malézieux et al, 2009). Celle-ci est favorisée par l'apparition de nouveaux habitats et de nouvelles ressources au sein de la parcelle agricole.

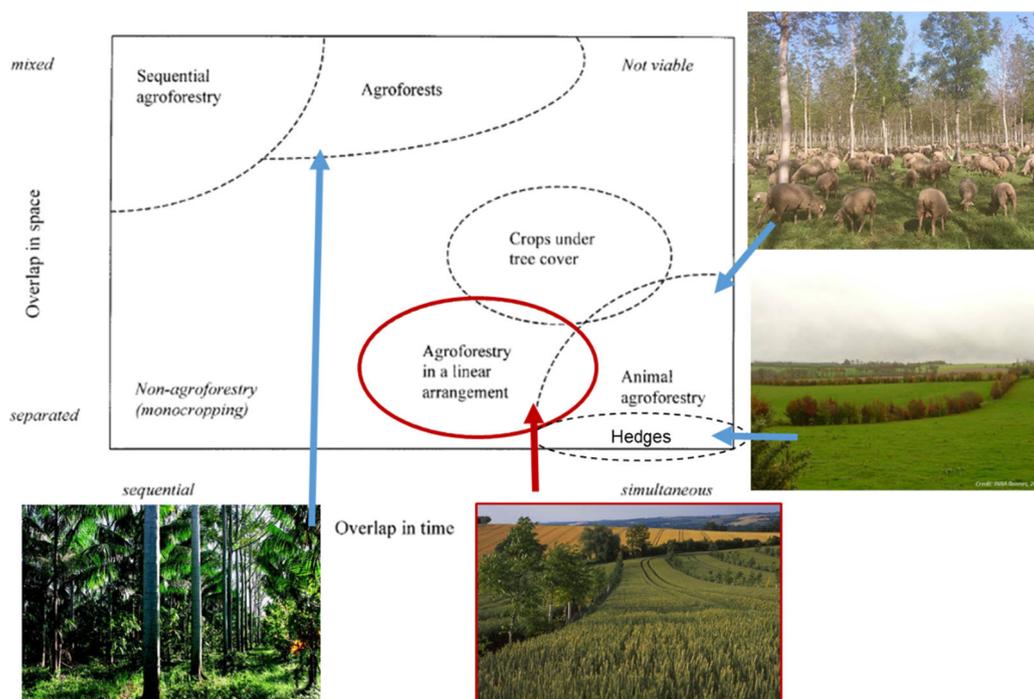
### **2.1. Les systèmes agroforestiers**

Un système agroforestier est un système plurispécifique qui combine végétation ligneuse et cultures et/ou élevage au sein d'une même zone (définition donnée par l'EURAF, fédération européenne d'agroforesterie). Les pratiques agroforestières peuvent être très variables selon la région considérée, et vont de l'intégration d'arbres isolés au sein de prairies jusqu'aux forêts cultivées présentant de nombreuses strates et espèces mélangées, en passant par l'implantation de haies en bordure de parcelles. Nair a défini 3 grands types de systèmes agroforestiers (Nair, 1985) : les systèmes sylvopastoraux (arbres et élevage), sylvoarables (arbres et cultures) et agrosylvopastoraux (mêlant arbres, cultures et élevage).

En milieu tempéré, l'agroforesterie reste assez marginale. Au sein de l'union européenne, une étude réalisée en 2016 montre que l'agroforesterie couvre 8.8% de la surface agricole utile (SAU) seulement. Elle représente 5.6% de la SAU en France où elle est surtout développée dans le sud (den Herder et al, 2017). Les bénéfices de l'agroforesterie sont moins évidents dans l'environnement majoritairement tempéré européen que dans les zones tropicales, où ils peuvent être essentiels à certaines cultures. En Europe, les bénéfices des systèmes agroforestiers sont fortement variables selon la zone géographique considérée, le type de système (agriculture ou élevage) et le milieu de référence (forêt versus agriculture), et sont controversés en ce qui concerne les effets finaux sur les services écosystémiques de provision (Torralba et al, 2016).

La majeure partie des systèmes agroforestiers d'Europe sont sylvopastoraux, l'agroforesterie sylvoarable restant marginale : à l'échelle européenne elle représente seulement 0,39% des terres arables (den Herder et al, 2017). Les systèmes sylvoarables sont peu adaptés au nord de l'Europe, où la réduction de la luminosité par la présence des arbres peut avoir un impact négatif très fort sur les cultures (Eichhorn et al, 2006), mais pourraient être davantage adaptés aux systèmes méditerranéens, en particulier face au changement climatique. En effet, les prévisions climatiques annoncent une augmentation particulièrement importante de l'intensité des pluies en hiver mais aussi de la sécheresse en été en milieu méditerranéen, avec une multiplication des événements extrêmes. L'agroforesterie permettrait d'atténuer ces impacts en limitant l'érosion des sols (Nunes et al, 2012), en atténuant l'effet des sécheresses sur les cultures via la réduction de l'évapotranspiration du couvert sous arboré et l'amélioration de l'infiltration et de la réserve en eau (Matocha et al, 2012), et en diminuant le risque d'incendie (Damianidis et al, 2020).

Les systèmes sylvoarables sont classés en plusieurs catégories, définies par leurs usages ainsi que par l'agencement spatio-temporel entre arbres et cultures (Nair, 1985) (**Figure 7**). Parmi ceux-ci, les systèmes en « arrangements linéaires intra parcellaires » ou « allées cultivées » (alley cropping) présentent une alternance de lignes d'arbres et d'allées cultivées. Cet arrangement permet d'augmenter les interactions écologiques et la diversité au sein même de la parcelle en comparaison avec les linéaires semi-naturels de bordure de parcelle comme les haies, tout en permettant le passage des outils agricoles et en facilitant la gestion (Torquebiau, 2000). Ils constituent la majorité des systèmes sylvoarables en milieux tempérés, et sont principalement associés à la culture du maïs, du soja et du blé (Wolz et DeLucia, 2018). En Europe, les combinaisons les plus fréquentes sont des associations feuillus/céréales ou oliviers/maraîchage (den Herder et al, 2017). Dans 82% des cas, la fonction principale recherchée par l'implantation des arbres est la production de biomasse ligneuse (Wolz et DeLucia, 2018). Les systèmes agroforestiers en arrangements linéaires font l'objet de cette thèse.



**Figure 7** Classification des différents types d'agroforesterie en fonction de la proximité spatiale et temporelle des différents éléments, adapté de Torquebiau (2000) d'après Van Noordwijk (1996) (crédits photographies : site internet projet Agforward , R. Porro). Le système étudié dans cette thèse est entouré en rouge.

## 2.2. Arbres et linéaire sous arboré des systèmes agroforestiers en arrangements linéaires

Les lignes d'arbres des systèmes en arrangements linéaires sont constituées d'arbres régulièrement espacés afin de permettre une croissance optimale des arbres et de minimiser l'effet de compétition avec la culture. Afin de ne pas endommager les arbres et de simplifier les pratiques agricoles, une bande de 1 à 2 m de large n'est pas cultivée au pied des arbres, et une végétation sous arborée majoritairement herbacée s'y développe. Cette bande d'espèces herbacées sera mentionnée tout au long de ce manuscrit comme le linéaire sous arboré (LSA, comme précédemment mentionné par Boinot, 2019). L'étude des systèmes agroforestiers en arrangements linéaires nécessite ainsi la prise en compte des 3 composantes : l'allée cultivée, l'arbre et le LSA (Figure 8).



**Figure 8** Photographie d'une parcelle agroforestière (domaine de Restinclières), et de différents linéaires sous arborés. Photographies personnelles.

La plupart des études sur les systèmes en arrangements linéaires ont été menées en milieu tropical jusque dans les années 2010 (Wolz et DeLucia, 2018), mais le nombre d'études en milieu tempéré augmente depuis peu. Tsonkova et al (2012) relèvent dans leur revue de littérature des teneurs en C et N du sol accrues, un cycle des nutriments plus efficient, et une augmentation générale de la diversité végétale et animale dans les systèmes en arrangements linéaires par rapport à l'agriculture conventionnelle, et l'attribuent majoritairement à l'effet de l'arbre et de son microclimat. Torralba et al (2016) relèvent également un effet positif des systèmes sylvoarables sur la fertilité du sol en Europe, en association avec un effet positif très fort sur le contrôle de l'érosion, mais pas d'impact clair sur la biodiversité et la production de nourriture ou de bois. De plus, les organismes étudiés dans ces systèmes sont surtout des oiseaux ou pollinisateurs, et la faune du sol est particulièrement peu étudiée, mis à part quelques

études sur les vers de terre (Udawatta et al, 2019). Les microorganismes sont également peu étudiés, mis à part quelques études sur les mycorhizes (Unger et al, 2013; Battie-Laclau et al, 2019).

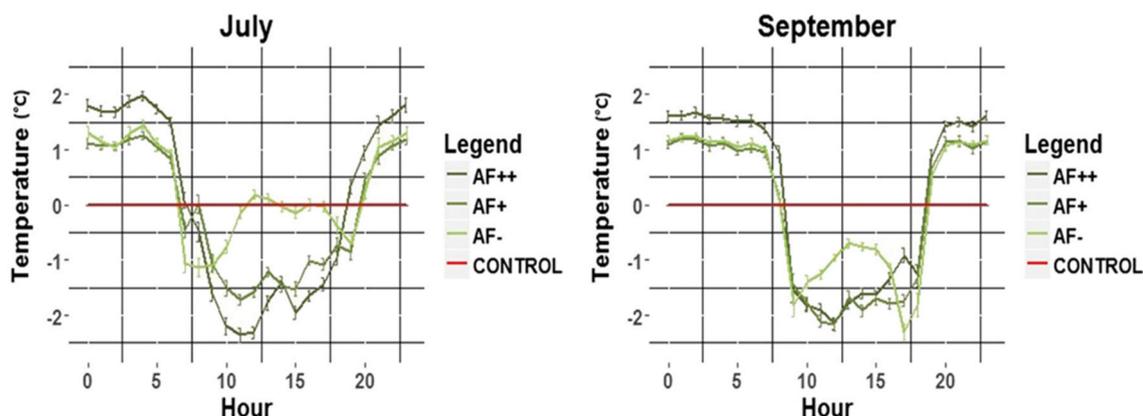
### 2.2.1. Impact direct de l'arbre

Les principaux arbres utilisés dans les systèmes en arrangements linéaires tempérés sont des genres *Populus*, *Juglans* et *Quercus*, avec la plupart du temps une seule espèce par parcelle (Wolz et DeLucia, 2018). Il faut cependant mentionner des tendances récentes à la diversification des essences au sein de la parcelle (telles celle encouragée par Arbres et paysage 32 dans le sud-ouest de la France). Le rôle des arbres sur la fourniture de services écosystémiques a été beaucoup plus étudié que celui du LSA, en particulier car ils sont présents et emblématiques dans tous les systèmes agroforestiers.

#### ❖ Effet sur le microclimat

La présence des arbres module fortement le microclimat. Les parcelles agroforestières présentent souvent des températures plus basses en journée et plus hautes la nuit, une réduction de la vitesse du vent, une humidité plus élevée de l'air et une luminosité moins élevée (Lawson et al, 2019). Par exemple, dans une parcelle plantée de noyers espacés de 10 m du sud de la France, une ouverture de la canopée de 22 % seulement est observée, en comparaison avec une ouverture de 92 % dans un contrôle sans arbre en juillet (Martin-Chave et al, 2019), ce qui conduit à des variations de température de l'air entre ces deux systèmes (**Figure 9**). L'effet du microclimat sur la température et l'humidité du sol est moins étudié. Mungai et al (2005) ont trouvé une température du sol moins élevée d'environ 3 à 4 °C dans la ligne l'arbre par rapport au milieu de l'allée cultivée dans un site planté d'érables dans le Missouri en été, mais aucune description de la végétation sous arborée de la ligne d'arbres et de sa gestion n'est donnée, et il est ainsi difficile d'attribuer cet effet à l'arbre spécifiquement. La présence d'un couvert arboré diminue probablement l'évapotranspiration de la végétation sous arborée (LSA mais aussi cultures), ce qui pourrait conduire à un séchage moins rapide de la surface du sol (Lawson et al, 2019). Cependant, les arbres utilisent également de l'eau pour leur croissance, et pourraient ainsi impacter négativement l'humidité du sol à certaines périodes. Cet impact négatif est souvent jugé négligeable car le postulat dominant est que les arbres se fournissent en eau dans

des horizons plus profonds, mais de récentes études ont montré une colonisation possible des horizons de surface par les racines fines des arbres (Battie-Laclau et al, 2019). La présence d'arbres induit également la présence de litière (feuilles) à la surface du sol à certaines saisons. Cette couverture du sol pourrait encore atténuer davantage les variations de température et d'humidité.



**Figure 9** Ecarts de température avec un contrôle sans arbres au sein de parcelles agroforestières pour une intensité d'élagage croissante (AF++ > AF+ > AF-). Tiré de Martin-Chave et al (2019).

#### ❖ Limitation de l'érosion et de la lixiviation des nutriments

Le système racinaire pérenne et étendu de l'arbre permet de limiter l'érosion du sol, et ainsi les pertes en matière organique (Smith et al, 2012). En effet, les racines des arbres permettent la stabilisation des agrégats de sol et leur cohésion, et améliorent la structure du sol (pores créés par les racines), ce qui favorise l'infiltration de l'eau et limite le ruissellement en surface. Ce phénomène est amplifié par l'apport de matière organique en surface (feuilles), limitant la présence de sol nu à certaines saisons. L'infiltration de l'eau dans le sol permet également sa filtration, via le prélèvement des nutriments en excès par les racines et les mycorhizes associées. Les arbres retiennent ainsi des nutriments qui seraient sinon lixiviés vers les nappes, processus connu sous le nom de « filet de sécurité » (safety net, Nair, 2011).

#### ❖ Amélioration de la fertilité du sol

En plus de retenir des nutriments qui auraient sinon été lixiviés, les arbres prélèvent les nutriments inaccessibles aux cultures localisés en profondeur dans le profil de sol. Le prélèvement de nutriments est au final accru par rapport à un système de culture sans arbres s'il

Il y a une bonne complémentarité entre le système racinaire des arbres et des cultures dans l'espace et dans le temps (Lawson et al, 2019). Les arbres recyclent ensuite ces nutriments directement dans des horizons moins profonds, ou indirectement via la décomposition de la matière organique incorporée au sol (feuilles mortes, turnover et exsudats racinaires) (Jose, 2009; Smith et al, 2012). De plus, les produits issus de la taille des arbres peuvent être utilisés comme source de matière organique supplémentaire (bois raméal fragmenté par exemple). L'addition de matière organique à la surface du sol et dans le sol améliore également la capacité de stockage en eau et en nutriments et améliore les propriétés physiques du sol (Lawson et al, 2019). L'arbre pourrait enfin avoir un rôle d'ascenseur hydrique en réattribuant l'eau prélevée en profondeur en surface, mais cette hypothèse reste peu démontrée.

### ❖ Stockage de carbone

Les arbres stockent une importante quantité de carbone, à la fois directement dans la biomasse produite, mais aussi dans le sol, par l'incorporation de la matière organique et des exsudats produits (Jose, 2009). Le carbone organique issu des arbres est de plus apporté davantage en profondeur où il est protégé de la dégradation (Lawson et al, 2019). L'idée d'un stockage de carbone accru vient également d'une résistance souvent plus importante de la litière des arbres à la dégradation en comparaison avec les résidus de culture, d'où une persistance dans les sols. Une décomposition et minéralisation du N inférieure pour des litières de différentes espèces d'arbres par rapport à une litière de soja a ainsi été observée par Mungai et Motavalli (2006), en association avec une teneur en polyphénols plus élevée pour la litière issue des arbres. Cependant, des études récentes ont montré que la récalcitrance de la litière ne permet un stockage de carbone que temporaire, et que cette litière serait à terme minéralisée en plus grande proportion que la matière organique labile (Cotrufo et al, 2015, voir 1.2.3.). Plus sûrement, une augmentation de la quantité de matière organique apportée au sol et de la rhizodéposition en présence d'arbres pourrait être responsable de l'augmentation de la teneur en C dans les sols (Lorenz et Lal, 2014; Grayston et al, 1997).

### 2.2.2. Impact direct du LSA

#### ❖ Description du LSA

Seules quelques rares études scientifiques décrivent le LSA (Boinot 2019a; Boinot 2019b; Meziere et al, 2016; Burgess, 1999; Udawatta et al, 2008; Battie-Laclau et al, 2019). Les LSA décrits sont semés ou spontanés, et parfois broyés (**Tableau 4**). Les espèces végétales du LSA sont majoritairement herbacées (**Tableau 4**). De plus, une enquête réalisée auprès de 36 agriculteurs possédant des parcelles en arrangements linéaires en Poitou Charentes a révélé la présence d'un LSA dans la plupart des cas, soit semé (58 % des cas) soit spontané (36 % des cas), les autres cas correspondant à un paillage ou à un travail du sol (Chevallier, 2017). Cette même étude révèle que la gestion du LSA se fait surtout par fauchage ou broyage (74% des cas), ou par l'utilisation d'herbicides (22% des cas), tandis que 17% des agriculteurs n'effectuent aucune gestion.

D'après une étude réalisée auprès de 15 agriculteurs en Angleterre (Graves et al, 2017), l'existence du LSA est perçue comme une source potentielle d'adventices et de nuisibles. D'ailleurs, de premières recommandations conseillaient de recouvrir le sol de la ligne d'arbre d'une bâche plastique pour empêcher l'apparition d'un LSA (Beaton et al, 1999). Une gestion de type apport de mulch en surface, application d'herbicides ou travail du sol, ou un semis d'espèces sélectionnées est ainsi souvent envisagée à la plantation des arbres (Graves et al, 2017). Cette gestion du LSA dans les premiers temps est importante car la végétation sous arborée est connue pour compromettre l'établissement des arbres, probablement par une compétition des racines pour l'acquisition de l'eau et des nutriments (Schroeder et Naeem, 2017). Cependant, peu d'espèces végétales sont véritablement capables de disperser du LSA vers l'allée cultivée, et l'abondance des adventices n'est pas plus importante dans les allées cultivées des systèmes agroforestiers que dans des témoins agricoles (Meziere et al, 2016; Boinot et al, 2019a). De plus, la flore est plus riche et plus abondante dans les LSA que celle habituellement rencontrée dans des parcelles agricoles, démontrant son intérêt pour la préservation de la biodiversité et l'apport au sol d'une ressource organique plus variée (Meziere et al, 2016; Boinot et al, 2019a). Une fois les toutes premières années passées, le LSA pourrait ainsi avoir une grande importance dans la fourniture de services écosystémiques.

**Tableau 4** Propriétés des LSA dans les études scientifiques les ayant décrits. Dans l'étude de Udawatta et al, la largeur importante du LSA n'est pas représentative de la plupart des systèmes en arrangements linéaires.

Type de LSA	Gestion du LSA	Localisation de l'étude	Espèces du LSA	Largeur totale	Espèces d'arbres	Référence
Spontané	Broyage rare	7 parcelles dans un même site en France (Restinclières, Hérault)	Non précisées	2 m	<i>Juglans x Regia</i> x <i>Nigra</i> ou mélange de différentes espèces	(Boinot 2019b)
Semé	Inconnue	2 sites en France (Gers, Ariège)	<i>Digitaria sanguinalis</i> L. Scop. Ou <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	1,5 m	Mélange d'espèces champêtres locales	(Battie-Laclau et al, 2019)
Spontané	Mulch plastique dans les premières années, puis LSA semé dans un site	3 sites en Angleterre	<i>Bromus sterilis</i> , <i>Alopecurus myosuroides</i> , <i>Elymus repens</i> ou ( <i>Senecio vulgaris</i> , <i>Sinapis arvensis</i> , <i>Poa</i> sp), <i>Festuca rubra</i> dans le site semé	Inconnue	Inconnue	(Burgess, 1999)
Spontané	Broyage (2 sites), aucune (4 sites)	6 sites en France (Gers et Pyrénées atlantiques)	<i>Galium aparine</i> , <i>Anisantha</i> sp., <i>Avena</i> sp., <i>Lolium</i> sp. et <i>Convolvulus arvensis</i> (espèces majoritaires)	1 à 2 m	Mélange d'espèces champêtres locales	(Boinot 2019a)
Semé	Aucune	2 sites en France (Gers)	<i>Schedonorus arundinaceus</i> ou <i>Festuca rubra</i>	1 à 2 m	Mélange d'espèces champêtres locales	(Boinot 2019a)
Semé	Inconnue	Etats-Unis (Missouri)	<i>Agrostis gigantea</i> Roth, <i>Bromus</i> sp., <i>Lotus corniculatus</i> L.	4,5 m	<i>Quercus palustris</i> Muenchh.	(Udawatta et al, 2008)

### ❖ LSA et services écosystémiques

Le rôle du LSA dans la fourniture de services écosystémiques a été peu étudié spécifiquement. Lawson et al (2019) mentionnent la présence du LSA, et son importance dans le maintien d'une couverture du sol limitant l'érosion. La présence de végétation herbacée pérenne permet également la stabilisation des agrégats de sol comme démontré pour des bandes enherbées (Udawatta et al, 2008). La végétation herbacée du LSA pourrait également participer à la réduction de la lixiviation des nutriments, un rôle largement reconnu pour les bandes herbacées tampons de bordure de parcelle rendues obligatoires aux abords des cours d'eau ou des stations de pompage.

La présence de végétation additionnelle non exportée entraîne également un apport accru de matière organique en comparaison à l'allée cultivée, qui pourrait être à l'origine de l'augmentation de la teneur en C observée dans les premiers centimètres du sol sous la ligne d'arbres comme suggéré par Cardinael et al (2015). Cardinael et al (2015) ont cependant montré que ce carbone est principalement stocké dans la fraction grossière, donc sensible à la dégradation suite à une perturbation, mais l'absence de travail du sol sous la ligne d'arbres pourrait permettre son accumulation et ainsi l'augmentation des stocks de C du sol (Lawson et al, 2019). Battie-Laclau et al (2019) et Cardinael et al (2015) ont de plus montré que les premiers cm du sol étaient surtout colonisés par des racines issues du LSA sous la ligne d'arbres. La forte densité racinaire issue du LSA pourrait entraîner une rhizodéposition importante, favorisant le stockage de C.

#### 2.2.3. Impact de l'arbre et du LSA sur les organismes du sol

Les paragraphes précédents ne mentionnent que l'impact direct de l'arbre et du LSA, mais la fourniture de nombreux services écosystémiques passe par les organismes du sol (recyclage des nutriments, stockage de C, etc., voir **partie 1.2.**). L'effet respectif de l'arbre et du LSA sur les organismes du sol est peu étudié, et l'effet des systèmes agroforestiers sur les organismes du sol est en général peu connu en milieu tempéré (Marsden et al, 2019). Les effets de la présence d'arbres et d'un LSA décrits précédemment pourraient cependant fortement impacter la présence d'organismes du sol, par la modification de l'habitat et de la ressource disponible (**Tableau 5**).

**Tableau 5** Effets attendus de l'arbre et du LSA sur les organismes du sol.

	Par l'arbre	Par le LSA
Modification de l'habitat	Modification de la structure du sol par les racines Litière temporaire de feuilles d'arbres en surface	Modification de la structure du sol par les racines Couvert permanent du sol dans le LSA (végétation + litière) Structuration verticale du sol par l'absence de perturbation dans le LSA
Modification de la ressource	Ressources additionnelles en profondeur (racines, exsudats) Apport de ressources en surface (feuilles) dans l'ensemble de la parcelle à certaines périodes	Ressources additionnelles en profondeur (racines, exsudats) Apports de ressources en surface dans le LSA en permanence

### ❖ **Modification de l'habitat**

La présence d'un couvert du sol en surface (par la végétation et la litière issue du LSA, mais aussi temporairement par la litière issue des arbres) est probablement favorable à la présence d'organismes du sol (microclimat, protection). L'arbre pourrait avoir un impact supplémentaire par la modulation du microclimat par sa canopée. Cet effet a été peu étudié en milieu tempéré, mais Martius et al (2004) ont révélé un effet positif de l'augmentation de l'ombrage sur l'abondance de la macrofaune du sol dans des parcelles agroforestières tropicales. La création d'un habitat favorable pourrait également être associée à l'amélioration de la structure du sol par la présence de végétation pérenne.

Le LSA pourrait avoir un impact particulièrement important sur la création d'un habitat favorable aux organismes du sol. En effet, la présence d'une zone non perturbée avec une végétation pérenne pourrait être intéressante pour nombre d'organismes sensibles aux pratiques agricoles. Le LSA pourrait par exemple constituer un lieu d'hivernage pour les arthropodes du sol, comme mentionné pour des habitats semi-naturels linéaires en général (Médiène et al, 2011), pour différents types de marges enherbées (Pfiffner et Luka, 2001), et récemment démontré par Boinot et al. (2019b) en systèmes agroforestiers en arrangement linéaire. Dans cette dernière étude, les auteurs ont reporté l'hivernation d'arthropodes dans le sol dans plusieurs parcelles agroforestières matures du sud de la France. Ils ont trouvé que plus de la moitié des catégories taxonomiques des arthropodes étudiés hivernaient préférentiellement dans le LSA, mais que quelques-unes hivernaient dans l'allée cultivée (14 %). Ces dernières étaient surtout des ravageurs potentiels des cultures, alors que les LSA intégraient des organismes potentiellement bénéfiques pour la culture. Ils ont également relevé des différences de stratégies entre les organismes hivernant dans le LSA et l'allée cultivée: le LSA héberge des espèces plus

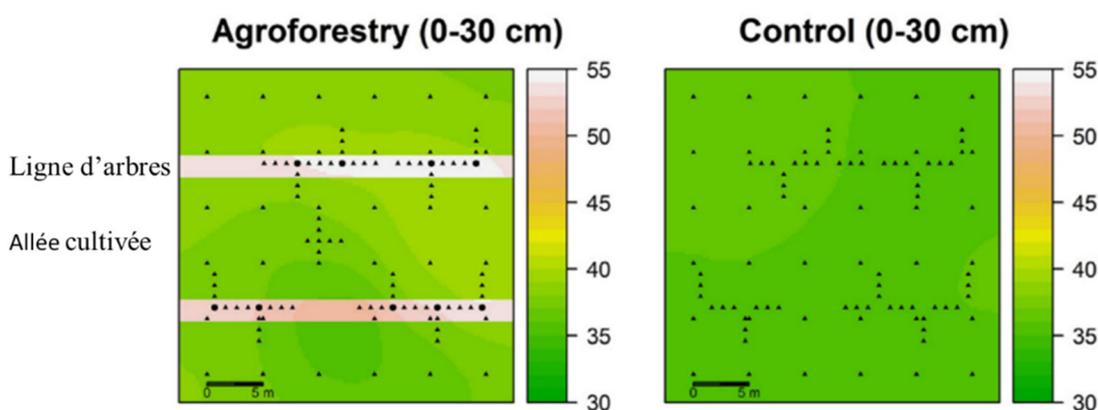
sensibles aux perturbations, de grande taille, granivores et hivernant sous forme adulte, alors que l'allée cultivée héberge des organismes plus petits et hivernant sous forme de larves (Boinot 2019b). Similairement, la stabilité du LSA pourrait y permettre le développement des catégories de vers de terre épigés et anéciques et des microorganismes oligotrophes, négativement impactés par les pratiques agricoles (voir 1.2.3.).

### ❖ **Modification de la ressource**

Un autre facteur d'impact des arbres et du LSA sur les organismes du sol passe par la fourniture d'une ressource trophique additionnelle. La présence de racines pérennes pourrait favoriser le développement de mutualistes, parasites et consommateurs de racines. De plus, elle pourrait augmenter le volume de la rhizosphère, qui est un lieu important d'activité et de croissance microbienne du fait de la fourniture de nombreux substrats pour les microorganismes (Kuzyakov et Blagodatskaya, 2015). Cet effet pourrait être particulièrement associé à la végétation du LSA, si celle-ci colonise davantage l'horizon de surface dans lequel vivent la plus grande partie des organismes du sol. De plus, la présence de l'arbre et du LSA entraîne la production d'une litière additionnelle, non exportée. Or, les communautés d'organismes du sol sont surtout régulées par des relations dites « bottom-up », soit par la ressource disponible (Dyer et Letourneau, 2003), et en particulier par sa quantité et sa qualité (Porazinska et al, 2003). Ceci est d'autant plus important que dans les systèmes agricoles, la quantité de litière retournée au sol est fortement limitée par l'exportation de la culture. L'arbre et le LSA fournissent en particulier des litières de différentes qualités, la litière issue des arbres étant plus riche en C, lignine (D'Acunto et al, 2014) et métabolites secondaires (Chomel et al, 2016), et moins riche en N et composés solubles que la végétation herbacée (Chomel et al, 2016). La végétation du LSA, si elle est diversifiée, peut également entraîner des retours de litière de qualité variable au sol. La présence d'une grande diversité de types de litière pourrait théoriquement entraîner le développement d'une plus grande diversité taxonomique et fonctionnelle d'organismes du sol (Wardle, 2006). Cependant, les effets de la diversification des communautés végétales sur la diversité des organismes du sol ne sont en réalité pas si évidents (Wardle, 2006), bien que le mélange de différentes espèces de plantes semble bien augmenter le taux de décomposition de la litière (Chomel et al, 2016) et la biomasse microbienne (Strecker et al, 2015; Carney et Matson, 2005).

### 2.3. Impacts de la ligne d'arbres sur la création d'une hétérogénéité spatiale des propriétés du sol

Les parcelles en arrangement linéaire induisent la juxtaposition de deux milieux bien différents (allée cultivée versus ligne d'arbres), ce qui pose la question de l'hétérogénéité des propriétés du sol au sein de la parcelle. Une moyenne des paramètres mesurés sur l'ensemble de la parcelle ne rendra pas forcément compte de l'impact de l'agroforesterie sur la partie cultivée. Ainsi, si des parcelles en arrangements linéaires présentent un accroissement de la teneur en C et du stock de C du sol par rapport à des témoins agricoles sans arbres, cela est principalement lié à un accroissement du stock de C dans la ligne d'arbres, mais pas forcément dans l'allée cultivée, comme montré par l'étude de cinq parcelles en arrangements linéaires et de leurs témoins agricoles en France (Cardinael et al, 2017) (**Figure 10**). De même, si l'abondance des vers de terre est significativement augmentée dans les lignes d'arbres par rapport à des témoins agricoles, la différence entre allées cultivées et témoin n'est pas significative dans une étude de 8 parcelles en arrangements linéaires en France (Cardinael et al, 2019). Guillot et al (2018) ont également trouvé une augmentation de la biomasse microbienne dans la ligne d'arbres par rapport à un témoin agricole dans une parcelle en arrangement linéaire de 20 ans du sud de la France, mais cette augmentation était limitée à la proximité immédiate de la ligne d'arbres dans l'allée cultivée. La question se pose donc de l'impact de l'ajout de lignes d'arbres sur les propriétés de l'allée cultivée, et en particulier sur la création d'une hétérogénéité au sein de l'allée cultivée.



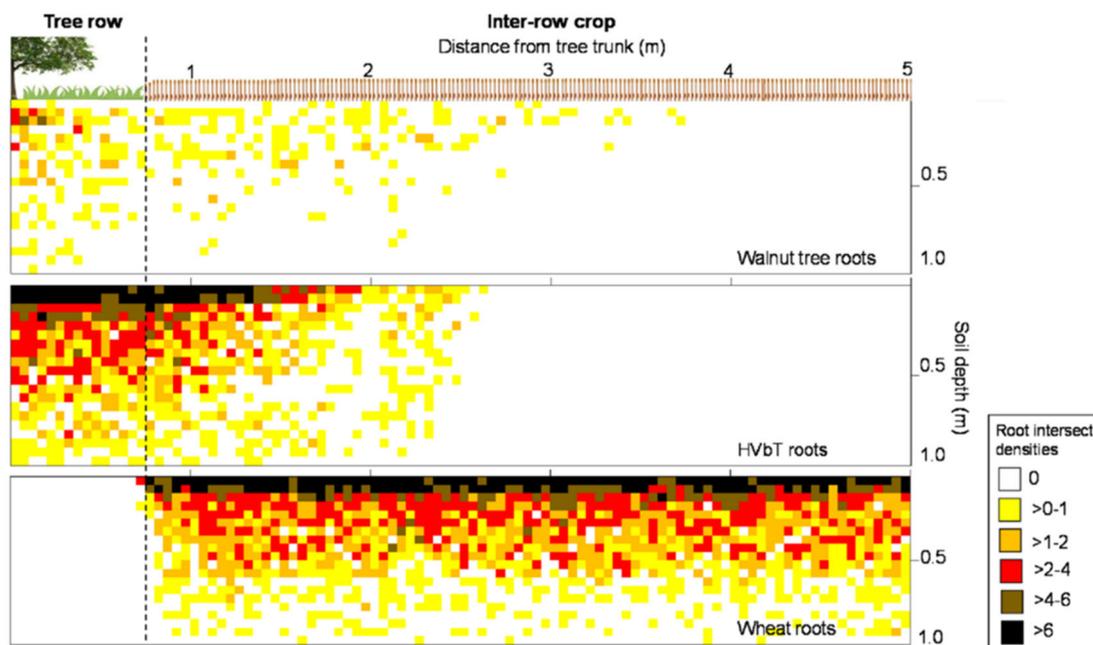
**Figure 10** Variation du stock de C dans les 30 premiers cm du sol au sein d'une parcelle agroforestière méditerranéenne de 20 ans et de son témoin agricole (« Control »). Tiré de Cardinael et al (2015).

### 2.3.1. Interactions entre LSA et allée cultivée

#### ❖ Modification des propriétés de l'allée cultivée par l'arbre et le LSA

La plupart des études sur l'impact des lignes d'arbres sur l'allée cultivée se basent sur l'hypothèse d'un effet de l'arbre. Ainsi, les racines de l'arbre peuvent coloniser l'allée cultivée, et les feuilles des arbres peuvent être apportées à une plus ou moins grande distance de l'arbre selon la taille de la canopée et la possibilité de transport par le vent, créant un gradient de biomasse racinaire et de la quantité de litière apportée en fonction de la distance à l'arbre. Par exemple, Battie-Laclau et al (2019) ont montré que des racines de noyers de 11 ans pouvaient coloniser l'allée cultivée jusqu'à 3,75 m de l'arbre dans les 30 premiers cm du sol (**Figure 11**). Thevathasan et Gordon (2004) ont montré que la litière formée par les feuilles des arbres était apportée principalement jusqu'à 2,5 m de la ligne d'arbres, et quasiment absente à plus de 8 m de la ligne d'arbres dans des sites âgés de 6 à 7 ans plantés de peupliers. L'effet de l'arbre sur le microclimat est également hétérogène sur la parcelle. Ainsi, Dufour et al (2013) ont trouvé une variation de la luminosité parvenant au sol avec la distance et l'orientation par rapport à l'arbre dans un site mature méditerranéen. Il pourrait ainsi exister un gradient d'influence de l'arbre depuis l'arbre jusqu'au centre de l'allée cultivée, entraînant une variabilité dans l'abondance, la biomasse et l'activité des organismes du sol et de la fertilité associée au sein de la parcelle. Ce gradient pourrait s'atténuer pour des sites âgés, car des arbres matures pourraient avoir un impact plus uniforme sur l'ensemble de la parcelle (Bambrick et al, 2010).

Bien que l'impact du LSA sur la création d'un microclimat ou l'apport de matière organique dans l'allée cultivée soit moins évident à première vue, Battie-Laclau et al (2019) ont trouvé que les racines issues de la végétation herbacée de la ligne d'arbre pouvaient coloniser l'allée cultivée jusqu'à 2,6 m de l'arbre, et ce à une bien plus grande densité que celles issues de l'arbre dans un site de 11 ans (**Figure 11**).



**Figure 11** Moyenne du nombre d'intersection des racines fines le long d'un profil vertical de sol pour un site agroforestier de 11 ans du sud-ouest de la France en juillet. Tiré de Battie-Laclau et al (2019).

#### ❖ Mouvements de faune entre LSA et allée cultivée

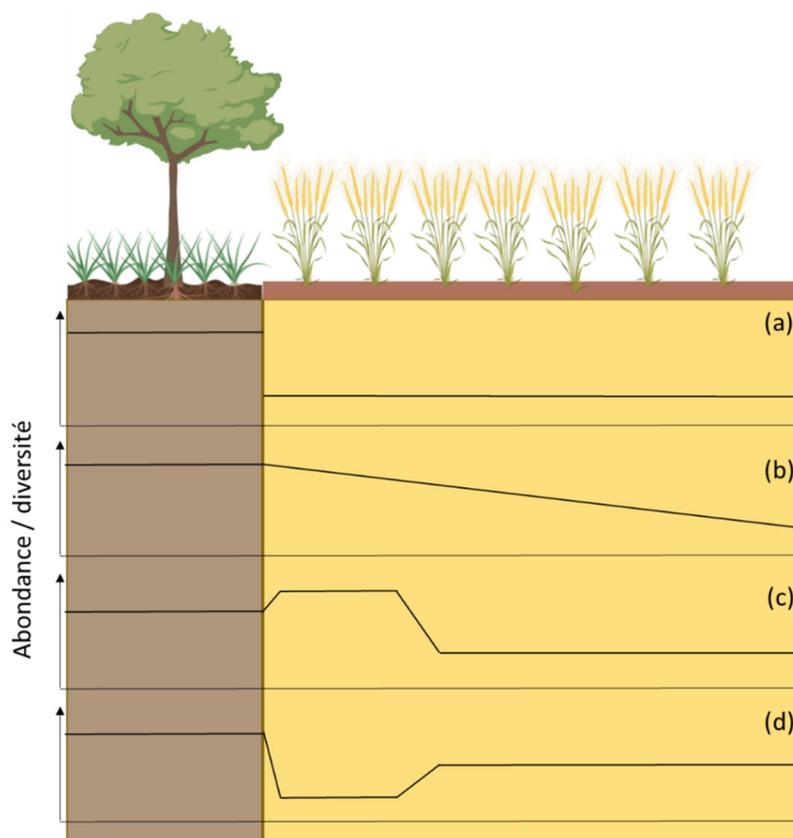
Le LSA pourrait également avoir un impact indirect en servant de réservoir à des organismes pouvant se disperser vers l'allée cultivée. De manière plus générale, les parcelles en arrangements linéaires peuvent être vues comme abritant une méta-communauté, formée de plus petites communautés associées à chacun des habitats (ligne d'arbre versus allée cultivée), et liées par des mécanismes de dispersion (Leibold et al, 2004). Le mouvement d'un organisme est dépendant de divers facteurs déterminant l'émigration, la distance parcourue, et l'arrivée dans un nouveau milieu (Schellhorn et al, 2014). L'émigration peut être liée à une densité très importante d'organismes dans un premier milieu. Par exemple, Mathieu et al (2010) ont montré que des vers de terre pouvaient se disperser suite à une trop grande densité d'individus de la même espèce. La dispersion d'un milieu fortement peuplé vers un milieu très peu peuplé pour une espèce donnée est aussi appelé « effet de masse » (Leibold et al, 2004). Les organismes peuvent également se déplacer car ils ont besoin de différentes ressources (effet de complémentarité de la ressource) ou de différents habitats selon la phase de leur cycle ou la période de l'année, qui sont fournies par deux milieux différents (Médiène et al, 2011). Ces changements de lieu de vie peuvent avoir lieu au cours de la transformation de la larve à l'adulte, de l'année entre hibernation et activité estivale, ou même de la journée pour les organismes se déplaçant rapidement (carabes par exemple). L'émigration peut avoir lieu suite

à la présence de conditions défavorables dans un milieu (diminution de la ressource, variation de température ou d'humidité) (Schellhorn et al, 2014; Médiène et al, 2011). Mathieu et al (2004) ont par exemple montré que les déplacements des vers de terre pouvaient être amplifiés par un milieu de faible qualité et en l'absence de ressource trophique. Le mouvement de la faune peut être particulièrement important en milieu agricole, où le travail du sol et l'usage de fertilisants peuvent provoquer des conditions particulièrement défavorables aux organismes présents (Schellhorn et al, 2014). Lorsque le départ d'un organisme d'un milieu entraîne une diminution de son abondance dans ce milieu, on parle d'effet source-puits (Leibold et al, 2004; Médiène et al, 2011), ce qui pourrait être le cas si les organismes du sol abandonnent en masse l'allée cultivée après des pratiques défavorables. Des conditions favorables peuvent au contraire entraîner la dispersion vers l'allée cultivée, par exemple au moment du développement de la culture ou en présence de résidus de culture frais ou du développement d'adventices entre deux cultures. Toutefois, la distinction entre un mouvement véritable et une reproduction locale ou simple mortalité est parfois difficile à déterminer (Schellhorn et al, 2014).

Si des mouvements de faune entre les habitats semi naturels –auxquels peuvent être assimilés les lignes d'arbres– et les cultures ont été attestés pour des organismes se déplaçant à la surface du sol ou par la voie aérienne (Blitzer et al, 2012), ils sont très peu étudiés pour la faune endogée et les saprophages en général. L'existence de mouvements de la faune endogée est en particulier moins évidente car leur capacité de dispersion est très limitée par rapport à celle de la faune pouvant se déplacer en surface (carabes, mais aussi dans une moindre mesure diplopedes, chilopodes voire vers de terre épigés), et encore davantage par rapport à celle de la faune présentant des stades aériens (staphylins, diptères). Cependant, quelques auteurs ont trouvé que des vers de terre pouvaient coloniser de nouvelles zones à une vitesse de 4 à 14 m par an selon l'espèce, et se déplacer de 0,5 à 0,9 m en une semaine en mésocosme (Mathieu et al, 2010). Cette capacité de dispersion pourrait dépendre de l'espèce et de la catégorie écologique (Caro et al, 2013). La dispersion des microorganismes est beaucoup plus lente et pourrait difficilement s'effectuer en réponse aux variations saisonnières ou liées aux pratiques culturales. Cependant, la macrofaune interagissant fortement avec les microorganismes (cf **partie 1**), des déplacements de la faune du sol pourraient entraîner une modification spatiale des propriétés des microorganismes.

❖ **Conséquences sur le voisinage du LSA**

La zone immédiatement voisine du LSA est susceptible d'être la plus influencée à la fois directement (modifications du milieu par l'arbre ou le LSA plus importantes à proximité immédiate) et indirectement (mouvements limités des organismes ayant une faible capacité de dispersion). L'allée cultivée pourrait ainsi présenter une variation graduelle de l'abondance des organismes du sol et de sa fertilité avec la distance au LSA (frontière non interactive, **Figure 12**, Strayer et al, 2003). La proximité au LSA pourrait également présenter des particularités spécifiques (Strayer et al, 2003) : abondance d'organismes accrue par la présence d'organismes représentatifs des deux milieux, ou au contraire abondance particulièrement diminuée par un effet attractif du LSA sur les organismes présents à proximité. De plus, les arbres et le LSA pourraient également appauvrir cette zone en y prélevant les nutriments nécessaires à leur croissance.



**Figure 12** Réponse théorique de l'abondance et de la diversité des organismes du sol à la distance à la ligne d'arbres. Exemple d'une communauté plus abondante et diverse dans le LSA que dans l'allée cultivée. (a) Pas d'interactions entre LSA et allée cultivée, la majorité des espèces sont incapables de s'établir dans l'allée cultivée. (b) frontière non interactive, pour laquelle la variation graduelle de l'abondance pourrait dépendre d'un effet de masse ou d'une réponse à une modification graduelle de certaines propriétés du milieu avec la distance à la ligne d'arbres. (c) Frontière interactive ayant un effet positif sur le voisinage du LSA, par exemple par la présence d'individus en provenance à la fois du LSA et de l'allée cultivée. (d) Frontière interactive ayant un effet négatif sur le voisinage du LSA, par exemple par un effet puits du LSA sur les organismes présents dans sa proximité, ou par un appauvrissement du voisinage du LSA par le prélèvement des nutriments par les racines des arbres et du LSA. Adapté de Strayer et al (2003).

### **2.3.2. Interactions entre l'arbre et le LSA**

Une hétérogénéité spatiale pourrait également exister au sein du LSA, avec la proximité à l'arbre. Il pourrait en effet exister une compétition pour la lumière et les nutriments près de l'arbre, mais aussi une facilitation de la croissance des herbacées par un effet favorable du microclimat sous la canopée de l'arbre. L'importance de la compétition versus de la facilitation entre arbres et végétation sous arborée pourrait dépendre des conditions climatiques et des espèces présentes (Gea-Izquierdo et al, 2009; López-Carrasco et al, 2015), et les racines de l'arbre et du LSA pourraient explorer des horizons différents dans des sites matures, limitant l'impact sur la végétation sous arborée (Dawson et al, 2001; Moreno et al, 2005). L'apport de litière issue de l'arbre dans sa proximité est également susceptible d'impacter les organismes et la fertilité du sol dans le LSA. Une interaction entre arbre et LSA pourrait également moduler les propriétés du sol au sein de l'allée cultivée, les effets de ces deux compartiments pouvant se cumuler.

### **2.3.3. Synthèse des connaissances sur l'effet de la ligne d'arbres**

#### **❖ Fertilité du sol**

Plusieurs études ont étudié la variation de la teneur et du stock de C en fonction de la distance à la ligne d'arbre en systèmes agroforestier en arrangements linéaires. Cardinael et al (2017) ont trouvé une teneur et un stock en C organique du sol plus élevés dans la ligne d'arbre que dans l'allée cultivée pour 5 sites d'âges variables (de 6 à 41 ans) dans les 10 premiers cm du sol en France, mais pas de résultat clair pour les horizons plus profonds. De plus, leur étude a révélé une absence d'effet de la distance à la ligne d'arbres au sein de l'allée cultivée. Beuschel et al (2019) ont trouvé des résultats similaires pour 3 jeunes sites âgés de 5 à 8 ans en Allemagne dans les 5 premiers cm du sol, mais pas dans l'horizon 5-20 cm. Similairement, Pardon et al (2017) ne trouvent pas de variation de la teneur en C et en nutriments du sol avec la distance à la ligne d'arbres dans 6 jeunes parcelles de moins de 5 ans dans les 23 premiers cm du sol en Belgique. Cependant, les auteurs ont trouvé un gradient dans la teneur en carbone organique, mais aussi en N, P, K, Ca, Mg et Na du sol depuis des lignes d'arbres âgées de 15 à 47 ans présentant un linéaire sous arboré en bordure de parcelle jusqu'à 30 m dans la parcelle, ce qui suggère qu'un gradient peut apparaître avec le temps (Pardon et al, 2017). Une autre étude au Québec sur 4 sites âgés de 4 à 21 ans a montré une grande variabilité dans la réponse,

dépendante de l'âge et de l'espèce des arbres plantés dans le linéaire (Bambrick et al, 2010). Ainsi il n'y a pas d'effet de la distance à la ligne d'arbre sur la teneur en C organique et N total du sol dans un site de 4 ans, mais ces teneurs sont augmentées à proximité immédiate de l'arbre dans un site de 8 ans. Dans le site le plus âgé (21 ans), la teneur en C est augmentée de manière homogène dans l'ensemble de l'allée lorsque celle-ci est plantée de peupliers, mais uniquement à proximité immédiate des arbres quand elle est plantée d'épicéas. A notre connaissance, peu d'études se sont intéressées précisément à la variation de la teneur en nutriments disponibles en fonction de la distance à l'arbre, mais Guillot et al (2018) ont trouvé une augmentation de la teneur en N minéral et P disponible dans les 15 premiers cm du sol dans la ligne d'arbre par rapport à l'allée cultivée, et une tendance à des valeurs augmentées à proximité immédiate (1 à 2 m de la ligne) pour le N minéral, en association avec une augmentation de la teneur en C organique du sol dans la ligne d'arbre mais pas dans l'allée cultivée par rapport à un témoin agricole.

### ❖ **Biomasse microbienne**

Beaucoup moins d'études se sont intéressées aux microorganismes. Beuschel et al (2019) ont observé que la part du C microbien dans le C organique du sol est plus élevée dans la ligne d'arbres que dans l'allée cultivée pour les 5 premiers cm du sol, bien que la teneur en C microbien elle-même ne varie pas significativement entre les deux milieux, au sein de 3 parcelles âgées de 5 à 8 ans. Cependant, similairement à leurs observations pour le C organique du sol, aucune variation n'a été observée au sein de l'allée cultivée avec la distance à la ligne d'arbres. Guillot et al (2018) ont observé une augmentation de la biomasse microbienne C et N dans la ligne d'arbres et sa proximité immédiate (1 à 2 m de la ligne) par rapport au centre de l'allée cultivée pour les 15 premiers cm du sol dans un site méditerranéen de 20 ans. Cependant, Udawatta et al (2008) n'ont pas trouvé de différence significative de la quantité d'ADN microbien entre des lignes d'arbres et des allées cultivées dans des sites de 9 ans au Missouri pour les 10 premiers cm du sol.

### ❖ **Activité microbienne et composition de la communauté**

Beuschel et al (2019) ont trouvé dans leurs trois jeunes sites une activité enzymatique plus importante, une plus grande diversité de profils cataboliques (mesurés par la respiration en

présence de différents substrats) et une plus grande proportion de champignons par rapport aux bactéries dans la ligne d'arbres que dans l'allée cultivée pour les 5 premiers cm du sol. Par opposition, ils ont trouvé un quotient métabolique (respiration basale des microorganismes / biomasse microbienne) moins élevé dans la ligne d'arbres que dans l'allée cultivée. De nouveau, ils n'ont pas observé de variations au sein de l'allée cultivée avec la distance à la ligne d'arbres. Leur étude suggère ainsi le développement de communautés plus oligotrophes et diverses dans la ligne d'arbres. Similairement, Mungai et al (2005) ont relevé une activité enzymatique de la  $\beta$ -Glucosidase et une diversité catabolique plus importante dans la ligne d'arbres qu'au centre de l'allée cultivée dans un site de 21 ans au Missouri dans les 10 premiers cm du sol. Ils relèvent cependant une variabilité importante avec la saison et la profondeur du sol de ces paramètres pour un autre site de 12 ans. De plus, ils n'ont pas étudié la variation avec la distance à la ligne d'arbre au sein de l'allée cultivée. Nii-Annang et al (2009) n'ont trouvé aucune variation de la respiration ou du quotient métabolique (calculé comme la respiration basale sur une estimation de la biomasse microbienne) entre des échantillons récoltés dans la ligne d'arbres, à 3 m de la ligne et au milieu de l'allée cultivée pour différents horizons contenus dans les 30 premiers cm du sol dans un site de 9 ans en Allemagne, et cela malgré une augmentation de la teneur en C dans les 3 premiers cm du sol de la ligne d'arbres en comparaison à l'allée cultivée. Guillot et al (2019) ont également démontré que les microorganismes de la ligne d'arbres présentent une moins grande résistance mais une plus grande résilience face à un stress hydrique et thermique combiné par rapport au centre de l'allée cultivée dans les 15 premiers cm du sol d'un système méditerranéen de 20 ans.

### ❖ Macrofaune

La variation spatiale de l'abondance et de la diversité de la faune du sol a également été peu étudiée en système en arrangements linéaires, ou alors quasiment exclusivement pour des arthropodes se déplaçant à la surface du sol. Pardon et al (2019) ont par exemple trouvé une activité-densité plus importante pour les cloportes et diplopodes mais moins importante pour les staphylins et carabes dans les lignes d'arbres par rapport aux allées cultivées dans 6 jeunes parcelles en Belgique âgées de 3 à 5 ans. Ils n'ont pas observé d'impact de la proximité à la ligne d'arbre sur l'activité-densité des organismes du sol au sein de l'allée cultivée, mais ont remarqué une variabilité de la réponse avec la culture en place. Par contre, ils ont observé une augmentation de l'activité-densité des décomposeurs dans et à proximité de lignes d'arbres plus âgées en bordure de parcelles (14 à 38 ans) par rapport à la parcelle cultivée, et une

augmentation de la diversité des carabes près de la ligne d'arbre à la fois par rapport à la ligne d'arbres et à l'allée cultivée. Des mesures d'abondances réelles de la faune endogée concernent surtout les vers de terre. Cardinael et al (2019) ont trouvé des abondances de vers de terre plus élevées dans la ligne d'arbres que dans l'allée cultivée pour toutes les catégories écologiques de vers de terre, sans effet de la distance à la ligne d'arbres au sein de l'allée cultivée. Price et Gordon (1999) ont au contraire observé une abondance décroissante des vers de terre avec la distance à une ligne d'arbres composée de peupliers (ligne d'arbre > 2 m de la ligne > 6 m de la ligne), mais n'ont pas trouvé de résultats clairs pour d'autres espèces d'arbres.

### ❖ Fonctions de décomposition

Guillot et al (2018) ont étudié la décomposition de litières issues de l'arbre et de la culture incorporées au sol à différentes distances de la ligne d'arbres au sein d'un site méditerranéen de 20 ans. Ils n'ont trouvé aucune différence dans la vitesse de décomposition de ces litières en fonction de la distance à la ligne d'arbres.

### 2.3.4. Synthèse des connaissances sur les effets de l'arbre versus du LSA

La plupart des études ne permettent pas de séparer clairement l'effet du LSA de celui de l'arbre, ni d'étudier l'hétérogénéité spatiale induite par chacun de ces éléments. En particulier, la plupart des expériences citées précédemment se sont focalisées sur l'effet de l'arbre, en échantillonnant en face des arbres ou dans des sites avec une densité élevée d'arbres. Quelques études ont cependant permis d'émettre des hypothèses sur l'effet de l'arbre versus du LSA.

Premièrement, de rares études ont comparé des bandes enherbées avec et sans arbres. Udawatta et al (2008) ont ainsi montré que si des bandes enherbées avec ou sans arbres âgés de 9 ans présentent toutes deux une plus grande teneur en C et des activités microbiennes amplifiées par rapport à l'allée cultivée dans les 10 premiers cm du sol, l'activité de certaines enzymes peut différer entre des bandes avec et sans arbres. De plus, Unger et al (2013) ont trouvé sur le même site que si les bandes enherbées et arborées présentent toutes deux une plus grande proportion de champignons mycorhiziens par rapport à l'allée cultivée, les bandes arborées présentent également une plus grande proportion de bactéries alors que la composition des communautés microbiennes des bandes enherbées est plus proche de celle de la culture. D'Acunto et al ont trouvé dans deux études (D'Acunto et al, 2014; D'Acunto et al, 2016) une teneur en carbone

organique plus élevée, ainsi que des communautés différentes et plus diverses de microorganismes dans des marges ligneuses que dans des marges enherbées pour les 15 et 10 premiers cm du sol respectivement. Cela suggère un rôle plus important de l'arbre que de la végétation herbacée dans le stockage de C et la diversification des communautés microbiennes. De plus, seules les marges ligneuses influencent ces mêmes propriétés dans les parcelles agricoles adjacentes, résultat également trouvé pour la teneur en C organique des 23 premiers cm du sol pour des bords de parcelle avec et sans arbres par Pardon et al (2017). Les études de d'Acunato et al (2014; 2016) ont cependant montré que la teneur en C et la diversité microbienne étaient tout de même plus élevées dans les marges herbacées en comparaison à l'allée cultivée, démontrant un rôle limité mais présent de la végétation herbacée présente dans ces marges. Il est également important de noter que les marges ligneuses de ces études comportent une part d'espèces ligneuses beaucoup plus importante que celle habituellement observée dans les LSA.

D'autres études ont observé de manière plus précise l'hétérogénéité au sein de parcelles agroforestières. Cardinael et al (2017; 2019) ont ainsi réalisé des prélèvements à différentes distances du LSA le long de transects perpendiculaires au LSA proches ou à mi-distance des arbres. Ils n'ont pas trouvé de différences entre transects pour la teneur en C du sol (Cardinael et al, 2017) ou l'abondance et la biomasse des vers de terre (Cardinael et al, 2019), que ce soit au sein du LSA ou de l'allée cultivée. Ceci suggère une homogénéité des propriétés du sol sous le LSA, et souligne son rôle dans la modulation des propriétés de la ligne d'arbres.

Enfin, dans une étude sur un site âgé de 7 ans dont le LSA a été supprimé par l'application d'un film plastique sur le sol, la biomasse microbienne et le N minéral sont plus faibles dans la ligne d'arbres qu'à 2 et 5 m de la ligne d'arbres dans l'allée cultivée (Rivest et al, 2010). Ces résultats sont contradictoires avec ceux énoncés dans la **partie 2.3.3.** pour la biomasse microbienne, et pourraient indiquer une importance de la végétation du LSA dans l'amélioration des propriétés du sol sous la ligne d'arbres.

**Bilan sur les organismes et la fertilité du sol des systèmes agroforestiers en arrangements linéaires :**

Cette dernière partie montre que les systèmes agroforestiers en arrangements linéaires intra parcellaires pourraient théoriquement abriter des organismes du sol intéressants pour la fourniture de services écosystémiques variés, dont le recyclage des nutriments. Cependant, la répartition de ces organismes au sein de la parcelle pose question. En particulier, leur effet sur l'allée cultivée reste largement discutable. De plus, l'arbre et le LSA pourraient avoir des effets différents sur ces organismes et leur répartition. Ainsi, le LSA pourrait servir d'habitat pour la macrofaune du sol qui pourrait ensuite coloniser l'allée cultivée, et apporter une grande quantité de matière organique susceptible d'être dégradée par les microorganismes décomposeurs sous la ligne d'arbres et à proximité immédiate. L'arbre est lui-même susceptible d'influencer la parcelle de manière plus concentrique, et sur une plus grande distance par un effet du microclimat, la colonisation par les racines et les apports de litière autour de lui.

Les premières études sur ce sujet montrent qu'il existe bien des différences entre ligne d'arbres et allée cultivée en ce qui concerne la teneur en C et l'abondance des vers de terre, ces résultats sont moins évidents en ce qui concerne la teneur en nutriments, le reste de la macrofaune du sol, et la biomasse et l'activité microbienne. De plus, un effet de la ligne d'arbres sur la création d'une hétérogénéité spatiale au sein de l'allée cultivée n'est pas toujours observé. Cela est en particulier lié au manque d'études, à la variabilité des systèmes agroforestiers en arrangements linéaires, et probablement au fait que les organismes étudiés peuvent présenter des réponses différentes selon les conditions climatiques et la période de l'année (voir **partie 1.1.**). De plus, quasiment aucune étude ne permet de distinguer spécifiquement l'effet de l'arbre de celui du LSA, et une grande partie des effets attribués à l'arbre pourrait en réalité être dus au LSA.

## Références

- Adhikari K., Hartemink A.E., 2016. Linking soils to ecosystem services - A global review. *Geoderma*, 262, 101-111. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.009>.
- Autret B., Guillier H., Pouteau V., Mary B., Chenu C., 2020. Similar specific mineralization rates of organic carbon and nitrogen in incubated soils under contrasted arable cropping systems. *Soil Tillage Res.*, 204, 104712. Consultable : <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104712>.
- Balesdent J., Chenu C., Balabane M., 2000. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil Tillage Res.*, 53, 215-230.
- Bambrick A.D. et al, 2010. Spatial heterogeneity of soil organic carbon in tree-based intercropping systems in Quebec and Ontario, Canada. *Agrofor. Syst.*, 79, 343-353.
- Barrios E., 2007. Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecol. Econ.*, 64, 269-285.
- Battie-Laclau P. et al, 2019. Role of trees and herbaceous vegetation beneath trees in maintaining arbuscular mycorrhizal communities in temperate alley cropping systems. *Plant Soil*.
- Beaton A., Incoll L., Burgess P., 1999. *Silvoarable agroforestry.* , 53.
- Bernard L. et al, 2012. Endogeic earthworms shape bacterial functional communities and affect organic matter mineralization in a tropical soil. *ISME J.*, 6, 213-222.
- Bernier N., 1998. Earthworm feeding activity and development of the humus profile. *Biol. Fertil. Soils*, 26, 215-223.
- Beuschel R., Piepho H.-P., Joergensen R.G., Wachendorf C., 2019. Similar spatial patterns of soil quality indicators in three poplar-based silvo-arable alley cropping systems in Germany. *Biol. Fertil. Soils*, 55, 1-14. Consultable : <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1324-3>.
- Blitzer E.J. et al, 2012. Spillover of functionally important organisms between managed and natural habitats. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 146, 34-43.
- Blouin M. et al, 2013. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services.

- Eur. J. Soil Sci., 64, 161-182.
- Boinot S., 2019. Influence of within-field understory vegetation strips on plant and invertebrate communities in alley cropping agroforestry systems. Montpellier SupAgro. 169 p.
- Boinot S., Fried G., et al, 2019a. Alley cropping agroforestry systems: Reservoirs for weeds or refugia for plant diversity? *Agric. Ecosyst. Environ.*, 284.
- Boinot S., Poulmarc'h J., Mézière D., Lauri P.É., Sarthou J.P., 2019b. Distribution of overwintering invertebrates in temperate agroforestry systems: Implications for biodiversity conservation and biological control of crop pests. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 285, 1-11.
- Bossuyt H., Six J., Hendrix P.F., 2005. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts. *Soil Biol. Biochem.*, 37, 251-258.
- Bottinelli N., Hedde M., Jouquet P., Capowiez Y., 2020. An explicit definition of earthworm ecological categories – Marcel Bouché's triangle revisited. *Geoderma*, 372, 114361. Consultable : <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114361>.
- Bouché M.B., 1977. Stratégies lombriciennes. *Ecol. Bull.*, 25, 122-132.
- Brackin R. et al, 2017. Soil biological health-what is it and how can we improve it? *Int. Sugar J.*, 119.
- Brussaard L., 1998. Soil fauna, guilds, functional groups and ecosystem processes. *Appl. Soil Ecol.*, 9, 123-135.
- Brussaard L., Pulleman M.M., Ouédraogo É., Mando A., Six J., 2007. Soil fauna and soil function in the fabric of the food web. *Pedobiologia (Jena)*, 50, 447-462.
- Burgess P., 1999. Effects of agroforestry on farm biodiversity in the UK. , 53, 24-27.
- van Capelle C., Schrader S., Brunotte J., 2012. Tillage-induced changes in the functional diversity of soil biota - A review with a focus on German data. *Eur. J. Soil Biol.*, 50, 165-181. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.02.005>.
- Cardinael R. et al, 2015. Impact of alley cropping agroforestry on stocks, forms and spatial distribution of soil organic carbon — A case study in a Mediterranean context. *Geoderma*, 259-260, 288-299. Consultable :

<http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.06.015>.

Cardinael R. et al, 2017. Increased soil organic carbon stocks under agroforestry: A survey of six different sites in France. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 236, 243-255.

Cardinael R. et al, 2019. Spatial variation of earthworm communities and soil organic carbon in temperate agroforestry. *Biol. Fertil. Soils*, 55, 171-183. Consultable : <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1332-3>.

Carney K.M., Matson P.A., 2005. Plant communities, soil microorganisms, and soil carbon cycling: Does altering the world belowground matter to ecosystem functioning? *Ecosystems*, 8, 928-940.

Caro G., Decaëns T., Lecarpentier C., Mathieu J., 2013. Are dispersal behaviours of earthworms related to their functional group? *Soil Biol. Biochem.*, 58, 181-187. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.019>.

Chan K.Y., 2001. An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils. *Soil Tillage Res.*, 57, 179-191.

Chevallier C., 2017. Gestion du linéaire sous arboré en systèmes agroforestiers.

Chevallier T., Blanchart E., Albrecht A., Feller C., 2004. The physical protection of soil organic carbon in aggregates: A mechanism of carbon storage in a Vertisol under pasture and market gardening (Martinique, West Indies). *Agric. Ecosyst. Environ.*, 103, 375-387.

Chomel M., Guittonny-Larchevêque M., DesRochers A., Baldy V., 2016. Effect of mixing herbaceous litter with tree litters on decomposition and N release in boreal plantations. *Plant Soil*, 398, 229-241. Consultable : <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2648-5>.

Cleveland C.C., Liptzin D., 2007. C:N:P stoichiometry in soil: Is there a « Redfield ratio » for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, 85, 235-252.

Cotrufo M.F. et al, 2015. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nat. Geosci.*, 8, 776-779.

Coudrain V. et al, 2016. Temporal differentiation of soil communities in response to arable crop management strategies. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 225, 12-21.

Cycoń M., Piotrowska-Seget Z., 2009. Changes in bacterial diversity and community structure following pesticides addition to soil estimated by cultivation technique.

- Ecotoxicology, 18, 632-642.
- D'Acunto L., Semmartin M., Ghera C.M., 2014. Uncropped field margins to mitigate soil carbon losses in agricultural landscapes. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 183, 60-68.
- D'Acunto L., Semmartin M., Ghera C.M., 2016. Uncultivated margins are source of soil microbial diversity in an agricultural landscape. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 220, 1-7.  
Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2015.12.032>.
- Damianidis C. et al, 2020. Agroforestry as a sustainable land use option to reduce wildfires risk in European Mediterranean areas. *Agrofor. Syst.*, 0123456789.
- David J.F., 2014. The role of litter-feeding macroarthropods in decomposition processes: A reappraisal of common views. *Soil Biol. Biochem.*, 76, 109-118.
- Dawson L.A., Duff E.I., Campbell C.D., Hirst D.J., 2001. Depth distribution of cherry (*Prunus avium* L.) tree roots as influenced by grass root competition. *Plant Soil*, 231, 11-19. Consultable : <https://doi.org/10.1023/A:1010383506446>.
- Decaëns T., 2010. Macroecological patterns in soil communities. *Glob. Ecol. Biogeogr.*, 19, 287-302.
- Doblas-Miranda E., Sánchez-Piñero F., González-Megías A., 2009. Vertical distribution of soil macrofauna in an arid ecosystem: Are litter and belowground compartmentalized habitats? *Pedobiologia (Jena)*, 52, 361-373.
- Dufour L., Metay A., Talbot G., Dupraz C., 2013. Assessing light competition for cereal production in temperate agroforestry systems using experimentation and crop modelling. *J. Agron. Crop Sci.*, 199, 217-227.
- Dyer L.A., Letourneau D., 2003. Top-down and bottom-up diversity cascades in detrital vs. living food webs. *Ecol. Lett.*, 6, 60-68.
- Eichhorn M.P. et al, 2006. Silvoarable systems in Europe - past, present and future prospects. *Agrofor. Syst.*, 67, 29-50.
- Eisenhauer N. et al, 2009. No interactive effects of pesticides and plant diversity on soil microbial biomass and respiration. *Appl. Soil Ecol.*, 42, 31-36.
- Fierer N., Bradford M.A., Jackson R.B., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88, 1354-1364.

- Filser J. et al, 2016. Soil fauna: Key to new carbon models. *Soil*, 2, 565-582.
- Francioli D. et al, 2016. Mineral vs. organic amendments: Microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies. *Front. Microbiol.*, 7, 1-16.
- Frey S.D., 2007. Spatial distribution of soil organisms. In : Elsevier Inc. (Eds), *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Third Edition)*, 257-281. Consultable : <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-047514-1.50015-9>.
- Frey S.D., Six J., Elliott E.T., 2003. Reciprocal transfer of carbon and nitrogen by decomposer fungi at the soil-litter interface. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 1001-1004.
- Frouz J., 2018. Effects of soil macro- and mesofauna on litter decomposition and soil organic matter stabilization. *Geoderma*, 332, 161-172.
- Frouz J., Roubíčková A., Heděnc P., Tajovský K., 2015. Do soil fauna really hasten litter decomposition? A meta-analysis of enclosure studies. *Eur. J. Soil Biol.*, 68, 18-24.
- Gaba S. et al, 2015. Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services: from concepts to design. *Agron. Sustain. Dev.*, 35, 607-623.
- Gea-Izquierdo G., Montero G., Cañellas I., 2009. Changes in limiting resources determine spatio-temporal variability in tree-grass interactions. *Agrofor. Syst.*, 76, 375-387.
- Geisseler D., Scow K.M., 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms - A review. *Soil Biol. Biochem.*, 75, 54-63. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.023>.
- Graves A.R., Burgess P.J., Liagre F., Dupraz C., 2017. Farmer perception of benefits, constraints and opportunities for silvoarable systems: Preliminary insights from Bedfordshire, England. *Outlook Agric.*, 46, 74-83.
- Grayston S.J., Vaughan D., Jones D., 1997. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: The importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Appl. Soil Ecol.*, 5, 29-56.
- Guillot E., 2018. Gradient spatial de fonctionnement et de stabilité écologique d'un sol en système agroforestier Méditerranéen. 209 p.
- Guillot E., Hinsinger P., Dufour L., Roy J., Bertrand I., 2019. With or without trees:

- Resistance and resilience of soil microbial communities to drought and heat stress in a Mediterranean agroforestry system. *Soil Biol. Biochem.*, 129, 122-135.
- den Herder M. et al, 2017. Current extent and stratification of agroforestry in the European Union. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 241, 121-132. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.03.005>.
- Hunt H.W. et al, 1987. The detrital food web in a shortgrass prairie. *Biol. Fertil. Soils*, 3, 57-68.
- Janzen H.H., 2006. The soil carbon dilemma: Shall we hoard it or use it? *Soil Biol. Biochem.*, 38, 419-424.
- Jose S., 2009. Agroforestry for ecosystem services and environmental benefits: an overview. *Agrofor. Syst.*, 76, 1-10.
- Kirschbaum M.U.F., 1995. The temperature dependence of soil organic matter decomposition, and the effect of global warming on soil organic C storage. *Soil Biol. Biochem.*, 27, 753-760.
- Kuzyakov Y., Blagodatskaya E., 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biol. Biochem.*, 83, 184-199.
- Lavelle P., 1997. Faunal activities and soil processes: Adaptive strategies that determine ecosystem function. *Adv. Ecol. Res.*, 27, 93-132.
- Lavelle P. et al, 2010. Large-scale effects of earthworms on soil organic matter and nutrient dynamics To cite this version : Large-Scale Effects of Earthworms on Soil Organic Matter and Nutrient Dynamics.
- Lavelle P. et al, 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. *Eur. J. Soil Biol.*, 42.
- Lawson G., Dupraz C., Watté J., 2019. Can silvoarable systems maintain yield, resilience, and diversity in the face of changing environments? *Agroecosystem Divers.*, 145-168.
- Leibold M.A. et al, 2004. The metacommunity concept: A framework for multi-scale community ecology. *Ecol. Lett.*, 7, 601-613.
- Liang C., Schimel J.P., Jastrow J.D., 2017. The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. *Nat. Microbiol.*, 2.
- López-Carrasco C., López-Sánchez A., San Miguel A., Roig S., 2015. The effect of tree cover

- on the biomass and diversity of the herbaceous layer in a Mediterranean dehesa. *Grass Forage Sci.*, 70, 639-650.
- Lorenz K., Lal R., 2014. Soil organic carbon sequestration in agroforestry systems. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 34, 443-454.
- Madejón E., Moreno F., Murillo J.M., Pelegrín F., 2007. Soil biochemical response to long-term conservation tillage under semi-arid Mediterranean conditions. *Soil Tillage Res.*, 94, 346-352.
- Malézieux E. et al, 2009. Mixing Plant Species in Cropping Systems: Concepts, Tools and Models: A Review. *Agron. Sustain. Dev.*, 29, 43-62.
- Mangalassery S., Mooney S.J., Sparkes D.L., Fraser W.T., Sjögersten S., 2015. Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. *Eur. J. Soil Biol.*, 68, 9-17.
- Marsden C., Martin-Chave A., Cortet J., Hedde M., Capowiez Y., 2019. How agroforestry systems influence soil fauna and their functions - a review. *Plant Soil*.
- Martin-Chave A., Béral C., Mazzia C., Capowiez Y., 2019. Agroforestry impacts the seasonal and diurnal activity of dominant predatory arthropods in organic vegetable crops. *Agrofor. Syst.*, 93, 2067-2083.
- Martius C. et al, 2004. Microclimate in agroforestry systems in central Amazonia: Does canopy closure matter to soil organisms? *Agrofor. Syst.*, 60, 291-304.
- Mary B., Clivot H., Blaszczyk N., Labreuche J., Ferchaud F., 2020. Soil carbon storage and mineralization rates are affected by carbon inputs rather than physical disturbance: Evidence from a 47-year tillage experiment. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 299, 106972. Consultable : <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106972>.
- Mathieu J. et al, 2004. A multi-scale study of soil macrofauna biodiversity in Amazonian pastures. *Biol. Fertil. Soils*, 40, 300-305.
- Mathieu J. et al, 2010. Habitat quality, conspecific density, and habitat pre-use affect the dispersal behaviour of two earthworm species, *Aporrectodea icterica* and *Dendrobaena veneta*, in a mesocosm experiment. *Soil Biol. Biochem.*, 42, 203-209.
- Matocha J., Schroth G., Hills T., Hole D., 2012. Integrating Climate Change Adaptation and

- Mitigation Through Agroforestry and Ecosystem Conservation. , 105-126.
- Médiène S. et al, 2011. Agroecosystem management and biotic interactions: a review. *Agron. Sustain. Dev.*, 31, 491-514.
- Meziere D., Boinot S., de Waal L., Cadet E., Fried G., 2016. Arable weeds in alley cropping agroforestry systems - results of a first year survey. In 3rd European Agroforestry Conference, 23-25 May 2016, 66-69.
- Millenium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Washington, DC, Island Pre.,
- Moreno G., Obrador J.J., Cubera E., Dupraz C., 2005. Fine root distribution in Dehesas of Central-Western Spain. *Plant Soil*, 277, 153-162.
- Mouginot C. et al, 2014. Elemental stoichiometry of fungi and bacteria strains from grassland leaf litter. *Soil Biol. Biochem.*, 76, 278-285.
- Mungai N.W., Motavalli P.P., 2006. Litter quality effects on soil carbon and nitrogen dynamics in temperate alley cropping systems. *Appl. Soil Ecol.*, 31, 32-42.
- Mungai N.W., Motavalli P.P., Kremer R.J., Nelson K.A., 2005. Spatial variation of soil enzyme activities and microbial functional diversity in temperate alley cropping systems. *Biol. Fertil. Soils*, 42, 129-136.
- Myrold D.D., Bottomley P.J., 2008. Nitrogen Mineralization and Immobilization. In : American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America (Eds), *Nitrogen in Agricultural Systems*, 157-172. United States of America, Agronomy M.
- Nair P.K.R., 2011. Agroforestry Systems and Environmental Quality: Introduction. *J. Environ. Qual.*, 40, 784. Consultable : <https://www.agronomy.org/publications/jeq/abstracts/40/3/784>.
- Nair P.K.R., 1985. Classification of agroforestry systems. *Agrofor. Syst.*, 3, 97-128.
- Nicolardot B., Mary B., Houot S., Recous S., 1997. La dynamique de l'azote dans les sols cultivés. In *maîtrise de l'azote dans les agroécosystèmes*, 87-104. Paris, Inra édit.
- Nii-Annang S., Grünewald H., Freese D., Hüttl R.F., Dilly O., 2009. Microbial activity, organic C accumulation and  $^{13}\text{C}$  abundance in soils under alley cropping systems after 9

- years of recultivation of quaternary deposits. *Biol. Fertil. Soils*, 45, 531-538.
- Van Noordwijk M., 1996. Mulch and shade model for optimum alley- cropping design depending on soil fertility. In : CAB International (Eds), *Tree-Crop Interactions: A Physiological Approach*, 51-72. Wallingford, UK.
- Nunes J.P. et al, 2012. Impacts of climate change on soil erosion in Portuguese watersheds with contrasting Mediterranean climates and agroforestry practices. In EGU, 12711.
- Orgiazzi A. et al, 2016. Global soil biodiversity atlas. *Global Soil Biodiversity Atlas*. European Commission, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 176 p.
- Pardon P. et al, 2019. Gradients in abundance and diversity of ground dwelling arthropods as a function of distance to tree rows in temperate arable agroforestry systems. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 270-271, 114-128. Consultable : <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.10.017>.
- Pardon P. et al, 2017. Trees increase soil organic carbon and nutrient availability in temperate agroforestry systems. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 247, 98-111. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.018>.
- Pelosi C., Barot S., Capowiez Y., Hedde M., Vandebulcke F., 2014. Pesticides and earthworms. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 34, 199-228.
- Pfiffner L., Luka H., 2001. Overwintering of arthropods in arable fields and adjacent semi-natural habitats. *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökol.*, 31, 275.
- Ponge J.F. et al, 2013. The impact of agricultural practices on soil biota: A regional study. *Soil Biol. Biochem.*, 67, 271-284. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.026>.
- Porazinska D.L. et al, 2003. Relationships at the aboveground-belowground interface: Plants, soil biota, and soil processes. *Ecol. Monogr.*, 73, 377-395.
- Powlson D.S. et al, 1987. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.*, 19, 159-164.
- Price G.W., Gordon A.M., 1999. Spatial and temporal distribution of earthworms in a temperate intercropping system in southern Ontario, Canada. *Agrofor. Syst.*, 44,

- 141-149. Consultable : <https://doi.org/10.1023/A:1006213603150>.
- Recous S., Lashermes G., Bertrand I., 2017. Couplages et contrôles des cycles du carbone et de l'azote par les communautés microbiennes dans les sols cultivés. In *Les sols et la vie souterraine, Des enjeux majeurs en agroécologie*, 43-63. Versailles, Quae.
- Rivest D., Cogliastro A., Bradley R.L., Olivier A., 2010. Intercropping hybrid poplar with soybean increases soil microbial biomass, mineral N supply and tree growth. *Agrofor. Syst.*, 80, 33-40.
- Robertson L.N., Kettle B.A., Simpson G.B., 1994. The influence of tillage practices on soil macrofauna in a semi-arid agroecosystem in northeastern Australia. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 48, 149-156.
- Roger-Estrade J., Anger C., Bertrand M., Richard G., 2010. Tillage and soil ecology: Partners for sustainable agriculture. *Soil Tillage Res.*, 111, 33-40. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2010.08.010>.
- Rovira A.D., Greacen E.L., 1957. The effect of aggregate disruption on the activity of microorganisms in the soil. *Aust. J. Agric. Res.*, 8, 659-673.
- Saul-Tcherkas V., Steinberger Y., 2009. Substrate utilization patterns of desert soil microbial communities in response to xeric and mesic conditions. *Soil Biol. Biochem.*, 41, 1882-1893. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.06.011>.
- Sauvadet M., Chauvat M., Fanin N., Coulibaly S., Bertrand I., 2016. Comparing the effects of litter quantity and quality on soil biota structure and functioning: Application to a cultivated soil in Northern France. *Appl. Soil Ecol.*, 107, 261-271.
- Sauvadet M., Fanin N., Chauvat M., Bertrand I., 2019. Can the comparison of above- and below-ground litter decomposition improve our understanding of bacterial and fungal successions? *Soil Biol. Biochem.*, 132, 24-27. Consultable : <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.01.022>.
- Schellhorn N.A., Bianchi F.J.J.A., Hsu C.L., 2014. Movement of entomophagous arthropods in agricultural landscapes: Links to pest suppression. *Annu. Rev. Entomol.*, 59, 559-581.
- Schimel J., Balsler T.C., Wallenstein M., 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology*, 88, 1386-1394.

- Schimel J.P., Schaeffer S.M., 2012. Microbial control over carbon cycling in soil. *Front. Microbiol.*, 3, 1-11.
- Schroeder W.R., Naeem H., 2017. Effect of weed control methods on growth of five temperate agroforestry tree species in Saskatchewan. *For. Chron.*, 93, 271-281.
- Shihan A. et al, 2017. Changes in soil microbial substrate utilization in response to altered litter diversity and precipitation in a Mediterranean shrubland. *Biol. Fertil. Soils*, 53, 171-185. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-016-1166-9>.
- Sinsabaugh R.L., Manzoni S., Moorhead D.L., Richter A., 2013. Carbon use efficiency of microbial communities: Stoichiometry, methodology and modelling. *Ecol. Lett.*, 16, 930-939.
- Smith J., Pearce B.D., Wolfe M.S., 2012. Reconciling productivity with protection of the environment : Is temperate agroforestry the answer ? *Renew. Agric. Food Syst.*, 28, 80-92.
- Spohn M., 2016. Element cycling as driven by stoichiometric homeostasis of soil microorganisms. *Basic Appl. Ecol.*, 17, 471-478.
- Strayer D.L., Power M.E., Fagan W.F., Pickett S.T.A., Belnap J., 2003. A classification of ecological boundaries. *Bioscience*, 53, 723-729.
- Strecker T. et al, 2015. Effects of plant diversity, functional group composition, and fertilization on soil microbial properties in experimental grassland. *PLoS One*, 10, 1-16. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0125678>.
- Swift M.J., Heal O.W., Anderson J.M., 1979. *Decomposition in terrestrial ecosystems*. Oxford, Blackwell.,
- Tassin J., 2012. Un agrosystème est-il un écosystème ? , 21, 57-63.
- Thevathasan N. V, Gordon a M., 2004. Ecology of tree intercropping systems in the North temperate region: Experiences from southern Ontario, Canada: New visitas in Agroforestry. *Agrofor. Syst.*, 61, 257-268.
- Thiele-Bruhn S., Bloem J., de Vries F.T., Kalbitz K., Wagg C., 2012. Linking soil biodiversity and agricultural soil management. *Curr. Opin. Environ. Sustain.*, 4, 523-528.
- Torquebiau E.F., 2000. A renewed perspective on agroforestry concepts and classification.

Comptes Rendus l'Academie des Sci. - Ser. III, 323, 1009-1017.

Torralba M., Fagerholm N., Burgess P.J., Moreno G., Plieninger T., 2016. Do European agroforestry systems enhance biodiversity and ecosystem services? A meta-analysis. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 230, 150-161. Consultable :

<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.06.002>.

Tsonkova P., Böhm C., Quinkenstein A., Freese D., 2012. Ecological benefits provided by alley cropping systems for production of woody biomass in the temperate region: A review. *Agrofor. Syst.*, 85, 133-152.

Udawatta R.P., Kremer R.J., Adamson B.W., Anderson S.H., 2008. Variations in soil aggregate stability and enzyme activities in a temperate agroforestry practice. *Appl. Soil Ecol.*, 39, 153-160.

Udawatta R.P., Rankoth L.M., Jose S., 2019. Agroforestry and biodiversity. *Sustainability*, 11.

Unger I.M., Goyne K.W., Kremer R.J., Kennedy A.C., 2013. Microbial community diversity in agroforestry and grass vegetative filter strips. , 395-402.

Vedder B., Kampichler C., Bachmann G., Bruckner A., Kandeler E., 1996. Impact of faunal complexity on microbial biomass and N turnover in field mesocosms from a spruce forest soil. *Biol. Fertil. Soils*, 22, 22-30.

Voroney R.P., 2007. Chapter 2 THE SOIL HABITAT. Elsevier Inc., Third Edit., 25-49 p. Consultable :

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080475141500068>.

Vos M., Wolf A.B., Jennings S.J., Kowalchuk G.A., 2013. Micro-scale determinants of bacterial diversity in soil. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37, 936-954.

Walter C., Bispo A., Chenu C., Langlais-Hesse A., Schwartz C., 2015. Les services écosystémiques des sols : du concept à sa valorisation. *Cah. Dem.*, 53-68.

Wardle D.A. et al, 2004. Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *Science (80- )*, 304, 1629-1633. Consultable :

<http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1094875>.

Wardle D.A., 2006. The influence of biotic interactions on soil biodiversity. *Ecol. Lett.*, 9,

870-886.

Wiesmeier M. et al, 2019. Soil organic carbon storage as a key function of soils - A review of drivers and indicators at various scales. *Geoderma*, 333, 149-162.

Wolz K.J., DeLucia E.H., 2018. Alley cropping: Global patterns of species composition and function. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 252, 61-68. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.10.005>.

Zhang W., Ricketts T.H., Kremen C., Carney K., Swinton S.M., 2007. Ecosystem services and dis-services to agriculture. *Ecol. Econ.*, 64, 253-260.

Zhou Z., Wang C., Jiang L., Luo Y., 2017. Trends in soil microbial communities during secondary succession. *Soil Biol. Biochem.*, 115, 92-99. Consultable : <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.08.014>.

Zhu Y.-G., Miller R.M., 2003. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends Plant Sci.*, 8, 405-409.

## Partie II : Objectifs et stratégie de la thèse

### 1. Objectifs

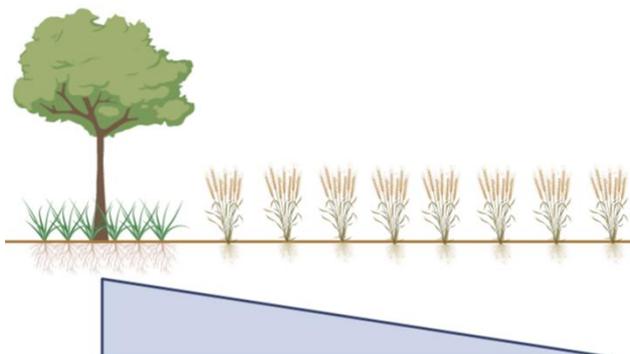
Le précédent état de l'art met en lumière un manque de connaissances sur l'impact des systèmes agroforestiers en arrangements linéaires sur les organismes du sol, et sur leur impact potentiel sur la fertilité du sol. En particulier, il met en évidence la nécessité de prendre en compte l'hétérogénéité spatiale de ces parcelles. Surtout, il révèle une très faible mention du LSA, avec un intérêt davantage porté sur l'effet de l'arbre et des dispositifs ne permettant pas forcément d'attribuer les observations à l'arbre ou au LSA.

L'objectif général de ma thèse est de déterminer l'impact de la végétation herbacée du LSA sur l'abondance, la biomasse, l'activité et la diversité des organismes du sol (macrofaune et microorganismes), et sur les teneurs en matière organique et nutriments associées dans des parcelles agroforestières du sud de la France. Cette thèse se décompose en trois questions de recherche.

#### ❖ Question 1 : Quel est l'impact de la présence du LSA sur l'hétérogénéité spatiale des propriétés des organismes du sol et de la fertilité du sol ?

Hypothèse 1-1 : Le LSA étant un milieu plus stable que l'allée cultivée, présentant un habitat et une ressource en qualité et quantité supérieure, héberge des communautés d'organismes du sol plus variées et plus abondantes que l'allée cultivée. Les organismes relativement sensibles aux pratiques agricoles telles que le labour sont en particulier favorisés dans le LSA.

Hypothèse 1-2 : Au sein de l'allée cultivée, la proximité au LSA impacte positivement les organismes et la fertilité du sol.



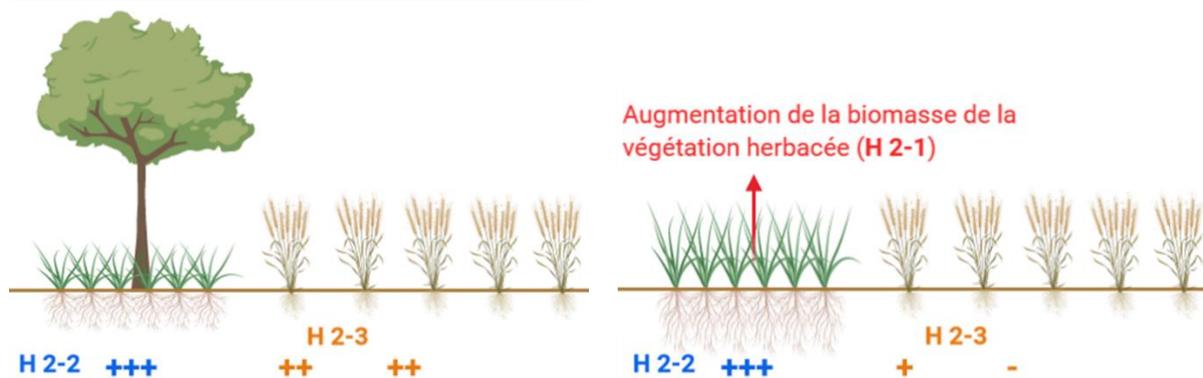
**Figure II-1** Variation attendue de la biomasse, abondance et diversité des organismes du sol et de la fertilité du sol avec la distance au LSA.

❖ **Question 2 : Quels sont les effets respectifs de l'arbre et du LSA sur la création d'une hétérogénéité spatiale de la répartition des organismes du sol et de la fertilité du sol?**

Hypothèse 2-1 : La proximité à l'arbre provoque une compétition avec la végétation du LSA, dont la biomasse et la diversité sont modifiées, et provoque une hétérogénéité de la répartition des organismes du sol et de la fertilité du sol au sein même du LSA.

Hypothèse 2-2 : La diversification des communautés et l'augmentation de l'abondance des organismes du sol dans le LSA par rapport à l'allée cultivée est liée à la présence de bandes enherbées pérennes plutôt qu'à l'introduction d'arbres.

Hypothèse 2-3 : Les effets positifs de la proximité au LSA au sein de l'allée cultivée sur les organismes et la fertilité du sol sont amplifiés sous l'influence de l'arbre.



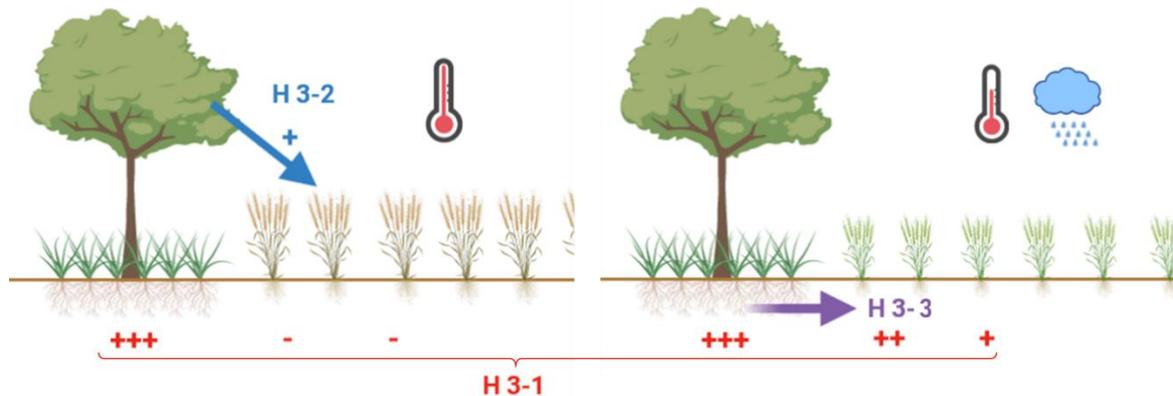
**Figure II-2** Variation attendue de la biomasse, abondance et diversité des organismes du sol et de la fertilité du sol sous l'influence combinée de l'arbre et du LSA ou du LSA seul.

❖ **Question 3 : Quelle est l'influence de la saison sur la répartition des organismes du sol en fonction de la distance au LSA ?**

Hypothèse 3-1 : La distinction entre LSA et allée cultivée sur l'abondance et les communautés d'organismes du sol est davantage visible à certaines saisons, quand les conditions sont particulièrement défavorables pour les organismes du sol dans l'allée cultivée (voir la légende de la **Figure II-3**).

Hypothèse 3-2 : La variation saisonnière dans la répartition des organismes du sol peut être atténuée par un ombrage important de l'arbre, du fait d'un effet microclimat et d'une plus grande homogénéité dans les apports de litière au sein de la parcelle.

Hypothèse 3-3 : le LSA forme une réserve de macrofaune du sol capable de se disperser vers l'allée cultivée au printemps.



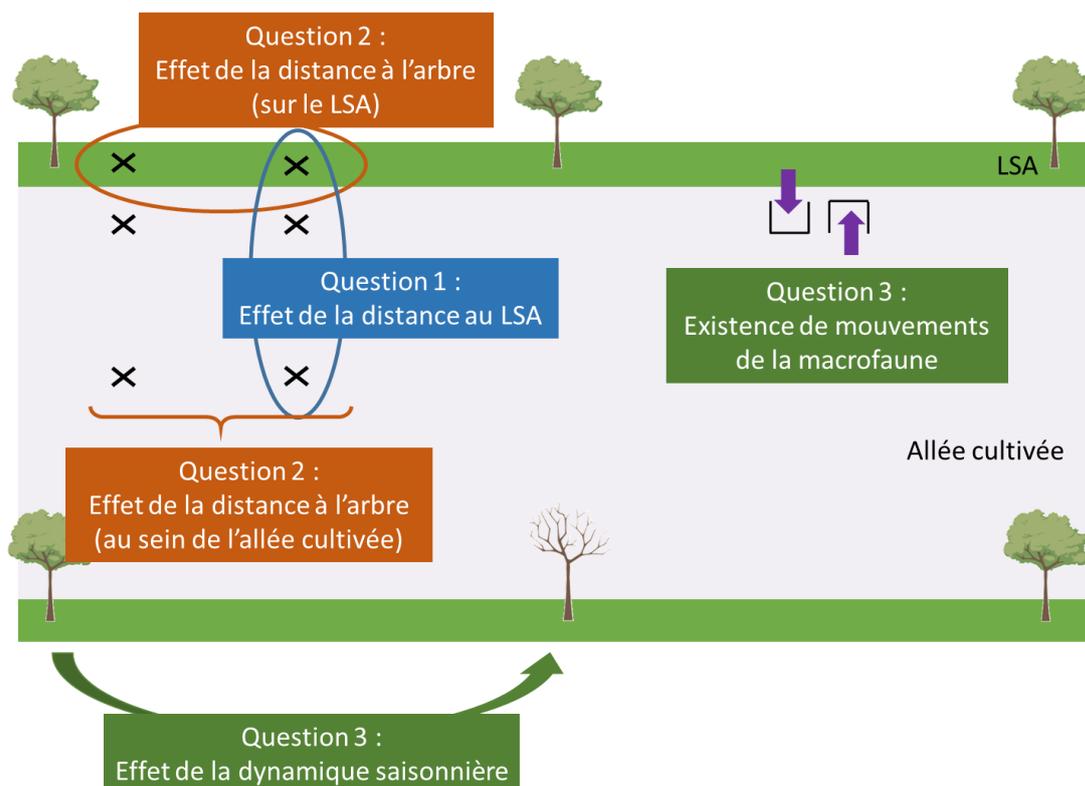
**Figure II-3** Variation attendue de la répartition des organismes du sol entre une saison défavorable et une saison plus favorable. La saison défavorable est ici représentée par un été chaud et sec et la saison favorable par un printemps avec des températures moyennes, des précipitations importantes, et une croissance de la culture en place (sur la base de la réponse des vers de terre et de la biomasse microbienne), mais la classification d'une saison comme défavorable est variable selon les organismes du sol et dépend également des pratiques culturales.

## 2. Stratégie de recherche et démarche expérimentale

### ❖ Stratégie d'échantillonnage et choix des parcelles

Afin de répondre à ces questions, plusieurs stratégies ont été utilisées. Tout d'abord, la question de l'effet du LSA sur la création d'une hétérogénéité spatiale a été étudiée par la détermination des propriétés des organismes du sol et de la fertilité du sol dans le LSA et dans l'allée cultivée, à différentes distances du LSA. Pour déterminer l'effet spécifique du LSA lui-même (et non celui induit par la présence de l'arbre), nous avons d'une part échantillonné des sites jeunes à mi-distance entre arbres, là où l'impact de l'arbre est supposé négligeable. D'autre part, de manière à observer cet effet sur un site plus âgé, nous avons échantillonné un site mature possédant un témoin avec des bandes enherbées sans arbres en lieu et place du LSA. Ce dernier dispositif nous a également permis d'étudier l'influence spécifique de l'arbre. De plus, nous avons étudié l'effet de la distance à l'arbre, d'une part par la mesure des propriétés de la végétation du LSA, des organismes du sol et de la fertilité du sol à différentes distances de l'arbre au sein même du LSA, et d'autre part par la comparaison des propriétés des organismes et de la fertilité du sol entre deux transects perpendiculaires au LSA, localisés à différentes distances de l'arbre. Enfin, nous avons étudié la question de la dynamique de la réponse des

organismes du sol par l'échantillonnage d'une même parcelle à différentes saisons, et par la mise en place d'un dispositif expérimental composé de pièges à macrofaune permettant de déterminer l'existence de déplacements à l'interface entre LSA et allée cultivée. Les modalités d'échantillonnage sont synthétisées sur la **Figure II-4**.



**Figure II-4** Stratégie d'échantillonnage pour chacune des questions de recherche de la thèse.

L'échantillonnage a eu lieu au sein de plusieurs parcelles agroforestières en arrangements linéaires du sud de la France. Les propriétés de ces parcelles sont synthétisées dans le **Tableau II-1**. Les chapitres de cette thèse sont définis par l'étude de chacun de ces sites, ayant tous permis d'étudier la variation des propriétés du sol avec la distance à la ligne d'arbres, mais ayant chacun également permis de répondre à des questions plus spécifiques de la thèse. Dans le chapitre 2, nous avons choisi deux sites jeunes présentant une végétation semée peu diversifiée et compétitive, et un travail du sol limité au sein de l'allée cultivée, permettant de centrer notre étude sur l'effet du LSA lui-même dans les premières années. Dans les chapitres 3 et 4, nous avons échantillonné une parcelle mature présentant un témoin sans arbres et deux modalités différentes de taille des arbres, sous un climat méditerranéen, à plusieurs saisons. Ces chapitres nous permettent ainsi d'une part de distinguer plus précisément les effets de l'arbre

versus du LSA après plusieurs années, et l'effet de l'arbre sur la biomasse et diversité du LSA lui-même (chapitre 3). D'autre part, ils permettent d'observer la dynamique saisonnière des propriétés des organismes du sol au sein de plusieurs traitements d'ombrage (chapitre 4). Le chapitre 5 a permis de se poser plus précisément la question de l'origine de cette dynamique, car nous avons tenté de déterminer s'il existe des mouvements de vers de terre entre le LSA et l'allée cultivée. Nous avons, pour cette expérience nécessitant de plus fréquents allers-retours sur le site, échantillonné le site de Restinclières, situé à quelques kilomètres de Montpellier seulement.

**Tableau II-1** Présentation des sites utilisés dans chaque chapitre

	<b>Chapitre 2</b>	<b>Chapitres 3 et 4</b>	<b>Chapitre 5</b>
<b>âge</b>	2 parcelles jeunes (6 et 10 ans)	1 parcelle mature (22 ans)	1 parcelle mature (23 ans)
<b>localisation</b>	Gers (climat océanique modifié)	Vézénobres, Gard (climat méditerranéen)	Restinclières, Herault (climat méditerranéen)
<b>Espèces d'arbres</b>	Mélanges d'espèces champêtres	Noyer hybride, plusieurs modalités de taille	Noyer hybride
<b>Composition du LSA</b>	Graminées semées	Spontané	Spontané
<b>Culture</b>	Grandes cultures	Maraîchage	Grandes cultures
<b>Pratiques culturelles particulières</b>	Non irrigué, une parcelle en agriculture biologique	Irrigué, en agriculture biologique	Non irrigué
<b>Travail du sol</b>	Réduit, sans labour	Formation de buttes de culture, rotatif	Labour
<b>Saison d'échantillonnage</b>	Printemps	Plusieurs saisons	Printemps
<b>Nature de l'étude</b>	Observations à un instant	Observations à un instant	Expérimental
<b>Variables étudiées relatives à..</b>	Fertilité du sol, microorganismes, macrofaune	Fertilité du sol, microorganismes, macrofaune	Vers de terre

### ❖ **Choix des variables étudiées**

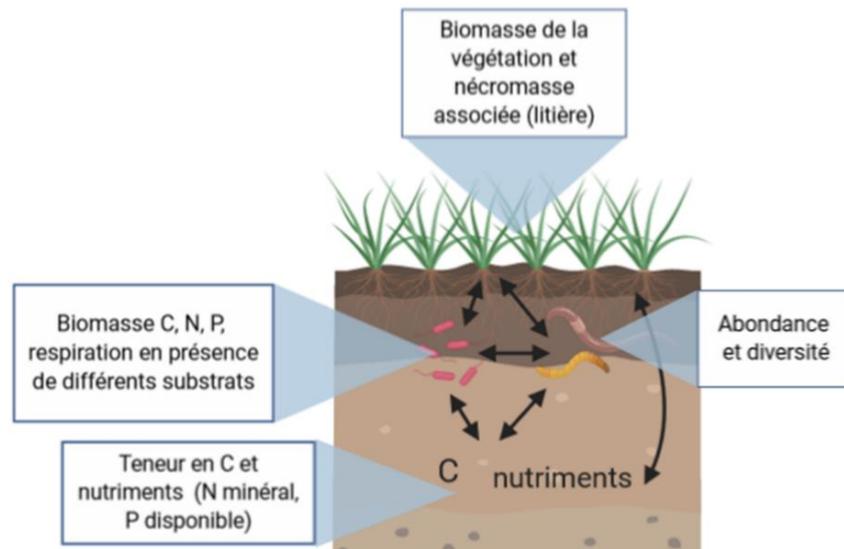
La plus grande partie de cette thèse est basée sur l'observation de propriétés au champs. Ces propriétés sont déterminées en différents emplacements de la parcelle à un instant t. Les variables mesurées sont présentées dans la **Figure II-5**.

Pour chaque parcelle, la macrofaune du sol a été échantillonnée dans des blocs de sol de 25\*25 cm et d'une profondeur de 20 à 30 cm. Afin de relier la macrofaune à son impact probable sur la fourniture de services écosystémiques et à sa réponse aux pratiques agricoles, nous l'avons classée en différents groupes fonctionnels, associés aux différents lieux de vie et modes d'alimentation décrits dans le **Tableau 2 de l'état de l'art**. Nous avons ainsi séparé différents régimes trophiques. Nous avons défini les saprophages comme les consommateurs de litière se nourrissant dans la couche de litière à la surface du sol ou dans les tous premiers centimètres du sol, et les géophages comme les vers de terre se nourrissant de matière organique plus en profondeur (endogés et en partie anéciques), qu'il s'agisse de matière organique du sol ou de litière enfouie. En effet, bien que constitués de consommateurs de matière organique dans les deux cas, ces groupes se distinguent dans leur impact sur les services écosystémiques et leur réponse aux pratiques agricoles (voir **partie 1.3. de l'état de l'art**). Les saprophages ici définis impactent la décomposition de la litière en surface et son enfouissement dans le sol, alors que les géophages déterminent davantage le devenir des résidus de culture enfouis par le labour et de la matière organique du sol. Nous avons également étudié de manière séparée les zoophages (potentiels prédateurs et régulateurs du réseau trophique) et les herbivores (potentiels ravageurs). Nous avons en parallèle étudié à part les vers de terre de manière à les séparer selon leurs catégories écologiques, associées à des stratégies écologiques bien différentes. Enfin, du fait de la complexité de l'étude de la macrofaune mentionnée dans la **partie 1.1.2. de l'état de l'art**, et afin d'en prendre en compte la diversité (un service écosystémique en soi, mais également un indicateur de la possibilité d'une plus grande diversité ou redondance fonctionnelle), nous avons également classé la macrofaune en groupes taxonomiques.

Les paramètres microbiens et la teneur en C et nutriments du sol ont été déterminés en laboratoire sur du sol échantillonné dans les blocs de sol dans lesquels la macrofaune a été extraite, afin de pouvoir étudier sur un même plan les différentes variables mesurées. Nous avons choisi d'étudier les microorganismes du sol via une approche fonctionnelle, pour pouvoir émettre des hypothèses sur les fonctions du sol impactées par leur présence. L'impact des microorganismes est dépendant de leur biomasse, activité et stratégies écologiques (voir **Tableau 1 de l'état de l'art**), qui sont également fortement influencées par les pratiques

agricoles (voir **partie 1.3. de l'état de l'art**). Ceci a conduit à sélectionner des indicateurs de biomasse microbienne C, N et P (permettant de connaître à la fois la quantité de microorganismes présents et de l'associer à la teneur en C organique et N et P disponibles mesurées dans le sol), de respiration potentielle (biomasse active, pouvant également donner une idée de la diversité fonctionnelle des communautés présentes via l'utilisation de différents substrats) et au calcul de différents indices permettant d'émettre des hypothèses sur les stratégies microbiennes (indices décrits dans le **Tableau 1 de l'état de l'art**).

Enfin, la végétation et la litière ont été identifiées et prélevées dans des surfaces de 50\*50 cm (parties aériennes), ou dans les blocs de sol (parties souterraines), de manière à caractériser le LSA, mais aussi de relier les propriétés du sol observées à la végétation présente.



**Figure II-5** Présentation des variables mesurées dans le système sol-plante-organismes du sol. Les flèches symbolisent les interactions entre les différents éléments du système, mentionnées dans l'état de l'art.

Dans le dernier chapitre, les aspects dynamiques ont été pris en compte via une étude expérimentale au champ.

## **Chapitre 2 :**

### **Effets de la présence de linéaires sous arborés semés sur les organismes du sol et la fertilité du sol dans deux jeunes sites agroforestiers**



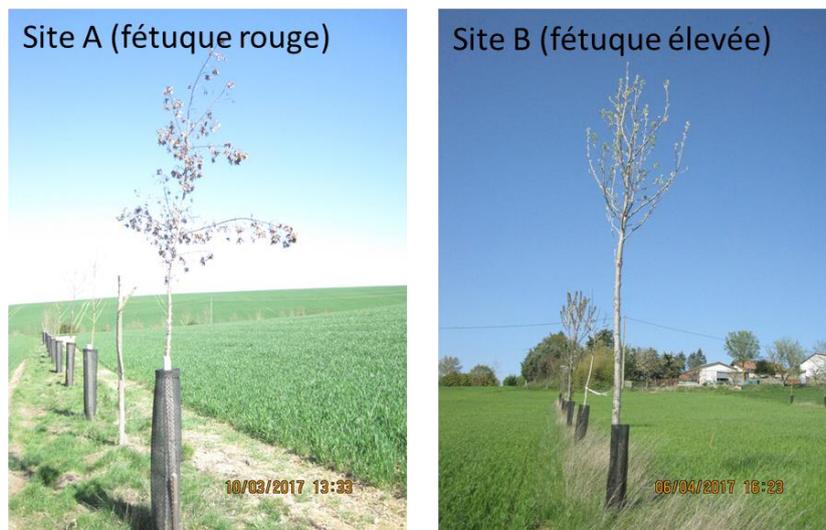
L'objectif de ce chapitre était (i) de déterminer la variation des propriétés de jeunes LSA semés en fonction de la distance à l'arbre, et (ii) de déterminer l'impact de la présence d'un LSA sur la variation des propriétés du sol sous le LSA et dans son voisinage immédiat.

L'étude est basée sur deux hypothèses :

- Le LSA est impacté par la compétition avec l'arbre, ses propriétés sont variables suivant la distance à l'arbre
- La fertilité, l'abondance et la diversité des organismes du sol sont augmentées au sein du linéaire sous arboré et dans son voisinage immédiat par rapport au centre de l'allée cultivée

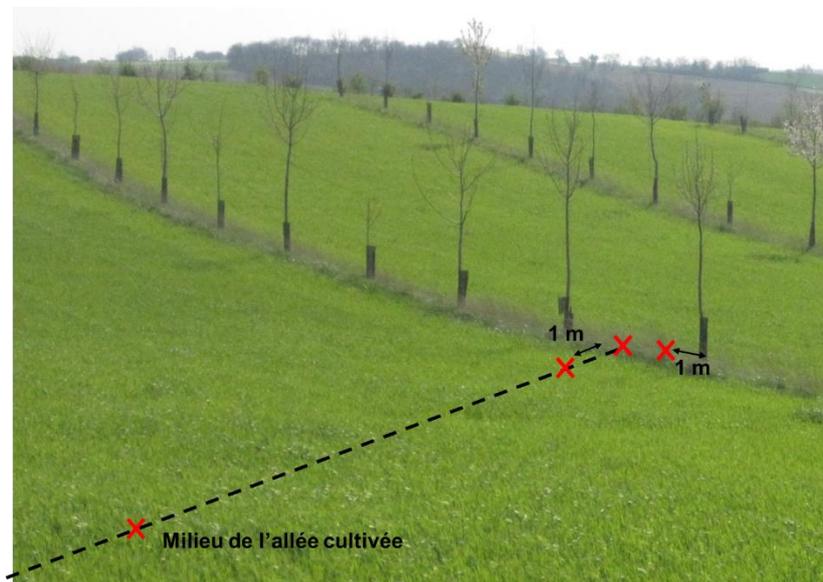
Cette étude repose également sur une hypothèse de travail, qui est que dans de jeunes sites, le LSA n'est pas influencé par l'arbre à mi-distance entre deux arbres, et que l'on peut donc observer l'effet de la végétation herbacée elle-même en se plaçant à mi-distance entre deux arbres.

Cette étude a été réalisée sur deux parcelles agroforestières du département du Gers âgées de 6 et 10 ans. Ces deux parcelles ont été plantées avec des arbres champêtres locaux suite à l'initiative de l'association Arbres et paysages 32, qui encourage la plantation de parcelles agroforestières et de haies pour lutter contre l'érosion, forte dans le département. Dans les deux sites, les agriculteurs ont choisi de semer leur LSA avec une poacée (fétuque rouge ou fétuque élevée) pour limiter la prolifération d'adventices (**Figure I**). Les allées sont cultivées en grandes cultures, après un travail du sol réduit sans labour. La culture présente au moment de l'échantillonnage était du blé.



**Figure I** Photographies des deux sites étudiés.

Les deux sites ont été échantillonnés au printemps 2017 (mars et avril), en deux points du LSA (à 1 m de l'arbre et à mi-distance entre deux arbres, soit à 2,5 ou 3 m de l'arbre) et deux points de l'allée cultivée (à 1 m de la bordure du LSA et au milieu de l'allée cultivée) (**Figure II**). Cinq répétitions ont été effectuées pour chaque site.

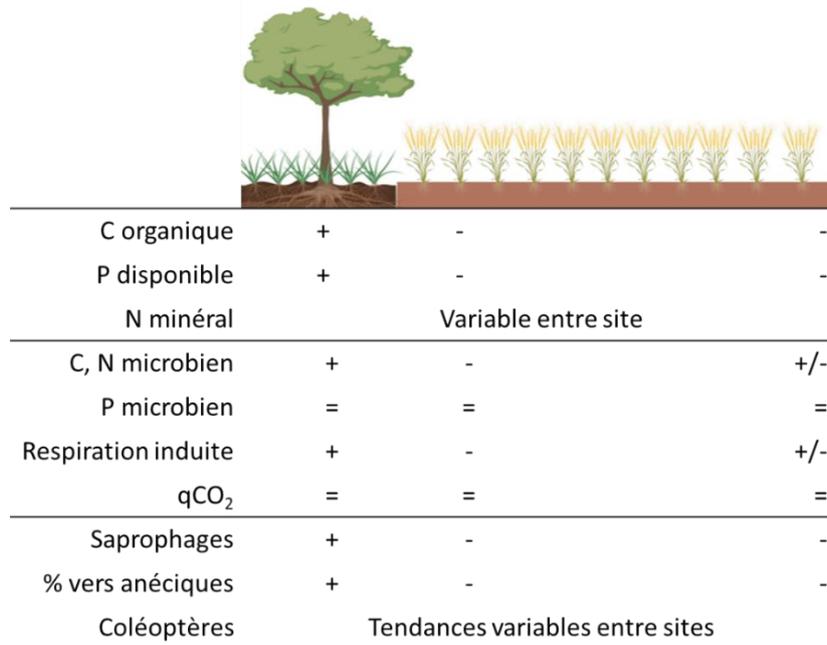


**Figure II** Localisation des points d'échantillonnage sur l'un des sites étudiés.

En chaque point, la biomasse sèche de la végétation (parties aériennes et souterraines) et de la litière et nécromasse enfouie dans le sol a été déterminée (dans une surface de 50\*50 cm en surface, et un volume de 25\*25\*20 cm dans le sol). La diversité de la végétation du LSA a été estimée sur une surface de 1\*1 m. La macrofaune a été triée manuellement dans des blocs de sols de 25\*25\*20 cm et identifiée. Enfin, des analyses au laboratoire sur du sol échantillonné dans les mêmes blocs ont permis de déterminer la biomasse microbienne C, N et P, la respiration microbienne en présence de différents substrats, et la teneur en C, N et P du sol pour les 20 premiers cm du sol.

Les résultats montrent (i) que la distance à l'arbre n'influence pas les propriétés de ces jeunes LSA semés, ni les paramètres du sol étudiés au sein du LSA et (ii) une variation des paramètres étudiés entre LSA, proximité au LSA et milieu de l'allée cultivée (**Figure III**). La teneur en carbone organique du sol et en phosphore disponible étaient significativement plus élevées dans le LSA que dans l'allée cultivée, mais pas la biomasse microbienne, ni la densité et la diversité de la macrofaune, excepté pour les cloportes, plus abondants dans le LSA. La distribution des vers de terre dans les catégories écologiques des anéciques, endogés et épigés (juvéniles compris) était différentes entre le LSA et l'allée cultivée, avec une proportion plus grande

d'anéciques et épigés dans le LSA, et d'endogés dans l'allée cultivée. La biomasse microbienne et la diversité de la macrofaune étaient par contre significativement réduites à 1 m du LSA en comparaison du LSA dans les deux sites. La densité des vers de terre est également diminuée à 1 m du LSA dans un site, alors qu'une tendance à un gradient décroissant de densité dans le sens LSA > 1 m du LSA > milieu allée cultivée est visible dans l'autre site.



**Figure III** Synthèse des résultats obtenus dans le chapitre 2. Le C organique, P disponible, N minéral et C, N, P microbien sont des teneurs (établies sur le sol de la profondeur 0-20 cm), les saprophages et coléoptères des densités.

Nous avons conclu que ces LSA semés sont surtout sous l'influence de la végétation herbacée du LSA et peu sous celle de l'arbre (pas de variation avec la distance à l'arbre), ce qui confirme notre hypothèse de travail. La présence du LSA enrichit les 20 premiers cm du sol en carbone organique, et prodigue un habitat pour certaines catégories spécifiques de macrofaune, probablement du fait de la limitation des perturbations et de la présence de végétation pérenne. Cependant, les avantages des LSA ne s'étendent pas à son voisinage, et le LSA pourrait même impacter négativement les organismes du sol dans sa proximité immédiate.

Ce chapitre a donné lieu à un article paru dans *Agroforestry Systems* en mai 2020, reproduit dans les pages suivantes.

**Sown understory vegetation strips impact soil chemical fertility, associated microorganisms and macro-invertebrates in two temperate alley cropping systems**

Camille D'Hervilly <sup>1</sup>, Claire Marsden <sup>1</sup>, Mickaël Hedde <sup>1</sup>, Isabelle Bertrand <sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR Eco&Sols, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, IRD, Montpellier SupAgro, 34000 Montpellier, France

Publié dans *Agroforestry Systems* (2020)

**Abstract:**

Alley cropping systems present tree rows alternating with crop alleys. Tree rows are uncultivated and often present an understory vegetation strip (UVS), whose impacts have been less studied than those of the trees. Spatial variations within UVSs and between UVSs and crop alleys were investigated for vegetation biomass and necromass, soil organic carbon and nutrient contents, microbial biomass and respiration, and macro-invertebrate density, taxonomic diversity and functional community structure. The first 20 centimeters of soil were sampled in two young alley cropping sites in South-West France with sown UVSs. Tree distance did not influence studied variables within the UVS. Soil organic carbon and available phosphorus contents were significantly higher in the UVS than in the crop alley, but not soil microbial biomass and macro-invertebrate density and diversity, except for woodlice density. Earthworm distribution in ecomorphological categories differed between the UVS and the crop alley. Microbial biomass and macro-invertebrate diversity were significantly reduced 1 m away from the UVS in both sites. It was concluded that these sown UVSs were not strongly impacted by tree proximity, enriched the first 20 centimeters of soil with organic carbon, and provided a habitat for specific macro-invertebrates, probably due to reduced disturbance and permanent vegetation. However, UVSs could have a negative impact on soil organisms in their vicinity. Further studies on the role of UVS type, field management and seasonal variation are needed to quantify the role of UVSs on soil properties.

**Keywords:** agroforestry, soil organic carbon, microorganisms, macrofauna, silvoarable, understory vegetation strips

## 1. Introduction

In temperate regions, alley cropping is a common silvoarable system, in which tree rows alternate with crop alleys (Eichhorn et al. 2006). Tree rows are most of the time covered with a spontaneous or sown understory vegetation strip (UVS, Boinot et al. 2019), mostly herbaceous. The specific composition of the UVS is almost nether detailed, but when it is sown it is often with grasses (Udawatta et al. 2008; Cardinael et al. 2017), maybe because grasses have been shown to establish easily in field margins (Critchley et al. 2006). The UVS has been shown to increase pollinator abundance and diversity in the field by providing resources and nest sites (Varah et al. 2013), but much less is known about soil biota and their functions in decomposition and food web regulation in spatially heterogeneous alley cropping systems (Marsden et al. 2019).

Detrital food webs are strongly driven by primary resource availability (Dyer and Letourneau 2003) and their quality and quantity (Porazinska et al. 2003). The UVS brings additional vegetation and its associated litter in the tree row, and is thus likely to have a strong impact on soil organisms. In addition, with its permanent ground cover, it could be an attractive habitat for soil biota that are sensitive to disturbance, which is frequent in the crop alleys. This can be expected to lead to the differentiation of UVS and crop alley soil biota communities, with distinct densities and composition. However, the UVS effect may extend further than expected based on aboveground vegetation development. On a young alley cropping site, Battie-Laclau et al. (2019) found that herbaceous roots from the UVS extended up to 2.5 m into the adjacent crop alley, suggesting that UVSs can influence nearby crop alley soil by adding living and dead organic matter. In addition, grass margins or other semi-natural habitats have often been described as over-wintering habitats for insects then able to colonize the field (Médiène et al. 2011), and the UVS has recently been shown to play the same role (Boinot et al. 2019). The specific impact of UVSs could be especially visible in young sites where tree impact is still limited.

A small number of studies have focused on soil organisms in alley cropping systems, with varying results. Cardinael et al. (2019) showed that earthworm density was enhanced in tree rows compared to crop alleys in 13 French silvoarable sites, but did not observe the gradient of earthworm density from the tree row towards the center of the crop alley that was described by Price and Gordon (1999) on a Canadian site. Abundance of soil invertebrates (0-6 mm in size) in the tree row and 1 m from the tree row was reported to be roughly double that observed more

than 3 m from the tree row in an English site (Park et al. 1994), but mite abundance and species density were not related to distance from tree rows on another Canadian site (Doblas-Miranda et al. 2014). Microbial biomass has been reported to progressively decline from the tree row to the middle of the crop alley (Seiter et al. 1999), while it was not significantly different between tree rows and crop alleys in another study (Udawatta et al. 2008). Soil organic matter content, however, appears to be consistently increased in tree rows, and a role of the UVS itself in this increase has been suggested (Udawatta et al. 2008; Cardinael et al. 2017). To our knowledge, nothing is known about the variability of soil and vegetation characteristics in the UVS itself, particularly according to distance from the tree.

To investigate the changes in vegetation, soil organic carbon (SOC) and nutrient contents and the associated microorganisms and macro-invertebrates within the UVS and its vicinity in the crop alley, two young alley cropping systems were studied in the South of France. These systems presented UVSs sown with grasses of *Festuca* species. The sampling scheme aimed to take into account spatial heterogeneity within the UVS and between the UVS and the crop alley. Vegetation biomass and necromass from both UVSs and crops were measured, as well as microorganism biomass carbon, nitrogen and phosphorus. Studied macro-invertebrate parameters were density, diversity and functional community structure. We hypothesized that i) soil fertility is increased in the UVS compared to the crop alley, ii) in the crop alley, soil fertility is particularly increased in the vicinity of the UVS, and iii) vegetation biomass and necromass in the UVS is negatively impacted by tree vicinity, creating spatial heterogeneity within the UVS.

## **2. Material and methods**

### **2.1. Site description**

The study was conducted on two alley cropping sites in South-West France during spring of 2017. The aim was not to compare these sites, but to see if similar trends could be found in two different sites. Site A is a 5 ha plot located 6 km north-east of the town of Auch (43.682°, 0.620°), and was sampled at the beginning of March 2017. Site B is a 4.5 ha plot located 27 km east of site A (43.521°, 0.933°), and was sampled at the beginning of April 2017. This area presents an altered oceanic climate, with an annual temperature of 13 °C and an annual rainfall of 698 mm (mean values over the last 10 years for the Auch station, French Institute of

Meteorology Météo France). Soil properties are presented in **Table 1**. In both sites, trees of 12 different species were planted in north-south oriented rows (*Prunus avium* (L.) L., *Juglans regia* L., *Sorbus domestica* L., *Acer campestre* L., *Fraxinus excelsior* L., *Pyrus communis* L., *Quercus petraea* (Matt.) Llebl., *Ulmus* ‘Nanguen’, *Sorbus torminalis* (L.) Crantz, *Morus alba* L., *Tilia cordata* Mill., *Quercus pubescens* Willd). A winter bread wheat crop (*Triticum aestivum* L.) was present in the crop alleys during sampling (sown in October 2016 for site A and December 2016 for site B). Both sites have been managed with reduced tillage for at least 15 years.

**Table 1** Soil properties (0-20 cm depth) of the understory vegetation strip (UVS) and the crop alley for both sites.

Texture was assessed after CaCO<sub>3</sub> removal. Coarse constituents are elements exceeding 2 mm diameter

	Site A		Site B	
	UVS	Crop alley	UVS	Crop alley
Bulk density (g.cm <sup>-3</sup> ) <sup>a</sup>	1.38 ± 0.12	1.39 ± 0.06	1.50 ± 0.05	1.53 ± 0.07
Coarse constituents (%) <sup>a</sup>	30 ± 5	28 ± 7	2 ± 2	1 ± 1
Texture (clay / silt / sand) (%) <sup>b</sup>	46 / 34 / 20	46 / 36 / 18	41 / 38 / 21	41 / 39 / 20
pH <sub>H2O</sub> <sup>b</sup>	8.3	8.4	8.5	8.5
CaCO <sub>3</sub> (%) <sup>b</sup>	25	25	9	10
CEC cobaltihexamine (cmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	16.2	14.9	19.8	19.5

<sup>a</sup> Values were determined at each sampling point, mean values are presented followed by standard deviation.

<sup>b</sup> Values were determined on composite samples.

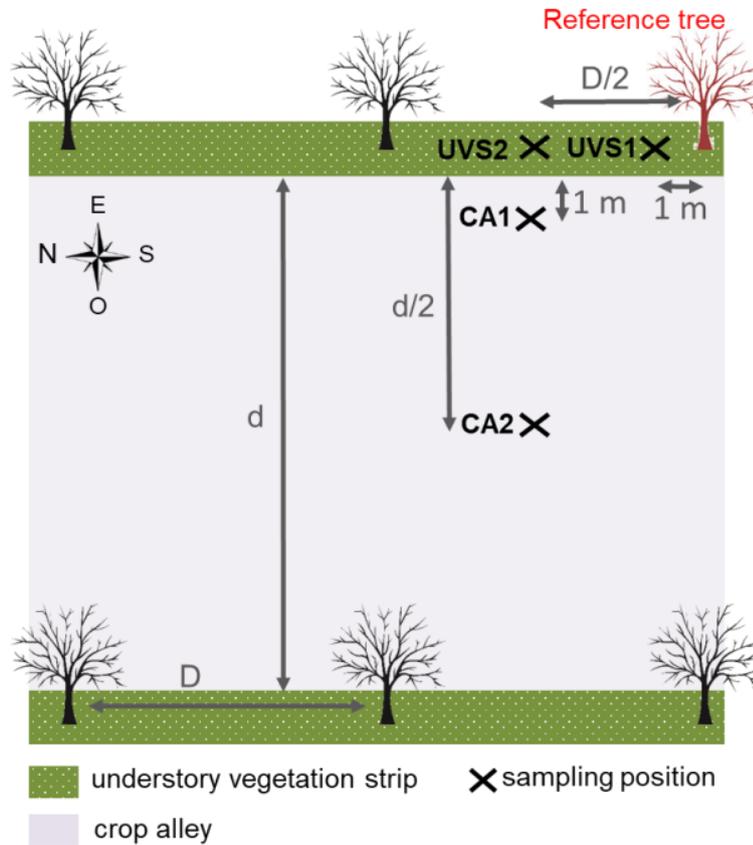
In site A, trees were planted in 2011 in 4 rows and spaced 5 m apart. A 2.3 m-wide UVS was sown after planting with *Festuca rubra* L.. Crop alleys are 36 m wide and were fertilized in February 2017 with a granular mineral fertilizer (7.5% of nitric nitrogen, 18.5% of ammoniacal nitrogen and 32.5% of sulfur trioxide) at the rate of 78 kg N. ha<sup>-1</sup>.

In site B, trees were planted in 2007 in 7 rows and spaced 6 to 6.5 m apart. A 1.7 m-wide UVS was sown with *Festuca arundinacea* Schreb. after planting. Crop alleys are 20 m wide. This field has been managed according to organic farming practices since 2010, with no mineral fertilizers or pesticides.

## 2.2. Sampling design

Four positions were defined as shown in **Fig. 1**. Two positions were sampled in the UVS, the first position at 1 m from the reference tree (UVS1) and the second at an equal distance between the reference tree and the next tree in the north direction (UVS2). Two other positions were sampled in the crop alley on a transect perpendicular to the UVS and starting from UVS2. The first position was 1 m from the UVS (CA1) and the second in the middle of the crop alley

(CA2). There were 5 replications of this sampling design for each site. All analyses described below were carried out for each position and replicate for the 0-20 cm soil depth, as it was the maximum tillage depth reached more than 15 years ago, both sites being since under reduced tillage. All reference trees were of *Prunus avium* species.



**Fig. 1** Sampling design. This design was applied for each site, with 5 replicates per site

### 2.3. Vegetation characteristics

Ground cover by vegetation and associated litter was determined in 1\*1 m frames. Aboveground vegetation and associated litter were collected within 50\*50 cm frames (Tadmor et al. 1975). Alive and dead roots, as well as litter incorporated into the soil, were collected in soil cores of 25 cm wide and 20 cm depth. Roots and litter found belowground were washed with water in order to remove residual soil. All vegetation and associated litter were then oven-dried one week at 65 °C to determine biomass and necromass. Roots that could be attributed to the tree were weighed separately. In the UVS of site A, a very dense mat of roots and belowground litter was present, and living fine roots could not be separated from dead roots and belowground litter.

#### **2.4. SOC and nutrient contents**

Soil was sampled from the previously described soil cores and air-dried for two days to reach around 10% of gravimetric water content. Soil was then sieved to 2 mm and stored at 4°C.

SOC and total N contents were determined with an elemental analyzer in 15 mg samples of soil ground under 200 µm and oven-dried at 40°C during 24 hours (Thermo Fisher Scientific Flash 2000 , sensitivity 0.5 µg). Available P was extracted from 10 g equivalent dry soil using the Olsen method, and measured by the Malachite green method (Ohno and Zibilske 1991) using an absorbance microplate reader at 630 nm (Dialab ELx808). Soil mineral N was extracted from 10 g equivalent dry soil with 40 mL of 1 M KCl solution and measured by continuous flow colorimetry (SKALAR SA 3000 flow analyser). Soil bulk density and soil fine-element bulk density (excluding particles bigger than 2 mm in diameter) were determined following the cylinder method (Blake and Hartge 1986) at two depths (0-10 cm and 10-20 cm soil layers). The SOC stock (Mg.ha<sup>-1</sup>) in the 0-20 cm soil layer is the product of SOC content with soil fine-element mass, itself the product of fine-element bulk density and volume of the 0-20 cm layer. For each site, SOC stocks were adjusted to an equivalent soil mass basis (Ellert and Bettany 1995).

#### **2.5. Microbial biomass**

Microbial biomass C, N and P were determined using the fumigation-extraction method as described by Vance et al. (1987) for C, Brookes et al. (1985) for N and Brookes et al. (1982) for P, from soil sieved at 2 mm and stored at 4°C. Briefly, around 10 g of equivalent dry soil were exposed to chloroform vapors during 24 hours. Soluble C and N were extracted with 40 ml of K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution at 0.025 M in fumigated and non-fumigated soils while soluble P was extracted with 200 ml of NaHCO<sub>3</sub> at 0.5 M. The extracts were then shaken for one hour at ambient temperature and centrifuged at 4000 RPM. C and N contents were determined using a dissolved carbon analyzer (SHIMADZU TOC-V CSH/CSN, sensitivity at 5%) and P was determined using the Malachite green method (Ohno and Zibilske 1991) using an absorbance microplate reader at 630 nm (Dialab ELx808). Microbial biomass C, N and P per g of soil were obtained from the difference in soluble C, N and P between the fumigated and non-fumigated samples using an extraction efficiency coefficient for microbial biomass of 0.45 for C and N and 0.40 for P (Jenkinson et al. 2004).

## 2.6. Macro-invertebrate communities

Macro-invertebrates were hand-sorted (Smith et al. 2008b), identified and counted in previously described soil cores. We kept soil macrofauna in 70% ethanol.

All macro-invertebrates were at minimum identified to family level, except for Arachnida, Heteroptera, and Geophilomorpha that were identified to order level (see **Table S1, Supplementary materials**). Gastropoda, Isopoda and Dermaptera, as well as *Polydesmus* sp. and Lithobiomorpha, were identified to genus level according to Germain (1931), Vilvens et al. (2008), Vandel (1960) and Séchet and Noël (2015), respectively. Adult Lumbricidae and Carabidae were identified to species level (Jeannel 1942; Bouché 1972; Horellou 2006). Unidentified larvae were classified into morphological groups following Paulian (1956). We calculated density (number of individuals per m<sup>2</sup>) for each class level.

Taxonomic diversity was studied at the genus and family level, through taxonomic richness, Shannon index and Pielou evenness index. In order to remove bias due to differences in macrofauna density, a rarefied taxonomic richness was calculated (Hurlbert 1971).

Functional community structure was studied through feeding group distribution. We classified macro-invertebrates into litter-feeder, animal-feeder and plant-feeder classes (see **Table S1, Supplementary materials**). Following Clough et al. (2007), recorded Staphylinidae subfamilies were all considered as animal-feeders. Carabidae were separated into animal-feeders and plant-feeders (seed-eating) following Honek et al. (2003). As earthworms presented large differences in size with other macro-invertebrates found, their functional community structure was studied separately. They were classified into endogeic, anecic and epigeic ecomorphological categories (see **Table S1, Supplementary materials**).

## 2.7. Statistical analyses

Two-way analyses of variance were used to test the effect of the interaction between factors position and site for studied variables (see **Fig. S1, Supplementary materials** for an overview of the data analysis strategy). When the interaction between site and position had a significant effect, we assumed that patterns of response to position differed between sites. Position effect was then tested for each site separately in a one-way analysis of variance. On the contrary, when the interaction between site and position had no significant effect, we assumed that patterns of response to the position were similar between sites. Position effect was then tested for both sites

together on a linear mixed model, with site used as a random factor. For macro-invertebrate abundance data, generalized linear models fitted with the quasi Poisson law and generalized linear mixed models fitted with the binomial negative law were used instead of linear models as advised for discrete count data. Chi2 tests were performed on these models to determine significant effects of the factors studied. Post-hoc Tukey tests were performed for multiple comparisons. Significance levels were fixed at 5%. All analyses were performed using car, lme4 and vegan packages of R statistical software (version 3.3.2).

### 3. Results

#### 3.1. Vegetation characteristics

Roots and litter were mostly from herbaceous vegetation, and tree roots were almost only present in UVS1 (**Table 2**). The interaction between the factors site and position was not significant for vegetation biomass and necromass (see **Table S2, Supplementary materials**). Aboveground and belowground vegetation biomass and necromass were significantly higher in the UVS than in the crop alley in both sites (**Table 3**). Ground cover was also higher in the UVS (between 90% and 100%) than in the crop alley (around 50%) (data not shown). In the UVS of site A, vegetation was almost only composed of *Festuca rubra* as other species represented less than 2% of the ground cover on average (data not shown). In The UVS of site B, vegetation was almost only composed of *Festuca arundinacea* as other species represented less than 3% of the ground cover on average (data not shown). No significant difference was found between the two positions of the UVS, or between the two positions of the crop alley for aboveground or belowground vegetation biomass and necromass (**Table 3**).

#### 3.2. SOC and nutrients contents

Site A presented significantly higher values for SOC and nutrient contents than site B (**Table 2**, statistical data not shown). However, the interaction between the factors site and position was only significant for mineral N content (see **Table S2, Supplementary materials**). SOC and Olsen P contents were significantly higher in the UVS than in the crop alley (**Table 3**). They were respectively 12% and 23% higher in the UVS than in the crop alley in site A, and respectively

## Chapitre 2

**Table 2** Mean values  $\pm$  standard deviation of vegetation biomass and necromass, and chemical properties of the 0-20 cm soil layer for each position and site. SOC is the soil organic C. Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1 m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively)

	Aboveground vegetation		Belowground vegetation	SOC and soil nutrients				
	Biomass (g.m <sup>-2</sup> )	Necromass (g.m <sup>-2</sup> )	Biomass + necromass (tree roots in brackets) (g.m <sup>-2</sup> )	SOC (g.kg <sup>-1</sup> )	SOC stock (Mg.ha <sup>-1</sup> )	Total N (g.kg <sup>-1</sup> )	Mineral N (mg.kg <sup>-1</sup> )	Olsen P (mg.kg <sup>-1</sup> )
Site A								
UVS1	122 $\pm$ 19	171 $\pm$ 32	885 $\pm$ 80 (40 $\pm$ 29)	16.0 $\pm$ 1.1	23.7 $\pm$ 1.6	1.9 $\pm$ 0.1	24.1 $\pm$ 5.3	11.6 $\pm$ 2.3
UVS2	127 $\pm$ 55	150 $\pm$ 117	986 $\pm$ 381	16.0 $\pm$ 0.8	23.6 $\pm$ 1.2	1.9 $\pm$ 0.1	23.3 $\pm$ 3.4	12.9 $\pm$ 1.7
CA1	75 $\pm$ 22	43 $\pm$ 28	200 $\pm$ 92 (0)	13.7 $\pm$ 1.0	20.3 $\pm$ 1.5	1.7 $\pm$ 0.1	32.9 $\pm$ 6.8	7.9 $\pm$ 1.7
CA2	115 $\pm$ 32	47 $\pm$ 29	186 $\pm$ 99 (0)	14.6 $\pm$ 1.5	21.6 $\pm$ 2.2	1.7 $\pm$ 0.2	40.2 $\pm$ 5.3	10.9 $\pm$ 2.0
Site B								
UVS1	226 $\pm$ 45	330 $\pm$ 92	466 $\pm$ 100 (163 $\pm$ 136)	14.5 $\pm$ 1.4	37.9 $\pm$ 2.1	1.6 $\pm$ 0.1	9.2 $\pm$ 1.1	7.1 $\pm$ 2.5
UVS2	241 $\pm$ 47	316 $\pm$ 48	650 $\pm$ 139 (73 $\pm$ 48)	14.6 $\pm$ 1.0	38.2 $\pm$ 2.3	1.6 $\pm$ 0.1	10.9 $\pm$ 3.4	6.7 $\pm$ 2.0
CA1	140 $\pm$ 42	38 $\pm$ 23	248 $\pm$ 87 (0)	13.2 $\pm$ 1.1	34.5 $\pm$ 2.4	1.5 $\pm$ 0.1	10.2 $\pm$ 0.8	3.4 $\pm$ 1.2
CA2	140 $\pm$ 55	14 $\pm$ 7	158 $\pm$ 36 (0)	13.1 $\pm$ 0.8	34.4 $\pm$ 1.4	1.5 $\pm$ 0.1	10.4 $\pm$ 1.9	3.3 $\pm$ 1.1

**Table 3** Results of testing position effect in linear mixed models with site used as a random factor for vegetation biomass, soil organic C (SOC) and nutrient content and microbial biomass (0-20 cm depth).

The p-values refer to the position effect. Different letters indicate significant differences (p-value < 0.05) between positions for a given parameter after a Tukey multiple comparison test. Mineral N is not presented as patterns were different between sites. Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1 m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively)

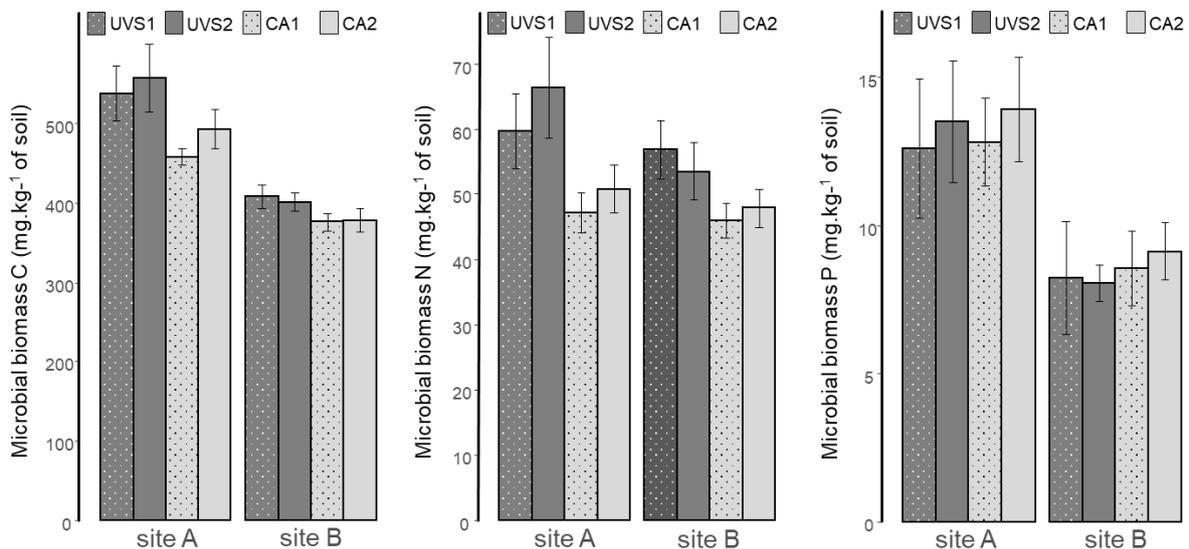
	Vegetation biomass and necromass (g.m <sup>-2</sup> )		SOC and soil nutrients				Microbial biomass (mg.kg <sup>-1</sup> )		
	Aboveground #	Belowground #	SOC (g.kg <sup>-1</sup> )	SOC stock (Mg.ha <sup>-1</sup> )	Total N (g.kg <sup>-1</sup> )	Olsen P (mg.kg <sup>-1</sup> )	C	N	P
p-value	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.05	< 0.001	< 0.05	< 0.01	0.91
Mean values (both sites together)									
UVS1	5.98 a	6.48 a	15.3 a	30.8 a	1.72	9.34 a	473 ab	58.3 a	10.4
UVS2	5.96 a	6.66 a	15.3 a	30.9 a	1.73	9.79 a	479 a	59.9 a	10.8
CA1	4.95 b	5.36 b	13.4 b	27.4 b	1.62	5.65 b	418 b	46.6 b	10.7
CA2	5.01 b	5.09 b	13.9 b	28.0 b	1.62	7.10 b	435 ab	49.4 ab	11.5

# log-transformed values

11% and 106% higher in the UVS than in the crop alley in site B (**Table 2**). No significant difference was found between the two positions of the crop alley or between the two positions of the UVS for SOC and Olsen P contents (**Table 3**). A similar response was observed for SOC stock in the 0-20 cm soil layer (**Table 3**). Soil mineral N varied significantly between positions for site A only (data not shown), with increasing values from the UVS to the middle of the crop alley (**Table 2**).

### 3.3. Microbial biomass

Soil microbial biomass C was significantly higher in site A (548 mg C.kg<sup>-1</sup> in the UVS and 476 mg C.kg<sup>-1</sup> in the crop alley) than in site B (405 mg C.kg<sup>-1</sup> in the UVS and 377 mg C.kg<sup>-1</sup> in the crop alley) as shown in **Fig. 2** (statistical data not shown). Microbial N was however similar in both sites (60 mg.kg<sup>-1</sup> in average in the UVS and 48 mg.kg<sup>-1</sup> in the crop alley) (**Fig. 2**, statistical data not shown). There was no significant interaction between the factors site and position on soil microbial biomass C, N and P (see **Table S2, Supplementary materials**). Microbial C and N were significantly higher only in UVS2 than in CA1 for both sites (**Table 3**). Similar patterns were observed for different substrate-induced microbial respirations measured on the same samples (presented in **Supplementary materials**, see **Table S2, Table S4 and Fig. S2**).



**Fig. 2** Mean values of soil microbial biomass C, N and P determined by the fumigation-extraction method for each position at site A and site B (0-20 cm depth). Error bars represent standard error. Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1 m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively)

Microbial P was not significantly different between positions (**Table 3**). It was around 13 mg.kg<sup>-1</sup> in site A and 9 mg.kg<sup>-1</sup> in site B (**Fig. 2**).

### 3.4. Macro-invertebrate communities

Macro-invertebrate density was similar in both sites, with 514 individuals per m<sup>2</sup> on average in site A and 603 individuals per m<sup>2</sup> on average in site B (**Table 4**). The interaction between the factors site and position was significant (see **Table S2, Supplementary materials**). Indeed, macro-invertebrate density was significantly lower in CA1 than in the UVS in site A (p-value < 0.001), but not in site B (**Table 4**).

**Table 4** Mean densities (individuals per m<sup>2</sup>) for each taxon (at class level) of macro-invertebrates for each site and position, determined by hand sorting of 25\*25\*20 cm soil cores.

	Site A				Site B			
	UVS1	UVS2	CA1	CA2	UVS1	UVS2	CA1	CA2
Oligochaeta <sup>a</sup>	<b>195 ± 132</b> <b>ab</b>	<b>182 ± 84</b> <b>ab</b>	<b>96 ± 30</b> <b>b</b>	<b>285 ± 178</b> <b>a</b>	406 ± 291	512 ± 178	486 ± 133	278 ± 68
Chilopoda	10 ± 21	16 ± 11	13 ± 21	26 ± 18	26 ± 21	13 ± 13	10 ± 14	26 ± 24
Diplopoda	102 ± 137	144 ± 89	38 ± 35	61 ± 62	13 ± 13	16 ± 11	13 ± 13	22 ± 24
Arachnida <sup>b</sup>	13 ± 13	26 ± 33	0 ± 0	0 ± 0	13 ± 18	3 ± 7	3 ± 7	0 ± 0
Gastropoda	22 ± 27	10 ± 14	10 ± 21	22 ± 24	16 ± 11	10 ± 14	10 ± 9	10 ± 14
Crustacea <sup>c</sup>	<b>122 ± 109</b> <b>a</b>	<b>208 ± 88</b> <b>a</b>	<b>10 ± 14</b> <b>b</b>	<b>6 ± 9</b> <b>b</b>	<b>26 ± 27</b> <b>a</b>	<b>22 ± 24</b> <b>a</b>	<b>0 ± 0</b> <b>b</b>	<b>6 ± 9</b> <b>b</b>
Insecta	160 ± 106	154 ± 63	58 ± 45	64 ± 41	80 ± 38	109 ± 63	157 ± 180	128 ± 160
Total	<b>624 ± 304</b> <b>a</b>	<b>739 ± 280</b> <b>a</b>	<b>224 ± 67</b> <b>b</b>	<b>464 ± 225</b> <b>ab</b>	579 ± 295	685 ± 138	678 ± 313	470 ± 138

A significant effect of position after Chi2 tests on generalized linear models for each site separately (Oligochaeta) or on generalized linear mixed models with site used as a random factor (other classes) is indicated by values in bold. In these cases, different letters indicate significant differences between positions after Tukey multiple comparison tests. Significance level is 5%. Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1 m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively)

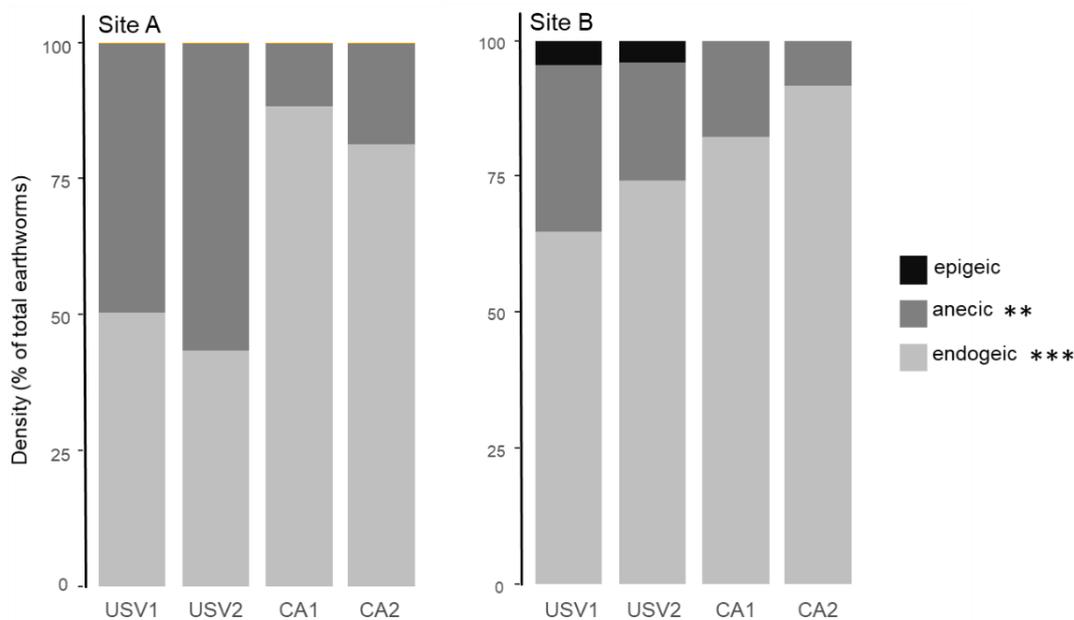
<sup>a</sup> earthworms only

<sup>b</sup> spiders only

<sup>c</sup> woodlice only

No difference was observed between positions at the family level for rarefied taxonomic richness and Shannon index. In both sites, rarefied taxonomic richness index and Shannon index at the genus level were significantly higher in the UVS than in CA1 (p-value < 0.05) (see **Table S3, Supplementary materials**). Pielou evenness index did not vary with position, either at genus or at the family level (see **Table S3, Supplementary materials**).

The interaction between the factors site and position was significant for earthworm densities (see **Table S2, Supplementary materials**). In site A, mean earthworm density was significantly lower in CA1 than in CA2 ( $p$ -value  $< 0.05$ ), while in site B no significant difference was found (**Table 4**). Epigeic earthworms were scarce and found only in the UVS of site B (**Fig. 3**). Endogeic earthworms dominated in the crop alley in site A, and in all positions in site B. The percentage of endogeics in the earthworm density was significantly lower in the UVS (47% in site A and 70% in site B) compared to the crop alley (85% in site A and 87% in site B). Oppositely, the percentage of anecics in earthworm density was significantly higher in the UVS (53% in site A and 25% in site B), compared to the crop alley (15% in site A and 13% in site B). In site A, the shift was abrupt between the UVS and the crop alley. In site B, this shift was more progressive with the suggestion of intermediate values in CA1 (**Fig. 3**).



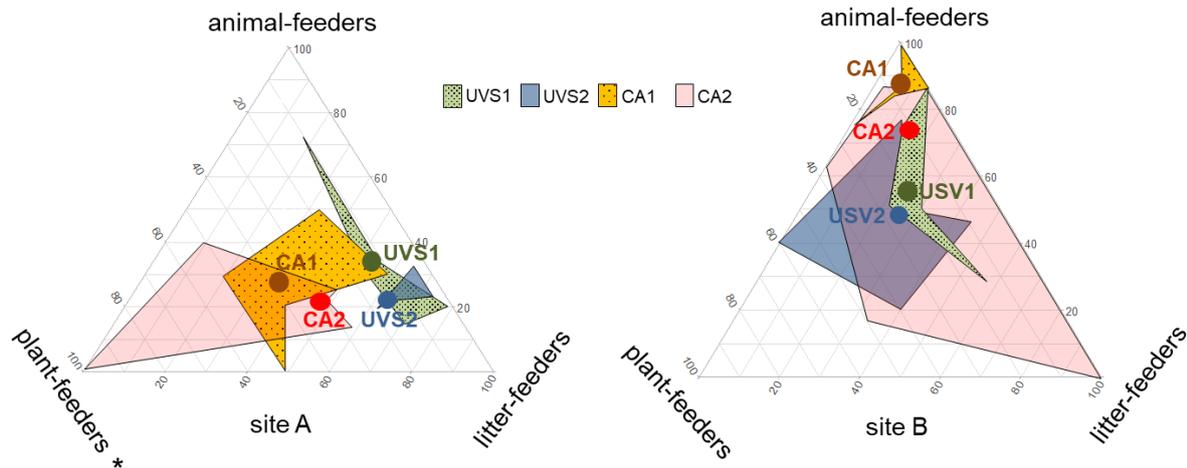
**Fig. 3** Percentage of earthworms belonging to endogeic, anecic and epigeic categories for each position and each site. A significant effect of position after Chi2 tests on linear mixed models (site used as a random factor) is indicated by asterisks. Significance level is 5%. A significant effect is due to significant differences between the understory vegetation strip and the crop alley (after a Tukey multiple comparison test). Positions USV1 and USV2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1 m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively)

\*\* :  $p$ -value  $< 0.01$

\*\*\* :  $p$ -value  $< 0.001$

Woodlice were the only other taxon at class level to present significant differences in density between positions. Woodlice presented a significantly higher density in the UVS compared to the crop alley in both sites ( $p$ -value  $< 0.001$ , **Table 4**). Feeding group distribution (earthworms

excepted) was different between the UVS and the crop alley for site A (**Fig. 4**). This was due to a significant increase in the percentage of plant-feeders in CA2 compared to the UVS which was dominated by litter-feeders. Position CA1 presented intermediate values. For site B, the feeding group distribution of the macro-invertebrate community was not clearly distinct between positions, except for position CA1 that showed a lower variability and was almost entirely composed of animal-feeders (**Fig. 4**).



**Fig. 4** Feeding group distribution of the macro-invertebrate community (earthworms excluded) in each site. Percentages of individuals belonging to three feeding groups can be read on the triangle sides. Positions are represented by the polygons, with individual samples being the corners of the polygons. Points represent median values for each position. Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1 m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively)

\* Significant effect of position after a Chi2 test on a linear mixed model (site used as a random factor) (p-value < 0.05)

## 4. Discussion

### 4.1. Vegetation characteristics of sown UVSs

While the herbaceous vegetation was expected to be visibly affected by tree root competition close to the tree, the UVS biomass and necromass did not vary with distance from the nearest tree. This is in agreement with results of Battie-Laclau et al. (2019) who measured herbaceous root length density in two young French alley cropping sites, including site B of this study. This could be explained because both sites were sown just after tree plantation with *Festuca* sp. It colonized more than 90% of the ground cover, underlying possible competitiveness. *Festuca rubra*, planted in site A, is particularly known to form a dense network of vegetation at the soil

surface and to tolerate shade and stress (Bergkvist et al. 2010). In addition, root biomass and root length density of grass buffers planted with three herbaceous species, including the species planted in site B *Festuca arundinacea*, were not affected by the presence or absence of 6 year-old trees in Missouri (Kumar et al. 2010). Competition with grass species has been shown to induce a deeper tree rooting system in a French silvopasture planted with young *Prunus avium* trees (Dawson et al. 2001). Grass species planted in UVSs could have outcompeted trees in the 20 first soil centimeters in the present study. However, sampling took place in early Spring while the vegetation usually reaches a peak in biomass around late Spring. This experiment does not allow to conclude on the effect of tree distance on the maximum growth of vegetation of the UVS.

#### **4.2. Do soil fertility and organisms under UVSs present specific properties?**

SOC contents in the 0-20 cm soil layer of 14.2 g.kg<sup>-1</sup> and 13.2 g.kg<sup>-1</sup> (in site A and B respectively) for the crop alley, and of 16 g.kg<sup>-1</sup> and 14.5 g.kg<sup>-1</sup> (in site A and B respectively) for the UVS were consistent with values found by Cardinael et al. (2017) for six year-old French alley cropping sites. Similarly to this study, they found significantly less SOC in the crop alley compared to the UVS in the first 10 soil cm, as did Udawatta et al. (2008) in a Missouri site. SOC content and stocks are long-term indicators because they change slowly (Powlson et al. 1987) and reflect changes over years to decades. These results could indicate an early legacy effect of the accumulation of non-exported organic matter from the herbaceous vegetation. In agreement with that suggestion, Van Vooren et al. (2017) found in a meta-analysis an increase in soil carbon stock by 25% in grassy field margins compared to adjacent fields, as did Cardinali et al. for SOC content (2014). In addition, grassy field margins also strongly reduce erosion (Van Vooren et al. 2017), which could reduce carbon losses. The UVS alone is thus likely able to drive an increase in SOC content.

Interestingly, soil microbial biomass C, N and P did not differ significantly between the UVS and the middle of the crop alley, as microbial respiration. This is surprising as UVSs and crop alleys differ in terms of quantity and quality of organic matter additions to the soil, which are known to affect microorganism biomass and activity (Porazinska et al. 2003; Liang et al. 2017). Contrary to us, Beuschel et al. (2019) found an increase of 59% in microbial biomass C and respiration in the UVS compared to the crop alley for the first 5 soil centimeters. The increase in microbial biomass could be restricted to the very first centimeters, and the effect may have

been diluted by the higher depth sampled here. Guillot et al. (2019) reported higher values in the UVS compared to the crop alley for microbial biomass C, N and P for the 15 first cm depth in a 20 year-old alley cropping site in the south of France, meaning an effect on a higher depth could be visible for older sites. They found similar values to this study in the UVS (427 mg C.kg<sup>-1</sup>), but values were divided by two in the crop area in their study compared to this study (219 mg C.kg<sup>-1</sup>). The effect of the UVS could be more visible in soils initially poor in microbial biomass, where even a slight increase in organic matter addition to the soil would increase microbial growth, while in soils already rich in microbial biomass an increase in organic matter addition could have only little effect.

Similarly, macro-invertebrate density, taxonomic richness and diversity were not significantly higher in the UVS positions than in the middle of the crop alley. The high variability in macro-invertebrate density could explain this lack of significance. However, observed patterns suggest a decrease in macro-invertebrate density in the crop alley, with densities decreasing from 682 individuals per m<sup>2</sup> in the UVS to 464 individuals per m<sup>2</sup> in CA2 in site A, and from 629 individuals per m<sup>2</sup> to 470 individuals per m<sup>2</sup> in site B. In agreement with this suggestion, an overall increase in macro-invertebrate density (Smith et al. 2008c) and diversity (Smith et al. 2008a) was shown in grassy field margins compared to crop fields in the UK with a similar method. Woodlice, which are litter-feeders, were the only taxonomic group with significantly higher abundance in the UVS than in the crop alley in sites studied. Hassall and Tuck (2007) explained that woodlice shelter in buffered microclimates because they are sensitive to rapid drops in temperature and seek to avoid desiccation. UVSs, with a dense ground cover, large inputs of organic matter to the soil and less disturbance than the crop alley, could be interesting habitats for woodlice. The effect of the UVS in changing macro-invertebrate functional community structure is emphasized in site A, which presented a higher percentage of plant-feeders in crop alleys and of litter-feeders in UVSs. This was less obvious in site B, where macro-invertebrate feeding group distribution was highly variable in the center of the crop alley, maybe due to the highly heterogeneous distribution in this site of Staphylinidae animal-feeders capable of flight dispersal.

Mean values of 190 and 382 earthworms per m<sup>2</sup> were found in the crop alley for sites A and B respectively. The values found by Cardinael et al. (2019) in different agroforestry plots in France were quite similar with  $289 \pm 85$  earthworms per m<sup>2</sup>. No significant differences were found in earthworm densities between the UVS and the middle of the crop alley, even if the middle of the crop alley presented a trend of lower values in site B. These results are in

contradiction with several studies (Crittenden et al. 2015; Cardinael et al. 2019) that found higher earthworm densities in field margins or UVSs than in crop fields. However, Lagerlöf et al. (2002) found higher earthworm density in a Swedish field than in field margins planted with grasses and forbs. Smith et al. (2008a, c) also found variable results for earthworm densities between grassy field margins and crop fields.

Earthworm distribution in ecomorphological categories was affected by position, with a shift from anecic and epigeic worms in the UVS to endogeic worms in the crop alley. As anecic and epigeic earthworms feed on surface plant litter, they are probably favored by the high ground cover and vegetation biomass in the UVS. Soil tillage in the crop alleys may be negatively impacting anecic earthworms but increasing the incorporation of residues and the consequent population of endogeic earthworms, such as was observed in crop alleys in the present study, in agreement with Chan (2001).

### **4.3. Do UVSs influence soil fertility and organisms in their vicinity?**

The two crop alley positions had similar SOC contents, irrespective of their distance from the UVS. Pardon et al. (2017) found higher SOC values close to old boundary UVSs in Belgium and Bambrick et al. (2010) found an increase in SOC content with UVS proximity in Quebec and Ontario in fields of less than 10 years, but only up to 0.75 m from the UVS. In addition Pardon et al. (2017) found no effect of UVS distance on SOC values in young alley cropping sites. The sites studied could still be too young to detect any effect of UVS proximity. In addition, D'Acunto et al. (2014) found that the SOC stock increased close to woody field margins but not close to grassy field margins, suggesting a limited effect of herbaceous vegetation alone on soil in its vicinity.

Microbial biomass C and N were higher in the UVS compared to the closest position in the crop alley, as microbial respiration. This means that 1 m away from the UVS, there was a specific decrease in microorganism biomass compared to the UVS. Nii-Annang et al. (2009) did not find any variation of microbial biomass and respiration between UVS and crop alley positions in a German 9 year-old agroforestry plot and in German sites from 5 to 8 years old (Beuschel et al. 2019). The decrease in microorganism biomass 1 m away from the UVS could be restricted to the close vicinity of the UVS, or to site-specific conditions. In site A, mineral nitrogen fertilizer was applied. Lower values were found for mineral N close to the UVS compared to the middle of the crop alley. This could be due to competition for nutrients between

the crop, the UVS, and to a lesser extent the tree. Gikas et al. (2016) suggested that mineral N is taken up by the tree for its growth in its vicinity in Greek agroforestry plots. However, there was no additional roots close to the UVS in site A. The decrease in mineral N 1 m away from the UVS could also be due to an edge effect, with less mineral N applied in the edges of the crop alley. This edge effect is also likely to happen for other amendments, like manure, and for soil tillage. This could explain the decrease observed for microbial parameters 1 m away from the UVS for site A. This edge effect is supported by several studies performed at harvest time (Chirko et al. 1996; Peng et al. 2009; Battie-Laclau et al. 2019; Swieter et al. 2019) which found a reduction in aboveground biomass crop yield close to the UVS in young alley cropping systems.

Macro-invertebrate density was lower 1 m away from the UVS compared to the UVS in site A. This was particularly due to a decrease in earthworm density in this position. Movements of earthworms by density-dependent or low-quality habitat dispersal were described by Mathieu et al. (2010) in mesocosm experiments. Macro-invertebrates could be attracted by the lack of perturbations, higher ground cover and higher resource availability in the UVS, thus potentially leading to lower densities in its vicinity as observed in site A. In site B, earthworm distribution and density 1 m away from the UVS was intermediate between that of the UVS and of the middle of the crop alley. This is in agreement with Price and Gordon (1999), who noted a decrease in earthworm abundance in a transect leading from the UVS to the center of the crop alley in an 11 year-old plot in Ontario. In this site, high densities in the UVS could have induced movements of earthworms in their vicinity. The dynamics of macro-invertebrate communities and the potential role of the UVS as a sink or a source for soil fauna is thus a key element to study in order to understand spatial variation in soil functioning in alley cropping systems. In addition, soil organisms and particularly macro-invertebrates present seasonal variations, as does the herbaceous vegetation. The results of this study suggest a possible response of these parameters for early Spring, but the effects of the UVS could depend on the season, due to changes in temperature, soil moisture, and respective development of the crop and UVS vegetation.

## 5. Conclusions

Sown UVSs induced a global homogeneity in the 20 first soil centimeters of the tree rows of two young temperate alley cropping systems, independently of tree distance. This herbaceous vegetation provided an undisturbed environment with a high ground cover, which presented an increased SOC content compared to the crop alleys. These UVSs hosted a large and specific community of soil macro-invertebrates, especially surface litter-feeders sensitive to disturbance (woodlice, epigeic and anecic earthworms). However, we did not detect a strong increase in soil microbial biomass and activity in the UVS, maybe because microbial parameters were impacted by UVS presence in the very first soil centimeters only. UVS vicinity negatively impacted microbial parameters while macro-invertebrates presented variable answers to UVS proximity within the crop alley. It remains unclear if this edge effect is due to agricultural practices or to the tree row vegetation. The role of tree rows as sources or sinks for organisms requires clarification, pleading for studies of seasonal dynamics according to distance from the UVS.

**References:**

- Bambrick AD, Whalen JK, Bradley RL, et al (2010) Spatial heterogeneity of soil organic carbon in tree-based intercropping systems in Quebec and Ontario, Canada. *Agrofor Syst* 79:343–353. <https://doi.org/10.1007/s10457-010-9305-z>
- Battie-Laclau P, Taschen E, Plassard C, et al (2019) Role of trees and herbaceous vegetation beneath trees in maintaining arbuscular mycorrhizal communities in temperate alley cropping systems. *Plant Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04181-z>
- Bergkvist G, Adler A, Hansson M, Weih M (2010) Red fescue undersown in winter wheat suppresses *Elytrigia repens*. *Weed Res* 50:447–455. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2010.00789.x>
- Beuschel R, Piepho H-P, Joergensen RG, Wachendorf C (2019) Similar spatial patterns of soil quality indicators in three poplar-based silvo-arable alley cropping systems in Germany. *Biol Fertil Soils* 55:1–14. <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1324-3>
- Blake GR, Hartge KH (1986) Bulk density. In: American Society of Agronomy - Soil Science Society of America (ed) *Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical Methods - Agronomy Monograph no. 9, 2nd edn.* Madison, pp 363–375
- Boinot S, Poulmarc'h J, Mézière D, et al (2019) Distribution of overwintering invertebrates in temperate agroforestry systems: Implications for biodiversity conservation and biological control of crop pests. *Agric Ecosyst Environ* 285:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106630>
- Bouché MB (1972) *Lombriciens de France: écologie et systématique.* Inra, Paris
- Brookes PC, Landman A, Prudent G, et al (1985) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol Biochem* 17:837–842. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(85\)90144-0](https://doi.org/10.1016/0038-0717(85)90144-0)
- Brookes PC, Powlson DS, Jenkinson DS (1982) Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biol Biochem* 14:319–329. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(82\)90001-3](https://doi.org/10.1016/0038-0717(82)90001-3)
- Cardinael R, Chevallier T, Cambou A, et al (2017) Increased soil organic carbon stocks under agroforestry: A survey of six different sites in France. *Agric Ecosyst Environ* 236:243–255. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.12.011>

- Cardinael R, Hoeffner K, Chenu C, et al (2019) Spatial variation of earthworm communities and soil organic carbon in temperate agroforestry. *Biol Fertil Soils* 55:171–183. <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1332-3>
- Cardinali A, Carletti P, Nardi S, Zanin G (2014) Design of riparian buffer strips affects soil quality parameters. *Appl Soil Ecol* 80:67–76. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.04.003>
- Chan KY (2001) An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils. *Soil Tillage Res* 57:179–191. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00173-2)
- Chirko CP, Gold MA, Nguyen P V., Jiang JP (1996) Influence of orientation on wheat yield and photosynthetic photon flux density (Q(p)) at the tree and crop interface in a Paulownia-wheat intercropping system. *For Ecol Manage* 89:149–156. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(96\)03853-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(96)03853-4)
- Clough Y, Kruess A, Tschardt T (2007) Organic versus conventional arable farming systems: Functional grouping helps understand staphylinid response. *Agric Ecosyst Environ* 118:285–290. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.05.028>
- Critchley CNR, Fowbert JA, Sherwood AJ, Pywell RF (2006) Vegetation development of sown grass margins in arable fields under a countrywide agri-environment scheme. *Biol Conserv* 132:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.03.007>
- Crittenden SJ, Huerta E, de Goede RGM, Pulleman MM (2015) Earthworm assemblages as affected by field margin strips and tillage intensity: An on-farm approach. *Eur J Soil Biol* 66:49–56. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.11.007>
- D'Acunto L, Semmartin M, Ghera CM (2014) Uncropped field margins to mitigate soil carbon losses in agricultural landscapes. *Agric Ecosyst Environ* 183:60–68. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.10.022>
- Dawson LA, Duff EI, Campbell CD, Hirst DJ (2001) Depth distribution of cherry (*Prunus avium* L.) tree roots as influenced by grass root competition. *Plant Soil* 231:11–19. <https://doi.org/10.1023/A:1010383506446>
- Doblas-Miranda E, Paquette A, Work TT (2014) Intercropping trees' effect on soil oribatid diversity in agro-ecosystems. *Agrofor Syst* 88:671–678. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9680-y>

- Dyer LA, Letourneau D (2003) Top-down and bottom-up diversity cascades in detrital vs. living food webs. *Ecol Lett* 6:60–68. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00398.x>
- Eichhorn MP, Paris P, Herzog F, et al (2006) Silvoarable systems in Europe - past, present and future prospects. *Agrofor Syst* 67:29–50. <https://doi.org/10.1007/s10457-005-1111-7>
- Ellert BH, Bettany JR (1995) Calculation of organic matter and nutrients stored in soils under contrasting management regimes. *Can J Soil Sci* 75:529–538. <https://doi.org/10.4141/cjss95-075>
- Germain L (1931) Faune de France 21-22. Mollusques terrestres et fluviatiles. Lechevallier, Paris
- Gikas GD, Tsihrintzis VA, Sykas D (2016) Effect of trees on the reduction of nutrient concentrations in the soils of cultivated areas. *Environ Monit Assess* 188:327. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5325-0>
- Guillot E, Hinsinger P, Dufour L, et al (2019) With or without trees: Resistance and resilience of soil microbial communities to drought and heat stress in a Mediterranean agroforestry system. *Soil Biol Biochem* 129:122–135. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.011>
- Hassall M, Tuck JM (2007) Sheltering behavior of terrestrial isopods in grasslands. *Invertebr Biol* 126:46–56. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2007.00075.x>
- Honek A, Martinkova Z, Jarosik V (2003) Ground beetles (Carabidae) as seed predators. *Eur J Entomol* 100:531–544. <https://doi.org/10.14411/eje.2003.081>
- Horellou A (2006) Les Amara de France continentale et de Corse
- Hurlbert SH (1971) The Nonconcept of Species Diversity: A Critique and Alternative Parameters. *Ecology* 52:557–586. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02805-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02805-1)
- Jeannel R (1942) Faune de France 39-40. Coléoptères Carabiques - Tomes I et II. Lechevallier, Paris
- Jenkinson DS, Brookes PC, Powlson DS (2004) Measuring soil microbial biomass. *Soil Biol Biochem* 36:5–7. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.10.002>
- Kumar S, Udawatta RP, Anderson SH (2010) Root length density and carbon content of agroforestry and grass buffers under grazed pasture systems in a Hapludalf. *Agrofor Syst* 80:85–96. <https://doi.org/10.1007/s10457-010-9312-0>

- Lagerlöf J, Goffre B, Vincent C (2002) The importance of field boundaries for earthworms (Lumbricidae) in the Swedish agricultural landscape. *Agric Ecosyst Environ* 89:91–103. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(01\)00321-8](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00321-8)
- Liang X, Yuan J, Yang E, Meng J (2017) Responses of soil organic carbon decomposition and microbial community to the addition of plant residues with different C:N ratio. *Eur J Soil Biol* 82:50–55. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2017.08.005>
- Marsden C, Martin-Chave A, Cortet J, et al (2019) How agroforestry systems influence soil fauna and their functions - a review. *Plant Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04322-4>
- Mathieu J, Barot S, Blouin M, et al (2010) Habitat quality, conspecific density, and habitat pre-use affect the dispersal behaviour of two earthworm species, *Aporrectodea icterica* and *Dendrobaena veneta*, in a mesocosm experiment. *Soil Biol Biochem* 42:203–209. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.018>
- Médiène S, Valantin-Morison M, Sarthou JP, et al (2011) Agroecosystem management and biotic interactions: a review. *Agron Sustain Dev* 31:491–514. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0009-1>
- Nii-Annang S, Grünewald H, Freese D, et al (2009) Microbial activity, organic C accumulation and <sup>13</sup>C abundance in soils under alley cropping systems after 9 years of recultivation of quaternary deposits. *Biol Fertil Soils* 45:531–538. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0360-4>
- Ohno T, Zibilske LM (1991) Determination of low concentrations of phosphorus in soil extracts using Malachite green. *Soil Sci Soc Am* 55:892–895. <https://doi.org/10.2136/sssaj1991.03615995005500030046x>
- Pardon P, Reubens B, Reheul D, et al (2017) Trees increase soil organic carbon and nutrient availability in temperate agroforestry systems. *Agric Ecosyst Environ* 247:98–111. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.018>
- Park J, Newman SM, Cousins SH (1994) The effects of poplar (*P. trichocarpa* X *deltoides*) on soil biological properties in a silvoarable system. *Agrofor Syst* 25:111–118. <https://doi.org/10.1007/BF00705671>
- Paulian R (1956) Atlas des larves d'insectes de France. Boubée N. & Cie

- Peng X, Zhang Y, Cai J, et al (2009) Photosynthesis, growth and yield of soybean and maize in a tree-based agroforestry intercropping system on the Loess Plateau. *Agrofor Syst* 76:569–577. <https://doi.org/10.1007/s10457-009-9227-9>
- Porazinska DL, Bardgett RD, Blaauw MB, et al (2003) Relationships at the aboveground-belowground interface: Plants, soil biota, and soil processes. *Ecol Monogr* 73:377–395. [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(2003\)073\[0377:RATAIP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(2003)073[0377:RATAIP]2.0.CO;2)
- Powlson DS, Prookes PC, Christensen BT, et al (1987) Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol Biochem* 19:159–164. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90076-9](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90076-9)
- Price GW, Gordon AM (1999) Spatial and temporal distribution of earthworms in a temperate intercropping system in southern Ontario, Canada. *Agrofor Syst* 44:141–149. <https://doi.org/10.1023/A:1006213603150>
- Séchet E, Noël F (2015) Catalogue commenté des crustacés Isopodes terrestres de la France métropolitaine (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) Mémoires de la Société Linnéenne de Bordeaux, tome 16. Société linnéenne de Bordeaux, Bordeaux
- Seiter S, Ingham ER, William RD (1999) Dynamics of soil fungal and bacterial biomass in a temperate climate alley cropping system. *Appl Soil Ecol* 12:139–147. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(98\)00163-2](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00163-2)
- Smith J, Potts S, Eggleton P (2008a) The value of sown grass margins for enhancing soil macrofaunal biodiversity in arable systems. *Agric Ecosyst Environ* 127:119–125. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.03.008>
- Smith J, Potts S, Eggleton P (2008b) Evaluating the efficiency of sampling methods in assessing soil macrofauna communities in arable systems. *Eur J Soil Biol* 44:271–276. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.02.002>
- Smith J, Potts SG, Woodcock BA, Eggleton P (2008c) Can arable field margins be managed to enhance their biodiversity, conservation and functional value for soil macrofauna? *J Appl Ecol* 45:269–278. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2007.01433.x>
- Swieter A, Langhof M, Lamerre J, Greef JM (2019) Long-term yields of oilseed rape and winter wheat in a short rotation alley cropping agroforestry system. *Agrofor Syst* 93:1853–1864.

<https://doi.org/10.1007/s10457-018-0288-5>

- Tadmor NH, Brieghet A, Noy-meir I, et al (1975) An Evaluation of the Calibrated Weight-Estimate Method for Measuring Production in Annual Vegetation. *J Range Manag* 28:65–69. <https://doi.org/10.2307/3897582>
- Udawatta RP, Kremer RJ, Adamson BW, Anderson SH (2008) Variations in soil aggregate stability and enzyme activities in a temperate agroforestry practice. *Appl Soil Ecol* 39:153–160. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.12.002>
- Van Vooren L, Reubens B, Broekx S, et al (2017) Ecosystem service delivery of agri-environment measures: A synthesis for hedgerows and grass strips on arable land. *Agric Ecosyst Environ* 244:32–51. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.04.015>
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol Biochem* 19:703–707. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)
- Vandel A (1960) Faune de France 64-66. Isopodes terrestres. Lechevallier, Paris
- Varah A, Jones H, Smith J, Potts SG (2013) Enhanced biodiversity and pollination in UK agroforestry systems. *J Sci Food Agric* 93:2073–2075. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6148>
- Vilvens C, Marea B, Meulemane B, et al (2008) Mollusques terrestres et dulcicoles de Belgique. Tomes I, II, III. Société Belge de Malacologie

## Supplementary materials

### Supplementary information: Substrate-induced respirations (material and methods)

Microbial potential respiration was measured by substrate-induced respiration, determined with the MicroResp<sup>TM</sup> method described by Campbell et al. (2003). Shortly, deep-well plates were filled with fresh soil sieved at 2 mm and incubated for one week at 20°C. We then added glucose, glycine and catechol at 10 µg.mg<sup>-1</sup> of dry soil to reach a similar final gravimetric water content of 28%. Four repetitions were performed per substrate for each sample. Plates were incubated for 6 hours at 28°C. Detection plates were read before and after incubation with a spectrometer (Victor 3 of Perkin Elmer) at 570 nm. Substrate-induced respiration was then expressed as µg CO<sub>2</sub> .mg<sup>-1</sup> of soil .h<sup>-1</sup>, on an equivalent dry soil basis. A control with no substrate was realized to determine basal respiration. The metabolic quotient index qCO<sub>2</sub> was calculated as basal respiration divided by glucose-induced respiration (maximal induced respiration) (Saul-Tcherkas and Steinberger 2009).

### References

- Campbell CD, Chapman SJ, Cameron CM, et al (2003) A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Appl Environ Microbiol* 69:3593–3599. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3593>
- Saul-Tcherkas V, Steinberger Y (2009) Substrate utilization patterns of desert soil microbial communities in response to xeric and mesic conditions. *Soil Biol Biochem* 41:1882–1893. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.06.011>

**Table S1**

Mean macro-invertebrate densities  $\pm$  standard deviation for each site and each position at the lowest taxonomic level reached for their identification. Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1 m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively). Letters after taxonomic names indicate the feeding group (for macro-invertebrates other than earthworms) or the earthworm ecomorphological category attributed to the individuals

Feeding groups:

P: plant-feeder

O: omnivore

L: litter-feeder

U: unknown

A: animal-feeder

Earthworm ecomorphological categories:

An: anecic

En: endogeic

Ep: epigeic

Class	Lowest taxonomic level reached		Site A				Site B			
			UVS1	UVS2	CA1	CA2	UVS1	UVS2	CA1	CA2
Chilopoda	Geophilomorpha	Z	10 $\pm$ 21	13 $\pm$ 7	13 $\pm$ 21	22 $\pm$ 14	22 $\pm$ 24	13 $\pm$ 13	10 $\pm$ 14	16 $\pm$ 16
	Lithobiidae	Z	0 $\pm$ 0	3 $\pm$ 7	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	3 $\pm$ 7	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	3 $\pm$ 7
	<i>Cryptops</i> sp.	Z	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	3 $\pm$ 7	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	unknown	Z	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	6 $\pm$ 14
	Chilopoda									

Chapitre 2 : Annexes

Diplopoda	Julidae	S	10 ± 9	48 ± 36	6 ± 14	26 ± 27	0 ± 0	3 ± 7	3 ± 7	3 ± 7
	<i>Polydesmus</i> sp.	S	93 ± 132	86 ± 53	32 ± 23	35 ± 51	13 ± 13	13 ± 13	10 ± 9	13 ± 13
	<i>Glomeris</i> sp.	S	0 ± 0	10 ± 14	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	unknown	S	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 14
Diplopoda										
Insecta	Cicadellidae	H	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	10 ± 21	0 ± 0	0 ± 0
	Heteroptera	U	3 ± 7	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	13 ± 21	10 ± 14	0 ± 0	0 ± 0
	Formicidae		presen ce	presen ce	absen ce	presen ce	presen ce	presen ce	presen ce	presen ce
	other	U	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	10 ± 21	0 ± 0
	Hymenoptera									
	Lepidoptera (larva)	H	3 ± 7	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Tipulidae (larva)	S	13 ± 21	6 ± 14	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Other Diptera (larva)	S	3 ± 7	10 ± 14	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	<i>E moesta</i>	O	13 ± 29	3 ± 7	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0
	<i>Euborillia</i> sp.	O	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Coccinellida e	P	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0
	Campodeifor m larva	P	22 ± 21	29 ± 35	6 ± 9	0 ± 0	13 ± 13	26 ± 9	3 ± 7	0 ± 0
	Silphidae (larva)	P	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Carabidae (larva)	P	16 ± 23	19 ± 18	3 ± 7	6 ± 9	3 ± 7	3 ± 7	3 ± 7	13 ± 13
	<i>P cupreus</i>	P	10 ± 9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	<i>H honestus</i>	H	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	6 ± 9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	<i>A dorsalis</i>	P	19 ± 43	6 ± 9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	<i>M abelli</i>	P	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	<i>P rufipes</i>	H	6 ± 14	10 ± 21	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 14	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Chapitre 2 : Annexes

<i>H dimidiatus</i>	H	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	
<i>T quadristriatus</i>	P	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
<i>O diffinis</i>	H	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
<i>Bembidion</i> sp.	P	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	10 ± 14	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 14	
<i>A europaeus</i>	P	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	
<i>Badister</i> sp.	P	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
unknown	U	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
Carabidae										
<i>Agriotes</i> sp. (larva)	H	16 ± 16	13 ± 13	13 ± 7	26 ± 14	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	10 ± 14	
<i>Athous</i> sp. (larva)	H	3 ± 7	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
Unknown	H	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 14	
Elateridae (larva)										
Elateridae	H	0 ± 0	6 ± 9	10 ± 9	10 ± 21	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
Chrysomelidae	H	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	16 ± 11	3 ± 7	3 ± 7	
Tachyporinae	P	3 ± 7	10 ± 9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
Staphylininae	P	19 ± 26	3 ± 7	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
Aleocharinae	P	0 ± 0	22 ± 50	16 ± 36	6 ± 14	6 ± 14	32 ± 62	131 ± 165	90 ± 133	
Unknown	U	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 9	3 ± 7	3 ± 7	0 ± 0	
Coleoptera										
Arachnida	Araneae	P	13 ± 13	26 ± 33	0 ± 0	0 ± 0	13 ± 18	3 ± 7	3 ± 7	0 ± 0
Gastropoda	<i>Arion</i> sp. 1	H	6 ± 14	0 ± 0	3 ± 7	6 ± 9	6 ± 9	6 ± 9	6 ± 9	3 ± 7
	<i>Arion</i> sp. 2	H	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 14	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Testacella	H	6 ± 9	10 ± 14	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	<i>L maximus</i>	H	10 ± 14	0 ± 0	6 ± 14	16 ± 16	0 ± 0	3 ± 7	3 ± 7	6 ± 9
Crustacea	<i>P muscorum</i>	S	22 ± 31	58 ± 43	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Chapitre 2 : Annexes

<i>Armadillidium</i>	S	58 ± 96 ± 10 ± 6 ± 9	10 ± 9	19 ± 0 ± 0	6 ± 9				
<i>m sp.</i>		61	100	14		26			
<i>C affinis</i>	S	42 ± 54 ± 0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	13 ± 3 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
		39	18		13				
<hr/>									
Oligochaeta	A								
a									
(Lumbricidae)	<i>Scherotheca</i>					19 ±		10 ±	
	sp. (juvenile)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 6	3 ± 3	19	6 ± 6	10
	Unknown	A							
	anecic	64 ± 74 ±		38 ± 80 ±	70 ± 61 ±	13 ±			
	(juvenile)	59	58	6 ± 9	46	44	43	35	13
	Unknown	E							
	engogeic	n	70 ± 67 ±	74 ± 189 ±	266 ± 365 ±	397 ± 211 ±			
	(juvenile)		67	54	37	98	287	191	158
		A	22 ± 22 ±		10 ±				
	<i>L. friendi</i>		22	22	0 ± 0	3 ± 3	10	3 ± 3	0 ± 0
		A	16 ±		10 ±				
	<i>A. nocturnus</i>		16	0 ± 0	3 ± 3	10	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 6
		E			10 ±				
	<i>A. caliginosa</i>	n	3 ± 3	3 ± 3	3 ± 3	10	6 ± 6	3 ± 3	6 ± 6
		E			22 ±		13 ±		32 ±
	<i>A. chlorotica</i>	n	6 ± 6	6 ± 6	3 ± 3	22	3 ± 3	13	0 ± 0
		E				19 ±	10 ±		
	<i>P. fragilis</i> <sup>1</sup>	n	3 ± 3	6 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	19	10	3 ± 3
	<i>Scherotheca</i>	A					13 ±		
	sp.		3 ± 3	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 6	3 ± 3	13	3 ± 3
		E				10 ±	16 ±		
	<i>D. mammalis</i>	p	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	10	16	0 ± 0
	Unknown	E							
	endogeic	n	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 3	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Unknown	A							
	anecic		3 ± 3	3 ± 3	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Unknown	U	3 ± 3	0 ± 0	3 ± 3	0 ± 0	6 ± 6	0 ± 0	3 ± 3

<sup>1</sup> earthworms presented as *P. fragilis* could not be precisely identified due to bad conservation, but are suspected to belong to this species

**Table S2**

Results of statistical analyses testing the effect of the interaction between site and position.

Two-way analyses of variance were used for continuous variables, mixed linear models followed by Chi2 tests were used for substrate-induced respirations because of repetitions during laboratory analyses taken as random factor, and generalized linear models fitted by quasi-Poisson law followed by Chi2 tests were used for count variables. SS stands for sum of squares and DF for degrees of freedom

<b>Continuous variables</b>	Site*position		Residuals		Site*position effect	
	SS	DF	SS	DF	F-value	p-value
Vegetation biomass (g.m <sup>-2</sup> )	32964	3	872371	28	0.35	0.79
<i>Soil and microbial parameters</i>						
SOC (mg.g <sup>-1</sup> )	1.44	3	27.61	28	0.49	0.69
Total N (mg.g <sup>-1</sup> )	0.0160	3	0.3425	28	0.44	0.73
Mineral N (mg.kg <sup>-1</sup> )	469.51	3	522.45	32	9.59	< 0.001
Olsen P (mg.kg <sup>-1</sup> )	17.05	3	111.35	32	1.63	0.20
Microbial biomass C (mg.kg <sup>-1</sup> )	7286	3	90427	32	0.86	0.47
Microbial biomass N (mg.kg <sup>-1</sup> )	207.0	3	3380.9	32	0.65	0.59
Microbial biomass P (mg.kg <sup>-1</sup> )	2.26	3	431.48	32	0.06	0.98
<i>Macro-invertebrate parameters</i>						
Rarefied richness (genus level)	1.946	3	72.757	32	0.29	0.84
Shannon-Weaver diversity index (genus level)	0.2370	3	8.1710	32	0.31	0.82
Pielou evenness index (genus level)	0.0342	3	0.1518	32	2.10	0.12
Litter-feeders (% , earthworms excluded)	2093.3	3	16353.4	32	1.36	0.27
Plant-feeders (% , earthworms excluded)	4210.4	3	10291.9	32	4.36	< 0.05
Animal-feeders (% , earthworms excluded)	2488.5	3	14148	32	1.88	0.15
Endogeic (% of earthworms)	1729.4	3	12587.4	32	1.470	0.24
Epigeic (% of earthworms)	47.553	3	283.827	32	1.79	0.17
Anecic (% of earthworms)	2196.8	3	12247.9	32	1.91	0.15
<b>Count or repeated variables</b>						
	Site*position					
	Chi2	DF	p-value			
<i>Microbial parameters</i>						
Basal respiration # (µg.g <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	2.06	3	0.56			
Glucose-induced respiration (µg.g <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	4.97	3	0.17			

## Chapitre 2 : Annexes

Glycine-induced respiration ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	2.98	3	0.39
Catechol-induced respiration ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	1.65	3	0.65

### *Macro-invertebrate parameters*

Macro-invertebrate density (individuals per $\text{m}^{-2}$ )	11.48	3	< 0.01
Oligochaeta (individuals per $\text{m}^{-2}$ )	11.6	3	< 0.01
Crustacea (individuals per $\text{m}^{-2}$ )	2.96	3	0.40
Arachnida (individuals per $\text{m}^{-2}$ )	6.28	3	0.10
Chilopoda (individuals per $\text{m}^{-2}$ )	1.7	3	0.63
Diplopoda (individuals per $\text{m}^{-2}$ )	1.62	3	0.65
Insecta (individuals per $\text{m}^{-2}$ )	6.68	3	0.08
Gastropoda (individuals per $\text{m}^{-2}$ )	0.63	3	0.89

# log-transformed values

**Table S3**

Mean values of different diversity indices at genus and family level for each position and site. Richness is the rarefied richness, S index the Shannon index, P index the Pielou evenness index. Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively). Different letters indicate significantly different values between positions as determined by Tukey multiple comparisons tests after linear mixed models (site used as a random factor). Significance level is 5%

	p-value	Site A				Site B			
		UVS1	UVS2	CA1	CA2	UVS1	UVS2	CA1	CA2
Genus level									
Richness	< 0.05	5.8 a	5.9 a	3.1 b	5.2 ab	5.1 a	4.5 a	2.4 b	3.4 ab
S index	< 0.05	1.7 a	1.8 a	1.0 b	1.6 ab	1.6 a	1.4 a	0.7 b	1.1 ab
P index	ns	0.8 a	0.9 a	0.9 a	0.9 a	1.0 a	0.9 a	0.9 a	0.9 a
Family level									
Richness	ns	7.7 a	8.1 a	4.6 a	6.0 a	4.7 a	5.3 a	3.8 a	5.0 a
S index		1.5 a	1.7 a	1.2 a	1.2 a	0.8 a	0.7 a	0.6 a	0.9 a
P index	ns	0.7 a	0.8	0.8 a	0.7 a	0.5 a	0.4 a	0.4 a	0.6 a

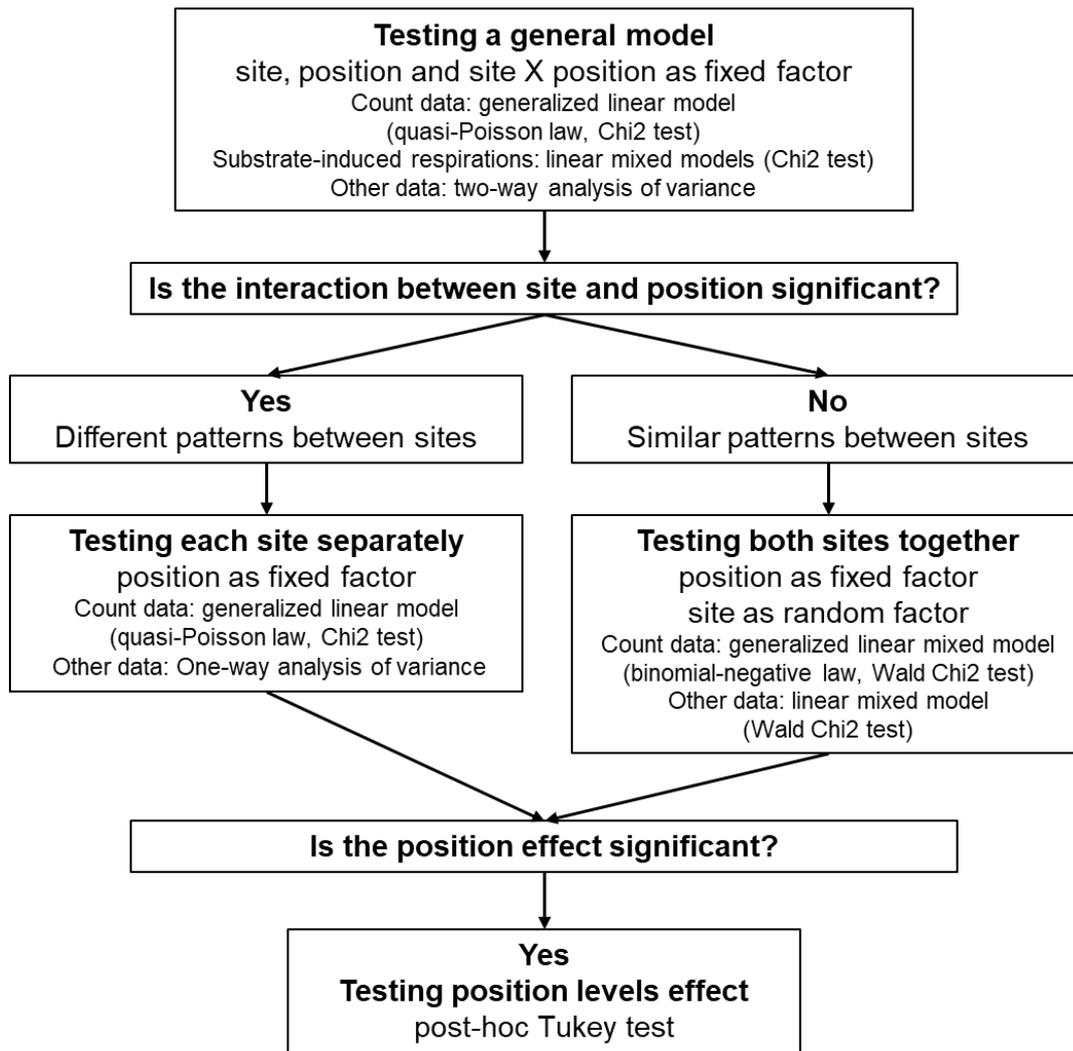
**Table S4**

Results of testing position effect in linear mixed models with site used as a random factor for microbial substrate-induced respirations (0-20 cm depth). Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1 m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1 m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively).

The p-values refer to the position effect. Different letters indicate significant differences (p-value < 0.05) between positions for a given parameter after a Tukey multiple comparison test

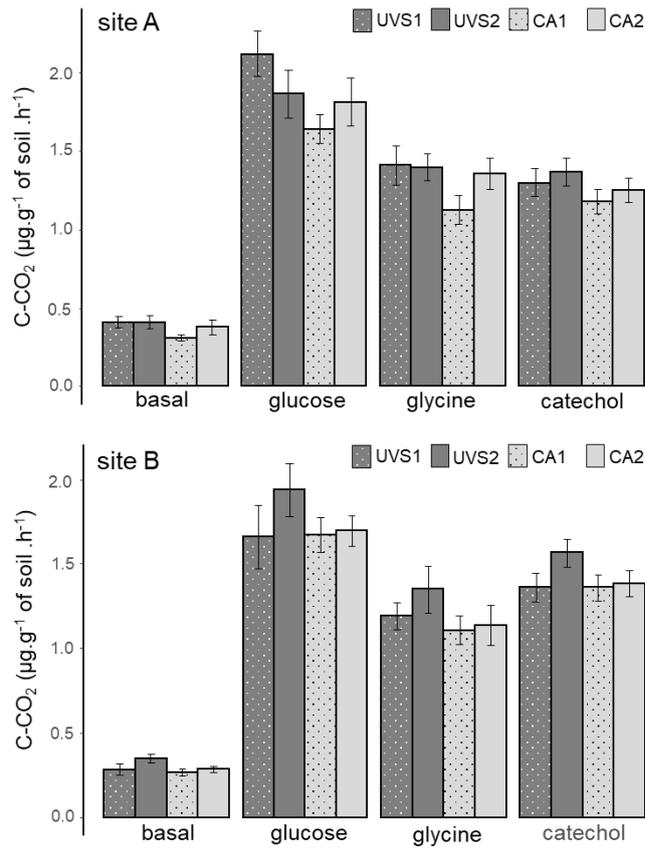
	Substrate-induced respiration ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )				
	Basal #	Glucose	Glycine	Catechol	qCO <sub>2</sub> #
p-value	< 0.01	0.08	< 0.05	< 0.05	0.05
Mean values (both sites together)					
UVS1	-1.10 ab	1.89	1.30	1.33 ab	-1.70
UVS2	-0.98 a	1.92	1.36	1.46 a	-1.62
CA1	-1.27 b	1.66	1.12	1.27 b	-1.77
CA2	-1.15 ab	1.76	1.25	1.32 ab	-1.69

# log-transformed values



**Fig. S1**

Procedure followed for statistical analyses of each type of variable studied



**Fig. S2**

Mean values obtained with the Microresp<sup>TM</sup> method for soil basal respiration (with only water added) and soil substrate-induced respiration for each position and each site. Positions UVS1 and UVS2 are in the understory vegetation strip (at 1m from the tree and at equal distance between two trees respectively). Positions CA1 and CA2 are in the crop alley (at 1m from the understory vegetation strip and in the middle of the crop alley respectively)



## Chapitre 3 :

### Effets de l'arbre versus du linéaire sous arboré sur les organismes du sol et la fertilité du sol dans un site agroforestier méditerranéen

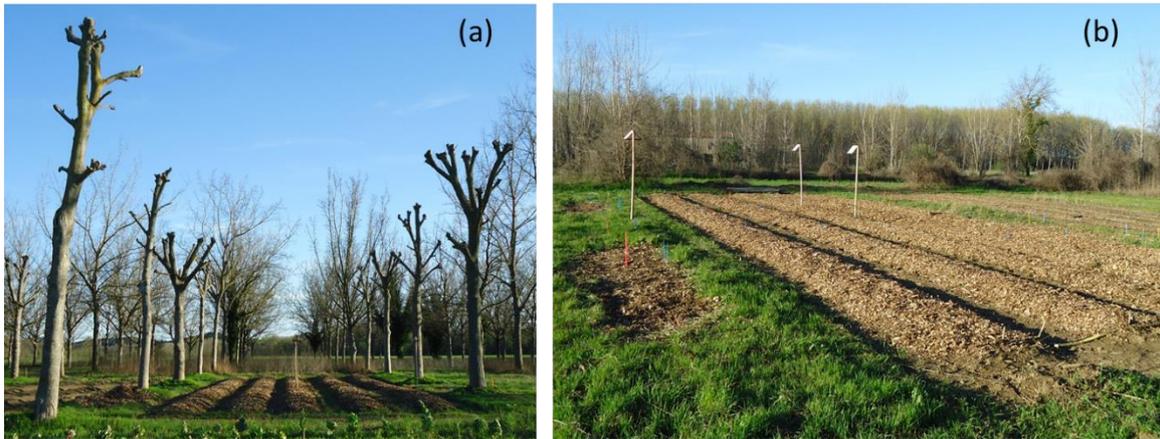


L'objectif de ce chapitre était de séparer plus spécifiquement les effets de l'arbre et du LSA. Nous avons pour cela choisi (i) de déterminer l'effet de la distance à une bande enherbée avec et sans arbres sur la fertilité, la macrofaune et les microorganismes du sol, et (ii) d'étudier la variation de cet effet avec la distance à l'arbre au sein d'une parcelle agroforestière méditerranéenne.

L'étude est basée sur les hypothèses suivantes :

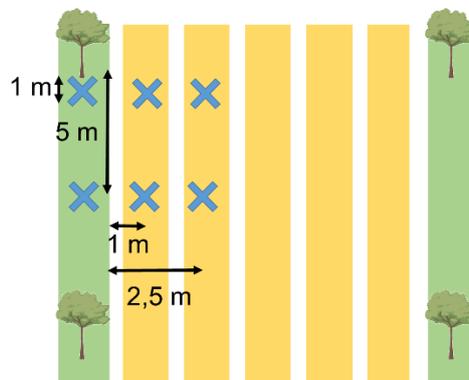
- Des bandes enherbées avec et sans arbres entraînent toutes deux une augmentation de la teneur en C organique et de la biomasse microbienne sous cette bande enherbée et dans sa proximité immédiate (ici à 1 m) par rapport à l'allée cultivée, car la végétation herbacée est une source importante de C.
- Des bandes enherbées avec et sans arbres présentent toutes deux une abondance de la macrofaune du sol plus élevée dans cette bande enherbée et sa proximité immédiate (ici à 1 m) par rapport à l'allée cultivée, car la végétation herbacée pérenne et l'absence de perturbation induisent la présence d'un habitat favorable.
- La présence et la proximité à l'arbre atténue les différences entre bande enherbée et allée cultivée car l'arbre limite l'impact négatif de l'allée cultivée par des apports de matière organique et par la création d'un microclimat favorable aux organismes du sol.

Pour cette étude, une parcelle mature plantée de noyers dans le département du Gard a été échantillonnée. Nous avons échantillonné un traitement d'ombrage présentant des arbres fortement taillés (arbres « têtard »), espacés de 10 m (**Figure I**). Nous supposons que la réduction importante de la taille de la canopée de ces arbres réduit la zone influencée par l'arbre et rendra ainsi une variation des propriétés du sol avec la distance à l'arbre plus visible dans sa proximité immédiate. Le LSA y est spontané. Les allées (8 m de large environ) sont cultivées en maraîchage (des tomates sont présentes dans les allées échantillonnées). La gestion des allées est particulière, car une culture sur buttes paillées (avec du bois raméal fragmenté durant l'échantillonnage) y est pratiquée (**Figure I**). Un témoin avec des bandes enherbées sans arbres entre les allées cultivées est également utilisé (**Figure I**).



**Figure I** Site étudié au moment de l'échantillonnage en avril, avant la plantation des tomates. (a) traitement têtard. (b) contrôle sans arbres dans les bandes enherbées. Les traitements sont visibles en juin avec la culture en place sur la page introduisant le chapitre 3.

Les deux traitements (avec et sans arbres) ont été échantillonnés en avril, juin et novembre 2018. Les échantillons sont prélevés le long d'un transect perpendiculaire au LSA, dans le LSA, à 1 m du bord du LSA et à 2,5 m du bord du LSA. De plus, dans le traitement agroforestier, ce transect est placé à 1 m de l'arbre ou à mi-distance entre deux arbres (5 m de l'arbre) (**Figure II**). 4 répétitions sont réalisées pour chaque type de transect (proche versus loin de l'arbre), soit 8 répétitions dans le témoin sans arbres.



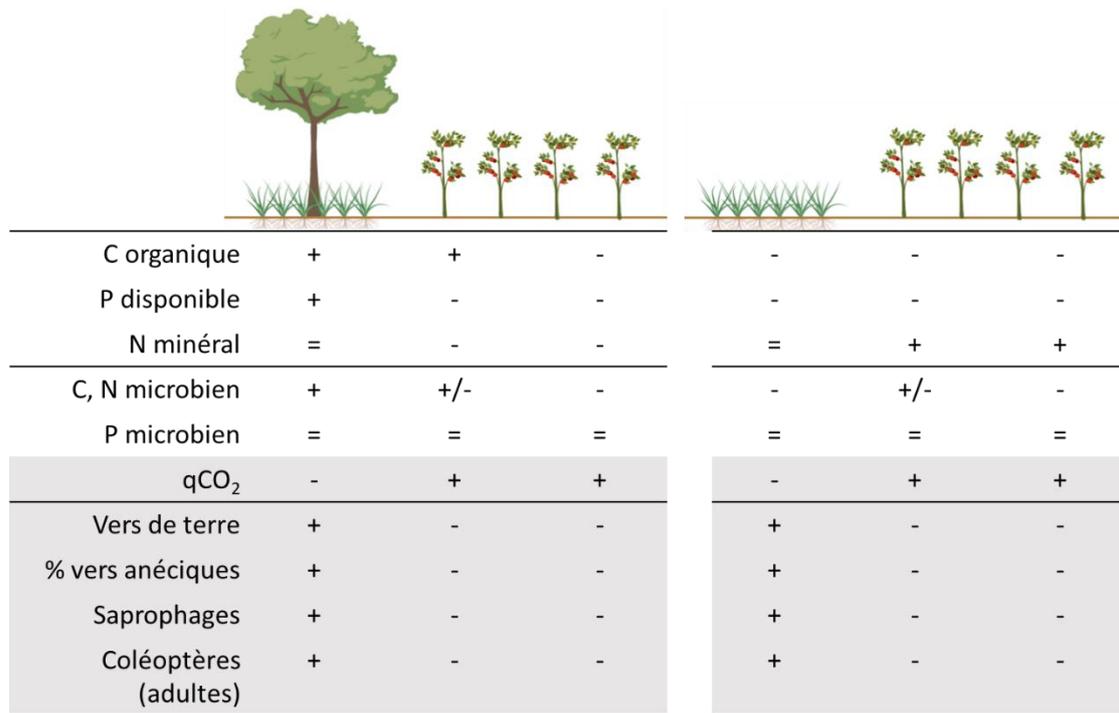
**Figure II** Plan d'échantillonnage du traitement agroforestier (le plan pour la parcelle témoin sans arbres est identique, mais en l'absence d'arbres les transects sont placés de manière aléatoire dans la parcelle). En vert : les LSA. En jaune : les buttes de culture. Les points d'échantillonnage sont représentés par des croix bleues.

En chaque point, la biomasse sèche de la végétation (parties aériennes et souterraines) et de la litière et nécromasse enfouie dans le sol a été déterminée (dans une surface de 50\*50 cm en surface, et un volume de 25\*25\*25 cm dans le sol). La macrofaune a été triée manuellement dans des blocs de sols de 25\*25\*25 cm et identifiée. Enfin, des analyses au laboratoire ont permis de déterminer la biomasse microbienne C, N et P, la respiration microbienne en présence de différents substrats, et la teneur en C, N et P des 25 premiers cm du sol.

Les résultats, présentés dans l'article suivant et synthétisés dans la **Figure III**, montrent une réponse similaire de l'abondance des vers de terre à la distance à une bande enherbée avec et sans arbres. Dans les deux cas, leur abondance est accrue dans le LSA par rapport à l'allée cultivée, quelle que soit leur catégorie écologique. Les autres groupes de la macrofaune répondent similairement de la même manière à la distance à des bandes enherbées avec et sans arbres (résultats présentés dans le **Supplementary materials 2**). Les saprophages et les coléoptères adultes sont ainsi plus abondants dans les bandes enherbées que dans les allées cultivées en moyenne, alors qu'aucune variation avec la distance à la bande enherbée n'est visible pour les autres groupes. Le  $qCO_2$  (calculé à partir des respirations microbiennes, qui augmente proportionnellement à la diminution de l'efficacité des microorganismes dans l'utilisation du C) est de plus augmenté dans l'allée cultivée par rapport au LSA dans tous les traitements.

Au contraire, la réponse de la biomasse microbienne varie entre le traitement avec et sans arbres. Dans le traitement témoin sans arbres, la biomasse microbienne ne varie pas significativement entre LSA et allée cultivée. Au contraire, dans le traitement agroforestier, la teneur en C microbien est augmentée à proximité immédiate de l'arbre (à 1 m de l'arbre dans le LSA). Cette tendance est également observée pour le P disponible, et la teneur en C organique du sol est plus élevée dans le LSA et à 1 m de celui-ci dans le traitement agroforestier par rapport au contrôle sans arbres. L'observation de la variabilité des propriétés des organismes et de la fertilité du sol au sein d'une seconde parcelle agroforestière présentant des arbres moins sévèrement taillés (arbres élagués) confirme ces résultats (résultats présentés dans le **Supplementary materials 3**). Dans cette modalité où l'influence des arbres est supposée être visible à plus large échelle, la teneur en biomasse microbienne est augmentée dans le LSA et à 1 m de celui-ci par rapport à 2,5 m du LSA, et est de plus augmentée dans le transect le plus proche de l'arbre (1 m de l'arbre) par rapport à celui à mi-distance entre deux arbres (5 m de l'arbre). Le P disponible et le C organique du sol y sont également plus élevés dans le transect proche que dans le transect éloigné de l'arbre. De plus, dans ce site la teneur en N minéral est également augmentée dans le LSA par rapport à 2,5 m du LSA. Cependant, la tendance à des valeurs de biomasse microbienne plus élevées à 1 m du LSA par rapport à 2,5 m du LSA se retrouve bien dans toutes les traitements, y compris le traitement sans arbre.

### Chapitre 3



**Figure III** Synthèse des résultats obtenus dans le chapitre 3. Le C organique, P disponible, N minéral et C, N, P microbien sont des teneurs (établies sur le sol de la profondeur 0-25 cm), les vers de terre, saprophages et coléoptères des densités. Les variables grisées présentent une réponse similaire en la présence et en l'absence d'arbres.

Nous avons conclu que la présence de bandes enherbées est le principal facteur expliquant la répartition spatiale de la macrofaune dans cette parcelle. La non perturbation et la présence de végétation herbacée pérenne permettent ainsi la création d'un refuge pour la macrofaune du sol au sein de la ligne d'arbres. De plus, les bandes enherbées avec ou sans arbres entraînent toutes deux le maintien de communautés de microorganismes plus efficaces que dans l'allée cultivée, où elles sont probablement fortement impactées par les pratiques agricoles. En revanche, l'arbre impacte davantage la variation de la teneur en C et en P disponible du sol et de la biomasse microbienne au sein de la parcelle que les bandes enherbées, probablement car il entraîne des apports de matière organique accrue dans sa proximité.

Ce chapitre a donné lieu à un article soumis à *Plant and Soil* en novembre 2020 (accepté en mars 2021), reproduit dans les pages suivantes (version soumise en novembre). Les variables supplémentaires non étudiées dans cet article (macrofaune hors vers de terre, variations des propriétés du sol dans le traitement élagué) sont présentées en annexe (**Supplementary materials 2 et 3**).

**Trees and herbaceous vegetation strips  
both contribute to changes in soil fertility and soil organism communities  
in an agroforestry system**

Camille D'Hervilly <sup>1</sup>, Claire Marsden <sup>1</sup>, Yvan Capowiez <sup>2</sup>, Camille Béral <sup>3</sup>, Léa Delapré-Cosset<sup>1</sup>, Isabelle Bertrand <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Eco&Sols, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, IRD, Montpellier SupAgro, 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier, France

<sup>2</sup> INRAE, UMR 1114 EMMAH, INRAE - Université d'Avignon, Site Agroparc, 84914 Avignon cedex 09, France

<sup>3</sup> Agrooof, 9 Plan de Brie, 30140 Anduze, France

Article soumis à *Plant and Soil* (version présentée ci-après), accepté en mars 2021 (dans une version un peu modifiée)

**Abstract:**

**Purpose**

Alley cropping systems introduce herbaceous strips planted with trees into cropped fields. While such systems are thought to have a positive effect on soil fertility, the respective roles of the trees and the herbaceous vegetation in shaping this effect remain unclear. We investigated the effect of the distance from herbaceous strips with or without trees on soil fertility and earthworm communities in a 20 year old Mediterranean alley cropping plot planted with tomatoes.

**Methods**

We determined the effects of i) the presence of trees, ii) the distance from the herbaceous strip and iii) the distance from the tree by measuring microbial biomass and respiration, and identifying earthworms at 0 m, 1 m and 2.5 m from herbaceous strips. Data from three dates in early and late Spring and in Autumn were combined for more robustness.

### Results

Herbaceous strips presented a higher microbial biomass C related to soil organic carbon, a lower  $q\text{CO}_2$ , and a higher density of earthworms than the crop alley regardless of tree presence. Soil organic carbon content increased in the presence of trees both in the herbaceous strip and at 1 m from the strip, while available P and microbial biomass increased only in the immediate vicinity of trees.

### Conclusions

Herbaceous strips were an effective shelter for earthworms and fostered a high microbial biomass with low metabolic quotient throughout the year, probably due to diversified vegetation and no soil disturbance. The mechanisms by which these changes could impact the crop alley remain to be studied.

### **Keywords:**

Agroforestry, herbaceous strip, earthworm, microbial biomass, soil organic carbon, available phosphorus

## 1. Introduction

In low input systems, soil chemical fertility is dependent on organic matter decomposition and nutrient turnover. Both are controlled by a wide range of soil organisms (Barrios 2007), in particular microorganisms and earthworms. Microorganisms mineralize complex organic molecules into nutrients thanks to their efficient enzymatic system (Schimel and Schaeffer 2012). They immobilize some of these nutrients in their biomass to fulfill their requirements, while the other part is freed in soil solution and available for plant uptake. Microbial activity and community composition have also been shown to be influenced by earthworms (Filser et al. 2016). Earthworms can be classified according to their degree of affiliation to one of three main ecological categories (Bouché 1977; Bottinelli et al. 2020) with distinct effects on organic matter dynamics. Epigeic earthworms live at the soil surface where they feed on fresh organic matter. Their comminution and mixture of the organic layer facilitate microorganism action. Endogeic earthworms live in the soil organo-mineral horizons where they create burrows, and feed mostly on humified and particulate organic matter that they ingest together with the soil. They can select and activate microorganisms in their gut and fresh feces, but also limit organic matter accessibility in old feces (Martin 1991). Anecic earthworms build deep vertical galleries, and feed both on fresh organic matter at the soil surface and on humified organic matter, mixing soil horizons (Lavelle 1997). Microorganism and earthworm presence and activity thus determine the fate of nutrients contained in organic matter, and are important to take into account when designing low input agricultural systems.

Alley cropping systems have been put forward as potential candidates for the development of low input agriculture (Quinkenstein et al. 2009). In this type of agroforestry, tree rows and their associated understory vegetation are regularly spaced within a cropped field. The addition of tree rows is thought to introduce new habitats and to provide additional and diversified food resources directly into the field, which could benefit soil organisms (Boinot et al. 2019) and associated ecosystem services. However, if studies show that in a clear majority of cases alley cropping systems improve the abundance and diversity of soil fauna (Marsden et al. 2019), reduce soil erosion and nutrient leaching (Torralba et al. 2016), and increase soil organic C (SOC) storage (Cardinael et al. 2017) compared to conventional systems, their effects on the spatial heterogeneity of soil fertility within the field are less well known. In particular, a relevant question is whether soil fertility and associated organisms are enhanced only under the tree rows, or whether this effect extends into the crop alleys. Only a small number of studies have addressed this question, with contrasted results. Earthworm density is usually higher in tree

rows than crop alleys, but is not always increased in tree row vicinity (Price and Gordon 1999; Cardinael et al. 2019; D’Hervilly et al. 2020). Microbial biomass can be increased in tree rows and their vicinity (Guillot et al. 2019) and a shift in microbial community composition between tree rows and alleys has been suggested (Beuschel et al. 2019), but no difference was found in microbial biomass and activity in regard to sampling location by Nii-Annang et al. (2009). Tree rows could even negatively influence soil nutrient contents in their vicinity (Gikas et al. 2016) –probably because of tree uptake –as well as soil organism abundance (D’Hervilly et al. 2020). In addition, these studies often relied on sampling at maximal periods of soil organism activity and do not reflect a general response throughout the year. A better understanding of tree row effects on soil fertility requires further studies repeated at different seasons, and taking into account spatial heterogeneity.

Furthermore, studies reporting tree row effects in alley cropping systems often do not clearly separate the effects of the tree from that of the understory herbaceous strip. Understory herbaceous strips represent a non-negligible undisturbed surface with permanent ground cover. Their herbaceous vegetation produces most of the roots found in the first centimeters of soil under tree rows (Cardinael et al. 2015; Battie-Laclau et al. 2019). It could be responsible for the increase of SOC content in the first soil centimeters under tree rows (Udawatta et al. 2008; Cardinael et al. 2015), and for the overwintering of soil fauna in the tree row (Boinot et al. 2019), which could later colonize the crop alley. Trees are likely to induce a large effect on the crop alley, due to the incorporation into the soil of a more or less recalcitrant litter of tree leaves and roots up to several meters from the tree, and to a microclimate effect which can reduce soil temperature extremes and increase humidity (Lawson et al. 2019). Tree presence could thus mitigate the negative impacts of crop management on soil organisms in the crop alley, and provide favorable conditions for organisms hosted in the tree row (Pardon et al. 2019). Overall, observations in alley cropping systems are probably the result of interactions between trees, understory vegetation and agricultural practices.

To disentangle the effect of the tree from that of the herbaceous strip (HS) on soil fertility and organisms in a mature alley cropping system, we tailored a dedicated experimental design. We studied soil C, N, and P contents, as well as earthworm biomass and density and microbial biomass and respiration in an organic market gardening agroforestry system at three successive seasons. Our objectives were: to investigate the role of trees and HS on soil fertility, and to determine the horizontal range of the tree effect and its interaction with the HS effect. To determine the respective role of trees and HS, we investigated soil properties at different

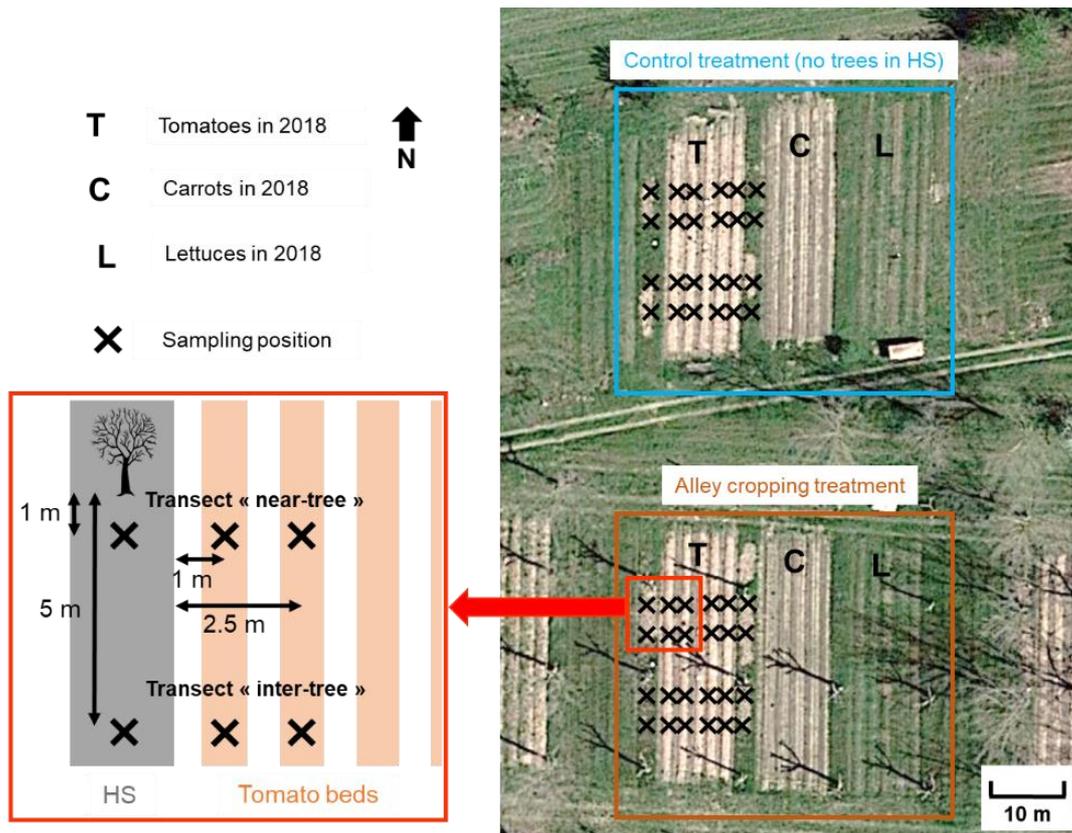
distances from a HS with trees (tree row of an alley cropping system) or without trees (control treatment). To investigate the horizontal range of the tree effect, we compared soil properties at two distances from the tree. We hypothesized that i) HS with or without trees present higher SOC content and microbial biomass than crop alleys and can provide a better shelter for earthworms; and ii) tree presence globally increases SOC content, microbial biomass and earthworm density, and attenuates differences between HS and crop alleys by mitigating the negative effect of crop management.

## 2. Methods

### 2.1. Site description

The study took place in a 1.5 ha alley cropping site located near Vézénobres in the South of France (44.058 N, 4.111 E), on recent alluvial deposits. It was planted with hybrid walnut trees (*Juglans nigra* L. x *Juglans regia* L.) spaced 10 m apart in a regular grid in 1995. The trees were initially intercropped with cereal and legume crops. Since 2010, the site has been owned by market-gardeners using organic farming practices and the trees have been intercropped with vegetables. Crop alleys are 8 m wide. Tree rows are 2 m wide, and covered with a spontaneous herbaceous vegetation mowed twice a year. The climate is Mediterranean with a mean annual temperature of 15.2 °C and a mean annual precipitation of 760 mm (French Institute of Meteorology Météo France).

In 2015, an experimental plot was set up North of the site. It consists in two treatments of 750 m<sup>2</sup> each (**Fig. 1**). The alley cropping treatment is made of three crop alleys 25 m long and their adjacent tree rows. Trees were strongly pruned in February 2015 and again in February 2018 in this treatment to obtain pollarded trees. A control treatment without trees was also set up 20 m North of the alley cropping treatment in 2015 (**Fig. 1**). It was designed similarly to the alley cropping treatment, with 8 m-wide crop alleys separated by herbaceous strips (HS) with spontaneous vegetation instead of tree rows. The soil presents similar inherent properties in both treatments. It is loamy in the first 25 cm depth with a pH of 8.2. Soil properties are detailed in **Table 1**. In both treatments, each crop alley is made up of 5 raised beds, about 90 cm wide and 20 cm high, parallel to the HS or tree row (**Fig. 1**). Crop alleys have been cultivated with a rotation of carrots, tomatoes and lettuces since 2015. The treatments were surrounded by alleys with fallows.



**Fig. 1** Experimental plot and sampling design. Each crop alley was composed of five 20 cm-high raised beds parallel to the herbaceous strip. Four repetitions of each transect (near and inter- tree) were performed in each treatment. Sampling took place in April, June and November of 2018.

**Table 1** Soil properties of the alley cropping and control treatments (no trees in the herbaceous strips (HS)), measured at different distances from the HS along a transect perpendicular to the HS, 1 m south from the tree in the alley cropping plot. Measurements were made on air-dried soil sieved at 2 mm and ground to 250  $\mu\text{m}$ . Texture was measured on decarbonated soil. Mean values are presented  $\pm$  standard deviation (4 repetitions performed). No difference was found between treatments after statistical analyses, except for soil organic carbon (SOC).

	Alley cropping treatment			Control treatment		
Distance from the HS	0 m	1 m	2.5 m	0 m	1 m	2.5 m
CaCO <sub>3</sub> (%)	1.3 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.2
Texture (clay / silt / sand, g.kg <sup>-1</sup> )	114 $\pm$ 3 / 383 $\pm$ 15 / 490 $\pm$ 11	112 $\pm$ 6 / 379 $\pm$ 18 / 496 $\pm$ 24	110 $\pm$ 7 / 377 $\pm$ 22 / 500 $\pm$ 30	103 $\pm$ 2 / 410 $\pm$ 3 / 471 $\pm$ 6	105 $\pm$ 2 / 410 $\pm$ 11 / 469 $\pm$ 8	104 $\pm$ 4 / 405 $\pm$ 12 / 475 $\pm$ 8
pH	8.1 $\pm$ 0.1	8.2 $\pm$ 0.1	8.2 $\pm$ 0.0	8.2 $\pm$ 0.0	8.2 $\pm$ 0.0	8.2 $\pm$ 0.1
CEC (cmol <sup>+</sup> .kg <sup>-1</sup> )	10.30 $\pm$ 0.41	10.21 $\pm$ 0.63	9.35 $\pm$ 0.48	8.90 $\pm$ 0.79	9.45 $\pm$ 1.12	8.91 $\pm$ 0.88
SOC (%)	1.92 $\pm$ 0.08	1.96 $\pm$ 0.16	1.70 $\pm$ 0.11	1.52 $\pm$ 0.19	1.67 $\pm$ 0.23	1.60 $\pm$ 0.18
Total P (%)	0.15 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.00	0.15 $\pm$ 0.00	0.15 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.00
Total N (%)	0.16 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.01

Soil and earthworm samplings took place in April, June and November of 2018, in the crop alley cultivated with tomatoes and its adjacent HS for each treatment (**Fig. 1**). Raised beds were mechanically refreshed (rotary tilled and formed) in March and covered with a 2 to 3 cm thick ramial chipped wood layer obtained from walnut prunings. Tomato plants of different varieties previously grown in the nursery were planted in the raised beds on April 24<sup>th</sup> and 25<sup>th</sup> (1.6 plants per m<sup>2</sup>), after the first sampling. Each crop alley received two top dressings of poultry manure for a total of 56 g.m<sup>-2</sup>, once after raised beds were formed, and a second time when tomatoes were planted. Tomato plants were drip-irrigated from June to mid-September. Management of HS was limited to mowing, once in June after sampling and once in September.

## 2.2. Sampling design

Sampling was designed to investigate the effect of the distance from the HS. Soil and earthworms were sampled along transects perpendicular to the HS, at three distances from the HS (0 m, i.e. in the middle of the HS, 1 m from the HS border, i.e. in the closest tomato bed to the HS, and 2.5 m from the HS border i.e. in the next tomato bed) (**Fig. 1**). In addition, to investigate the influence of the tree, two other factors were tested. First, the effect of the presence of trees in the HS was tested by comparing HS with and without trees (alley cropping versus control). Each distance from the HS was repeated 8 times in each treatment and at each season (**Fig. 1**). Secondly, the influence of the distance from the tree was tested by comparing transects at two distances from the tree in the alley cropping treatment: 1 m South of the nearest tree (near-tree transect) or 5 m South of the tree, i.e. at equal distance between two trees (inter-tree transect) (**Fig. 1**). This led to a six-point sampling grid characterized by distance from the HS (0, 1 or 2.5 m) and transect type (near-tree or inter-tree). Each point of the sampling grid was repeated 4 times (**Fig. 1**). All further analyses described were carried out for each sampling point and each sampling season.

## 2.3. Earthworm biomass and density

At each sampling point, earthworms were hand sorted from soil blocks of 25\*25\*25 cm and kept in water. Under laboratory conditions, they were weighed alive, counted, identified and classified into the three main ecological categories anecic, endogeic and epigeic following Bouché (1972) (**Supplementary table 1 in Supplementary materials 1**). Count values

obtained were expressed as densities (individuals per m<sup>2</sup>), and biomass as g.m<sup>-2</sup>. All soil samples described hereafter were taken from the same soil blocks.

#### 2.4. Microbial biomass

Soil samples (500 g, 0-25 cm depth) were sieved at 2 mm and stored at 4 °C. Microbial biomass C, N and P contents were determined using the fumigation-extraction method as described by Vance et al. (1987) for C, Brookes et al. (1985) for N and Brookes et al. (1982) for P. Briefly, around 10 g of fresh soil were exposed to chloroform vapors during 24 hours. Soluble C and N were extracted with 40 ml of K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution at 0.025 M in fumigated and non-fumigated soils, while soluble P was extracted with 200 ml of NaHCO<sub>3</sub> at 0.5 M. The extracts were shaken for one hour at ambient temperature, centrifuged at 4000 RPM and filtered with 0.22 µm PTFE filters. C and N contents were determined using a dissolved carbon analyzer (SHIMADZU TOC-V CSH/CSN) and P was determined using the Malachite green method (Ohno and Zibilske 1991) with an absorbance microplate reader at 630 nm (Dialab ELx808). Microbial biomass C, N and P per g of dried soil were obtained from the difference in soluble C, N and P between the fumigated and non-fumigated samples using an extraction efficiency coefficient for microbial biomass of 0.45 for C and N and 0.40 for P (Jenkinson et al. 2004).

#### 2.5. Microbial respiration

Soil samples (500 g, 0-25 cm depth) were sieved at 2 mm and air-dried during one night. Microbial basal respiration and glucose-induced respiration were measured with the MicroResp<sup>TM</sup> method described by Campbell et al. (2003). Shortly, deep-well plates were filled with the previously air-dried soil (around 400 mg of soil per well) and incubated for one week at 20 °C after being moistened to reach a gravimetric water content of 25 % of the water holding capacity (determined in a pressurized enclosure at pF 2.5 as 32% of gravimetric water content). We then added glucose in solution at 10 µg.mg<sup>-1</sup> of dry soil or water alone to reach a similar final gravimetric water content of 60% of the water holding capacity. Four repetitions were performed with and without glucose for each sample. Plates were then incubated for 6 hours at 28 °C. Detection plates were read before and after incubation with a spectrometer (Victor 3 of Perkin Elmer) at 570 nm. Respiration was then expressed as µg CO<sub>2</sub>.mg<sup>-1</sup> of dried soil.h<sup>-1</sup> (**Supplementary table 1 in Supplementary materials 1**). The metabolic quotient index qCO<sub>2</sub>

was calculated as basal respiration (water alone) divided by glucose-induced respiration (supposed to be the maximal induced respiration) (Saul-Tcherkas and Steinberger 2009).

## **2.6. Soil organic carbon and nutrients**

Soil samples (500 g, 0-25 cm depth) were sieved at 2 mm. For SOC and total N determination, soil was air dried and then ground to 250  $\mu\text{m}$ . Soil total carbon and nitrogen contents were determined with an elemental analyzer (Thermo Fisher Scientific Flash 2000). Soil  $\text{CaCO}_3\text{-C}$  content was measured with a calcimeter and SOC was determined as total C minus  $\text{CaCO}_3\text{-C}$ . SOC and N contents were measured in April only. For available P and mineral N determination, soil was stored at 4°C. Available P was extracted from 10 g equivalent dry soil using the Olsen method, and measured by the Malachite green method (Ohno and Zibilske 1991) with an absorbance microplate reader at 630 nm (Dialab ELx808). Soil mineral nitrogen was extracted from 10 g equivalent dry soil with 40 mL of 1M KCl solution and measured by continuous flow colorimetry (SKALAR SA 3000 flow analyser).

## **2.7. Statistical analyses**

Data analyses were separated into two steps. First, the effect of the distance from the HS in presence or absence of trees was tested by performing statistical analyses on all samples available. The effect of two fixed factors, “treatment” (alley cropping versus control without trees) and “distance from the HS” (0, 1 or 2.5 m) and of their interaction was tested using linear mixed models followed by type II Wald Chi2 tests. Season was used as a random factor to account for potential differences between seasons.

In the second step, the effect of the distance from the HS and from the tree were tested simultaneously only in the alley cropping treatment. The effect of two fixed factors, “transect type” (near-tree versus inter-tree) and “distance from the HS” (0, 1 and 2.5 m) and of their interaction was tested using linear mixed models followed by type II Wald Chi2 tests. Season was used as a random factor for similar reasons to the first step. In both steps, generalized linear mixed models fitted with a negative binomial law (to account for overdispersion) were used for count data (earthworm density) instead of linear mixed models. The final model used for pairwise comparisons presented in the results (Tukey method, p-value < 0.05) included all

factors and interactions having a significant effect ( $p$ -value  $< 0.05$ ). Analyses were run with R statistical software (version 3.6.2), using packages lme4, car and emmeans.

In order to summarize these results, a PCA was carried out on alley cropping samples for earthworm and microbial biomass,  $qCO_2$ , soil mineral N and available P contents in the alley cropping treatment. We center-reduced data by season in order to remove seasonal effects. We removed from the PCA variables that were highly correlated to others ( $r > 0.8$ , Spearman correlation), in order to avoid giving excessive weight to a common underlying factor. The SOC content was used as an illustrative variable as it was only measured in April. The PCA and its graphical representations were made using packages FactoMineR and factoextra of R statistical software. We then tested the significance of clustering by distance from the HS and transect type (near tree versus inter-tree) with pairwise constrained ordination analyses using package BiodiversityR.

### 3. Results

#### 3.1. Effect of the distance from the HS

The effect of the distance from the HS on soil properties was studied **for both HS with and without trees** (alley cropping and control treatments).

##### 3.1.1. Earthworms

Seven species of earthworms belonging to the three main ecological categories epigeic (*Lumbricus castaneus* Savigny), anecic (*Lumbricus terrestris* Linnaeus and *Aporrectodea nocturna*, also known as *Nicodrilus nocturnus* Bouché) and endogeic –including epi-endogeic – (*Allolobophora chlorotica* Savigny, *Aporrectodea rosea* Savigny, *Aporrectodea icterica* Savigny and *Aporrectodea caliginosa* Savigny) were found in both treatments. Their mean density in each treatment and at each distance from the HS is detailed in **Supplementary table 1 (in Supplementary materials 1)**.

Earthworm density and biomass were significantly higher in the alley cropping treatment than in the control without trees (both  $p$ -values  $< 0.001$  for treatment showed in **Table 2**, values in **Table 3**). This was mainly due to anecic earthworms (both  $p$ -values  $< 0.001$  for treatment) (**Fig. 2**) and especially to *A. nocturna* (**Supplementary table 1 in Supplementary materials 1**). No

significant difference between treatments was found for other earthworm categories (p-value for treatment of 0.36 for epigeic and 0.81 for endogeic earthworm density).

**Table 2** P-values obtained after type II Wald chisquare tests performed on mixed models. The factors were the distance from the herbaceous strip (HS) (0 m, 1 m and 2.5 m), the treatment (alley cropping and control with no trees in the HS), and their interaction. The sampling season (April, June or November 2018) was used as a random factor.

	Treatment * distance	Treatment	Distance
Earthworm density	0.398	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>
Earthworm biomass <sup>1</sup>	0.475	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>
Microbial biomass C	<b>0.032</b>	< <b>0.001</b>	<b>0.005</b>
Microbial biomass N <sup>2</sup>	0.065	< <b>0.001</b>	<b>0.014</b>
Microbial biomass P	0.129	0.153	0.161
qCO <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0.205	0.174	< <b>0.001</b>
Soil organic carbon <sup>3</sup>	<b>0.047</b>	< <b>0.001</b>	<b>0.028</b>
Mineral N	<b>0.002</b>	<b>0.002</b>	<b>0.437</b>
Olsen P	<b>0.003</b>	<b>0.060</b>	<b>0.257</b>

qCO<sub>2</sub> is a metabolic quotient used as a proxy of microorganism activity, obtained by dividing basal soil respiration by glucose-induced soil respiration. Bolded values correspond to the factors used in the final models for pairwise comparisons.

<sup>1</sup> square root-transformed values (earthworm biomass) or log-transformed values (qCO<sub>2</sub>) were used

<sup>2</sup> random factor removed due to singular fit distribution

<sup>3</sup> measured in April only

In both treatments, earthworm density and biomass were significantly higher in the HS than in the tomato beds (**Table 3**). No significant difference was found between the two studied tomato beds (1 m and 2.5 m from the HS) in any treatment (**Table 3**). These similar trends for both treatments are underpinned by the lack of significance of the interaction between treatment and distance from the HS in **Table 2** (p-value of 0.40 for density and 0.48 for biomass). Similar results were found for the different categories of earthworms (**Fig. 2**). The percentage of anecic earthworms density in the community was higher in the HS than in the tomato beds in both treatments. Anecic earthworm density decreased from  $59 \pm 16$  % or  $35 \pm 28$  % of total earthworm density in the HS to  $48 \pm 36$  % or  $17 \pm 27$  % in the tomato beds, for the alley cropping and control treatment respectively (**Supplementary table 1 in Supplementary materials 1**).

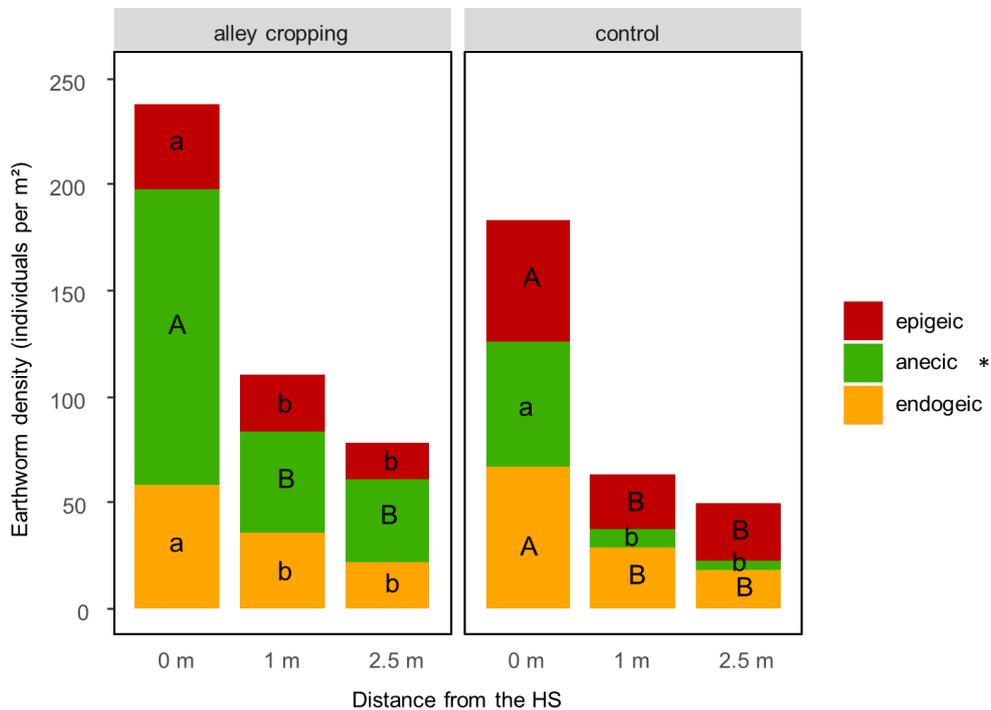
**Table 3** Mean values  $\pm$  standard deviations of earthworm biomass and density and some microbial quotients for each treatment (alley cropping and control with no trees in the herbaceous strip (HS)) and each distance from the HS. Different letters indicate significant differences between distances from the HS for both treatments together determined on mixed models, with season as a random factor (Tukey,  $p$ -value  $< 5\%$ ). Asterisks indicate significant differences between treatments for all distance from the HS together.

		0 m from HS	1 m from HS	2.5 m from HS
Earthworm density (individuals per m <sup>2</sup> )	Alley cropping	238 $\pm$ 92	110 $\pm$ 86	78 $\pm$ 54
	Control	183 $\pm$ 84 a *	64 $\pm$ 60 b	50 $\pm$ 57 b
Earthworm biomass <sup>1</sup> (g.m <sup>-2</sup> )	Alley cropping	137.1 $\pm$ 84.6	65.6 $\pm$ 65.5	70.8 $\pm$ 72.0
	Control	90.5 $\pm$ 47.2 a *	25.2 $\pm$ 32.0 b	20.2 $\pm$ 23.9 b
Microbial biomass C (% of SOC)	Alley cropping	2.54 $\pm$ 0.44	2.30 $\pm$ 0.24	2.29 $\pm$ 0.22
	Control	2.62 $\pm$ 0.64 a	2.53 $\pm$ 0.73 ab	2.39 $\pm$ 0.45 b
Microbial biomass C / microbial biomass N	Alley cropping	5.37 $\pm$ 0.50	5.22 $\pm$ 0.40	5.33 $\pm$ 0.42
	Control	5.59 $\pm$ 0.68 a *	5.58 $\pm$ 0.64 a	5.56 $\pm$ 0.87 a
qCO <sub>2</sub> <sup>2</sup>	Alley cropping	0.36 $\pm$ 0.11	0.44 $\pm$ 0.11	0.44 $\pm$ 0.12
	Control	0.41 $\pm$ 0.17 b	0.47 $\pm$ 0.17 a	0.43 $\pm$ 0.10 a

SOC means soil organic carbon. qCO<sub>2</sub> is a metabolic quotient used as a proxy of microorganism activity, obtained by dividing basal soil respiration by glucose-induced soil respiration.

<sup>1</sup> square root-transformed values used for statistical analyses (initial values presented here)

<sup>2</sup> log-transformed values used for statistical analyses (initial values presented here)



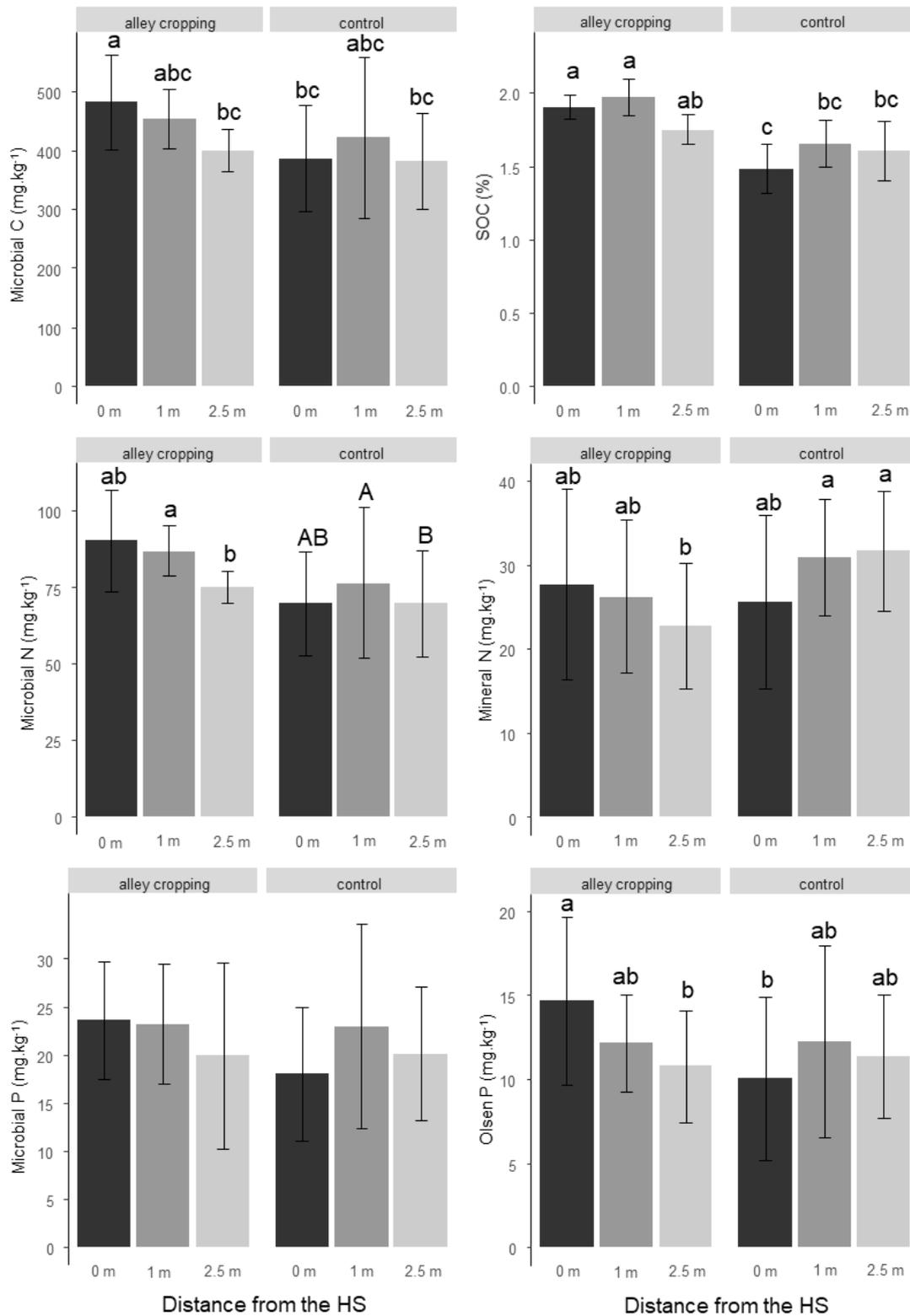
**Fig. 2** Mean values of earthworm density in the three ecological categories epigeic, anecic and endogeic, for each treatment (alley cropping and control with no trees in the herbaceous strip (HS)) and each distance from the HS. Different letters indicate significant differences between distances from the HS in each earthworm category, determined for both treatments together on mixed models, with season as a random factor (Tukey,  $p$ -value  $< 5\%$ ). Asterisks indicate significant differences between treatments for all distance from the HS together.

### 3.1.2. Microorganisms

Microbial biomass C was significantly higher in the HS of the alley cropping compared to the HS of the control treatment, while no significant difference between treatments was found in the tomato beds (**Fig. 3**). Microbial biomass N was higher in the alley cropping treatment than in the control (p-value < 0.001 for treatment showed in **Table 2**, values in **Fig. 3**). Microbial biomass P and the metabolic quotient  $qCO_2$  were not significantly different between treatments (**Table 2**, p-values of 0.15 and 0.17 respectively for treatment effect).

In the alley cropping treatment, microbial biomass C was significantly higher in the HS compared to 2.5 m from the HS, with intermediate values 1 m from the HS (**Fig. 3**). In the control treatment, there was no significant difference between distances from the HS (**Fig. 3**). These variations in response to treatment are underpinned by the significant effect of the interaction between treatment and distance from the HS for microbial biomass C shown in **Table 2** (p-value of 0.03). Microbial N showed a similar but not significant trend (**Fig. 3**, **Table 2**). Microbial N was significantly higher 1 m from the HS compared to 2.5 m from the HS in both treatments (**Fig. 3**). No difference according to distance from the HS was found in any treatment for microbial P (**Fig. 3**) and microbial C:N ratio (**Table 3**).

When microbial biomass content was normalized to SOC, it presented a similar response in both treatments (p-value of 0.66 for the interaction between treatment and distance from the HS). It was significantly higher in the HS than 2.5 m from the HS in both treatments (**Table 3**). The metabolic quotient  $qCO_2$  also presented a similar response in both treatments (p-value of 0.21 for the interaction, **Table 2**). It was significantly lower in the HS compared to both 1 m and 2.5 m from the HS (**Table 3**).



**Fig. 3** Mean microbial biomass, SOC and nutrient contents for each treatment (alley cropping or control with no trees in the herbaceous strip (HS)) and each distance from the HS. Different letters indicate significant differences between the means (Tukey,  $p$ -value < 5 %), determined after linear mixed models using season as a random factor. For microbial N, different letters indicate significant differences between distances from the HS determined for both treatments together on mixed models, as the interaction between treatment and distance from the HS was not significant. Error bars represent standard deviations of the original means. SOC means soil organic carbon. SOC was measured in April only.

### 3.1.3. Soil organic carbon and nutrients

SOC and available P (Olsen P) contents were significantly higher in the alley cropping treatment compared to the control in the HS (**Fig. 3**). SOC content was also significantly higher in the alley cropping treatment than in the control 1 m away from the HS, while no difference was found between treatments for available P content in the tomato beds (**Fig. 3**). Mineral N content was significantly higher in the control than in the alley cropping treatment 2.5 m from the HS only (**Fig. 3**).

Available P was significantly higher in the HS than 2.5 m from the HS in the alley cropping treatment with intermediate values 1 m from the HS, while no significant difference was found in the control treatment between distances from the HS (**Fig. 3**). These variations between treatments are underlined by the significant effect of the interaction between treatment and distance from the HS shown in **Table 2** for available P (p-value of 0.003). However, no significant difference was found between distances from the HS for SOC and mineral N in any treatment (**Fig. 3**).

### 3.2. Effect of the distance from the tree in the alley cropping treatment

**Table 4** P-values obtained after type II Wald chisquare tests performed on mixed models for the alley cropping treatment. The factors were the distance from the herbaceous strip (HS) (0 m, 1 m and 2.5 m), the transect type (near or inter-tree at 1 and 5 m from the tree respectively), and their interaction. The sampling season (April, June or November 2018) was used as a random factor.

	Transect type * distance	Transect type	Distance
Earthworm density	0.526	0.410	< <b>0.001</b>
Earthworm biomass <sup>1</sup>	0.380	0.793	< <b>0.001</b>
Microbial biomass C	<b>0.005</b>	<b>0.007</b>	< <b>0.001</b>
Microbial biomass N	< <b>0.001</b>	<b>0.006</b>	< <b>0.001</b>
Microbial biomass P <sup>2</sup>	0.174	0.678	0.190
qCO <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0.720	0.967	< <b>0.001</b>
Soil organic carbon <sup>3</sup>	0.521	0.424	<b>0.003</b>
Mineral N	0.428	0.110	0.071
Olsen P	<b>0.017</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>

qCO<sub>2</sub> is a metabolic quotient used as a proxy of microorganism activity, obtained by dividing basal soil respiration by glucose-induced soil respiration. Bolded values correspond to the factors used in the final models for pairwise comparisons.

<sup>1</sup> square root-transformed values (earthworm biomass) or log-transformed values (qCO<sub>2</sub>) were used

<sup>2</sup> random factor removed due to singular fit distribution

<sup>3</sup> measured in April only

### 3.2.1. Earthworms

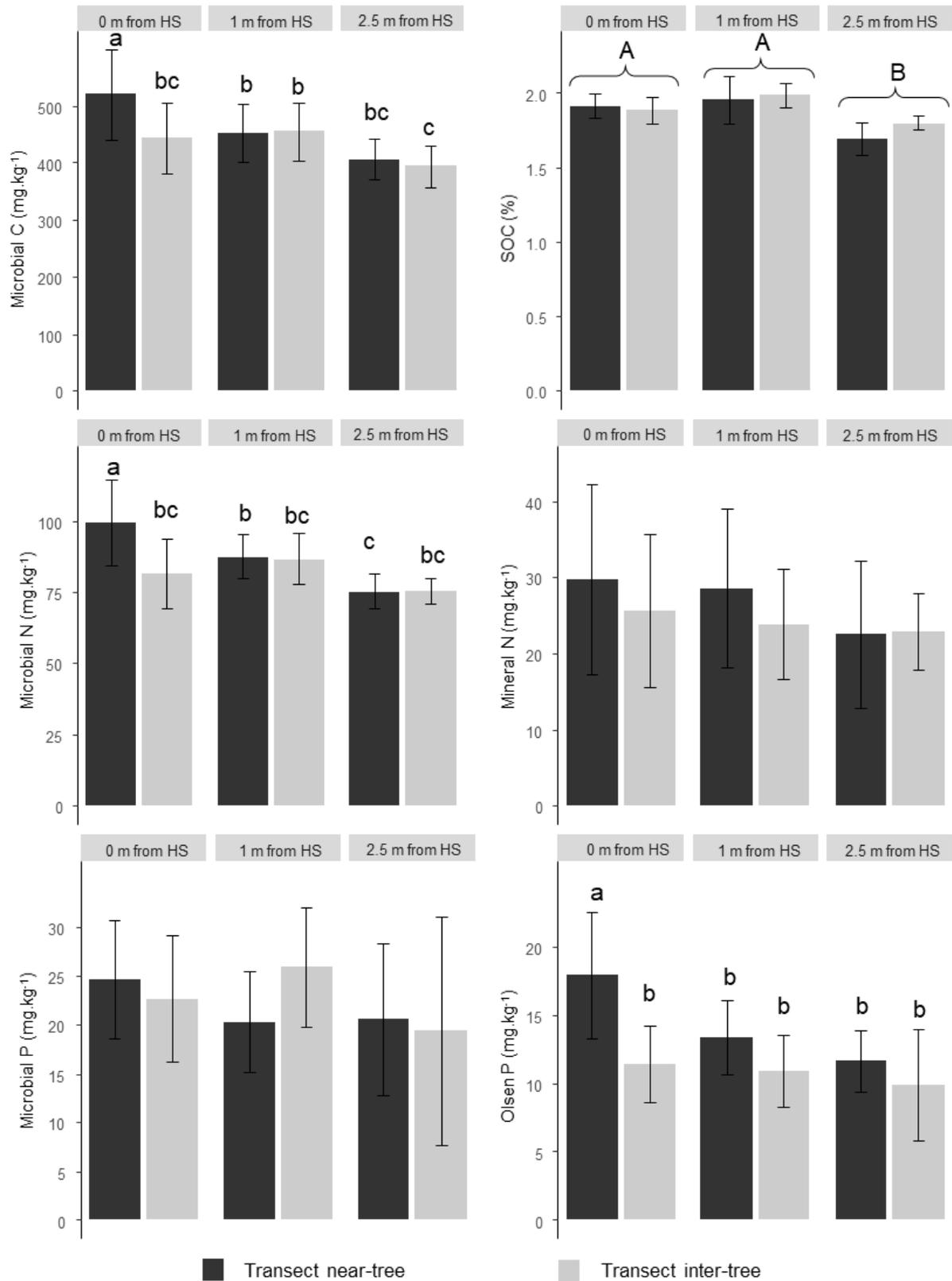
The distance from the tree did not impact earthworm density and biomass (p-value for transect type alone of 0.41 for density and 0.79 for biomass, **Table 4**), nor the effect of the distance from the HS (p-value for interaction between transect type and distance from the HS of 0.53 for density and 0.38 for biomass).

### 3.2.2. Microorganisms

Microbial biomass C and N were affected by the distance from the closest tree, as shown by the significant effect of the interaction between distance from the HS and transect type in **Table 4** (p-value of 0.005 for C and <0.001 for N). Microbial biomass C and N were higher in the HS of transect near-tree (at 1 m from the tree) than in any other sampling position (**Fig. 4**). There were no significant differences between transect types in the tomato beds. The same result was found when microbial biomass C was normalized to SOC (**Supplementary figure 1 in Supplementary materials 1**). Transect type (near-tree or inter-tree) did not impact microbial P, nor the metabolic quotient  $q\text{CO}_2$  (**Table 4**).

### 3.2.3. Soil organic carbon and nutrients

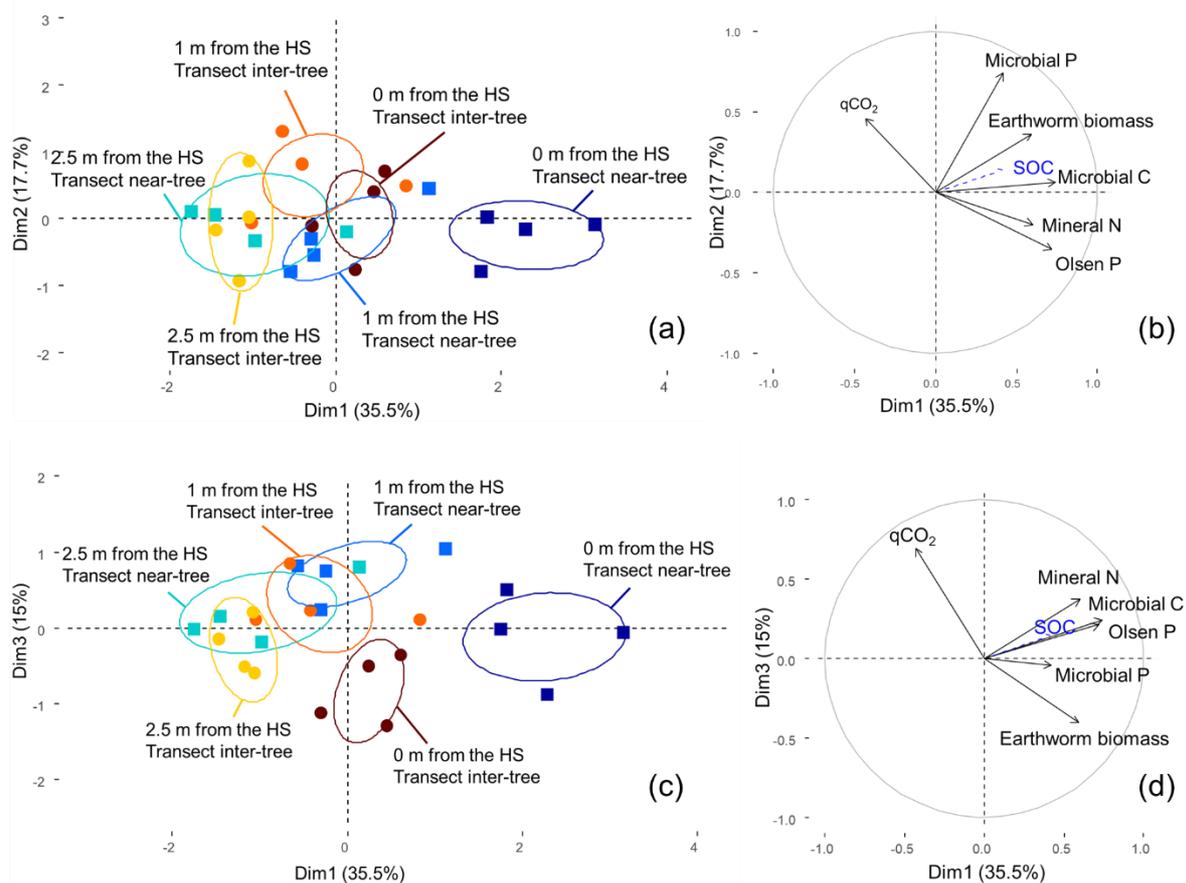
Available P (Olsen P) varied with tree distance, as shown by the significant effect of the interaction between transect type and distance from the HS in **Table 4** (p-value of 0.02). Available P was higher in the HS of near-tree transects than in any other sampling position (**Fig. 4**). No significant difference was found between the other sampling positions. SOC and mineral N were not affected by the distance from the tree, as the interaction and the transect type alone did not have a significant effect for these variables (**Table 4, Fig. 4**).



**Fig. 4** Mean microbial biomass, SOC and nutrient contents for each transect type (near or inter-tree at 1 and 5 m from the tree respectively) and each distance from the herbaceous strip (HS) in the alley cropping treatment. Different letters indicate significant differences between the means (Tukey, p-value < 5 %), determined after linear mixed models using season as a random factor. Error bars represent standard deviations of the original means. SOC means soil organic carbon. SOC was measured in April only.

### 3.2.4. Response of all variables in the alley cropping treatment

The first component of the PCA explained 36% of the variance of the data of the alley cropping treatment, while components 2 and 3 explained respectively 18 % and 15 % of the variance (**Fig. 5**). Individuals of the HS of transect near-tree were well separated from all other individuals by the first component with no overlap between 95 % confidence ellipses, including from individuals of the HS of transect inter-tree, (**Fig. 5a and 5c**). In addition, the representation of individuals along components 1 and 3 also separates individuals from the HS of the transect inter-tree from those of the tomato beds, especially from individuals at 2.5 from the HS (**Fig. 5c**). These results were confirmed by pairwise constrained ordination analyses (p-value < 0.05, data not shown). Variables best explaining the separation between HS and tomato beds (lower right quarter vs upper left quarter of the representation along components 1 and 3, **Fig. 5c**) were earthworm biomass and qCO<sub>2</sub> values (**Fig. 5d**). The specific separation of the HS of transect near-tree from all other positions is due to higher microbial biomass C, available P (Olsen P) and mineral N in the HS of transect near-tree (**Fig. 5b**). SOC, used as an illustrative variable, varies the same way.



(Fig. 5, see caption in the next page)

**Fig. 5** Principal component plots obtained after a principal component analysis (PCA) carried out on the alley cropping treatment data. Data were center-reduced by season in order to remove seasonal effect. (a) and (c) Principal component plots of individuals. Mean values for each sampling position are represented (mean of three seasons). Individuals of transect near-tree (1 m from the tree) are represented by squares from dark blue to light blue with increasing distance from the HS. Individuals of transect inter-tree (5 m from the tree) are represented by circles from red to yellow with increasing distance from the HS. Individuals are grouped by each combination of transect type and distance from the HS. 95 % confidence ellipses are represented. (b) and (d) Correlation circles. Variables used to build the PCA are represented in continuous black lines. SOC was used as an illustrative variable as it was measured in April only, and is represented in dashed blue lines.

## 4. Discussion

Depending on the studied variables, a different picture of spatial heterogeneity emerges, as emphasized by **Fig. 5**. While some variables show a specific response to the presence and distance from trees (SOC, microbial biomass C, available P), others seem to be mainly impacted by the distance from a HS, regardless of tree presence (earthworm density,  $qCO_2$ ).

### 4.1. Impact of HS regardless of tree presence

The fact that some variables showed a similar response to the distance from the HS whether in the presence or absence of trees (alley cropping versus control treatment), suggests that the HS itself was responsible for their variations, independently of tree presence. For example, the metabolic quotient  $qCO_2$  was lower in HS than in tomato beds in both treatments. In addition, a higher microbial biomass carbon was observed in the HS compared to 2.5 m from the HS when normalized to SOC in both treatments. Similarly, meadows have been shown to present a higher microbial C : SOC ratio than arable fields (Sparling 1992). Furthermore in our situation, crop alleys were made up of raised beds, which are strongly perturbed systems, where soil tillage destroys fungal hyphae, incorporates crop residues into the soil, and promotes decompaction, aeration and the destruction of soil aggregates (Roger-Estrade et al. 2010). These raised beds received N-rich manure and were irrigated during summer. This probably favored the activity of copiotrophic bacteria-dominated communities feeding on labile substrates in nutrient-rich environments (de Vries et al. 2013; Zhou et al. 2017). At the opposite, the absence of perturbation and presence of perennial herbaceous vegetation and associated non-exported litter in HS probably fostered the presence of oligotrophic organisms, able to use a wider range of substrates, and more efficient in their use of C. This in turn could have led to a lower

respiration rate per unit of biomass and a higher use of SOC for microbial biomass production in the HS, such as what Zhou et al (2017) observed in plots at high levels of secondary succession compared to recently-disturbed plots. The increase in the ratio of microbial C relative to SOC in the HS could also be due to the production of high quality root exudates from the extensive root system, which are a source of rapid microbial growth (Sparling 1992). Higher mycorrhizal biomass was also found in 12 year old HS with or without trees compared to the crop alley in a plot in Missouri, suggesting that these results could also be due to an increase of symbiotic organism biomass in the HS (Unger et al. 2013).

The specific effect of the HS is particularly marked for earthworms, which presented higher biomass and densities in the HS compared to the tomato beds regardless of the presence of trees. Higher earthworm densities in tree rows than in crop alleys have already been found by Cardinael et al (2019) and Rivest et al (2019). Higher earthworm densities have also been found in herbaceous field margins or meadows compared to crop fields (Crittenden et al. 2015; Schneider et al. 2016). We did not observe the increased earthworm densities or cast production close to tree rows mentioned by Price and Gordon (1999) and Seiter et al (1999) in alley cropping plots. However, non-significantly higher mean densities were found 1 m compared to 2.5 m from the HS (p-value of 0.11). Higher earthworm densities in HS can be explained by the lack of soil perturbation and the presence of surface litter. In crop alleys, rotary tillage induces direct mortality of earthworms, a destruction of earthworm galleries and the burial of litter (Roger-Estrade et al. 2010). It especially disadvantages anecic earthworms (Chan 2001). For example, *Lumbricus terrestris* is favored by minimal soil cultivation and perennial vegetation presence (Lindahl et al. 2009). In addition, since *A nocturna* intensively reuses its galleries (Capowiez 2000), HS are shelters for them while burrow destruction by tillage is deleterious for this species. In agreement with this, a higher percentage of anecics was found in HS compared to crop alleys in our study. In contrast, endogeic earthworms are known to be less sensitive to soil perturbation and sometimes favored by the incorporation of organic matter into the soil (Chan 2001), as previously observed in other sites (Lagerlöf et al. 2002; D'Hervilly et al. 2020). However, our study reveals a higher density of endogeic earthworms in the HS than in the tomato beds, similarly to the other earthworm categories. Our study took place just after rotary tillage; this practice could have strongly impacted endogeic earthworms. The surprising presence of epigeic earthworms in the raised beds is due to the presence of great quantities of mulch at the soil surface, as these worms are favored by surface litter (Campana et al. 2002).

Mulch probably attenuated temperature and extreme climatic variations in these Mediterranean conditions, as observed for hay mulch by Li et al (2020).

#### **4.2. Impact of tree presence**

The comparison of results in the presence and absence of trees (alley cropping versus control plot) reveals a specific effect of trees on SOC content. SOC content was significantly higher in the presence of trees both in the HS and at 1 m from it. In agreement with this observation, D'Acunto et al (2014) found that SOC content was higher in woody than in herbaceous field boundaries for the first 15 cm of soil depth, and that only woody field boundaries influenced their vicinity (until 4 m at least). Pardon et al (2017) also found that Belgian field boundaries (15 - 47 years old) planted with poplars increased SOC content in the field area until 20 m from the border, while boundaries without trees did not, for the first 23 cm of soil. The increase in SOC in the presence of trees is probably due to the additional litter produced by the trees (particularly leaves) and deposited on a wide area due to tree canopies and dispersion by wind, and to far-ranging tree root systems and associated dead roots and root exudates. D'Acunto et al (2014) showed that litter originating from woody vegetation had more C, more lignin and decomposed slower than litter from herbaceous vegetation. Tree roots have also been shown to decompose more slowly than roots from herbaceous plants (Solly et al. 2014). Litter and roots from the tree could thus persist longer in the soil. In addition, a tree-induced microclimate – with lower air and soil temperature during the day, as showed by Martin-Chave et al (2019) could also slow decomposition processes (Gliksman et al. 2018). In the present study, the increase in SOC in the presence of trees was no longer significant at 2.5 m from the HS. The comparison of transects at different distances from the tree in the alley cropping treatment however revealed that increased SOC content in tree presence was not restricted to tree close vicinity, as similar patterns were found in the transects at 1 m and 5 m from the tree. These results are in agreement with those of Cardinael et al (2017) who found no difference between transects close to the tree or at equal distance between two trees for 5 different alley cropping sites in France. These results suggest that distance from the tree is not the only element explaining changes in SOC content.

The lack of significant differences for SOC content between the HS and the tomato beds in the control plot was surprising. The plot we studied was however very specific due to the presence of mulched raised beds. This kind of system is rarely studied, but can be compared to urban

vegetable gardens which present, on average, a higher SOC content (2.5 %) than other cropping systems (1.5 %) in France (Joimel et al. 2016). The lack of differences between the HS and the tomato beds for SOC content could thus be due to the specific management of the crop alley.

The comparison of plots with and without trees also reveals a specific effect of trees on microbial biomass and available P. Microbial biomass C and available P content were higher in HS with than without trees (alley cropping versus control treatment). The higher microbial biomass C is consistent with the higher SOC content in HS with trees. Contrary to us, Unger et al (2013) found no difference in total microbial biomass between HS with or without trees, however they found a higher bacterial biomass in HS with trees. D'Acunto et al (2016) found that woody margins present functionally different and more diverse communities than herbaceous margins. This could contribute to the increase in microbial biomass in HS with trees, due to the capacity to degrade a wider range of substrates, including those from the tree. Microbial biomass C and available P were higher in the HS than 2.5 m from the HS in the alley cropping treatment, while no difference was found between the HS and tomato beds in the control treatment. Increased microbial biomass in tree rows compared to crop alleys was found for an alley cropping plot of similar age by Guillot et al (2019). In addition, no differences were found in microbial biomass between herbaceous and crop margins in another study (Cardinali et al. 2014).

Comparisons of transects at different distances from the tree in the alley cropping treatment reveal that, contrary to SOC, the increase in microbial biomass C and available soil P in the HS is only visible at 1 m from the tree. Increasing nutrient contents with tree proximity have already been found in Mediterranean silvopastures and were particularly visible under tree crowns, especially for available P (Moreno et al. 2007). Spatial variability of available soil P has also been shown to be strongly associated with tree root systems (Gallardo 2003), probably as roots and associated mycorrhiza have a strong effect on the release of dissolved organic carbon and available P (Tran et al. 2020). However, Moreno et al. (2007) found that the higher nutrient content was associated with a higher soil organic matter content in tree vicinity, while SOC was not higher at 1 m than at 5 m from the tree in the HS in our study. The increased nutrient and quantity of additional organic matter from the tree in the vicinity of the tree row, possibly associated with a stronger microclimate effect under the tree canopy, could explain the specific higher microbial biomass at 1 m from the tree.

Tree crowns were strongly pruned before the first sampling season in our study. The results of canopy pruning are contrasted, poorly studied in temperate zones, and depend on tree species,

age and pruning period (Schroth 1998). Pruning could at least temporarily increase organic matter and nutrients inputs from roots to soil, probably due to root mortality and turnover (Carrillo et al. 2011). Root mortality can be followed by subsequent growth of new roots (Schroth 1998). Walnut tree pruning has particularly been shown to induce the growth of shallow roots quite quickly in one study (Contador et al. 2015). Temporary increase in nutrient or organic matter availability –and possibly in root exudates due to new root growth –could favor microbial growth. It could explain the surprising increase in microbial biomass C : SOC content at 1 m from the tree in the alley cropping treatment, which usually reveals additional carbon available for microorganisms (Anderson 2003). Walnut pruning probably also reduced the range of the microclimate effect, possibly promoting heterogeneity in soil microorganism activity in the plot as it is sensitive to variations in soil temperature and moisture.

Anecic earthworm density, particularly of *A. nocturna*, was higher in the alley cropping than in the control treatment. Pauli et al. (2010) found that the spatial distribution of anecic earthworm casts was partly explained by tree proximity, with higher production close to trees. The increased anecic densities in the presence of trees could be mainly explained by a higher quantity of aboveground litter on which they feed (Zou and Gonzalez 1997), and a higher SOC content (Palm et al. 2013; Józefowska et al. 2016).

## 5. Conclusions

Our study reveals that HS are a habitat for earthworms, and for microorganisms with a high microbial C relative to SOC and a low metabolic quotient, independently of tree presence. In addition, tree presence increased microbial biomass C and available P, but only to a distance of 1 m from the tree. These results question the dominant role of trees in soil nutrient turnover in alley cropping systems, and emphasize the need to consider the understory herbaceous vegetation when studying soil properties. However, they confirm the importance of tree presence in increasing the SOC content. Further studies should investigate how HS properties could benefit crop alley fertility, in particular via the effects of the mobile soil organisms whose presence is stimulated. Such effects are likely to be conditioned by temporal dynamics in the spatial structure of soil organism communities, related to seasonal variations and to the timing of crop management practices.

## References

- Anderson TH (2003) Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agric Ecosyst Environ* 98:285–293. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(03)00088-4)
- Barrios E (2007) Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecol Econ* 64:269–285. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.03.004>
- Battie-Laclau P, Taschen E, Plassard C, et al (2019) Role of trees and herbaceous vegetation beneath trees in maintaining arbuscular mycorrhizal communities in temperate alley cropping systems. *Plant Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04181-z>
- Beuschel R, Piepho H-P, Joergensen RG, Wachendorf C (2019) Similar spatial patterns of soil quality indicators in three poplar-based silvo-arable alley cropping systems in Germany. *Biol Fertil Soils* 55:1–14. <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1324-3>
- Boinot S, Poulmarc'h J, Mézière D, et al (2019) Distribution of overwintering invertebrates in temperate agroforestry systems: Implications for biodiversity conservation and biological control of crop pests. *Agric Ecosyst Environ* 285:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106630>
- Bottinelli N, Hedde M, Jouquet P, Capowiez Y (2020) An explicit definition of earthworm ecological categories – Marcel Bouché's triangle revisited. *Geoderma* 372:114361. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114361>
- Bouché MB (1977) Stratégies lombriciennes. *Ecol Bull* 25:122–132
- Bouché MB (1972) *Lombriciens de France: écologie et systématique*. Inra, Paris
- Brookes PC, Landman A, Prudent G, et al (1985) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol Biochem* 17:837–842. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(85\)90144-0](https://doi.org/10.1016/0038-0717(85)90144-0)
- Brookes PC, Powlson DS, Jenkinson DS (1982) Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biol Biochem* 14:319–329. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(82\)90001-3](https://doi.org/10.1016/0038-0717(82)90001-3)
- Campana C, Gauvin S, Ponge JF (2002) Influence of ground cover on earthworm communities in an unmanaged beech forest: Linear gradient studies. *Eur J Soil Biol*

38:213–224. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(02\)01143-3](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(02)01143-3)

Campbell CD, Chapman SJ, Cameron CM, et al (2003) A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Appl Environ Microbiol* 69:3593–3599. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3593>

Capowiez Y (2000) Differences in burrowing behaviour and spatial interaction between the two earthworm species *Aporrectodea nocturna* and *Allolobophora chlorotica*. *Biol Fertil Soils* 30:341–346. <https://doi.org/10.1007/s003740050013>

Cardinael R, Chevallier T, Barthès BG, et al (2015) Impact of alley cropping agroforestry on stocks, forms and spatial distribution of soil organic carbon — A case study in a Mediterranean context. *Geoderma* 259–260:288–299. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.06.015>

Cardinael R, Chevallier T, Cambou A, et al (2017) Increased soil organic carbon stocks under agroforestry: A survey of six different sites in France. *Agric Ecosyst Environ* 236:243–255. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.12.011>

Cardinael R, Hoeffner K, Chenu C, et al (2019) Spatial variation of earthworm communities and soil organic carbon in temperate agroforestry. *Biol Fertil Soils* 55:171–183. <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1332-3>

Cardinali A, Carletti P, Nardi S, Zanin G (2014) Design of riparian buffer strips affects soil quality parameters. *Appl Soil Ecol* 80:67–76. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.04.003>

Carrillo Y, Jordan CF, Jacobsen KL, et al (2011) Shoot pruning of a hedgerow perennial legume alters the availability and temporal dynamics of root-derived nitrogen in a subtropical setting. *Plant Soil* 345:59–68. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0760-8>

Chan KY (2001) An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils. *Soil Tillage Res* 57:179–191. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00173-2)

Contador ML, Comas LH, Metcalf SG, et al (2015) Root growth dynamics linked to above-ground growth in walnut (*Juglans regia*). *Ann Bot* 116:49–60. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv064>

- Crittenden SJ, Huerta E, de Goede RGM, Pulleman MM (2015) Earthworm assemblages as affected by field margin strips and tillage intensity: An on-farm approach. *Eur J Soil Biol* 66:49–56. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.11.007>
- D'Acunto L, Semmartin M, Ghera CM (2014) Uncropped field margins to mitigate soil carbon losses in agricultural landscapes. *Agric Ecosyst Environ* 183:60–68. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.10.022>
- D'Acunto L, Semmartin M, Ghera CM (2016) Uncultivated margins are source of soil microbial diversity in an agricultural landscape. *Agric Ecosyst Environ* 220:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.12.032>
- D'Hervilly C, Marsden C, Hedde M, Bertrand I (2020) Sown understory vegetation strips impact soil chemical fertility, associated microorganisms and macro-invertebrates in two temperate alley cropping systems. *Agrofor Syst* 0123456789: <https://doi.org/10.1007/s10457-020-00501-w>
- de Vries FT, Thébault E, Liiri M, et al (2013) Soil food web properties explain ecosystem services across European land use systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:14296–14301. <https://doi.org/10.1073/pnas.1305198110>
- Filser J, Faber JH, Tiunov A V., et al (2016) Soil fauna: Key to new carbon models. *Soil* 2:565–582. <https://doi.org/10.5194/soil-2-565-2016>
- Gallardo A (2003) Effect of tree canopy on the spatial distribution of soil nutrients in a Mediterranean Dehesa. *Pedobiologia (Jena)* 47:117–125. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00175>
- Gikas GD, Tsihrintzis VA, Sykas D (2016) Effect of trees on the reduction of nutrient concentrations in the soils of cultivated areas. *Environ Monit Assess* 188:327. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5325-0>
- Gliksman D, Haenel S, Osem Y, et al (2018) Litter decomposition in Mediterranean pine forests is enhanced by reduced canopy cover. *Plant Soil* 422:317–329. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3366-y>
- Guillot E, Hinsinger P, Dufour L, et al (2019) With or without trees: Resistance and resilience of soil microbial communities to drought and heat stress in a Mediterranean agroforestry system. *Soil Biol Biochem* 129:122–135. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.011>

- Jenkinson DS, Brookes PC, Powlson DS (2004) Measuring soil microbial biomass. *Soil Biol Biochem* 36:5–7. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.10.002>
- Joimel S, Cortet J, Jolivet CC, et al (2016) Physico-chemical characteristics of topsoil for contrasted forest, agricultural, urban and industrial land uses in France. *Sci Total Environ* 545–546:40–47. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.035>
- Józefowska A, Woś B, Pietrzykowski M (2016) Tree species and soil substrate effects on soil biota during early soil forming stages at afforested mine sites. *Appl Soil Ecol* 102:70–79. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.02.012>
- Lagerlöf J, Goffre B, Vincent C (2002) The importance of field boundaries for earthworms (Lumbricidae) in the Swedish agricultural landscape. *Agric Ecosyst Environ* 89:91–103. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(01\)00321-8](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00321-8)
- Lavelle P (1997) Faunal Activities and Soil Processes: Adaptive Strategies That Determine Ecosystem Function. *Adv Ecol Res* 27:93–132. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60007-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60007-0)
- Lawson G, Dupraz C, Watté J (2019) Can Silvoarable Systems Maintain Yield, Resilience, and Diversity in the Face of Changing Environments? *Agroecosystem Divers* 145–168. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811050-8.00009-1>
- Li H, Zhu N, Wang S, et al (2020) Dual benefits of long-term ecological agricultural engineering: Mitigation of nutrient losses and improvement of soil quality. *Sci Total Environ* 721:137848. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137848>
- Lindahl AML, Dubus IG, Jarvis NJ (2009) Site Classification to Predict the Abundance of the Deep-Burrowing Earthworm *Lumbricus terrestris* L. . *Vadose Zo J* 8:911–915. <https://doi.org/10.2136/vzj2008.0140>
- Marsden C, Martin-Chave A, Cortet J, et al (2019) How agroforestry systems influence soil fauna and their functions - a review. *Plant Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04322-4>
- Martin-Chave A, Béral C, Mazzia C, Capowiez Y (2019) Agroforestry impacts the seasonal and diurnal activity of dominant predatory arthropods in organic vegetable crops. *Agrofor Syst* 93:2067–2083. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0309-4>
- Martin A (1991) Short- and long-term effects of the endogeic earthworm *Millsonia anomala*

- (Omodeo) (Megascolecidae, Oligochaeta) of tropical savannas, on soil organic matter. *Biol Fertil Soils* 11:234–238. <https://doi.org/10.1007/BF00335774>
- Moreno G, Obrador JJ, García A (2007) Impact of evergreen oaks on soil fertility and crop production in intercropped dehesas. *Agric Ecosyst Environ* 119:270–280. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.07.013>
- Nii-Annang S, Grünewald H, Freese D, et al (2009) Microbial activity, organic C accumulation and <sup>13</sup>C abundance in soils under alley cropping systems after 9 years of recultivation of quaternary deposits. *Biol Fertil Soils* 45:531–538. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0360-4>
- Ohno T, Zibilske LM (1991) Determination of low concentrations of phosphorus in soil extracts using Malachite green. *Soil Sci Soc Am* 55:892–895. <https://doi.org/10.2136/sssaj1991.03615995005500030046x>
- Palm J, van Schaik NLMB, Schröder B (2013) Modelling distribution patterns of anecic, epigeic and endogeic earthworms at catchment-scale in agro-ecosystems. *Pedobiologia (Jena)* 56:23–31. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2012.08.007>
- Pardon P, Reheul D, Mertens J, et al (2019) Gradients in abundance and diversity of ground dwelling arthropods as a function of distance to tree rows in temperate arable agroforestry systems. *Agric Ecosyst Environ* 270–271:114–128. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.10.017>
- Pardon P, Reubens B, Reheul D, et al (2017) Trees increase soil organic carbon and nutrient availability in temperate agroforestry systems. *Agric Ecosyst Environ* 247:98–111. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.018>
- Pauli N, Oberthür T, Barrios E, Conacher AJ (2010) Fine-scale spatial and temporal variation in earthworm surface casting activity in agroforestry fields, western Honduras. *Pedobiologia (Jena)* 53:127–139. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2009.08.001>
- Price GW, Gordon AM (1999) Spatial and temporal distribution of earthworms in a temperate intercropping system in southern Ontario, Canada. *Agrofor Syst* 44:141–149. <https://doi.org/10.1023/A:1006213603150>
- Quinkenstein A, Wöllecke J, Böhm C, et al (2009) Ecological benefits of the alley cropping agroforestry system in sensitive regions of Europe. *Environ Sci Policy* 12:1112–1121.

<https://doi.org/10.1016/j.envsci.2009.08.008>

Rivest M, Whalen JK, Rivest D (2019) Variation of soil microbial and earthworm communities along an agricultural transect with tree windbreak. *Agrofor Syst* 3:.  
<https://doi.org/10.1007/s10457-019-00476-3>

Roger-Estrade J, Anger C, Bertrand M, Richard G (2010) Tillage and soil ecology: Partners for sustainable agriculture. *Soil Tillage Res* 111:33–40.  
<https://doi.org/10.1016/j.still.2010.08.010>

Saul-Tcherkas V, Steinberger Y (2009) Substrate utilization patterns of desert soil microbial communities in response to xeric and mesic conditions. *Soil Biol Biochem* 41:1882–1893. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.06.011>

Schimel JP, Schaeffer SM (2012) Microbial control over carbon cycling in soil. *Front Microbiol* 3:1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00348>

Schneider AK, van Schaik L, Zangerlé A, et al (2016) Which abiotic filters shape earthworm distribution patterns at the catchment scale? *Eur J Soil Sci* 67:431–442.  
<https://doi.org/10.1111/ejss.12346>

Schroth G (1998) A review of belowground interactions in agroforestry, focussing on mechanisms and management options. *Agrofor Syst* 43:5–34.  
<https://doi.org/10.1023/a:1026443018920>

Seiter S, Ingham ER, William RD (1999) Dynamics of soil fungal and bacterial biomass in a temperate climate alley cropping system. *Appl Soil Ecol* 12:139–147.  
[https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(98\)00163-2](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00163-2)

Solly EF, Schöning I, Boch S, et al (2014) Factors controlling decomposition rates of fine root litter in temperate forests and grasslands. *Plant Soil* 382:203–218.  
<https://doi.org/10.1007/s11104-014-2151-4>

Sparling GP (1992) Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Aust J Soil Res* 30:195–207.  
<https://doi.org/10.1071/SR9920195>

Torralba M, Fagerholm N, Burgess PJ, et al (2016) Do European agroforestry systems enhance biodiversity and ecosystem services? A meta-analysis. *Agric Ecosyst Environ* 230:150–161. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.06.002>

- Tran CTK, Watts-Williams SJ, Smernik RJ, Cavagnaro TR (2020) Effects of plant roots and arbuscular mycorrhizas on soil phosphorus leaching. *Sci Total Environ* 722:.. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137847>
- Udawatta RP, Kremer RJ, Adamson BW, Anderson SH (2008) Variations in soil aggregate stability and enzyme activities in a temperate agroforestry practice. *Appl Soil Ecol* 39:153–160. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.12.002>
- Unger IM, Goyne KW, Kremer RJ, Kennedy AC (2013) Microbial community diversity in agroforestry and grass vegetative filter strips. 395–402. <https://doi.org/10.1007/s10457-012-9559-8>
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol Biochem* 19:703–707. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)
- Zhou Z, Wang C, Jiang L, Luo Y (2017) Trends in soil microbial communities during secondary succession. *Soil Biol Biochem* 115:92–99. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.08.014>
- Zou X, Gonzalez G (1997) Changes in earthworm density and community structure during secondary succession in abandoned tropical pastures. *Soil Biol Biochem* 29:627–629. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00188-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00188-5)

## Supplementary materials 1

**Supplementary table 1** Mean values  $\pm$  standard deviation of earthworm density and biomass for each species and ecological category, soil basal respiration and soil glucose-induced respiration. Results are detailed for each treatment and each distance from the herbaceous strip (HS). Earthworm species names are followed by their ecological categories:

An: anecic

En: endogeic

Ep: epigeic

Chapitre 3 : Annexes (Supplementary materials 1)

	Alley cropping treatment			Control treatment (no trees)		
	0 m from HS	1 m from HS	2.5 m from HS	0 m from HS	1 m from HS	2.5 m from HS
<b>Earthworm density (individuals per m<sup>2</sup>)</b>						
<i>Lumbricus terrestris</i> An	6.0 ± 9.2	3.3 ± 6.6	1.3 ± 4.5	0.7 ± 3.3	0.7 ± 3.3	0.0 ± 0.0
<i>Lumbricus castaneus</i> Ep	39.7 ± 24.0	26.7 ± 30.1	16.7 ± 26.0	56.7 ± 55.6	24.0 ± 33.0	27.3 ± 48.7
<i>Allolobophora chlorotica</i> En	37.3 ± 39.1	24.7 ± 31.3	15.3 ± 15.3	42.0 ± 31.6	21.3 ± 23.4	13.3 ± 20.4
<i>Allolobophora rosea</i> En	20.7 ± 21.9	10.0 ± 13.2	4.7 ± 8.8	17.3 ± 23.1	4.7 ± 11.0	2.7 ± 7.7
<i>Allolobophora icterica</i> En	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.7 ± 7.4	1.3 ± 4.5	1.3 ± 4.5
<i>Aporrectodea caliginosa</i> En	0.0 ± 0.0	0.7 ± 3.3	0.7 ± 3.3	2.7 ± 9.0	0.7 ± 3.3	0.7 ± 3.3
<i>Aporrectodea nocturna</i> An	134.0 ± 55.0	44.7 ± 39.9	38.0 ± 35.9	58.7 ± 49.0	8.7 ± 13.3	4.0 ± 7.1
Unknown epigeic	0.7 ± 3.3	0.0 ± 0.0	0.7 ± 3.3	0.0 ± 0.0	1.3 ± 4.5	0.0 ± 0.0
Unknown endogeic	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.7 ± 3.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Total of epigeics	39 ± 24	27 ± 30	17 ± 26	57 ± 56	25 ± 34	27 ± 49
Total of anecics	140 ± 58	48 ± 41	39 ± 38	59 ± 49	9 ± 15	4 ± 7
Total of endogeics	58 ± 51	35 ± 41	21 ± 20	67 ± 43	28 ± 30	18 ± 20
<b>Earthworm biomass (g.m<sup>-2</sup>)</b>						
<i>Lumbricus terrestris</i> An	3.9 ± 7.6	3.7 ± 10.7	3.8 ± 15.8	0.7 ± 3.3	2.5 ± 12.2	0.0 ± 0.0
<i>Lumbricus castaneus</i> Ep	6.7 ± 4.2	4.9 ± 6.7	2.7 ± 7.3	16.0 ± 16.1	5.7 ± 9.5	8.0 ± 16.2
<i>Allolobophora chlorotica</i> En	15.1 ± 21.1	9.7 ± 14.5	4.9 ± 6.0	13.6 ± 9.8	9.3 ± 13.6	6.7 ± 12.2
<i>Allolobophora rosea</i> En	2.9 ± 3.4	1.7 ± 3.0	0.6 ± 1.2	3.0 ± 4.6	0.7 ± 1.7	0.4 ± 1.2
<i>Allolobophora icterica</i> En	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.1 ± 7.6	1.0 ± 3.9	1.5 ± 5.1
<i>Aporrectodea caliginosa</i> En	0.0 ± 0.0	0.3 ± 1.3	0.4 ± 2.2	1.8 ± 6.3	0.4 ± 2.0	0.4 ± 2.0
<i>Aporrectodea nocturna</i> An	108.5 ± 71.2	45.3 ± 52.1	58.4 ± 62.2	51.4 ± 42.8	5.5 ± 11.5	3.2 ± 6.8
Total of epigeics	6.7 ± 4.2	4.9 ± 6.7	2.7 ± 4.3	16 ± 16.1	5.7 ± 9.4	8.0 ± 16.2
Total of anecics	112.3 ± 72.1	48.9 ± 56.1	62.2 ± 69.1	52.0 ± 42.7	8.0 ± 17.6	3.2 ± 6.3
Total of endogeics	18.1 ± 23.3	11.7 ± 16.9	5.9 ± 6.6	22.5 ± 15.7	11.5 ± 16.9	9.0 ± 6.6
<b>Induced respiration ( µg CO<sub>2</sub> .mg<sup>-1</sup> of soil .h<sup>-1</sup>)</b>						
Basal respiration	0.47 ± 0.24	0.56 ± 0.26	0.50 ± 0.22	0.52 ± 0.24	0.68 ± 0.33	0.61 ± 0.29
Glucose-induced respiration	1.37 ± 0.64	1.29 ± 0.64	1.16 ± 0.53	1.38 ± 0.73	1.52 ± 0.78	1.47 ± 0.71

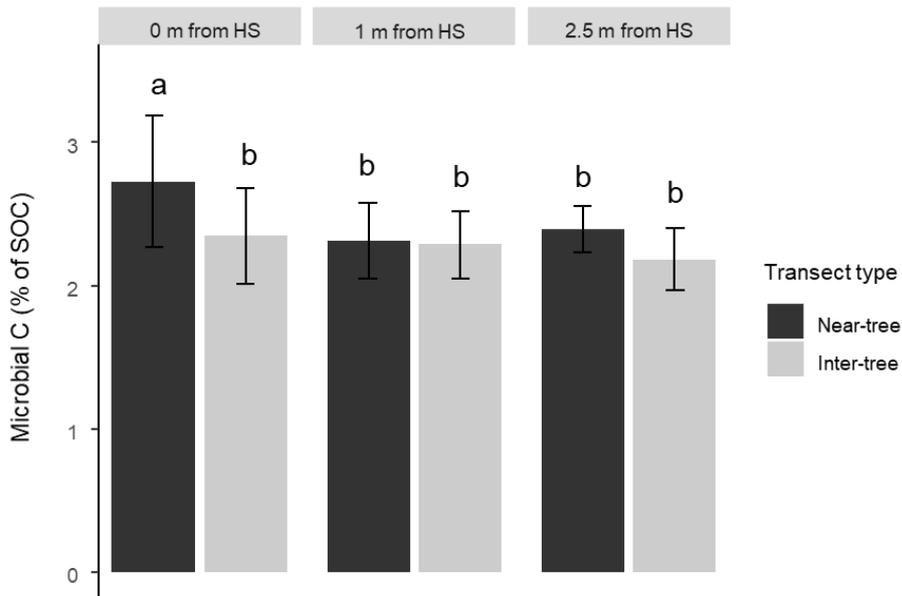
**Supplementary table 2** Mean values  $\pm$  standard deviations of earthworm biomass and density and some microbial quotients for each transect type (near-tree at 1 m from the tree and inter-tree at 5 m from the tree) and each distance from the herbaceous strip (HS) in the alley cropping treatment. Different letters indicate significant differences between distances from the HS for both transect types together determined on mixed models, with season as a random factor (Tukey, p-value < 5 %).

	Transect type	0 m from HS	1 m from HS	2.5 m from HS
Earthworm density (individuals per m <sup>2</sup> )	Near-tree	263 $\pm$ 99	115 $\pm$ 85	76 $\pm$ 59
	Inter-tree	213 $\pm$ 80	105 $\pm$ 91	80 $\pm$ 51
		a	b	b
Earthworm biomass <sup>1</sup> (g.m <sup>-2</sup> )	Near-tree	158.6 $\pm$ 98.3	64.1 $\pm$ 66.3	63.9 $\pm$ 77.4
	Inter-tree	115.5 $\pm$ 65.5	67.1 $\pm$ 67.6	77.8 $\pm$ 68.1
		a	b	b
Epigeic density (individuals per m <sup>2</sup> )	Near-tree	39 $\pm$ 26	20 $\pm$ 26	20 $\pm$ 30
	Inter-tree	40 $\pm$ 22	33 $\pm$ 34	15 $\pm$ 22
		a	ab	b
Anecic density (individuals per m <sup>2</sup> ) <sup>2</sup>	Near-tree	161 $\pm$ 61	47 $\pm$ 42	31 $\pm$ 35
	Inter-tree	119 $\pm$ 49	49 $\pm$ 41	48 $\pm$ 40
		a	b	b
Endogeic density (individuals per m <sup>2</sup> ) <sup>2</sup>	Near-tree	61 $\pm$ 57	48 $\pm$ 49	25 $\pm$ 21
	Inter-tree	55 $\pm$ 46	23 $\pm$ 29	17 $\pm$ 19
		a	ab	b
Microbial biomass C / microbial biomass N	Near-tree	5.24 $\pm$ 0.41	5.19 $\pm$ 0.49	5.43 $\pm$ 0.43
	Inter-tree	5.50 $\pm$ 0.57	5.25 $\pm$ 0.31	5.24 $\pm$ 0.40
		a	a	a
qCO <sub>2</sub> <sup>1</sup>	Near-tree	0.34 $\pm$ 0.08	0.44 $\pm$ 0.1	0.45 $\pm$ 0.10
	Inter-tree	0.37 $\pm$ 0.14	0.45 $\pm$ 0.12	0.44 $\pm$ 0.14
		b	a	a

SOC means soil organic carbon. qCO<sub>2</sub> is a metabolic quotient used as a proxy of microorganism activity, obtained by dividing basal soil respiration by glucose-induced soil respiration.

<sup>1</sup> square root-transformed values (earthworm biomass) or log-transformed values (qCO<sub>2</sub>) used for statistical analyses (initial values presented here)

<sup>2</sup> Generalized models used instead of mixed models due to singular fit distribution.



**Supplementary figure 1** Mean microbial biomass C normalized to soil organic carbon (SOC) for each transect type (near-tree at 1 m from the tree and inter-tree at 5 m from the tree) and each distance from the herbaceous strip (HS) in the alley cropping treatment. Different letters indicate significant differences between the means (Tukey,  $p$ -value < 5%), determined after a linear mixed model using season as a random factor. Error bars represent standard deviations of the original means.

**Supplementary materials 2:**  
**Results for macrofauna other than earthworms**

**Supplementary table 3** P-values obtained after type II Wald chisquare tests performed on mixed models for the density of macrofauna not included in the article. The factors were the distance from the herbaceous strip (HS) (0 m, 1 m and 2.5 m), the treatment (alley cropping and control with no trees in the HS), and their interaction. The sampling season (April, June or November 2018) was used as a random factor.

	Treatment * distance	Treatment	Distance
Diplopoda density	0.101	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Isopoda density	0.659	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Chilopoda density	0.805	0.281	0.819
Coleoptera density (adults)	0.822	<b>0.009</b>	<b>0.005</b>
Coleoptera density (larva)	0.497	<b>&lt;0.001</b>	0.967
Dermaptera density	0.666	<b>0.061</b>	0.663

**Supplementary table 4** Mean values  $\pm$  standard deviations of the density of macrofauna not included in the article for each treatment (alley cropping and control with no trees in the herbaceous strip (HS)) and each distance from the HS. Different letters indicate significant differences between distances from the HS for both treatments together determined on mixed models, with season as a random factor (Tukey,  $p$ -value  $< 5\%$ ). Asterisks indicate significant differences between treatments for all distance from the HS together.

		0 m from HS	1 m from HS	2.5 m from HS
Diplopoda density (individuals per m <sup>2</sup> )	Alley cropping	128 $\pm$ 91	47 $\pm$ 62	35 $\pm$ 33
	Control	148 $\pm$ 94 a *	109 $\pm$ 91 b	115 $\pm$ 119 b
Isopoda density (individuals per m <sup>2</sup> )	Alley cropping	36 $\pm$ 36	29 $\pm$ 33	24 $\pm$ 29
	Control	49 $\pm$ 59 a *	37 $\pm$ 48 ab	33 $\pm$ 37 b
Chilopoda density (individuals per m <sup>2</sup> )	Alley cropping	34 $\pm$ 35	46 $\pm$ 52	49 $\pm$ 52
	Control	39 $\pm$ 42 a	57 $\pm$ 43 a	49 $\pm$ 43 a
Coleoptera density (adults) (individuals per m <sup>2</sup> )	Alley cropping	48 $\pm$ 46	25 $\pm$ 32	19 $\pm$ 19
	Control	77 $\pm$ 57 a *	40 $\pm$ 29 b	39 $\pm$ 30 b
Coleoptera density (larva) (individuals per m <sup>2</sup> )	Alley cropping	47 $\pm$ 42	37 $\pm$ 41	41 $\pm$ 32
	Control	72 $\pm$ 52 a *	100 $\pm$ 77 a	91 $\pm$ 66 a
Dermaptera density (individuals per m <sup>2</sup> )	Alley cropping	31 $\pm$ 28	27 $\pm$ 31	31 $\pm$ 31
	Control	19 $\pm$ 23 a *	29 $\pm$ 43 a	14 $\pm$ 26 a

**Supplementary materials 3:****Results for the alley cropping treatment with lightly pruned-trees**

**Supplementary table 5** P-values obtained after type II Wald chisquare tests performed on mixed models for the alley cropping treatment with lightly-pruned trees. The factors were the distance from the herbaceous strip (HS) (0 m, 1 m and 2.5 m), the transect type (near or inter-tree at 1 and 5 m from the tree respectively), and their interaction. The sampling season (April, June or November 2018) was used as a random factor.

	Transect type * distance	Transect type	Distance
Earthworm density	0.990	0.747	< <b>0.001</b>
Earthworm biomass <sup>1</sup>	0.336	0.414	< <b>0.001</b>
Microbial biomass C	0.592	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>
Microbial biomass N	0.170	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>
Microbial biomass P <sup>2</sup>	0.968	0.337	0.502
qCO <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0.658	<b>0.002</b>	<b>0.016</b>
Soil organic carbon <sup>3</sup>	0.229	<b>0.017</b>	<b>0.019</b>
Mineral N	0.444	0.103	<b>0.011</b>
Olsen P	0.712	<b>0.021</b>	0.107

qCO<sub>2</sub> is a metabolic quotient used as a proxy of microorganism activity, obtained by dividing basal soil respiration by glucose-induced soil respiration. Bolded values correspond to the factors used in the final models for pairwise comparisons.

<sup>1</sup> square root-transformed values (earthworm biomass) or log-transformed values (qCO<sub>2</sub>) were used

<sup>2</sup> random factor removed due to singular fit distribution

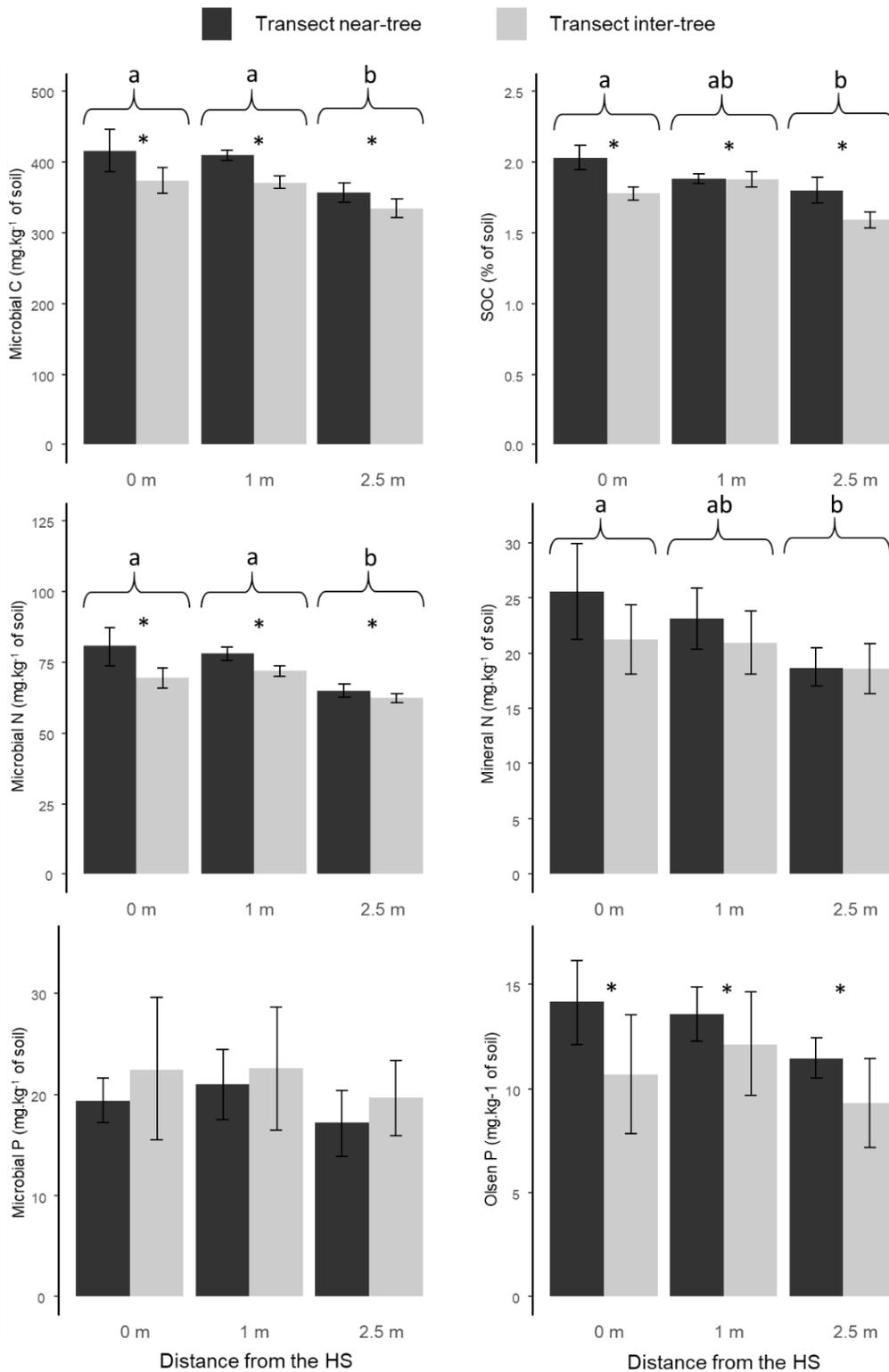
<sup>3</sup> measured in April only

**Supplementary table 6** Mean values  $\pm$  standard deviations of earthworm density and biomass and some microbial quotients for each transect type (near-tree at 1 m from the tree and inter-tree at 5 m from the tree) and each distance from the herbaceous strip (HS) in the alley cropping treatment with lightly-pruned trees. Different letters indicate significant differences between distances from the HS for both transect types together determined on mixed models, with season as a random factor (Tukey, p-value  $< 5\%$ ). Asterisks indicate significant differences between transect types.

	Transect type	0 m from HS	1 m from HS	2.5 m from HS
Earthworm density (individuals per m <sup>2</sup> )	Near-tree	153 $\pm$ 68	57 $\pm$ 39	53 $\pm$ 53
	Inter-tree	156 $\pm$ 66	63 $\pm$ 49	52 $\pm$ 41
		a	b	b
Earthworm biomass <sup>1</sup> (g.m <sup>-2</sup> )	Near-tree	143 $\pm$ 66	32 $\pm$ 34	27 $\pm$ 26
	Inter-tree	109 $\pm$ 48	27 $\pm$ 28	32 $\pm$ 38
		a	b	b
Microbial biomass C / microbial biomass N	Near-tree	5.19 $\pm$ 0.33	5.26 $\pm$ 0.33	5.52 $\pm$ 0.64
	Inter-tree	5.39 $\pm$ 0.37	5.18 $\pm$ 0.35	5.37 $\pm$ 0.29
		a	a	a
Microbial biomass C / SOC (%)	Near-tree	2.05 $\pm$ 0.29	2.18 $\pm$ 0.10	2.00 $\pm$ 0.22
	Inter-tree	2.10 $\pm$ 0.24	1.99 $\pm$ 0.16	2.11 $\pm$ 0.21
		a	a	a
qCO <sub>2</sub> <sup>1</sup>	Near-tree	0.37 $\pm$ 0.12	0.43 $\pm$ 0.12	0.41 $\pm$ 0.14
	Inter-tree	0.30 $\pm$ 0.15	0.37 $\pm$ 0.11	0.36 $\pm$ 0.14
	*	b	a	ab

SOC means soil organic carbon. qCO<sub>2</sub> is a metabolic quotient used as a proxy of microorganism activity, obtained by dividing basal soil respiration by glucose-induced soil respiration.

<sup>1</sup> square root-transformed values (earthworm biomass) or log-transformed values (qCO<sub>2</sub>) used for statistical analyses (initial values presented here)



**Supplementary figure 2** Mean values of some soil microbial, carbon and nutrient contents for each transect type (near-tree at 1 m from the tree and inter-tree at 5 m from the tree) and each distance from the herbaceous strip (HS) in the alley cropping treatment with lightly-pruned trees. Different letters indicate significant differences between distances from the HS for both transect types together determined on mixed models, with season as a random factor (Tukey, p-value < 5 %). Asterisks indicate significant differences between transect types. SOC means soil organic carbon. Error bars stand for standard deviation.

**Chapitre 4 :**

**Variation saisonnière**  
**dans la répartition des organismes du sol**  
**dans une parcelle agroforestière méditerranéenne**



L'objectif de ce chapitre était de déterminer la variation saisonnière dans la répartition de la macrofaune et l'évolution des propriétés microbiennes avec la distance au LSA dans une parcelle agroforestière.

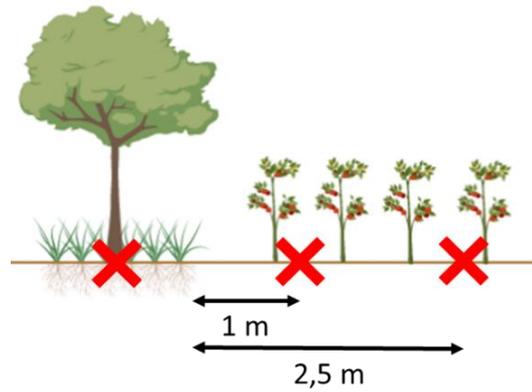
L'étude est basée sur les hypothèses suivantes :

- La macrofaune du sol est plus abondante dans le LSA que dans l'allée cultivée aux saisons défavorables, car la non perturbation et la présence de végétation pérenne lui fournit un habitat permanent et une protection.
- Au contraire, dans les saisons favorables à l'activité de la faune, les différences entre LSA et allée cultivée sont moins importantes, et l'abondance de la macrofaune est en particulier augmentée à proximité immédiate du LSA, qui est une source de macrofaune.
- De même, l'impact de la proximité au LSA sur les propriétés microbiennes est davantage visible à certaines saisons.
- La présence d'un ombrage important (arbres élagués) atténue l'impact négatif des conditions climatiques sur les organismes du sol dans les allées cultivées en juin.

La classification d'une saison comme favorable ou défavorable dépend ici des conditions de température et d'humidité. En été, l'augmentation très importante de la température et le manque de précipitations ont probablement un effet négatif sur la macrofaune saprophyte et les microorganismes du sol, en comparaison du printemps et de l'automne (en particulier dans la zone méditerranéenne où est réalisée cette étude). La classification d'une saison comme favorable ou défavorable dépend également des pratiques agricoles, le travail du sol pouvant par exemple induire des conditions particulièrement défavorables pour les organismes du sol.

Cette étude a été menée sur la même parcelle que celle présentée dans le chapitre 3 (Vézénobres, Gard). Cette parcelle, plantée de noyers matures, présente 3 traitements d'ombrage : fort (arbres élagués, peu taillés), faible (arbres têtard, très taillée) ou nul (pas d'arbres). Les arbres sont espacés de 10 m, sous lequel le LSA est laissé spontané. Les allées (8 m de large environ) sont cultivées en maraîchage (des tomates sont présentes dans les allées échantillonnées), et constituées de buttes de culture parallèles couvertes de bois raméal fragmenté.

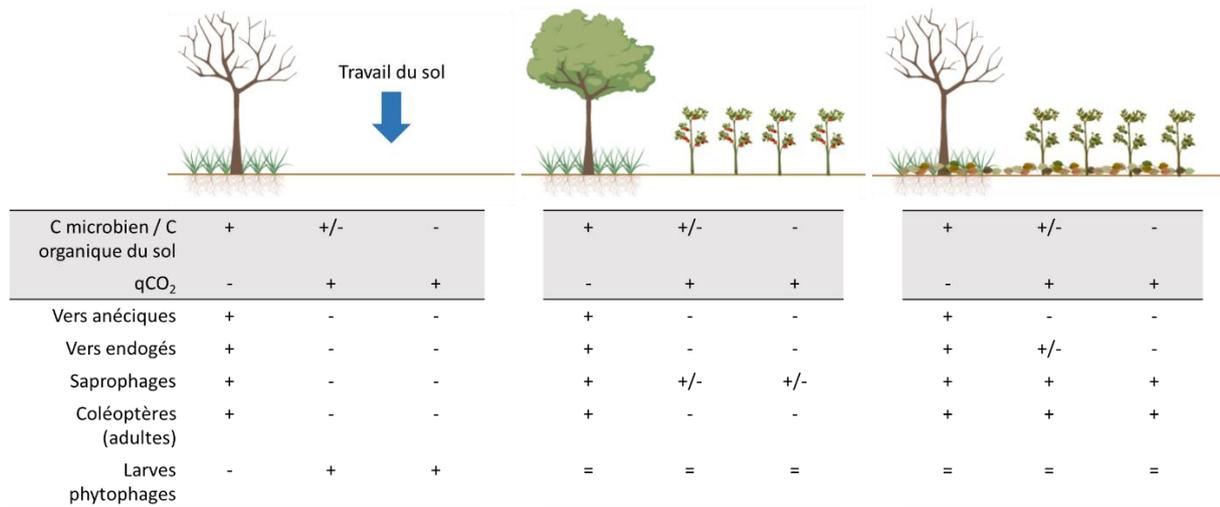
La parcelle a été échantillonnée en avril, juin et novembre 2018. Les échantillons sont prélevés le long d'un transect perpendiculaire au LSA, dans le LSA, à 1 m du bord du LSA et à 2,5 m du bord du LSA (**Figure I**). 8 répétitions sont réalisées pour chaque traitement d'ombrage.



**Figure I** Plan d'échantillonnage (points échantillonnés matérialisés par des croix rouges).

En chaque point, la biomasse sèche de la végétation (parties aériennes et souterraines) et de la litière et nécromasse enfouie dans le sol a été déterminée (dans une surface de 50\*50 cm en surface, et un volume de 25\*25\*25 cm dans le sol). La macrofaune a été triée manuellement dans des blocs de sols de 25\*25\*25 cm et identifiée. Enfin, des analyses au laboratoire ont permis de déterminer la biomasse microbienne C, N et P, la respiration microbienne en présence de différents substrats, et la teneur en C, N et P des 25 premiers cm du sol.

L'article présenté dans ce chapitre détaille les résultats en ce qui concerne la macrofaune (**Figure II**). La répartition de la macrofaune en fonction de la distance au LSA varie avec la saison. En avril, la faune est globalement plus abondante dans le LSA que dans l'allée cultivée, en particulier pour les saprophages et les coléoptères adultes, mais ces différences s'atténuent ensuite et ne sont quasiment plus visibles en novembre. Certains groupes de macrofaune présentent cependant une abondance différente entre LSA et allée cultivée tout au long de l'année. Les vers de terre anéciques et fourmis sont ainsi plus abondants dans le LSA que dans l'allée cultivée à toutes les saisons. Enfin, d'autres groupes ne semblent pas impactés par la différence de milieu entre LSA et allée cultivée tout au long de l'année, en particulier les chilopodes et dermaptères. L'abondance de la macrofaune ne varie pas entre 1 et 2,5 m du LSA quelle que soit la saison, excepté pour l'abondance des vers de terre endogés qui est plus élevée dans le LSA que dans la position la plus éloignée du LSA seulement en novembre. De manière générale, l'abondance de la macrofaune est plus importante en novembre.



**Figure II** Synthèse des résultats obtenus dans le chapitre 4 (de gauche à droite : avril, juin et novembre). Le qCO<sub>2</sub> est le quotient métabolique respiration basale / respiration maximale induite par le glucose, établi sur le sol de la profondeur 0-25 cm. La réponse de la macrofaune est celle de sa densité. Les variables grisées présentent une réponse similaire quelle que soit la saison.

Le traitement d'ombrage ne modifie pas la répartition de la macrofaune avec la distance au LSA, quelle que soit la saison. Cependant, les résultats montrent que si les différents traitements d'ombrage ne sont que peu distinguables par les communautés de faune qu'ils abritent en avril et juin, ils sont bien différenciés en novembre, en particulier car la modalité élaguée (ou les arbres sont le moins taillés et l'ombrage important) présente des abondances réduites de macrofaune par rapport aux autres traitements.

Nous avons conclu que le LSA permet le maintien de saprophages et de coléoptères sensibles aux perturbations après l'impact négatif du travail du sol. L'allée cultivée demeure une zone plutôt défavorable pour une partie des organismes du sol en juin, probablement car les conditions climatiques ne sont pas favorables à la majeure partie de la macrofaune à cette saison, et car le LSA peut servir de refuge à la faune se nourrissant dans l'allée cultivée pendant la nuit. Cependant, à l'automne la plus grande partie de la macrofaune du sol est présente dans l'allée cultivée à des densités similaires à celles du LSA. Le rôle spécifique du LSA dans la recolonisation de l'allée cultivée n'a cependant pas pu être établi, même si la tendance à une abondance décroissante depuis le LSA jusqu'à 2,5 m du LSA pour les vers de terre endogés, à déplacement lent dans le sol, suggère une colonisation depuis le LSA.

L'analyse des propriétés relatives aux microorganismes, présentée dans le **Supplementary materials 2**, montre que ni la réponse de la biomasse microbienne ni celle du qCO<sub>2</sub> (indicateur inversement proportionnel à l'efficacité des microorganismes pour l'utilisation du C) à la

distance au LSA ne sont fortement impactées par la saison (**Figure II**). Les résultats présentés dans le chapitre précédent sont donc valables pour toutes les saisons. Cependant, cela ne veut pas dire que la saison n'impacte pas les propriétés microbiennes de manière générale. En effet, la variation de la biomasse microbienne entre les différents traitements d'ombrage dépend bien de la saison. La biomasse microbienne C est moins élevée dans le traitement élagué que dans les autres traitements d'ombrage en novembre, similairement à ce qui est observé pour la macrofaune. Au contraire, le  $qCO_2$  n'est de manière générale pas impacté par la saison.

Nous pouvons conclure que la dynamique saisonnière est importante à prendre en compte en contexte méditerranéen, car l'observation à différentes saisons peut conduire à des conclusions différentes sur le fonctionnement des systèmes agroforestiers, en particulier en ce qui concerne la macrofaune. Les conditions particulières de ce site (buttes de cultures, irrigation en juin) empêchent cependant de généraliser ces conclusions. Bien qu'il ne soit pas possible de conclure précisément sur l'effet des modalités d'ombrage, du fait du design expérimental, nous pouvons remarquer que l'ombrage maximal semble ici limiter l'activité des organismes du sol, ce qui peut être lié à l'importante quantité de litière de feuilles apportées au sol dans cette modalité en novembre, pouvant avoir modifié le microclimat au niveau du sol.

Cet article est en cours d'adaptation (mars 2021) à la suite des remarques des rapporteurs pour une soumission à *Applied Soil Ecology*.

**Seasonal variations in macrofauna distribution  
with the distance from a tree row  
in a Mediterranean alley cropping plot**

Camille D'Hervilly <sup>1</sup>, Isabelle Bertrand <sup>1</sup>, Yvan Capowiez <sup>2</sup>, Camille Béral <sup>3</sup>, Léa Delapré-Cosset <sup>1</sup>, Claire Marsden <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Eco&Sols, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, IRD, Montpellier SupAgro, 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier, France

<sup>2</sup> INRAE, UMR 1114 EMMAH, INRAE - Université d'Avignon, Site Agroparc, 84914 Avignon cedex 09, France

<sup>3</sup> Agrooof, 9 Plan de Brie, 30140 Anduze, France

Soumission prévue à Applied Soil Ecology après adaptation suite aux remarques des rapporteurs

## 1. Introduction

We are facing a global decrease in biodiversity, partly associated with landscape simplification and specialization and agricultural practices (McLaughlin and Mineau 1995; Habel et al. 2019). Agroforestry, or the association of trees and agriculture, can promote an increase in animal biodiversity in cropped fields, because of the addition of new and more diverse habitats (Jose 2009). For example, agroforestry has been shown to impact positively the presence of birds and of pollinator insects compared to simplified agricultural areas (Udawatta et al. 2019). Its impacts on soil dwelling fauna have been far less studied, especially in the Mediterranean zone, and so far work has focused mainly on earthworms or organisms of the soil surface such as adult carabids (Marsden et al. 2019).

In addition to bearing a purely conservational value, soil dwelling fauna performs essential roles in ecosystem functions, and increases in its diversity and density could improve the multifunctionality of agricultural land (Bender et al. 2016). Among them, litter-feeders (mainly earthworms, woodlice and millipedes) contribute to the decomposition of organic matter and to associated nutrient turnover through litter comminution and modification of microbial activity in their guts and fresh feces (Barrios 2007; David 2014; Frouz 2018), and to carbon storage in old feces (Wolters 2000; Frouz 2018). Some earthworms incorporate fresh organic matter into the mineral soil, where it can be protected from degradation and contribute to carbon storage (Bossuyt et al. 2005), which has also been shown for millipedes (Filser et al. 2016). Conversely, earthworms feeding on stabilized particulate organic matter contribute to mineralized it (Lavelle et al. 2006). Earthworm activity can also improve soil structure by the creation of burrows, soil decompaction and the creation of an organo mineral horizon (Lavelle et al. 2010). The soil is also home to root feeders (insect larvae), who can become pests to the crop. The regulation of the soil invertebrate community by animal feeders is increasingly studied for pest control (Holland et al. 2017), and is performed by organisms living in the soil (Chilopoda, most larva of Coleoptera, etc) or dependant on the soil for their larval stage or overwintering (insect predators) (Geiger et al. 2009). The soil can also host larva of future crop pollinators. Practices promoting soil fauna abundance and diversity should thus be favored in a context of reduction of chemical inputs.

In alley cropping agroforestry, trees are organized in rows in order to facilitate crop management practices along alleys. A strip of around 2 m wide is uncultivated below the trees,

and an associated understory vegetation appears, mostly herbaceous. The lack of disturbance, permanent soil cover and source of additional food resources creates a specific habitat in these strips. It is an overwintering site for most invertebrates found in alley cropping plots (Boinot et al. 2019), presents higher earthworm densities than crop fields and crop alleys (Cardinael et al. 2019), and hosts high densities of woodlice (Pardon et al. 2019b, a; D’Hervilly et al. 2020) and millipedes (Pardon et al. 2019b). The herbaceous strip could particularly be a reservoir of organisms able to disperse towards the crop alley, particularly for macrofauna, able to disperse over wider distances than mites or collembolan, for example. However, it is not sure that the herbaceous strip really benefits the establishment of diverse and abundant communities in the crop alley, as studies of spatial heterogeneity in alley cropping systems are lacking and show contrasted results. For example, no variation in earthworm density was found with distance from the tree row by Cardinael et al (2019) while earthworm density was negatively impacted by tree row proximity in some sites (Rivest et al. 2019; D’Hervilly et al. 2020). In addition, these results seem to be dependent on tree properties. For example, woodlice and millipede activity was positively affected by old but not young tree row proximity in one study (Pardon et al. 2019b), and a gradient in earthworm density from the tree row to the center of the crop alley was found by Price and Gordon for some tree species only (Price and Gordon 1999). Finally, most studies rely on one single sampling season, while conceptually, dynamic exchanges between herbaceous strips and crop alleys can be expected to depend on the period of the year, driven by adverse or convenient properties of the crop alley or by soil organism life cycles affected by climatic conditions.

This study aims to determine the seasonal variations of soil macrofauna distribution according to the distance from a herbaceous strip (HS) for different shade treatments in an alley cropping plot. We made the hypotheses that (i) HS can be a specific shelter for macrofauna, leading to higher faunal densities in HS than in crop alleys; (ii) this bimodal density distribution is particularly visible at some seasons, when conditions are not favorable for soil fauna in the crop alley, and replaced by a gradient-type distribution at other seasons due to soil fauna dispersal from the HS towards the crop alley; and (iii) this HS shelter effect is less visible in the presence of strongly-shading trees than in the presence of lightly-shading trees or without trees, as tree-induced changes in microclimate and in litter and soil organic matter may render crop alley conditions more favorable for soil macrofauna.

## 2. Methods

### 2.1. Site description

The study took place in an experimental alley cropping plot of 2,250 m<sup>2</sup> located near Vézénobres in the South of France (44.058 N, 4.111 E). The climate is Mediterranean (temperatures between 10.2 °C and 20.2 °C, 760 mm of precipitation per year on average, French Institute of Meteorology Météo France). The soil is on recent alluvial deposits, loamy in the first 25 cm depth with a pH around 8, 16 % of CaCO<sub>3</sub> and a CEC of 9.5 cmol<sup>+</sup>.kg<sup>-1</sup> on average (basic soil properties are detailed in **Table 1**). Hybrid walnut trees (*Juglans nigra* L. x *Juglans regia* L.) spaced 10 m apart were planted in 1995. Cereal and legume crops were grown between the tree rows until 2010. Since then, the plot has been converted to organic farming and used to grow vegetables, with a rotation of carrots, tomatoes and salads since 2015.

The experimental plot was divided into three shade treatments of 750 m<sup>2</sup> each in 2015 (**Figure 1**). In the strong shade treatment (shade ++), trees were only lightly pruned as usually done in agroforestry systems. In the light shade treatment (shade +), trees were strongly pruned to obtain pollarded trees. Pruning took place in February 2015 and again in February 2018. In the last treatment, no tree was present (no shade). Each treatment consists of three 8 m-wide and 25 m-long crop alleys and their adjacent herbaceous strips (HS), planted with trees in treatments shade ++ and shade + (**Figure 1**). HS are 2 m wide, covered with spontaneous vegetation and mowed about twice a year in each treatment (characteristics of the vegetation are detailed in **Table 1** and **Table S1** in **Supplementary materials 1**). Each crop alley is made up of 5 raised beds, about 90 cm wide and 20 cm high, parallel to the HS (**Figure 1**).

### 2.2. Sampling design

Macrofauna samplings took place in April (16<sup>th</sup> to 23<sup>rd</sup>), June (18<sup>th</sup> to 22<sup>nd</sup>) and November (14<sup>th</sup> to 21<sup>st</sup>) of 2018 to take into account seasonal variability. Raised beds were rotary tilled in March and covered with a 2 to 3 cm-thick layer of ramial chipped wood obtained from walnut prunings. Different varieties of tomato plants previously grown in the nursery were planted a week after the first sampling (1.6 plants per m<sup>2</sup>). Each crop alley received two top dressings of poultry manure in March and in April after tomato plantation, for a total of 56 g.m<sup>-2</sup>. Tomato plants were drip-irrigated from June (before our sampling date) to mid-September. HS were

## Chapitre 4

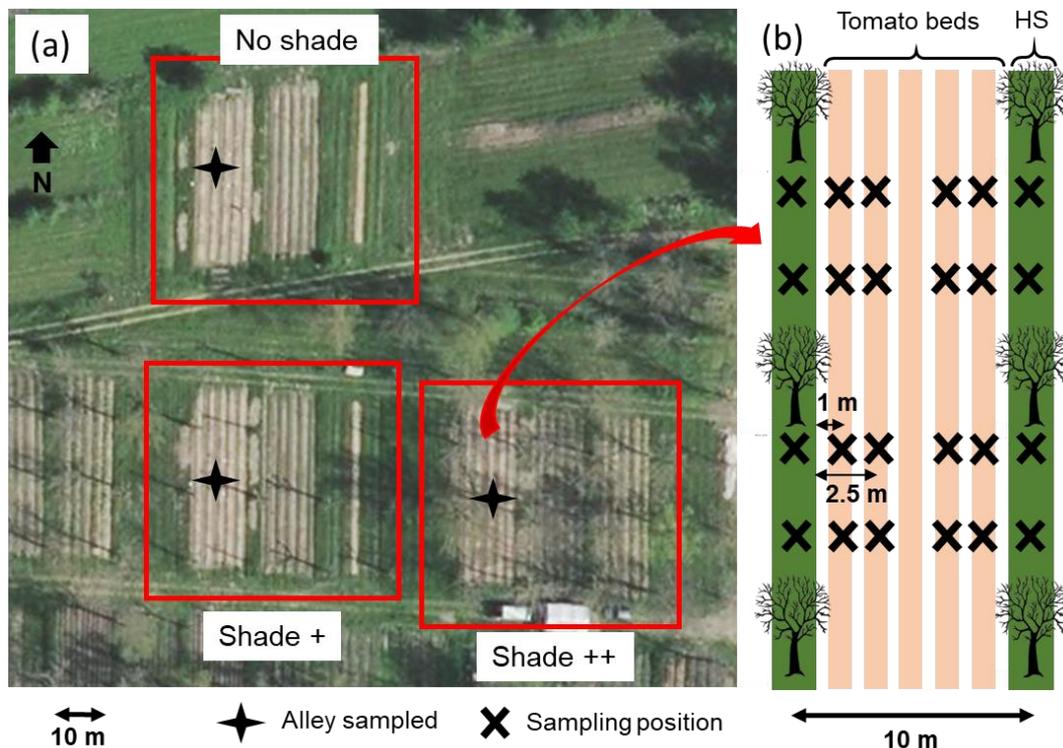
**Table1** Vegetation and soil properties (of the 0-25 cm soil layer) in each shade treatment, at different distances from the HS. Soil properties were determined in April (Texture, pH, soil organic carbon, bulk density), or at all seasons (other properties) \* (**next page**).

Distance from the HS	No shade			Shade +			Shade ++		
	0 m	1 m	2.5 m	0 m	1 m	2.5 m	0 m	1 m	2.5 m
Texture (clay / silt / sand, g.kg <sup>-1</sup> )	103 ± 2 / 410 ± 3 / 471 ± 6	105 ± 2 / 410 ± 11 / 469 ± 8	104 ± 4 / 405 ± 12 / 475 ± 8	114 ± 3 / 383 ± 15 / 490 ± 11	112 ± 6 / 379 ± 18 / 496 ± 24	110 ± 7 / 377 ± 22 / 500 ± 30	112 ± 4 / 386 ± 7 / 484 ± 7	110 ± 5 / 379 ± 14 / 491 ± 18	107 ± 2 / 373 ± 7 / 502 ± 9
Bulk density	1.26 ± 0.08	1.07 ± 0.04	1.11 ± 0.04	1.27 ± 0.09	1.10 ± 0.05	1.13 ± 0.05	1.32 ± 0.06	1.11 ± 0.07	1.17 ± 0.04
pH (in water)	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.1	8.1 ± 0.1	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	8.1 ± 0.1	8.3 ± 0.1	8.2 ± 0.0
Soil organic carbon (%)	1.5 ± 0.2	1.7 ± 0.3	1.6 ± 0.2	1.9 ± 0.1	2.0 ± 0.2	1.7 ± 0.1	2.0 ± 0.2	1.9 ± 0.1	1.8 ± 0.2
Mineral N (April/ June/ November, mg.kg <sup>-1</sup> )	22,6± 22,6/ 17,4± 17,4/ 36,9 ± 36,9	28,7± 28,7/ 30 ± 30/ 34 ± 34	29,2± 29,2/ 30,6 ± 30,6/ 35,1 ± 35,1	29,4 ± 29,4/ 16,2 ± 16,2/ 37,3 ± 37,3	25,6 ± 25,6/ 21,4 ± 21,4/ 31,7 ± 31,7	22,4 ± 22,4/ 18,1 ± 18,1/ 27,8 ± 27,8	17,3 ± 17,3/ 24,1 ± 24,1/ 28,8 ± 28,8	22,5 ± 22,5/ 17,1 ± 17,1/ 26,6 ± 26,6	15,5 ± 15,5/ 17,3 ± 17,3/ 23,1 ± 23,1
Available P (April/ June/ November, mg.kg <sup>-1</sup> )	11,4 ± 11,4/ 9,1 ± 9,1/ 9,7 ± 9,7	14,7 ± 14,7/ 12,2 ± 12,2/ 9,9 ± 9,9	12,9 ± 12,9/ 13,7 ± 13,7/ 7,6 ± 7,6	16,9 ± 16,9/ 14,1 ± 14,1/ 13 ± 13	12,2 ± 12,2/ 13,6 ± 13,6/ 10,8 ± 10,8	10,8 ± 10,8/ 12,8 ± 12,8/ 8,7 ± 8,7	14,9 ± 14,9/ 13 ± 13/ 9,3 ± 9,3	13,8 ± 13,8/ 13,5 ± 13,5/ 11,3 ± 11,3	11,4 ± 11,4/ 11,9 ± 11,9/ 7,9 ± 7,9
Gravimetric water content (April/ June/ November, %)	27 ± 3 / 24 ± 2 / 29 ± 2	30 ± 3 / 32 ± 4 / 33 ± 3	28 ± 1 / 30 ± 3 / 32 ± 2	28 ± 1 / 23 ± 3 / 27 ± 1	29 ± 1 / 29 ± 3 / 28 ± 1	27 ± 0 / 26 ± 3 / 27 ± 1	24 ± 4 / 25 ± 2 / 25 ± 1	26 ± 1 / 26 ± 2 / 26 ± 1	25 ± 2 / 24 ± 1 / 25 ± 1
Vegetation biomass (April/ June/ November, g.m <sup>-2</sup> )	120 ± 94 / 629 ± 304 / 391 ± 243	2 ± 6 / 77 ± 90 / 125 ± 150	2 ± 4 / 62 ± 56 / 27 ± 30	42 ± 37 / 426 ± 75 / 233 ± 135	0 ± 0 / 191 ± 282 / 22 ± 27	0 ± 0 / 79 ± 72 / 13 ± 16	64 ± 62 / 404 ± 220 / 65 ± 31	0 ± 0 / 14 ± 20 / 6 ± 9	0 ± 0 / 24 ± 19 / 1 ± 3

\* Methods used for the determination of the properties presented in Table 1: Texture was determined on decarbonated soil sieved at 2 mm. Bulk density was determined with the cylinder method (dry weight of soil sampled in 100 cm<sup>3</sup> cylinders). Soil organic carbon content was determined with an elemental analyser (Thermo Fisher Scientific Flash 2000) on soil sieved at 2 mm and ground at 250 µm. Mineral nitrogen was determined by continuous flow colorimetry after extraction of 10 g equivalent dry soil with 40 mL of 1 M KCl (SKALAR SA 3000 flow analyser) on soil sieved at 2 mm. Available phosphorus was extracted for 10 g equivalent dry soil with the Olsen method and measured with the malachite green method (Ohno and Zibilske 1991) on soil sieved at 2 mm. Gravimetric water content was determined by weighing soil directly after sampling and again after oven-drying it two days at 105 °C. Vegetation was collected in squares of 50\*50 cm and oven-dried at 40 °C during a week for dry biomass determination.

mowed after the June sampling date and at the end of Summer. In tomato beds, manual weeding was regularly performed until the end of September, when tomato harvesting stopped.

Sampling was designed in order to investigate the effect of the distance from the HS in different shading conditions. Macro-invertebrates were sampled along transects perpendicular to the HS with three distances from the HS (0 m i.e. in the middle of the HS, 1 m from the HS border i.e. in the closest tomato bed to the HS, and 2.5 m from the HS border i.e. in the next tomato bed) (**Figure 1**). For each shade treatment (shade++, shade + and no shade) and at each sampling season, 8 transects were made (**Figure 1**). In the treatments with trees (shade ++ and shade +), these transects were established at two distances from the nearest tree (1 m or 5 m).



**Figure 1** Experimental plot (a) and sampling design (b). This sampling design was repeated for each shade treatment (no shade = no trees, shade + = strongly-pruned trees, shade ++ = lightly-pruned trees), and for each season (April, June and November of 2018).

### 2.3. Macro-invertebrate sampling

At each sampling point, macro-invertebrates were hand sorted from soil blocks of 25\*25\*25 cm. Earthworms were kept in water, and then counted and determined at species level under laboratory conditions, and classified into the three main ecological categories anecic, endogeic and epigeic following Bouché (1977). Other macro-invertebrates were kept in ethanol, and then counted and determined under laboratory conditions. Chilopoda were determined at order level, while insects and Diplopoda were determined at family level when possible. Count values obtained were expressed as densities (individuals per m<sup>2</sup>). As ants presented a wide variation in their densities (due to their properties as social insects), ant density was separated in 3 density classes (no individuals found, between 1 and 240 individuals per m<sup>2</sup>, and more than 240 individuals per m<sup>2</sup>). This classification was chosen to make a distinction between no ants present, few ants presents (240 individuals per m<sup>2</sup> refers to 15 individuals found in a soil block, abundance after which ants counts always reached high numbers of individuals which we could not be counted precisely). For feeding group analyses, anecic earthworms were attributed at 50 % to soil feeders (100 % for endogeics), and at 50 % to litter feeders (100 % for epigeics), based on anecic earthworms gut analyses by Bernier (1998).

### 2.4. Statistical analyses

To investigate the effects of the distance from the HS within the different seasons and shade treatments, macro-invertebrate density (grouped in taxonomic and feeding groups, as well as ecological categories anecic, endogeic and epigeic for earthworms) was analyzed using generalized linear models fitted by quasi Poisson law (with a log link function). Distance from the HS (0, 1 or 2.5 m), shade treatment (shade ++, shade + or no shade) and season (April, June or November) and their interactions were used as fixed factors. Significant effects were determined by type II F tests and followed by pairwise comparisons (Tukey). Significance level was set to 5 %. Although identified at species level, most earthworms species did not present sufficiently high densities to be analyzed at species level. In addition, as no significant difference was found for macrofauna density between transects distant 1 m and 5 m from the tree in the shade treatments with trees (shade ++ and shade +), all transects were treated as simple replicates, whatever their distance from the tree (data not shown). Analyses were run using R statistical software (version 3.6.2) with packages lme4, car and emmeans. Ant density classes were analyzed with a cumulative link model, using the “ordinal” R package.

Species richness (i.e. number of different species) and the Shannon diversity index were calculated for earthworms at species level (vegan package in R), and analyzed using generalized linear models (species richness) or analyses of variance (Shannon index) with the same fixed factors season, distance from the HS and shade treatment.

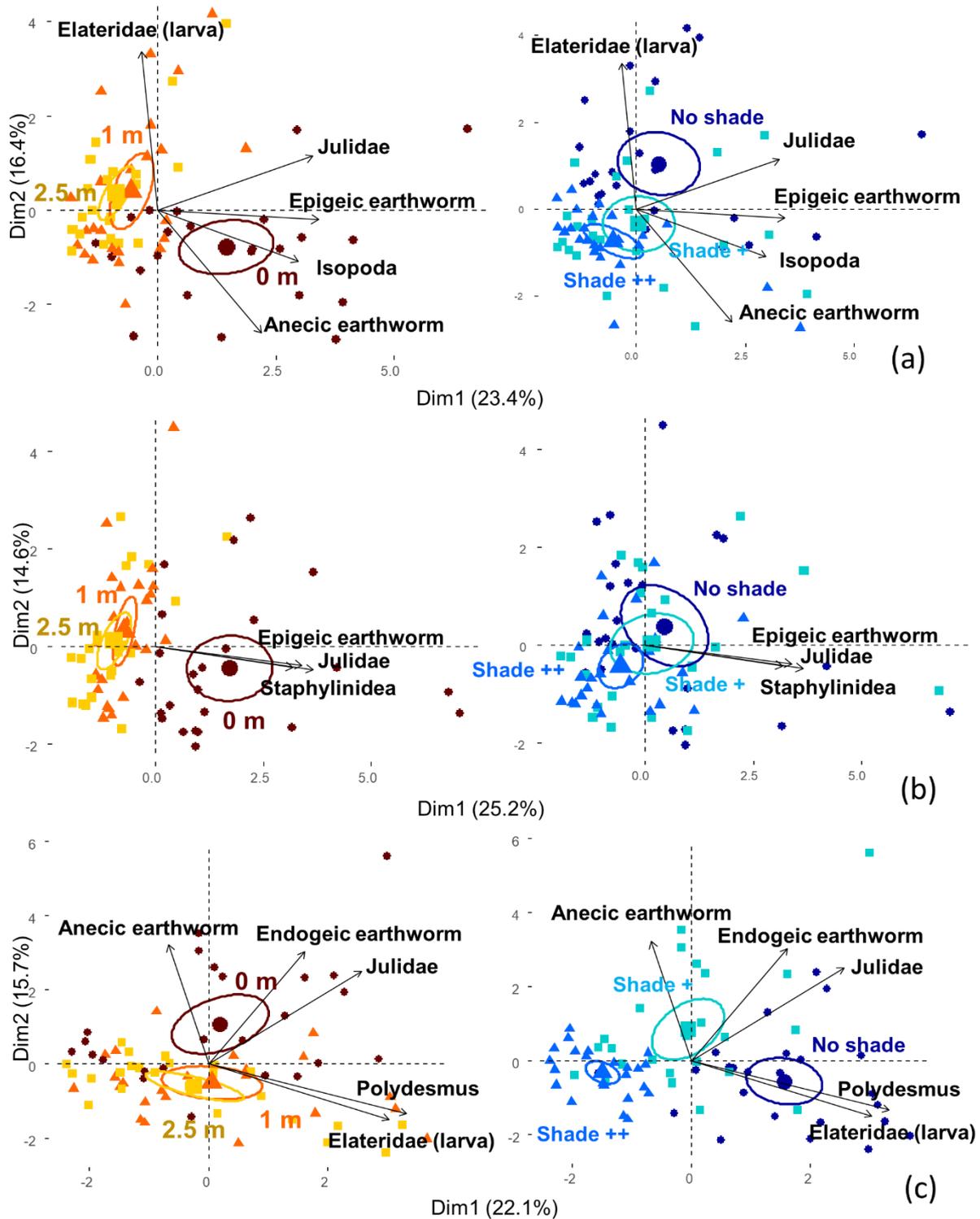
Variations in macrofauna community composition between distances from the HS and shade treatments were evaluated with a principal component analysis using densities in taxonomic groups at order or family level when possible (package FactomineR and ggplot 2 in R) for each season. Groups with too few individuals (median equal to 0) were excluded from the analysis. Earthworms were separated into the ecological groups anecic, epigeic and endogeic to account for their different behaviors. In order to account for large differences in density between taxonomic groups, data were standardized to the maximal density measured for each taxonomic group (maximal margin method of function decostand, vegan package in R).

### 3. Results

#### 3.1. Macrofauna community composition

Identified macrofauna were mostly earthworms ( $17 \pm 12$  %,  $32 \pm 17$  % and  $29 \pm 15$  % of macrofauna individuals in the no shade, shade + and shade ++ treatments respectively), Chilopoda ( $9 \pm 9$  %,  $10 \pm 10$  % and  $20 \pm 16$  % respectively), Diplopoda ( $21 \pm 12$  %,  $13 \pm 10$  % and  $4 \pm 6$  % respectively) and Coleoptera ( $26 \pm 13$  %,  $17 \pm 16$  % and  $21 \pm 18$  % respectively). Formicidae represented up to an estimated 82 % of all individuals in some samples (while their mean contribution was estimated to  $12 \pm 19$  %,  $10 \pm 16$  % and  $7 \pm 14$  % in the no shade, shade + and shade ++ treatments respectively) (**Table S2 in Supplementary materials 1**).

The principal component analyses based on macrofauna density in the different taxonomic groups showed variable patterns with the season. In April and June, the principal component analysis mostly isolates sampling points of the HS from those of the tomato beds along the first axis (representing 25 % of the variance in April and 26 % of the variance in June) (**Figure 2a and 2b**). In April, it is explained by more epigeic and anecic earthworms, Julidae and Isopoda in the HS than in the tomato beds. In June, it is explained by more epigeic earthworms, Julidae and Staphylinidae in the HS than in the tomato beds. The separation of sampling points from the different shade treatments is much less clear, and takes place along axis 2, which explains a lower part of the variance (17 % in April, 15 % in June) (**Figure 2a and 2b**). At the opposite,



**Figure 2** Graphical representations of principal component analyses computed with macro-invertebrates at order or family level (when possible), for (a) April data, (b) June data and (c) November data. Earthworms were additionally separated by ecological categories. Individuals are identified by their distance from the HS in the representations on the left, with red circles for 0 m, orange triangles for 1 m and yellow squares for 2.5 m. Individuals are identified by their shade treatment in the representations on the right with dark blue circles for the no shade treatment, light blue squares for shade + treatment, and medium blue triangles for shade ++ treatment. Ellipses represent confidence intervals at 95 % around barycenters. Only variables with a  $\cos^2 > 0.5$  are represented.

the separation between the HS and the tomato beds is not clear in November, where it is driven by component 2 (17 % of the variance, **Figure 2c**), while the first component (24 % of the variance) clearly isolates the shade treatments from one another, especially the no shade treatment from shade ++. There were particularly more Polydesmidae and larva of Elateridae in the no shade treatment compared to other treatments, while the shade ++ treatment is additionally characterized by lower densities of endogeic earthworms and of Julidae compared to other treatments. The tomato beds at 1 m or 2.5 m from the HS could not be separated at any season.

### 3.2. Macrofauna density in taxonomic groups

The effect of the distance from the HS on macro-invertebrate density varies with the taxonomic group and the season, as shown in **Table 2** and **Table S3** (in **Supplementary materials 1**) (significant effect of the interaction between the distance from the HS and the season for Lumbricidae, Diplopoda, Isopoda, Chilopoda and adult Coleoptera). At all seasons, earthworms presented significantly higher densities in the HS compared to the tomato beds (1 and 2.5 m from the HS), and ants presented higher densities in the HS compared to 2.5 m from the HS (**Table 2**). Diplopoda presented higher densities in the HS than 2.5 m from the HS in April, and higher densities in the HS compared to all tomato beds (1 and 2.5 m from the HS) in June, but not in November. Isopoda presented higher densities in the HS than in the tomato beds (1 and 2.5 m from the HS) in April only. Adult Coleoptera presented higher densities in the HS compared to 1 m from the HS in April, and compared to both 1 and 2.5 m from the HS in June, while no difference was found in November. At the opposite, Chilopoda presented higher densities at 1 m from the HS than in the HS in November, while no difference was found at other seasons. Dermaptera and larva of Coleoptera did not vary significantly with the distance from the HS at any season (no significant effect of the interaction between distance from the HS and season or of the distance from the HS alone, **Table S3** in **Supplementary materials 1**). No significant difference between 1 and 2.5 m from the HS was found for any season and taxonomic group. The attenuation of differences in macrofauna density between the HS and the tomato beds in November is due to a significant increase in macro-invertebrate density compared to other seasons in the tomato beds but not in the HS for earthworms, Diplopoda, Isopoda and Chilopoda (**Table 2**).

**Table 2** Mean values for macro-invertebrate densities (individuals per m<sup>2</sup>) for each distance from the herbaceous strip (HS) and each season for the three shade treatments combined. Mean values were obtained from linear generalized models fitted with a quasi-Poisson law. Values are back-transformed from the logarithmic scale used for analyses. Different letters indicate significantly different values between the different combinations of distance from the HS and season for a given taxonomic group (Tukey test, p-value < 0.05). Bold values underline significant differences between distances from the HS for the season and taxonomic group concerned. \* indicate significant differences between seasons for the distance from the HS and taxonomic group concerned. For Formicidae, a cumulative link model was used. Means and significant differences were given for all seasons combined when the answer was similar for all seasons (no significant effect of the interaction between season and distance from the HS in **Table S2**).

	Distance from the HS	April	June	November	All seasons
Lumbricidae	0 m	<b>186.56 ab</b>	<b>174.03 ab</b>	<b>204.31 a</b>	
	1 m *	<b>59.48 d</b>	<b>36.04 de</b>	<b>129.13 bc</b>	
	2.5 m *	<b>45.45 de</b>	<b>25.17 e</b>	<b>106.55 c</b>	
Diplopoda	0 m	<b>66.10 ab</b>	<b>60.32 abc</b>	108.47 a	
	1 m *	<b>29.55 bcd</b>	<b>18.65 d</b>	62.87 abc	
	2.5 m *	<b>25.43 cd</b>	<b>11.2 d</b>	61.33 ab	
Isopoda	0 m	<b>46.30 a</b>	23.21 ab	31.19 ab	
	1 m *	<b>16.29 b</b>	23.21 ab	47.38 a	
	2.5 m	<b>12.47 b</b>	23.91 ab	35.74 ab	
Chilopoda	0 m	31.02 cd	39.86 cd	<b>62.76 bc</b>	
	1 m *	16,66 d	39.93 cd	<b>108.96 a</b>	
	2.5 m *	17.66 d	35.74 cd	<b>91.09 ab</b>	
Coleoptera (adults)	0 m	<b>51.33 ab</b>	<b>61.74 a</b>	35.69 abc	
	1 m	<b>19.25 c</b>	<b>28.38 bc</b>	35.83 abc	
	2.5 m	<b>30.19 abc</b>	<b>21.85 bc</b>	21.37 c	
Coleoptera (larva)	0 m	35.65	28.01	58.95	38,9 a
	1 m	58.91	20.09	72.69	44,14 a
	1.5 m	50.52	23.41	64.25	42,35 a
Dermaptera	0 m	10.69	17.86	35.67	18,95 a
	1 m	12.01	18.78	41.69	21,11 a
	2.5 m	4.37	11.52	38.64	11,3 a
Formicidae <sup>1</sup>	0 m	0 - 240	0 - 240	0 - 240	<b>0 – 240 a</b>
	1 m	0	0 - 240	0 - 240	<b>0 – 240 ab</b>
	2.5 m	0	0	0	<b>0 b</b>

<sup>1</sup> category to which the median value belongs (between 0, 0 to 240 and more than 240 individuals.m<sup>-2</sup>)

The response of macro-invertebrate density to the distance from the HS was similar in all shade treatments (**Table S3** in **Supplementary materials 1**, significant interaction between distance from the HS and shade treatment for Diplopoda only, and probably due to large differences in

densities between shade treatments, see **Figure S1** in **Supplementary materials 1**). However, macrofauna density was different between shade treatments, with especially lower densities in shade ++ compared to other treatments for most taxonomic groups (**Table S2** in **Supplementary materials 1**). These effects are not detailed here as the experimental design does not allow to draw conclusions on the shade treatment per se.

### 3.3. Earthworm diversity

Seven species of earthworms were found in all shade treatments (**Table 3**). Earthworm diversity varied with the distance from the HS (**Table 3**). Species richness was higher in the HS than both 1 and 2.5 m from the HS in April and June, and than 2.5 m from the HS in November. The Shannon index presented a significant gradient from the HS to 2.5 m from the HS for all seasons.

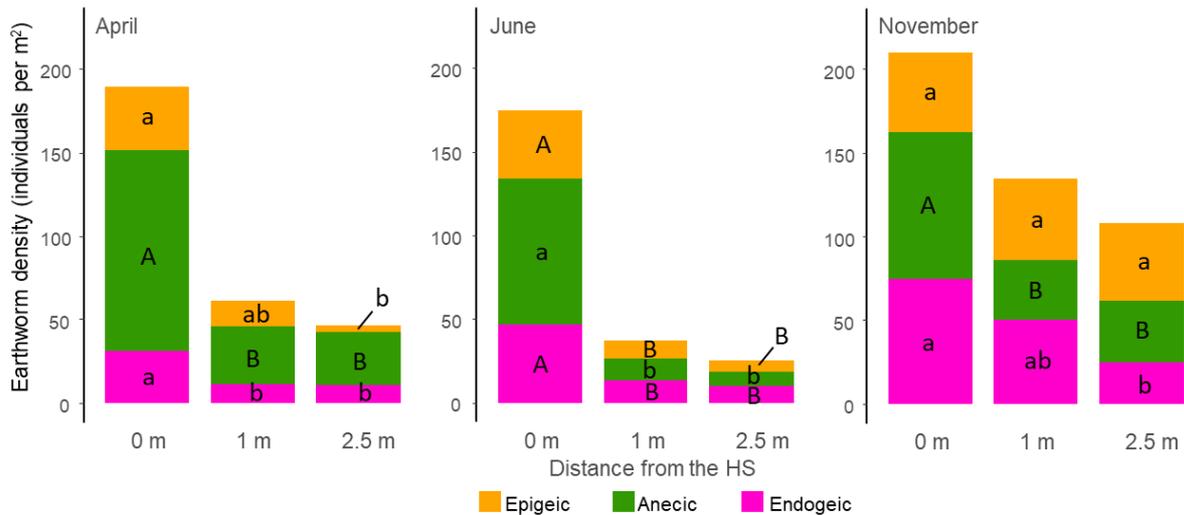
The response of earthworm density to the distance from the HS varies with their ecological category (**Figure 3**). Anecic earthworms presented higher densities in the HS compared to 1 and 2.5 m from the HS at all seasons, especially due to *A. nocturna* (**Table 3**). Endogeic earthworms presented higher densities in the HS compared to 1 and 2.5 m from the HS in April and June, but only compared to 2.5 m from the HS in November, especially due to the epi-endogeic *A. chlorotica* and to *A. rosea*. Epigeic earthworms (*L. castaneus*) presented higher densities in the HS compared to 2.5 m from the HS in April, and compared with both 1 and 2.5 m from the HS in June, but no significant difference was found anymore in November between distances from the HS, because of a large increase in epigeic density in the tomato beds between June and November.

Chapitre 4

**Table 3** Mean values  $\pm$  standard deviation of the density of each earthworm species, and mean values of earthworm diversity indices from generalized linear models (fitted by quasi Poisson law for species richness, and normal law for Shannon index). Different letters indicate significant differences between the means.

	Distance from the HS	April	June	November	All seasons
<i>Lumbricus</i>	0 m	5.33 $\pm$ 9.03	4.00 $\pm$ 7.08	2.67 $\pm$ 6.09	
<i>terrestris</i> L.	1 m	2.67 $\pm$ 7.70	0.67 $\pm$ 3.27	2.67 $\pm$ 6.09	
	2.5 m	0.00 $\pm$ 0.00	0.67 $\pm$ 3.27	1.33 $\pm$ 4.52	
<i>Lumbricus</i>	0 m	38 $\pm$ 42,15	40,67 $\pm$ 47,65	46 $\pm$ 36,64	
<i>castaneus</i> S.	1 m	15,33 $\pm$ 21,87	9,33 $\pm$ 11,48	48 $\pm$ 34,99	
	2.5 m	4 $\pm$ 11,8	6 $\pm$ 9,21	46 $\pm$ 47,49	
<i>Allolobophora</i>	0 m	17,33 $\pm$ 27,07	30 $\pm$ 35,72	35,33 $\pm$ 36,54	
<i>chlorotica</i> S.	1 m	8 $\pm$ 10,55	8 $\pm$ 14,92	31,33 $\pm$ 34,18	
	2.5 m	5,33 $\pm$ 9,03	8 $\pm$ 14,15	17,33 $\pm$ 20,52	
<i>Aporrectodea</i>	0 m	114,67 $\pm$ 57,33	83,33 $\pm$ 52,96	85,33 $\pm$ 58,3	
<i>nocturna</i> <sup>1</sup>	1 m	32 $\pm$ 29,08	12,67 $\pm$ 14,14	33,33 $\pm$ 35,6	
	2.5 m	32 $\pm$ 31,65	8 $\pm$ 12,48	36 $\pm$ 36,32	
<i>Aporrectodea</i>	0 m	14 $\pm$ 16,56	12,67 $\pm$ 14,9	28 $\pm$ 26,38	
<i>rosea</i> S.	1 m	3,33 $\pm$ 8,14	3,33 $\pm$ 6,64	15,33 $\pm$ 15,99	
	2.5 m	5,33 $\pm$ 10,19	1,33 $\pm$ 4,52	4,67 $\pm$ 7,43	
<i>Aporrectodea</i>	0 m	0 $\pm$ 0	4 $\pm$ 4	8 $\pm$ 8	
<i>icterica</i> S.	1 m	0 $\pm$ 0	2 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2	
	2.5 m	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1,33 $\pm$ 1,33	
<i>Aporrectodea</i>	0 m	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	3,33 $\pm$ 3,33	
<i>caliginosa</i> S.	1 m	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1,33 $\pm$ 1,33	
	2.5 m	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1,33 $\pm$ 1,33	
Species richness	0 m	<b>2.9 ab</b>	<b>3.3 ab</b>	<b>3.9 a</b>	
	1 m *	<b>1.9 cd</b>	<b>1.7 cde</b>	<b>3.2 ab</b>	
	2.5 m *	<b>1.4 de</b>	<b>1.1 e</b>	<b>2.3 bc</b>	
Shannon index	0 m	2.1	2.52	3.15	<b>2,56 a</b>
	1 m	1.72	1.52	2.57	<b>1,89 b</b>
	2.5 m	1.36	1.2	2.01	<b>1,49 c</b>

<sup>1</sup> also known as *Nicodrilus nocturnus* (Bouché)

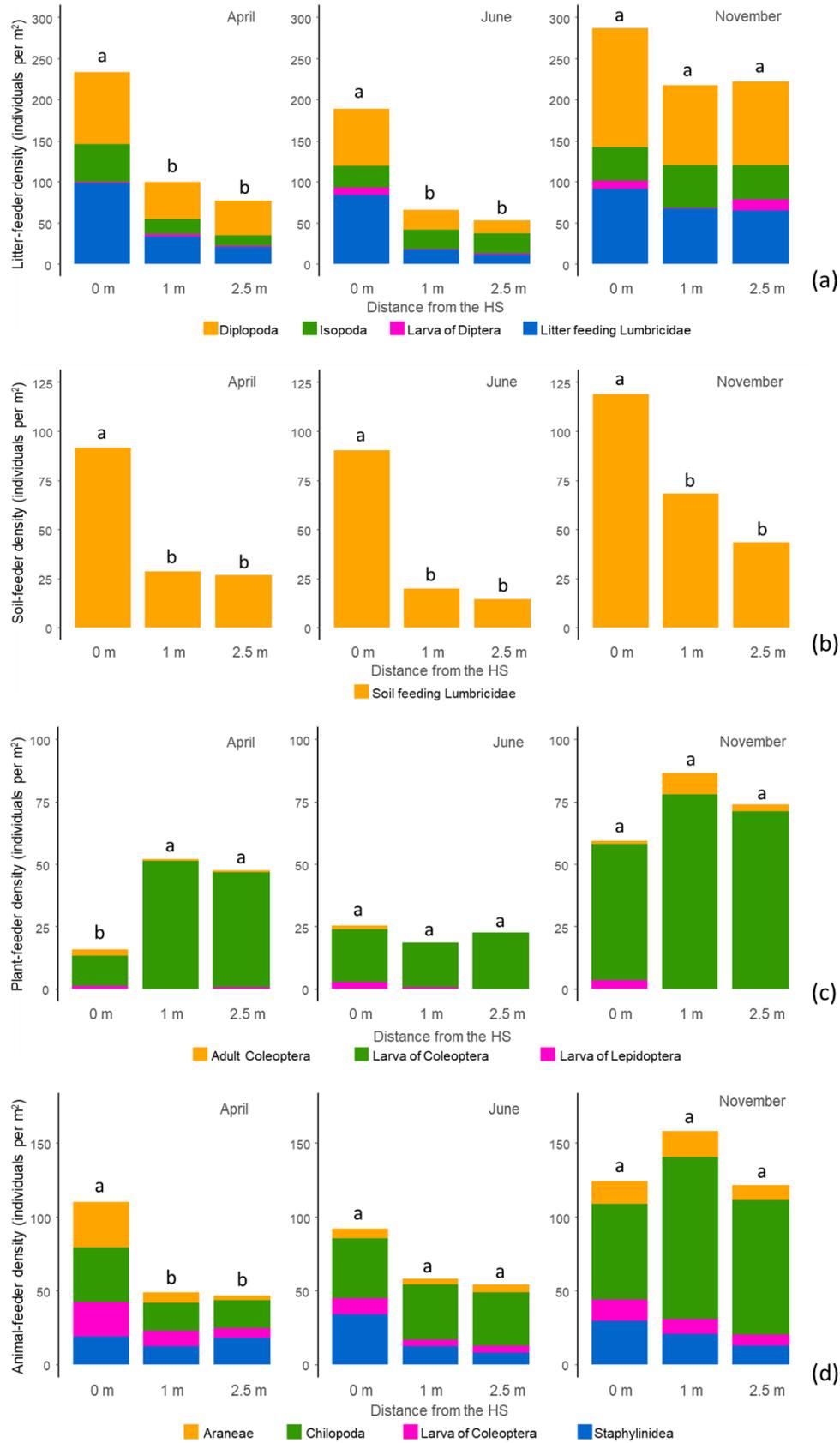


**Figure 3** Mean values of earthworm density for each earthworm ecological category at each season and each distance from the herbaceous strip (HS). Different letters indicate significant differences between distance from the HS for a given earthworm category and season (Tukey test, p-value < 0.05) after generalized linear models fitted with a quasi-Poisson law.

### 3.4. Feeding groups

The response of macrofauna density to the distance from the HS varies with the feeding group (**Figure 4**). Litter-feeders presented higher densities in the HS compared to tomato beds in April and June, but not in November (**Figure 4a**). This result was mostly driven by litter-feeding earthworms and Diplopoda. Soil-feeding earthworms presented higher densities in the HS than in the tomato beds at all seasons (**Figure 4b**). Animal-feeders presented higher densities in the HS than in the tomato beds in April only (**Figure 4d**). Animal-feeders were mostly Chilopoda, especially in June and November. Plant-feeders presented a different pattern from other groups, with a significantly lower density in the HS compared to the tomato beds in April (**Figure 4c**). Plant-feeders were mostly Coleoptera larva, of which a huge proportion consisted of Elateridae (85 % ± 27 %).

## Chapitre 4



**Figure 4** Mean values of densities of litter-feeders (a), soil-feeders (b), plant feeders (c) and animal-feeders (d) at each season and distance from the HS. Different letters indicate significant differences between distances from the HS for the given season and feeding group (Tukey test,  $p$ -value < 0.05) based on generalized linear models fitted with a quasi-Poisson law.

## 4. Discussion

### 4.1. Non seasonal macrofauna distribution

Earthworms presented higher densities in the HS compared to both tomato beds at all seasons, especially due to anecic earthworms. Higher earthworm densities in HS than crop alleys were also found by Cardinael et al. (2019) and Rinvest et al (2019) for different alley cropping plots, and by Crittenden et al (2015) for field margins. Anecic earthworms live in permanent burrows in the soil. HS were probably a favorable habitat to them as they were not subject to soil perturbation, while anecic were probably negatively impacted by the repeated destruction of their burrows and the lack of adequate food resources at the soil surface in the tomato beds (Chan 2001). *A. nocturna*, the main anecic earthworm species found in this study, is in particular known to reuse its burrows intensively (Capowiez 2000). In addition, endogeic earthworms always presented higher densities in the HS than 2.5 m from the HS. Endogeic earthworms were probably directly strongly impacted by the recent rotary tillage as they live and feed inside the soil. Similarly, ants also presented higher densities in the HS than 2.5 m from the HS at all seasons. Anthills were probably repeatedly destroyed by soil intensive tillage in the tomato beds. In agreement with us, Boinot et al (2019) found more activity density of ants in the tree row than in the crop alley in alley cropping systems.

Dermaptera and Chilopoda density did not vary between HS and crop alleys at any season. Similarly, Smith et al (2008b) did not find significant differences in Chilopoda abundance between grass margins and crop. These organisms are able to move quite fast and could have recolonized tomato beds more rapidly than other soil-dwelling organisms such as earthworms and larva after tillage. While adult Coleoptera have a faster dispersal, particularly flying Staphylinidae, they did not present the same pattern, probably because they use different habitats for living and feeding.

### 4.2. Seasonal variations in macrofauna distribution

This study reveals seasonal variations in the differences between HS and tomato beds macrofauna communities. Densities of epigeic earthworms, Isopoda, Diplopoda and adult Coleoptera were higher in the HS than in the tomato beds at least in April, but no longer in November. Density of litter-feeders and animal feeders followed a similar trend. In April, most soil macrofauna was probably negatively impacted by the recent soil perturbations in the tomato

beds. Smith et al (2008b) indeed found that soil scarification reduces macrofauna density, but that populations recovered within a season after soil scarification. In the present study, these macrofauna categories seem to have recovered in November, or even in June for Isopoda. The recovery in November could have been amplified by the interruption of weeding, allowing the colonization of tomato beds by herbaceous vegetation, probably providing food and habitat. In addition, November 2018 was a particularly rainy month, which could have favored macrofauna activity.

Epigeic earthworms and isopods are usually particularly poorly present in tilled soils, probably because of the reduction in adequate shelter and food at the soil surface (Hassall and Tuck 2007; Pelosi et al. 2009). Higher densities of isopods in tree rows compared to crop alleys have already been found in spring similarly to us (Pardon et al. 2019b; D'Hervilly et al. 2020), and isopods have been shown to hibernate in tree rows (Boinot et al. 2019). Epigeic earthworms have also been shown to be mostly present in tree rows in spring (Cardinael et al. 2019; D'Hervilly et al. 2020) or in field margins in July (Crittenden et al. 2015) compared to the neighboring crop. In addition, higher densities of Diplopoda were also found in tree rows than in adjacent crops by Pardon et al (2019b). However, our study demonstrates that Isopoda, epigeic earthworms and Diplopoda can be present in the crop alley at similar densities to those of the HS in autumn, their establishment being probably favored by the shelter provided by ramial chipped wood presence at the soil surface of the tomato beds. Tomato bed irrigation in June probably further favored early colonization by isopods, limiting the usual adverse conditions of the summer. Surprisingly, it did not favored epigeic earthworms which presence was mostly restricted to the HS in June, although epigeic are known to be positively affected by increases in soil humidity and litter presence at the soil surface (Bouché 1977). Temperatures were probably too high for epigeic activity in summer, and ramial chipped wood a more interesting resource for Isopoda than for epigeic earthworms.

Adult Coleoptera were mostly Staphylinid beetles and Carabids in our study. Andersen (1997) found more carabid and Staphylinid beetles, and Smith et al (2008b) found more Coleoptera in field margins than in the crop field similarly to what we found in April and June. The higher densities of adult Coleoptera in the HS than in the tomato beds in April and June could be due to additional prey for the animal-feeders in the HS as usually described for margin habitats (Landis et al. 2000). It could also be due to their behavior, as most of them feed at night (Martin-Chave et al. 2019a), and could use the HS as a shelter during the day.

Contrary to our hypothesis, no significant difference was found between distances 1 m and 2.5 m from the HS for macrofauna density at all seasons. However, we only investigated the HS close vicinity, due to the limited size of our experimental plot (crop alleys were only 8 m wide), what could have hidden some effects. For example, Smith et al (2008a) found higher macrofauna density up to 3 m from field margins. However, while the HS presented higher endogeic earthworm density than both tomato beds in April and June, endogeic density was only significantly higher in the HS than 2.5 m from the HS in November, suggesting a positive effect of HS vicinity on endogeic earthworms density in November. A positive effect of tree row proximity on earthworm density has already been suggested by Price and Gordon (1999). A possible explanation is that most macrofauna dispersed from the HS to at least 2.5 m from the HS in the crop alley in November, but that this dispersion was more limited for endogeic earthworms, which movements are slowed as they are restricted to the soil.

Interestingly, plant-feeding larva of Coleoptera presented higher densities in the tomato beds than in the HS in April, and no differences between distances from the HS at other seasons. These Coleoptera were mostly wireworms (Elateridae), known to be detrimental to crops, which could explain their preference for the crop alley. However, wireworms are usually destroyed directly or indirectly by tillage (Parker and Howard 2001), which was performed only a month before the first sampling season. Wireworms could have been located deeper in the soil in March during tillage, or soil cover by ramial chipped wood could have limited their predation after exposure at the soil surface. In addition, the use of rotary tillage could have made it easier for them to dig into the loose soil.

### **4.3. Variations between shade treatments**

We expected to find more homogeneous macrofauna densities relative to the distance from the HS in the strong-shade treatment than in the light shade and no shade treatments, as we expected that the more homogeneous tree shading and litter inputs would attenuate the habitat differences between HS and raised beds. However, we found no effect of the shade treatment on the spatial distribution of macrofauna within the plot. Shade treatments most likely influenced all distances from the HS homogeneously, as soil macrofauna density and community composition differed between shade treatments at a general level, especially in November. Increased shade has been found to increase soil macrofauna density in tropical systems (Martius et al. 2004), but has rarely been studied in temperate or Mediterranean systems. Pardon et al (2019b) investigated

the effect of herbaceous strips with or without trees at field edges in Belgium, and found a higher woodlice density in the presence of trees and no difference for millipedes, while in our study both were positively impacted in the absence of trees (no shade treatment). In our study, higher shade led to a lower macrofauna density for most macrofauna, Chilopoda excepted. Similarly, Martin Chave et al (2019b) found a lower activity density of the main Carabidae in the strong shade treatment compared to lighter shade treatments in September in the same experimental plot. The strong shade treatment was shown to buffer temperature variations in this same study (Martin-Chave et al. 2019b). A strong shade could have lowered temperature too much during the day in November, attenuating the positive impact of autumn on macrofauna activity. The soil environment was also probably strongly modulated by the soil cover by tree leaves and limited herbaceous vegetation biomass as observed in November in the shade ++ treatment. This would have further created buffered microclimate conditions, and induced strong differences in litter quality and quantity between shade treatments, which has been shown to modulate soil macrofauna (Vohland and Schroth 1999; Loranger-Merciris et al. 2008). Interestingly, earthworms and Dermaptera presented higher densities in the shade + treatment than in both shade ++ and no shade treatments, meaning the observed trends are not only the results of a variation of shade and of the inputs of tree litter.

## **5. Conclusion**

Herbaceous strips were shown to present higher macrofauna density and earthworm diversity compared to nearby tomato beds in this study, at least in April. These results were valid whatever the shade treatment, and confirm the important role of non-perturbed herbaceous strips to preserve dense and diverse macrofauna communities across fields. However, this study reveals the importance of considering seasonal variations when studying soil macrofauna, as patterns could be quite different according to the season. The maximal seasonal activity was found to be in November, while most sampling in crops usually takes place in April. We showed that tomato beds could harbor similar densities of macrofauna to HS at the end of a cultivation season. The specific impact of the HS itself in recolonization of crop alleys, via seasonal movements in soil fauna, should be further investigated.

## References

- Andersen A (1997) Densities of overwintering carabids and staphylinids (Col., Carabidae and Staphylinidae) in cereal and grass fields and their boundaries. *J Appl Entomol* 121:77–80. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1997.tb01374.x>
- Barrios E (2007) Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecol Econ* 64:269–285. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.03.004>
- Bender SF, Wagg C, van der Heijden MGA (2016) An Underground Revolution: Biodiversity and Soil Ecological Engineering for Agricultural Sustainability. *Trends Ecol Evol* 31:440–452. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.02.016>
- Bernier N (1998) Earthworm feeding activity and development of the humus profile. *Biol Fertil Soils* 26:215–223. <https://doi.org/10.1007/s003740050370>
- Boinot S, Poulmarc'h J, Mézière D, et al (2019) Distribution of overwintering invertebrates in temperate agroforestry systems: Implications for biodiversity conservation and biological control of crop pests. *Agric Ecosyst Environ* 285:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106630>
- Bossuyt H, Six J, Hendrix PF (2005) Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts. *Soil Biol Biochem* 37:251–258. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.07.035>
- Bouché MB (1977) Stratégies lombriciennes. *Ecol Bull* 25:122–132
- Capowiez Y (2000) Differences in burrowing behaviour and spatial interaction between the two earthworm species *Aporrectodea nocturna* and *Allolobophora chlorotica*. *Biol Fertil Soils* 30:341–346. <https://doi.org/10.1007/s003740050013>
- Cardinael R, Hoeffner K, Chenu C, et al (2019) Spatial variation of earthworm communities and soil organic carbon in temperate agroforestry. *Biol Fertil Soils* 55:171–183. <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1332-3>
- Chan KY (2001) An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils. *Soil Tillage Res* 57:179–191. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00173-2)
- Crittenden SJ, Huerta E, de Goede RGM, Pulleman MM (2015) Earthworm assemblages as affected by field margin strips and tillage intensity: An on-farm approach. *Eur J Soil Biol* 66:49–56. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.11.007>
- D'Hervilly C, Marsden C, Hedde M, Bertrand I (2020) Sown understory vegetation strips impact soil chemical fertility, associated microorganisms and macro-invertebrates in two

- temperate alley cropping systems. *Agrofor Syst* 0123456789:  
<https://doi.org/10.1007/s10457-020-00501-w>
- David JF (2014) The role of litter-feeding macroarthropods in decomposition processes: A reappraisal of common views. *Soil Biol Biochem* 76:109–118.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.05.009>
- Filser J, Faber JH, Tiunov A V., et al (2016) Soil fauna: Key to new carbon models. *Soil* 2:565–582. <https://doi.org/10.5194/soil-2-565-2016>
- Frouz J (2018) Effects of soil macro- and mesofauna on litter decomposition and soil organic matter stabilization. *Geoderma* 332:161–172.  
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.08.039>
- Geiger F, Wäckers FL, Bianchi FJJA (2009) Hibernation of predatory arthropods in semi-natural habitats. *BioControl* 54:529–535. <https://doi.org/10.1007/s10526-008-9206-5>
- Habel JC, Samways MJ, Schmitt T (2019) Mitigating the precipitous decline of terrestrial European insects: Requirements for a new strategy. *Biodivers Conserv*.  
<https://doi.org/10.1007/s10531-019-01741-8>
- Hassall M, Tuck JM (2007) Sheltering behavior of terrestrial isopods in grasslands. *Invertebr Biol* 126:46–56. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2007.00075.x>
- Holland JM, Douma JC, Crowley L, et al (2017) Semi-natural habitats support biological control, pollination and soil conservation in Europe. A review. *Agron Sustain Dev* 37:.  
<https://doi.org/10.1007/s13593-017-0434-x>
- Jose S (2009) Agroforestry for ecosystem services and environmental benefits: an overview. *Agrofor Syst* 76:1–10. <https://doi.org/10.1007/s10457-009-9229-7>
- Landis DA, Wratten SD, Gurr GM (2000) Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annu Rev Entomol* 45:175–201
- Lavelle P, Decaëns T, Aubert M, et al (2006) Soil invertebrates and ecosystem services. *Eur J Soil Biol* 42:.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>
- Lavelle P, Pashanasi B, Charpentier F, et al (2010) Large-scale effects of earthworms on soil organic matter and nutrient dynamics To cite this version : Large-Scale Effects of Earthworms on Soil Organic Matter and Nutrient Dynamics
- Loranger-Merciris G, Imbert D, Bernhard-Reversat F, et al (2008) Litter N-content influences soil millipede abundance, species richness and feeding preferences in a semi-evergreen dry forest of Guadeloupe (Lesser Antilles). *Biol Fertil Soils* 45:93–98.  
<https://doi.org/10.1007/s00374-008-0321-3>
- Marsden C, Martin-Chave A, Cortet J, et al (2019) How agroforestry systems influence soil

- fauna and their functions - a review. *Plant Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04322-4>
- Martin-Chave A, Béral C, Capowiez Y (2019a) Agroforestry has an impact on nocturnal predation by ground beetles and Opiliones in a temperate organic alley cropping system. *Biol Control* 129:128–135. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.10.009>
- Martin-Chave A, Béral C, Mazzia C, Capowiez Y (2019b) Agroforestry impacts the seasonal and diurnal activity of dominant predatory arthropods in organic vegetable crops. *Agrofor Syst* 93:2067–2083. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0309-4>
- Martius C, Höfer H, Garcia MVB, et al (2004) Microclimate in agroforestry systems in central Amazonia: Does canopy closure matter to soil organisms? *Agrofor Syst* 60:291–304. <https://doi.org/10.1023/B:AGFO.0000024419.20709.6c>
- McLaughlin A, Mineau P (1995) The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agric Ecosyst Environ* 55:201–212. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(95\)00609-V](https://doi.org/10.1016/0167-8809(95)00609-V)
- Ohno T, Zibilske LM (1991) Determination of low concentrations of phosphorus in soil extracts using Malachite green. *Soil Sci Soc Am* 55:892–895. <https://doi.org/10.2136/sssaj1991.03615995005500030046x>
- Pardon P, Mertens J, Reubens B, et al (2019a) *Juglans regia* (walnut) in temperate arable agroforestry systems: effects on soil characteristics, arthropod diversity and crop yield. *Renew Agric Food Syst*. <https://doi.org/10.1017/S1742170519000176>
- Pardon P, Reheul D, Mertens J, et al (2019b) Gradients in abundance and diversity of ground dwelling arthropods as a function of distance to tree rows in temperate arable agroforestry systems. *Agric Ecosyst Environ* 270–271:114–128. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.10.017>
- Parker WE, Howard JJ (2001) The biology and management of wireworms (*Agriotes* spp.) on potato with particular reference to the U.K. *Agric For Entomol* 3:85–98. <https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2001.00094.x>
- Pelosi C, Bertrand M, Roger-Estrade J (2009) Earthworm community in conventional, organic and direct seeding with living mulch cropping systems. *Agron Sustain Dev* 29:287–295. <https://doi.org/10.1051/agro/2008069>
- Price GW, Gordon AM (1999) Spatial and temporal distribution of earthworms in a temperate intercropping system in southern Ontario, Canada. *Agrofor Syst* 44:141–149. <https://doi.org/10.1023/A:1006213603150>
- Rivest M, Whalen JK, Rivest D (2019) Variation of soil microbial and earthworm communities along an agricultural transect with tree windbreak. *Agrofor Syst* 3:.

<https://doi.org/10.1007/s10457-019-00476-3>

Smith J, Potts S, Eggleton P (2008a) The value of sown grass margins for enhancing soil macrofaunal biodiversity in arable systems. *Agric Ecosyst Environ* 127:119–125.

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.03.008>

Smith J, Potts SG, Woodcock BA, Eggleton P (2008b) Can arable field margins be managed to enhance their biodiversity , conservation and functional value for soil macrofauna ? *J Appl Ecol* 45:269–278. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2007.01433.x>

Udawatta RP, Rankoth LM, Jose S (2019) Agroforestry and biodiversity. *Sustainability* 11:.

<https://doi.org/10.3390/su11102879>

Vohland K, Schroth G (1999) Distribution patterns of the litter macrofauna in agroforestry and monoculture plantations in central Amazonia as affected by plant species and management. *Appl Soil Ecol* 13:57–68. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(99\)00021-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(99)00021-9)

Wolters V (2000) Invertebrate control of soil organic matter stability. *Biol Fertil Soils* 31:1–19. <https://doi.org/10.1007/s003740050618>

### Supplementary materials 1

**Table S1** Soil cover by vegetation for all distances from the herbaceous strip (HS) and main species found in the HS for each shade treatments and seasons. NA means properties were not measured at the given season and distance from the HS.

Distance from HS	No shade			Shade +			Shade ++		
	0 m	1 m	2.5 m	0 m	1 m	2.5 m	0 m	1 m	2.5 m
Soil cover by vegetation (April / June / November, %)	40 ± 32/ 84 ± 9 / 84 ± 9	0 / 31 ± 23 / NA	0 / 18 ± 13/ NA	26 ± 28 72 ± 13 / 78 ± 19	0 / 16 ± 14 / NA	0 / 18 ± 13 / NA	24 ± 30 78 ± 13 / 16 ± 10	0 / 8 ± 6 / NA	0 / 6 ± 6 / NA
Main species in HS (April)	<i>Bromus sterilis</i> (mean soil cover > 40 %), <i>Rumex</i> sp			<i>Bromus sterilis</i> (mean soil cover >22 %)			<i>Bromus sterilis</i> (mean soil cover > 20 %)		
Main species in HS (June)	<i>Bromus</i> sp (mean soil cover > 40 %), <i>Vicia cracca</i> , <i>Sorghum halepense</i> , <i>Rumex</i> sp, <i>Equisetum</i> sp			<i>Bromus</i> sp (mean soil cover > 25 %), <i>Sorghum halepense</i> , <i>Convolvulus</i> sp, <i>Rubus</i> sp, <i>Lepidium draba</i>			<i>Bromus</i> sp (mean soil cover > 50 %), <i>Rumex</i> sp, <i>Convolvulus</i> sp, <i>Cirsium arvense</i> , <i>Oxalis</i> sp, <i>Rubus</i> sp, <i>Potentilla repens</i> , <i>Elytrigia intermedia</i> , <i>Setaria</i> sp		
Main species in HS (November)	<i>Bromus</i> sp (mean soil cover > 40 %), <i>Erigeron acris</i> , <i>Conyza</i> sp, <i>Verbena</i> sp, <i>Sorghum halepense</i> , <i>Clematis</i> sp, <i>Arabis</i> sp, <i>Trifolium</i> sp, <i>Viola</i> sp, <i>Mentha</i> sp			<i>Bromus</i> sp (mean soil cover > 30 %), <i>Poa</i> sp, <i>Arabis</i> sp, <i>Urtica</i> sp, <i>Lactuca</i> sp, <i>Lolium perenne</i>			<i>Bromus</i> sp, <i>Oxalis</i> sp		

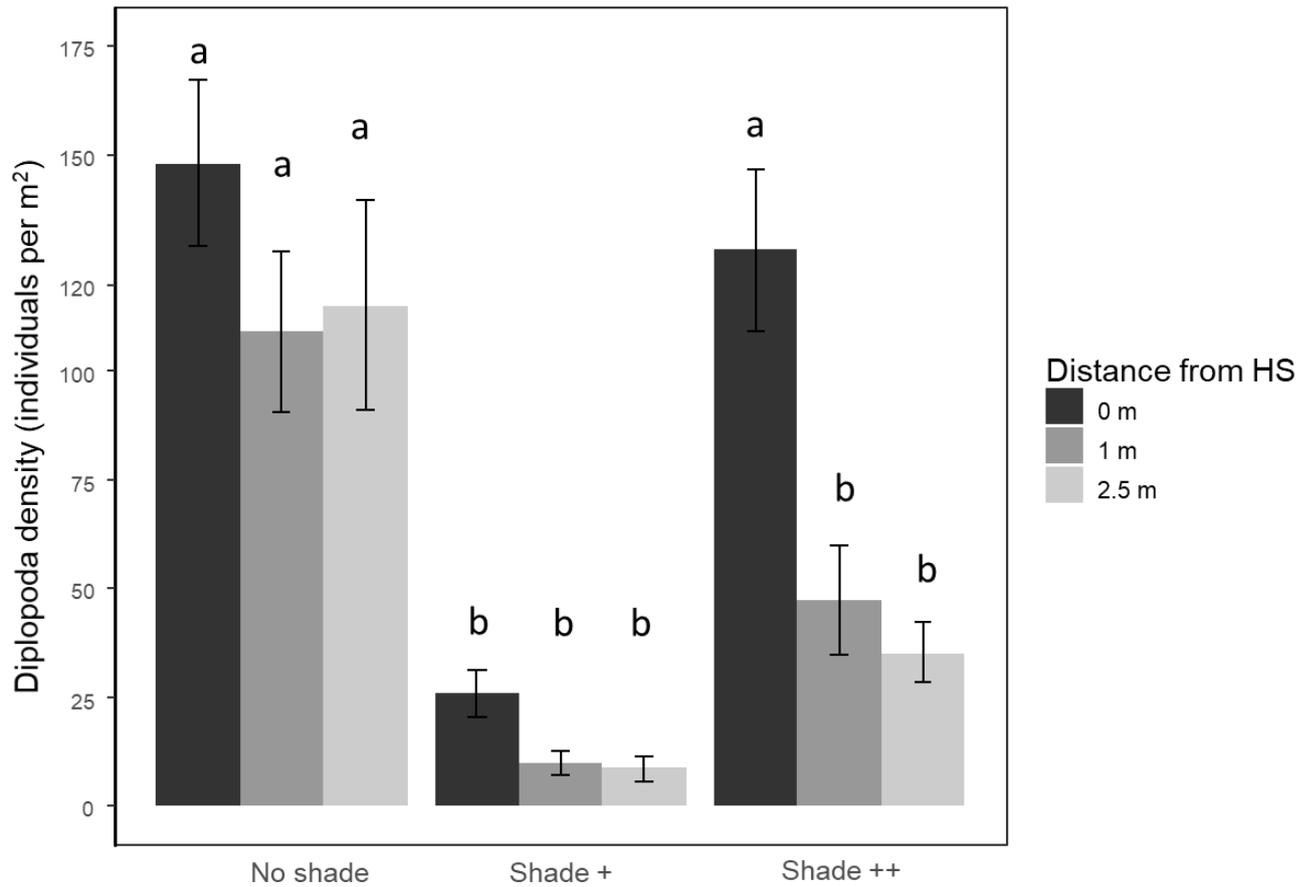
**Table S2** Mean values of macro-invertebrate densities (individuals per m<sup>2</sup>) for each shade treatment and each season for the three distances from the herbaceous strip combined. Mean values obtained from linear generalized models fitted by quasi-Poisson law. Values are back-transformed from the logarithmic scale used for analyses. Different letters indicate significantly different values between the different combinations of shade treatments and season for a given taxonomic group (Tukey, p-value < 0.05). Bold values underline significant differences between shade treatments for the season and taxonomic group concerned. \* underline significant differences between seasons for the shade treatment and taxonomic group concerned. For Formicidae, a cumulative link model was used.

	Treatment	April	June	November	
Lumbricidae	Shade ++	72.41	47,61	110,08	<b>89.11 b</b>
	Shade +	109.16	64,7	198,1	<b>142.22 a</b>
	No shade	63.80	51,25	128,9	<b>92.89 b</b>
Diplopoda	Shade ++	9,95	9,27	19,45	<b>14.89 c</b>
	Shade +	48,16	27,02	101,95	<b>70.22 b</b>
	No shade	103,66	50,28	210,93	<b>124.22 a</b>
Isopoda	Shade ++	32,04 bc	22,37 bc	<b>16,9 bc</b>	
	Shade + *	16,05 c	22,53 bc	<b>45,67 ab</b>	
	No shade *	18,28 bc	27,67 bc	<b>68,45 a</b>	
Chilopoda	Shade ++	37,42	39,11	96,73	<b>59.78 a</b>
	Shade +	11,66	32,58	81,57	<b>46.56 b</b>
	No shade	20,91	41,29	78,94	<b>42.96 ab</b>
Coleoptera (adults)	Shade ++ *	36,46 ab	26,36 b	<b>14,91 c</b>	
	Shade +	20,95 b	31,71 ab	<b>30,49 ab</b>	
	No shade	39,07 ab	45,79 ab	<b>60,1 a</b>	
Coleoptera (larva)	Shade ++ *	39,3 bcd	<b>13,33 e</b>	<b>30,69 cde</b>	
	Shade + *	39,97 bcd	<b>20,95 de</b>	<b>62,38 bc</b>	
	No shade *	67,55 b	<b>47,18 bcd</b>	<b>143,81 a</b>	
Dermaptera	Shade ++	6,75	9,89	25,31	<b>15.11 b</b>
	Shade +	20,25	24,57	43,7	<b>29.78 a</b>
	No shade	4,1 d	15,9	38,5	<b>20.44 b</b>
Formicidae <sup>1</sup>	Shade ++	0	0 - 240	0	<b>0 b</b>
	Shade +	0 - 240	0 - 240	0 - 240	<b>0 - 240 ab</b>
	No shade	0 - 240	0 - 240	0 - 240	<b>0 - 240 a</b>

<sup>1</sup> category in which the median value belong (between 0, 0 to 240 and more than 240 individuals.m<sup>-2</sup>)

**Table S3** p-values obtained after type II F tests on generalized linear models fitted by quasi-Poisson law (with factors shade treatment, season and distance from the HS and their interactions) for macro-invertebrate density and diversity indices (linear model used for the Shannon index). Significant p-values in bold (5 %). The triple interaction was removed as it was neither significant. For Formicidae, a cumulative link model was used.

	Shade *season	Distance *season	Distance *shade	Season	Shade	Distance
<b>Density in taxonomic groups</b>						
Lumbricidae (earthworms)	0.46	<b>&lt;0.001</b>	0.66	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Chilopoda	0.074	<b>0.007</b>	0.22	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.028</b>	0.43
Diplopoda	0.72	<b>0.034</b>	<b>0.003</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Isopoda	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.002</b>	0.50	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.020</b>	0.098
Coleoptera (adult)	<b>0.009</b>	<b>0.028</b>	0.71	0.77	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Coleoptera (larva)	<b>0.020</b>	0.25	0.26	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.20
Dermaptera	0.15	0.81	0.17	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.002</b>	0.18
Formicidae	0.48	0.39	0.075	0.13	<b>&lt;0.001</b>	0.11
<b>Density in functional groups</b>						
Anecic earthworms	0.20	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.004</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Endogeic earthworms	0.16	0.10	0.73	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Epigeic earthworms	0.84	<b>&lt;0.001</b>	0.62	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.011</b>	<b>&lt;0.001</b>
Litter feeders	0.12	<b>&lt;0.001</b>	0.11	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Soil feeders	0.13	<b>&lt;0.001</b>	0.33	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Animal feeders	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.98	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.28</b>	<b>&lt;0.001</b>
Plant feeders	0.38	<b>0.010</b>	0.19	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.003</b>
<b>Earthworm diversity</b>						
Species richness	0.78	<b>0.013</b>	<b>0.032</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Shannon index	0.74	0.14	0.24	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.003</b>	<b>&lt;0.001</b>



**Figure S1** Mean values of Diplopoda densities for each shade treatment and distance from the herbaceous strip (HS). Error bars represent standard errors of the means. Different letters indicate significant differences (Tukey,  $p$ -value < 0.05) after type II F tests on generalized linear models fitted by quasi-Poisson law.

## Supplementary materials 2:

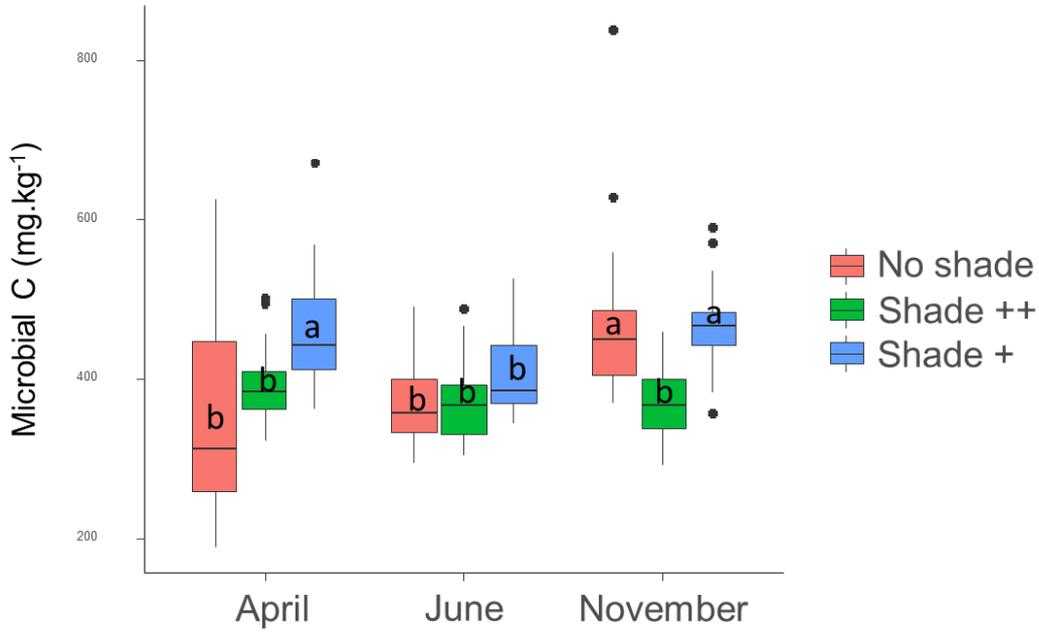
### Results for soil and microbial parameters

**Table S4** p-values obtained after type II F tests on linear models (with factors shade treatment, season and distance from the HS and their interactions) for soil and microbial contents in C, N and P, as well as some soil and microbial ratios. Significant p-values in bold (5 %). The triple interaction was removed as it was neither significant.

SOC means soil organic carbon.

The qCO<sub>2</sub> is a metabolic quotient calculated as basal soil respiration divided by glucose-induced soil respiration.

	Shade *season	Distance *season	Distance *shade	Season	Shade	Distance
Mineral N	<b>0.025</b>	<b>0.020</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.19
Olsen P	0.87	0.26	<b>0.021</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.187	<b>0.042</b>
SOC			<b>0.042</b>		<b>&lt;0.001</b>	<b>0.006</b>
C/N			0.83		<b>&lt;0.001</b>	0.24
Microbial C	<b>&lt;0.001</b>	0.38	<b>0.043</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Microbial N	0.20	0.56	0.099	0.80	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Microbial P	0.45	0.46	0.48	0.36	0.32	0.11
Microbial C/N	<b>&lt;0.001</b>	0.23	0.68	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.001</b>	0.20
Microbial C / SOC	<b>&lt;0.001</b>	0.43	0.35	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.020</b>
qCO <sub>2</sub>	0.055	0.61	0.54	0.16	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>



**Figure S2** Median values in boxplots of the microbial biomass C for the different shade treatments and seasons. Different letters indicate significantly different values.

## Chapitre 5 :

### Etude des mouvements de faune à l'interface entre linéaire sous arboré et allée cultivée dans une parcelle agroforestière méditerranéenne



L'objectif de ce chapitre était (i) de déterminer la variation de l'abondance des vers de terre le long d'un gradient de distance à la ligne d'arbre dans une parcelle mature, (ii) de déterminer s'il existe des mouvements de vers de terre à l'interface entre ligne d'arbres et allées cultivées et (iii) de déterminer si des apports de litière peuvent entraîner des mouvements accrus de vers de terre entre lignes d'arbres et allées cultivées.

L'étude est basée sur deux hypothèses :

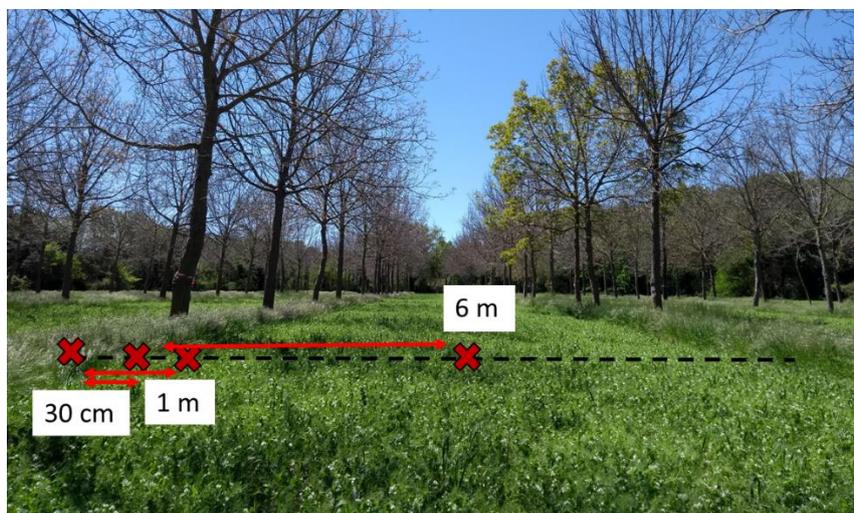
- Le LSA est un habitat favorable pour les vers de terre, qui peuvent se disperser vers l'allée cultivée depuis le LSA au printemps.
- Les mouvements de vers de terre vers l'allée cultivée sont amplifiés par l'incorporation de litière au sol.

Cette étude a été réalisée sur une parcelle agroforestière de 23 ans dans le domaine de Restinclières (Hérault). La parcelle sélectionnée est plantée de noyers hybrides, et le LSA y est spontané. Ce chapitre est basé sur une étude plus expérimentale que les précédents chapitres. Des pièges orientés ont ainsi été placés à 30 cm de la ligne d'arbres. Ceux-ci consistent en la délimitation de blocs de sols de 25\*25 cm et 15 cm de profondeur par des parois verticales sur toutes les faces sauf une, orientée soit vers le LSA soit vers l'allée cultivée (**Figure I**). Ceci permet des entrées de vers de terre depuis le LSA ou l'allée cultivée uniquement. Des pièges témoins, permettant des entrées à la fois depuis le LSA et l'allée cultivée, sont également mis en place. Les pièges ont été défaunés manuellement au cours de leur mise en place, et dans la moitié des pièges 100 g de litière de pois ont été incorporés au sol. 5 répétitions sont réalisées pour chaque type de piège (orienté vers le LSA, vers la culture ou témoins \* présence ou non de litière dans les pièges). De plus, des sacs à litière constitués de 1,5 g de litière de pois ont été ajoutés dans les pièges au moment de leur mise en place (**Figure I**).

Les pièges étaient présents dans la parcelle de début mars à début mai. Durant la mise en place et l'extraction finale, des blocs de sols intacts de 25\*25\*30 cm ont également été extraits pour connaître l'abondance réelle des vers de terre dans la parcelle. Ces blocs sont échantillonnés le long d'un transect perpendiculaire au LSA, à plusieurs distances du LSA : dans le LSA, à 30 cm du bord du LSA (au niveau des pièges), et à 1 m et 6 m du bord du LSA (**Figure II**). 5 répétitions ont été réalisées pour chacune des distances au LSA.



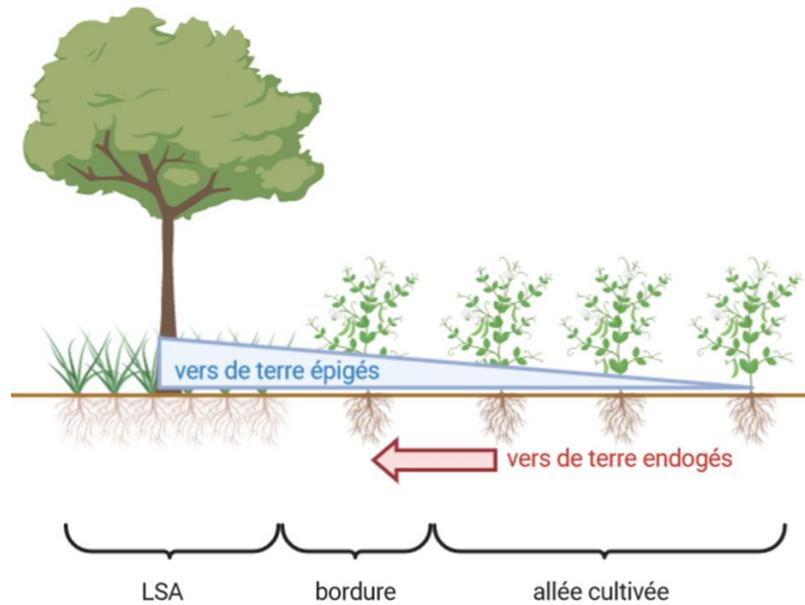
**Figure I** Mise en place des pièges orientés. Ceux-ci permettent des déplacements depuis le LSA, l'allée cultivée ou les deux milieux (flèches rouges sur la photographie du bas).



**Figure II** Plan d'échantillonnage (parcelle en mai)

Les résultats, synthétisés sur la **Figure III**, montrent que l'abondance des vers de terre épigés est plus élevée dans le LSA et à 30 cm du bord du LSA qu'au lieu de l'allée cultivée, alors que les vers de terre endogés ne sont pas impactés par la distance au LSA. L'extraction des pièges révèle des mouvements pour les vers de terre endogés exclusivement, davantage orientés vers le LSA que vers l'allée cultivée contrairement à notre hypothèse de départ. Cela est confirmé par le pourcentage de litière restant dans les litter bags, plus important dans les pièges orientés

vers le LSA, suggérant une activité limitée de la macrofaune dans ce type de piège. Les résultats révèlent également une plus grande abondance de tous les vers de terre dans les pièges contenant de la litière.



**Figure III** Synthèse des résultats obtenus sur la répartition des vers de terre (échantillonnage de blocs de sol intacts) et les mouvements observés (échantillonnage des pièges orientés).

Nous avons conclu que le printemps n'est pas la période optimale pour des déplacements vers l'allée cultivée pour les vers de terre. Ceci est sans doute en partie lié aux conditions climatiques particulièrement défavorables du printemps 2019. Cependant, la répartition des vers de terre épigés suggère une dispersion ayant eu lieu depuis le LSA vers l'allée cultivée à des périodes plus propices, peut-être au moment où la litière issue des arbres était présente en surface et le travail du sol moins récent (automne). Le déplacement des vers endogés est favorisé dans l'allée cultivée en direction du LSA, mais nous n'avons pas pu déterminer si ces mouvements conduisaient à une entrée de vers de terre dans le LSA. Les vers de terre pourraient également s'être déplacé vers la zone proche du LSA où de la litière issue des arbres a été incorporée dans le sol par le labour, ou bien les déplacements des vers de terre pourrait être simplement facilités dans l'allée cultivée. L'ajout de litière dans le sol a un impact bénéfique sur l'abondance des vers de terre, mais les mécanismes à l'origine de ce résultat (mouvements accrus versus développement local de communautés) demeurent incertains.

## **Can earthworms move between tree rows and crop habitats?**

### **Results for a Mediterranean alley cropping field**

Camille D'Hervilly<sup>1</sup>, Isabelle Bertrand<sup>1</sup>, Laurent Berlioz<sup>1</sup>, Claire Marsden<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Eco&Sols, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, IRD, Montpellier SupAgro, 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier, France

Cet article regroupe les résultats déjà analysés. Il est en cours d'amélioration avec des résultats complémentaires et après les remarques des rapporteurs, et une réflexion est engagée pour sa soumission pour publication.

#### **1. Introduction**

Earthworms dominate soil invertebrate biomass in most ecosystems (Edwards 2004), and play important roles in the provision of ecosystem services, as they are drivers of organic matter decomposition and can modulate soil structure (Lavelle et al. 2006; Blouin et al. 2013). Earthworms of several different species generally coexist in a given habitat; they are frequently classified according to their degree of affiliation to three ecological categories : epigeic (living and feeding in the litter at the soil surface), anecic (living in the soil but feeding in the litter at the soil surface) and endogeic earthworms (living and feeding in the soil) (Bouché 1977; Bottinelli et al. 2020). Increasing earthworm presence in cropped fields could help to develop more sustainable cropping systems, as their effects on soil fertility are mostly positive (Bertrand et al. 2015). However, current agricultural practices can be detrimental to earthworms, especially for earthworms relying on the presence of surface litter (Chan 2001; Bertrand et al. 2015). Earthworms presence could be increased by direct inoculation, or by the colonization of the crop area due to a modification of agricultural practices (Bertrand et al. 2015).

In alley cropping systems, tree rows and their associated herbaceous understory vegetation are added into cropped fields. These herbaceous tree rows are a stable habitat as they are generally little affected by agricultural management practices, with a permanent ground cover and a high vegetation biomass and associated litter (Boinot et al. 2019). Tree rows could be an interesting habitat for earthworms, especially epigeic and anecic earthworms sensitive to soil disturbance and to the presence of vegetation at the soil surface for their protection and food (Chan 2001;

Roger-Estrade et al. 2010). It could especially be a refuge for earthworms after agricultural management practices or for estivation and hibernation, and a source of earthworms for the crop alley at favorable seasons. However, only a few studies have investigated the spatial heterogeneity of earthworm distribution in alley cropping fields, and these studies suggest contrasted results. In one study of 13 sites in France, Cardinael et al (2019) found more earthworms in tree rows than in crop alleys and control agricultural plots, but no difference between crop alleys and agricultural controls, and no effect of the distance from the tree row in the crop alley. At the opposite, Price and Gordon (1999) found a decreasing gradient in earthworm abundance with distance from the tree row in a Canadian alley cropping plot, but only with some tree species. In addition, we found in previous studies in the South of France that earthworm density can even be negatively impacted by tree row proximity (D'Hervilly et al. 2020), and that the difference in earthworm density between tree rows and crop alleys can vary with the sampling season (D'Hervilly et al, *in prep*). These studies reflect the presence of earthworms, but not their activity or possible seasonal movements in response to perturbations or changing microhabitat and resource gradients.

Surface macrofauna movements can be reported by the use of directional pitfall traps inserted into the soil (Duelli et al. 1990), but movements are much harder to detect for macrofauna moving slowly inside the soil. Capture-recapture techniques are not an optimal solution for small organisms, especially when they first have to be extracted from the soil. Earthworm dispersion capacity has been studied during the colonization of earthworm-free land, and dispersal speeds of 4 to 14 m per year have already been reported, depending on earthworm species (Mathieu et al. 2010). However, movements of earthworms in places where they are already present are little known. In addition, the nature of such movements has been poorly studied. Earthworms movements can be induced by a high density of conspecifics or a lack of resources as shown by Mathieu et al (2010) in mesocosms, and movements could depend on earthworm ecological category (Caro et al. 2013), but no experiment on earthworm dispersion between different habitats has been reported *in situ*.

The aim of this study was to determine the existence of movements of earthworms and their orientation at the interface between the tree row and the crop alley in an alley cropping plot. We designed a field experiment in which we implemented traps in the soil, which consisted of cubic soil cores delimited by vertical walls on all but one side. Traps allowed the access of earthworms from one habitat only, i.e. from the tree row or from the field. We made the hypothesis that in spring, earthworms would move from the tree row to the crop alley more than

they would move from the crop alley to the tree row, i.e. the tree row would be a source of earthworms dispersing towards the crop alley. We also hypothesized that these movements would be amplified by the addition of litter in the soil.

## 2. Material and methods

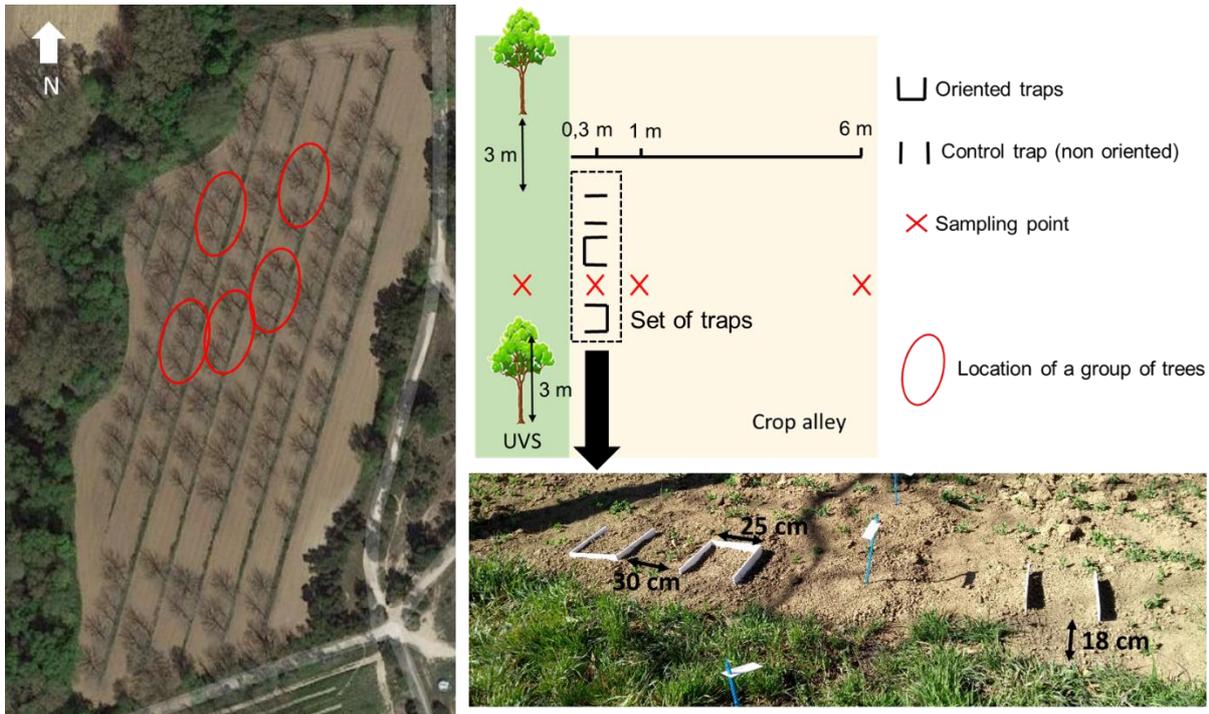
### 2.1. Site

This study was carried out at the Restinclières A3 site, in Prades-le-Lez in the South of France (43°42'15 N, 3°51'41 E), in a 2 ha alley cropping plot planted with hybrid walnut trees (*Juglans regia x nigra*) in 1995. The climate is Mediterranean with an average temperature of 15.4 °C and an average rainfall of 658 mm per year (2000-2016 period, Guillot et al, 2019). The soil is a calcareous loamy fluvisol. After several thinning operations, trees are now randomly spaced from 4 to 12 m along the tree row. The tree row is covered with a 2 m wide understory vegetation strip (UVS) covered with spontaneous, mostly herbaceous vegetation but on which woody shrubs can be present. This vegetation is rarely managed, but was mowed in January 2019 before the experiment. The UVS represents 13 % of the field surface (Boinot et al. 2019). The alleys are 12 m wide and cultivated with a rotation of winter wheat, winter barley and winter pea. Crop alleys are plowed annually to 20 cm depth before sowing and wheat and barley crops are fertilized with around 100 kg N ha<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup> (ammonitrate). During the experiment, the standing crop was pea (variety RGT Dexter), sowed in December 11<sup>th</sup> of 2018 just after ploughing. An herbicide (Challenge 600) was sprayed on December 18<sup>th</sup> of 2018, and a fungicide (Amistar) was sprayed on April 30<sup>th</sup> of 2019.

### 2.2. Experimental design

Two types of traps were placed in the crop alley near the UVS. The traps each consisted of three joined plastic walls sunk vertically into the soil and delimiting a 25\*25 cm wide soil block of 20 cm depth (**Figure 1**). The walls protruded from the soil surface by about 5 cm. One of the sides of the soil core was not delimited by a wall, and therefore allowed the entrance of soil organisms. This opening was oriented either towards the UVS or towards the crop alley. Control traps, consisting of only two parallel walls placed perpendicularly to the UVS, were also set up. These traps were thus open both towards the UVS and towards the crop alley (**Figure 1**). The

soil block delimited by each trap was extracted during its installation, disaggregated with a manual removal of macrofauna, before being replaced into the trap and progressively packed to recover the original surface level of the soil. The traps were centered 30 cm from the edge of the UVS (i.e. the trap border was at 18 cm from the UVS border) (**Figure 1**). One set of traps consisted of one trap oriented towards the UVS, one trap oriented towards the crop alley, and one control trap (**Figure 1**).



**Figure 1** Locations of the groups of trees chosen in the plot (left) and experimental design (right). Each group of trees is composed of two adjacent pairs of trees. For each location, two sets of traps (a set is composed of the three trap orientations presented in the photography) were set up immediately to the east of the UVS, one for each pair of trees, for a total of 10 sets (5\*2 pairs of trees selected). For each location, 100 g of pea litter was added to one set of traps (leading to 5 sets with litter added, 5 sets with no litter added). Sampling points (red crosses in the scheme, blue pickets in the photography) were repeated 5 times in the plot (once for each location), and sampling took place at trap implementation and trap removal (except for distance 6m, only sampled at trap implementation). UVS means understory vegetation strip.

We selected 5 locations in the plot (**Figure 1**). Each location was composed of three adjacent trees on the same tree row, spaced 8 m apart two by two. Each location was thus composed of two pairs of adjacent trees (10 pairs of trees in total). The selected trees had a similar diameter at breast height. In addition, the locations were selected to show the greatest homogeneity in the plant diversity of the UVS. UVS of the selected sites were mostly composed of herbaceous vegetation.

At each of the ten pairs of trees, a set of traps was set up in front of the portion of the UVS halfway between two trees (i.e. between 3 m and 4 m from the closest tree). The traps were spaced 30 cm apart. Two sets of traps are thus set up for each of the five selected locations in the plot. For each location, in one of the two sets of traps 100 g of dried pea litter was incorporated into each soil block during trap implementation. The arrangement of the three trap types in a given set was randomized for each pair of trees in order to minimize the influence of distance and orientation from the tree. The traps were placed between February 23<sup>rd</sup> and March 7<sup>th</sup> of 2019.

### **2.3. Sampling of earthworms**

The soil blocks delimited by the traps were sampled between April 29<sup>th</sup> and May 9<sup>th</sup> of 2019 on 15 cm depth. Earthworms were manually extracted from the soil blocks. In addition, during both trap implementation and removal, earthworms were manually extracted from undisturbed soil blocks of 25\*25 cm wide and 30 cm depth to determine their real abundance. These samplings were realized in the immediate vicinity of the traps (**Figure 1**), along a transect perpendicular to the UVS, in the UVS and at different distances from the UVS border: 30 cm (at the level of the traps), 1 m and 6 m (middle of the crop alley). During trap removal, the distance 6 m was not sampled. Each distance from the UVS was sampled once for each of the 5 locations (5 replicates), for a different pair of trees at trap implementation and removal. The extracted earthworms were preserved in 75 % ethanol, and then counted and identified to the species level in the laboratory. The number of earthworms was expressed in individuals per m<sup>2</sup> (density). Only one anecic individual was found in all samples (of *Vignysa teres* species), and was therefore not included in the analyses.

### **2.4. Litter bags**

In order to record earthworm activity in each trap, 13 cm \* 6 cm litter bags filled with 1.5 g of pea litter oven-dried at 30 °C during one week were incorporated into each trap, at 7 cm under the soil surface. They were placed parallel to the soil surface. A mesh size of 5 mm was chosen as it allows access to soil macrofauna. Subsamples of the original litter were kept aside and oven-dried at 60 °C during one day to determine dry litter mass. Litter bags were removed during trap removal, washed and oven-dried at 60 °C during one week to determine final dry

litter content. Subsamples of the original litter and of the litter bags after trap removal were ashed at 450 °C to obtain the ash-free dry mass, and thus exclude all remaining soil. Litter mass remaining in the bags was expressed as a percentage of the initial mass.

## 2.5. Statistical analyses

Earthworm density within the traps was analyzed for each species and ecological category by generalized linear mixed models (quasi-Poisson law). The effect of factors orientation (towards the UVS, towards the crop alley or control open on both sides), presence of additional litter (pea litter added or not in the trap) and their interaction was studied. The replicate (location of trees within the plot) was used as a random factor to take into account the spatial heterogeneity of the plot and the non-independence of samples taken from the same location. The percentage of mass of litter remaining in the litter bags at trap removal was analyzed similarly, but linear mixed models were used instead of generalized linear mixed models.

The variation in earthworm density with distance from the UVS was studied with generalized linear mixed models for each month separately. The effect of the factor distance to the UVS (0 m, 0.3 m, 1 m or 6 m) was studied. The replicate (location of trees within the plot) was used as a random factor. In order to determine differences between sampling months, earthworm density was analyzed for both months combined for the distances 0 m, 0.3 m and 1 m from the UVS in similar models, with factors month, distance from the UVS and their interaction as fixed factors.

The analyses were performed with R statistical software version 3.6.3 (packages lme4, car and glmmTMB). Multiple comparisons (Tukey) were performed with the emmeans package. The significance threshold of the p-value was set to 5%.

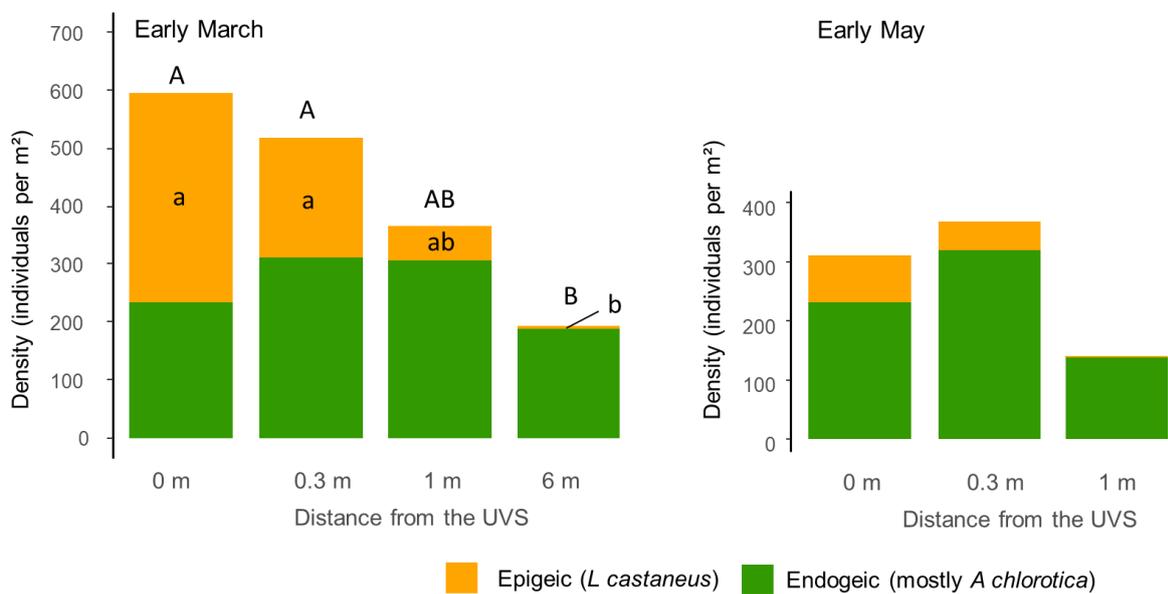
## 3. Results

### 3.1. Earthworm density in undisturbed soil cores at different distances from the UVS

Three species of earthworms were found, the epigeic species *Lumbricus castaneus* (21 % of earthworms on average), and the endogeic species *Allolobophora chlorotica* (79 % of

earthworms on average) and *Aporrectodea caliginosa* (less than 1 % on average) (**Supplementary table 1**).

Earthworm density was significantly higher in March (p-value for month effect < 0.001), due to a decrease in the density of *L. castaneus* in May (p-value for month effect = 0.003 for *L. castaneus*, p-value = 0.22 for endogeic species, **Supplementary table 2**). No significant difference was found for earthworm density between the sampling points at 0 m, 0.3 m, and 1 m from the UVS for each season, and this for each species of earthworms (**Figure 2**). In March, the density of earthworms was higher in the UVS and at 0.3 m from the UVS than in the middle of the crop alley (6 m from the UVS), with intermediate values at 1 m from the UVS (**Figure 2**). Similar results were found for *L. castaneus* alone, whereas no significant difference was found with the distance from the UVS for endogeic earthworms. In May, although no significant difference was found, the density of endogeic earthworms was 2.3 times higher at 0.3 m compared to 1 m from the UVS on average, and almost no epigeic earthworms were found at 1 m from the UVS (**Figure 2, Supplementary table 1**).



**Figure 2** Earthworm density for each ecological category and at each distance from the understory vegetation strip (UVS) in early March (at trap implementation) and early May (at trap removal). Earthworm density was determined in undisturbed soil cores of 25\*25\*30 cm. Different upper case letters indicate significant differences for total earthworm density between distances from the UVS for the given month. Different lower case letters indicate significant differences of earthworm density between distances from the UVS for a given ecological category and month.

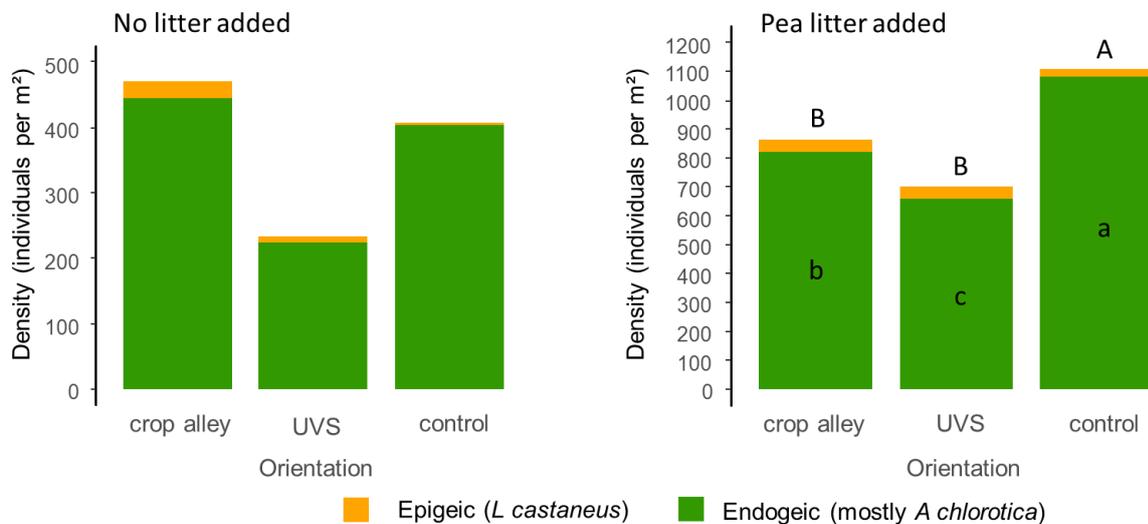
### 3.2. Earthworm density in traps

Earthworms found in the traps in May were mostly endogeic, with species *A. chlorotica* (96 % of all earthworms) and *Aporrectodea rosea* (less than 1 % of earthworms). Some epigeic worms of *L. castaneus* species were found (4 % of earthworms) (**Supplementary table 1**). The mean density of *L. castaneus* found in all traps with no litter added was 3.7 times lower than the density of *L. castaneus* sampled in undisturbed soil cores at 0.3 m, i.e. the same distance from the UVS as the traps (**Supplementary table 2**). At the opposite, the average density of endogeic earthworms found in the traps with no litter added was almost the same as that of the undisturbed soil cores samples at 0.3 m from the UVS (1.11 times higher, **Supplementary table 2**).

The addition of litter in the trap significantly increased the density of earthworms for all main species (p-value for the effect of the presence of litter < 0.05, **Table 1**). There were 3.1 times more *L. castaneus* in the traps with than without litter, and 2.4 times more *A. chlorotica* in the traps with than without litter (**Figure 3**). The same effect of trap orientation on earthworm density was found in presence and absence of litter, as shown by the lack of significant effect of the interaction between orientation and presence of litter (**Table 1**). There were significantly more earthworms in the traps oriented towards the crop and in the control than in the traps oriented towards the UVS. No significant difference was found for *L. castaneus* alone, while there was a significantly higher density of *A. chlorotica* in the control traps than in the traps oriented towards the UVS (**Table 1**). When statistical analyses were performed for traps with no litter added only, there was no significant difference between orientations, but mean earthworm density in the traps oriented towards the alley was double the density in traps oriented towards the UVS (**Figure 3**). When statistical analyses were performed for traps with litter added alone, there was a significantly higher total earthworm density in the control than in both oriented traps, and significantly different densities of endogeic earthworms between all orientations (control > crop alley > UVS) (**Figure 3**). No significant difference between orientations was present for *L. castaneus*.

**Table 1** Results of generalized linear mixed models (for earthworm density) or of a linear mixed model (for the percentage of mass of litter remaining in the litter bags) with the replicate (location in the plot) as random factor, on data of the trap experiment obtained at trap removal. Mean values are those obtained from the model with no interaction (as the interaction was never significant). Different letters indicate significant differences between trap orientations for the given earthworm category or for the percentage of litter mass remaining. UVS means understory vegetation strip. “UVS oriented” and “crop oriented” mean “open towards the UVS” and “open towards the crop alley”, respectively.

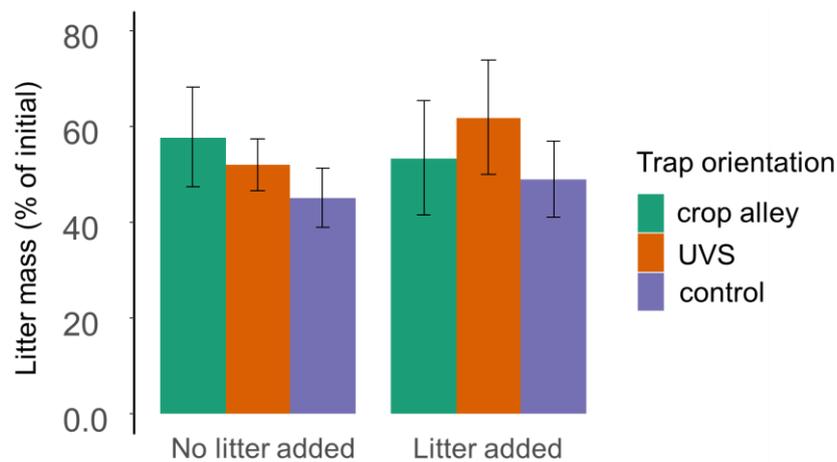
	All earthworms	<i>L. castaneus</i>	<i>A. chlorotica</i>	Litter
<b>Mean density (earthworms, individuals per m<sup>2</sup>) /mass (litter, % of initial) in traps</b>				
UVS oriented	403 b	20.7	328 b	57.0 a
Crop oriented	620 a	38.0	561 a	55.7 ab
control	672 a	10.4	654 a	47.2 b
<b>p-value of factors</b>				
Orientation*presence of litter	0.17	0.28	0.17	0.15
orientation	< <b>0.001</b>	0.28	< <b>0.001</b>	<b>0.016</b>
Litter	< <b>0.001</b>	<b>0.030</b>	< <b>0.001</b>	0.30



**Figure 3** Mean values of earthworm density in the traps at trap removal for each trap orientation, ecological earthworm category and trap type (litter added vs no litter added in the trap). Different upper case letters indicate significant differences between total earthworm density of each orientation for the given trap type (litter added versus no litter added). Different lower case letters indicate significant differences in earthworm density between trap orientations for the given earthworm ecological category and type of trap (no litter versus litter added). UVS means understory vegetation strip. “UVS” and “crop alley” orientations mean “open towards the UVS” and “open towards the crop alley”, respectively, while control traps are open at both ends.

### 3.3. Litter bags

There was no difference in the mass of litter remaining in the litter bags at trap extraction between the traps with and without litter added (**Table 1**, p-value = 0.30 for the effect of litter addition). The mass of litter remaining was higher in the traps oriented towards the UVS than in control traps (**Table 1**). There was no significant difference between the traps oriented towards the crop alley and the UVS, and the trends are different in the presence and absence of litter (**Figure 4**).



**Figure 4** Mean values of the percentage of the mass of litter remaining in the litter bags at trap removal for each trap orientation and trap type (litter added vs no litter added in the trap). Error bars represent standard deviation. UVS means understory vegetation strip. “UVS” and “crop alley” orientations mean “open towards the UVS” and “open towards the crop alley”, respectively, while control traps are open at both ends.

## 4. Discussion

### 4.1. Variations in earthworm density with the distance from the UVS

The low diversity of earthworms found in the plot is in line with the lower taxonomic and functional diversity of earthworms observed in agricultural plots compared to less intensively managed areas (Decaëns and Jiménez 2002; Smith et al. 2008; Postma-Blaauw et al. 2012). A decrease in earthworm diversity is especially associated to the negative impacts of regular soil tillage (Chan 2001; Emmerling 2001; Roger-Estrade et al. 2010) and to pesticide applications (Pelosi et al. 2014), two practices applied in this plot. Particularly, soil tillage negatively

impacts anecic species by the destruction of their galleries (Chan 2001). This could explain why only one anecic individual was found in the plot.

There was a higher density of the epigeic species *L. castaneus* in the UVS and at 0.3 m from the UVS compared to the middle of the crop alley in March, and almost no *L. castaneus* was found at 1 m from the UVS in May while they were present in the UVS and at 0.3 m from the UVS. Similarly, Cardinael et al (2019) found a higher abundance of epigeic earthworms in tree rows than in crop alleys in 13 sites in France, and we found that epigeic earthworms were restricted to the UVS in two young sites in France (D’Hervilly et al. 2020). *L. castaneus* is classified at 100 % as an epigeic species (Bouché 1977; Bottinelli et al. 2020), and thus requires the presence of litter at the soil surface for food and protection. The more stable habitat in the UVS, with soil cover by vegetation, perennial litter presence, and no soil perturbation, could be a specific habitat for this species when compared to the crop alley. The higher density close to the UVS compared to the middle of the crop alley suggests a positive impact of UVS close proximity on epigeic earthworms.

The density of the endogeic species *A. chlorotica* did not vary significantly with the distance from the UVS. Consequently, the UVS does not appear as a particular shelter for them. Opposite trends were found by Cardinael et al (2019) with a higher endogeic earthworm density in the UVS than in the crop alley in 13 sites in France. However, a shift in earthworm communities between UVS and crop alleys towards more endogeic-dominated communities in the crop alley was found in a previous study (D’Hervilly et al. 2020). Soil tillage has been said to positively impact some endogeic species, due to soil decompaction and the incorporation of surface litter to the soil (Chan 2001). In addition, *A. chlorotica* has been classified as an epi-endo-anecic species, living in the soil but feeding preferentially on rich litter than on low quality soil organic matter (Bottinelli et al. 2020). This species may have thus particularly benefited from the incorporation of fresh litter into the soil by plowing.

#### **4.2. Movements of earthworms at the interface between the UVS and the crop alley**

No difference in *L. castaneus* density was found between trap orientations. In addition, the density of *L. castaneus* was particularly low in the traps when compared to the density in undisturbed soil cores. More than the result of a similar dispersal in all directions, these results more likely reveal a lack of dispersal for this species during the experiment. Epigeic earthworms have been shown to be capable of dispersal to a higher extent than other earthworm ecological

categories, however less than half of individuals were shown to disperse when placed in a favorable environment (Chatelain and Mathieu 2017). Dispersal of epigeic earthworms has particularly been shown to be reduced when soil is covered with litter (Mathieu et al. 2010). Dispersal from the UVS could thus have been limited by the high quality of this habitat, especially given the adverse conditions of the crop alley, where soil was bare. However, no dispersal was observed towards the UVS either, while adverse conditions have been shown to induce a depletion in epigeic earthworms (Chatelain and Mathieu 2017). However, most epigeic earthworms of the crop alley were present until 0.3 m from the UVS only, while the traps would have recorded movements from distances at more than 0.3 m in the crop alley. In addition, the disaggregation of the soil at trap implementation could have made them particularly unsuitable for sensitive epigeic earthworms such as *L. castaneus*.

Epigeic species activity is sensitive to climatic variations (Bouché 1977), and the sampling season was therefore maybe not the most suitable season for observing movements of epigeic earthworms, whose populations were lower in May than in March. Dispersal from the UVS could be favored at other seasons by UVS impact on its vicinity (e.g. via colonization by herbaceous vegetation from the UVS, additional litter from the UVS or the tree). For example, tree leaves carried by the wind have been observed to accumulate along the edge of tree rows in this site. No particularly high litter cover was observed close to the UVS in March samplings, but surprisingly, some *L. castaneus* were found at several centimeters depth in the soil in association with fresh litter from tree leaves in the crop alley. If soil inversion by tillage is mostly known to impact earthworms negatively by exposing them to predators (Emmerling 2001; Roger-Estrade et al. 2010), inversion tillage probably also buries surface epigeic adults or cocoons several centimeters underground together with surface litter. It is therefore possible that epigeic earthworm dispersal from the UVS could be favored at periods of high activity when litter is present at the soil surface, for example in autumn (high precipitation, leaf fall), and that these earthworms are then incorporated into the soil by tillage. In agreement with this hypothesis, a disappearance of the differences in epigeic earthworm densities between UVS and crop alleys has been observed in autumn in a mature site (D'Hervilly et al, *in prep*).

Despite the fact that *A. chlorotica* dispersal rate was among the lowest found in a mesocosm study (Caro et al. 2013), our study reveals some movements for this species. More *A. chlorotica* were found in the control- and crop-oriented traps than in the UVS-oriented traps. This does not support our hypothesis of movements from the UVS. More likely, movements happened between the crop and the UVS border. This result is supported by more litter remaining in the

litter bags from UVS-oriented traps than from control traps, suggesting less earthworm activity in the UVS-oriented traps. Dispersal towards the UVS could be due to earthworms sheltering in habitats with more buffered conditions to resist summer droughts. *A. chlorotica* have indeed been shown to be capable of dispersal to reach habitats of higher quality (Caro et al. 2013). However, *A. chlorotica* density was not significantly higher in the UVS than in the crop alley undisturbed soil cores either in March or in May, suggesting that such movements did not lead to an accumulation of *A. chlorotica* in the UVS. In addition, *A. chlorotica* density was not significantly different between the sampling months contrary to *L. castaneus*, probably due to the higher resistance of earthworm living in the soil to climatic variations due to soil buffering (Bouché 1977). Higher densities at 0.3 m than at 1 m from the UVS in May suggest that *A. chlorotica* could have moved towards this transition zone. Additional litter from the UVS and the trees at the UVS border buried in the soil by inversion tillage could have created a particularly attractive environment for *A. chlorotica* close to the UVS. The fact that fewer movements were observed from the UVS towards this transition zone however reveals either that the transition zone was more favorable than the crop alley but not than the UVS, or a higher possibility to move in the crop alley due to soil decompaction by tillage.

#### **4.3. Effect of litter addition on earthworm movements**

The higher earthworm density in the traps with litter reflects a positive impact of litter addition on earthworm density, probably due to higher resource availability. Higher densities in all litter-amended traps compared to undisturbed soil means that earthworm presence could be favored even in traps oriented towards the UVS with the addition of litter. This is underlined by the higher earthworm density in control traps than in both other traps in presence of litter, and suggests that movements from both sides were induced when litter was added. Particularly high earthworm densities in presence of litter could also be due to higher residence time within the traps and possibly, accelerated local reproduction (higher reproduction and growth due to high litter quantity). Earthworm growth rates were for example increased in disaggregated soils with high residue inputs (Eriksen-Hamel et al. 2009), an environment similar to the one created in our traps.

The lack of difference in litter disappearance from the litter bags in presence and absence of litter is surprising given the huge differences in earthworm density. This could be because much

more litter was available in the litter traps, while the litter bags were consumed preferentially in the traps with no litter.

## **5. Conclusion**

Using a novel yet simple technique, this study revealed the existence of movements of endogeic earthworms between adjacent habitats in an alley cropping plot in spring. Contrary to the expected beneficial role of the UVS as a reservoir of organisms for the crop alley, these movements were directed towards the UVS. It remains unclear if these movements were due to an attractiveness of the UVS, of the crop alley border, or of higher earthworm movements and activity in the crop alley. The understanding of the mechanisms by which these movements are driven requires more experimental studies realized in alley cropping plots. In addition, due to a high variability of earthworm communities in response to seasons and agricultural practices, future studies need to be carried out at different seasons or for different crop managements.

**References**

- Bertrand M, Barot S, Blouin M, et al (2015) Earthworm services for cropping systems. A review. *Agron Sustain Dev* 35:553–567. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0269-7>
- Blouin M, Hodson ME, Delgado EA, et al (2013) A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *Eur J Soil Sci* 64:161–182. <https://doi.org/10.1111/ejss.12025>
- Boinot S, Poulmarc’h J, Mézière D, et al (2019) Distribution of overwintering invertebrates in temperate agroforestry systems: Implications for biodiversity conservation and biological control of crop pests. *Agric Ecosyst Environ* 285:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106630>
- Bottinelli N, Hedde M, Jouquet P, Capowiez Y (2020) An explicit definition of earthworm ecological categories – Marcel Bouché’s triangle revisited. *Geoderma* 372:114361. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114361>
- Bouché MB (1977) Stratégies lombriciennes. *Ecol Bull* 25:122–132
- Cardinael R, Hoeffner K, Chenu C, et al (2019) Spatial variation of earthworm communities and soil organic carbon in temperate agroforestry. *Biol Fertil Soils* 55:171–183. <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1332-3>
- Caro G, Decaëns T, Lecarpentier C, Mathieu J (2013) Are dispersal behaviours of earthworms related to their functional group? *Soil Biol Biochem* 58:181–187. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.019>
- Chan KY (2001) An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils. *Soil Tillage Res* 57:179–191. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00173-2)
- Chatelain M, Mathieu J (2017) How good are epigeic earthworms at dispersing? An investigation to compare epigeic to endogeic and anecic groups. *Soil Biol Biochem* 111:115–123. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.04.004>
- D’Hervilly C, Marsden C, Hedde M, Bertrand I (2020) Sown understory vegetation strips impact soil chemical fertility, associated microorganisms and macro-invertebrates in two temperate alley cropping systems. *Agrofor Syst* 0123456789: <https://doi.org/10.1007/s10457-020-00501-w>

- Decaëns T, Jiménez JJ (2002) Earthworm communities under an agricultural intensification gradient in Colombia. *Plant Soil* 240:133–143.  
<https://doi.org/10.1023/A:1015844610604>
- Duelli P, Studer M, Marchand I, Jakob S (1990) Population movements of arthropods between natural and cultivated areas. *Biol Conserv* 54:193–207.  
[https://doi.org/10.1016/0006-3207\(90\)90051-P](https://doi.org/10.1016/0006-3207(90)90051-P)
- Edwards CA (2004) The Importance of Earthworms as Key Representatives of the Soil Fauna. In: Edwards CA (ed) *Earthworm Ecology*, 2nd edn. CRC Press, London, New-York, Washington D.C., pp 3–12
- Emmerling C (2001) Response of earthworm communities to different types of soil tillage. *Appl Soil Ecol* 17:91–96. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00132-3](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00132-3)
- Eriksen-Hamel NS, Speratti AB, Whalen JK, et al (2009) Earthworm populations and growth rates related to long-term crop residue and tillage management. *Soil Tillage Res* 104:311–316. <https://doi.org/10.1016/j.still.2009.04.006>
- Guillot E, Hinsinger P, Dufour L, et al (2019) With or without trees: Resistance and resilience of soil microbial communities to drought and heat stress in a Mediterranean agroforestry system. *Soil Biol Biochem* 129:122–135. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.011>
- Lavelle P, Decaëns T, Aubert M, et al (2006) Soil invertebrates and ecosystem services. *Eur J Soil Biol* 42:. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>
- Mathieu J, Barot S, Blouin M, et al (2010) Habitat quality, conspecific density, and habitat pre-use affect the dispersal behaviour of two earthworm species, *Aporrectodea icterica* and *Dendrobaena veneta*, in a mesocosm experiment. *Soil Biol Biochem* 42:203–209.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.018>
- Pelosi C, Barot S, Capowiez Y, et al (2014) Pesticides and earthworms. A review. *Agron Sustain Dev* 34:199–228. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0151-z>
- Postma-Blaauw MB, de Goede RGM, Bloem J, et al (2012) Agricultural intensification and de-intensification differentially affect taxonomic diversity of predatory mites, earthworms, enchytraeids, nematodes and bacteria. *Appl Soil Ecol* 57:39–49.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.011>
- Price GW, Gordon AM (1999) Spatial and temporal distribution of earthworms in a temperate

intercropping system in southern Ontario, Canada. *Agrofor Syst* 44:141–149.

<https://doi.org/10.1023/A:1006213603150>

Roger-Estrade J, Anger C, Bertrand M, Richard G (2010) Tillage and soil ecology: Partners for sustainable agriculture. *Soil Tillage Res* 111:33–40.

<https://doi.org/10.1016/j.still.2010.08.010>

Smith RG, McSwiney CP, Grandy AS, et al (2008) Diversity and abundance of earthworms across an agricultural land-use intensity gradient. *Soil Tillage Res* 100:83–88.

<https://doi.org/10.1016/j.still.2008.04.009>

**Supplementary materials**

**Supplementary table 1** Mean values  $\pm$  standard deviation for earthworm density for each species sampled from the undisturbed soil cores at different distances from the understory vegetation strip (UVS) in March and April, and sampled from the traps with and without litter added. ad means adult, juv means juvenile.

	Early March sampling Distance from the UVS				Early May sampling Distance from the UVS			Traps with no litter added Orientation of the opening			Traps with pea litter added Orientation of the opening		
	0 m	0.3 m	1 m	6 m	0 m	0.3 m	1 m	UVS	crop	control	UVS	crop	control
<i>L. castaneus</i> (ad)	9.6 $\pm$ 14.3	48.0 $\pm$ 65.0	3.2 $\pm$ 7.2	3.2 $\pm$ 7.2	38.4 $\pm$ 44.7	19.2 $\pm$ 43.0	0.0 $\pm$ 0.0	3.2 $\pm$ 7.2	12.8 $\pm$ 13.4	3.2 $\pm$ 7.2	35.2 $\pm$ 31.0	25.6 $\pm$ 29.1	9.6 $\pm$ 14.3
<i>L. castaneus</i> (juv)	352.0 $\pm$ 426.0	160.0 $\pm$ 141.8	54.4 $\pm$ 97.1	0.0 $\pm$ 0.0	41.6 $\pm$ 51.3	28.8 $\pm$ 48.5	3.2 $\pm$ 7.2	6.4 $\pm$ 14.3	12.8 $\pm$ 20.9	0.0 $\pm$ 0.0	9.6 $\pm$ 8.8	19.2 $\pm$ 26.3	19.2 $\pm$ 20.9
<i>A. chlorotica</i> (ad)	80.0 $\pm$ 62.0	70.4 $\pm$ 77.2	108.8 $\pm$ 92.7	41.6 $\pm$ 24.3	19.2 $\pm$ 28.6	35.2 $\pm$ 52.3	19.2 $\pm$ 13.4	12.8 $\pm$ 20.9	3.2 $\pm$ 7.2	9.6 $\pm$ 14.3	3.2 $\pm$ 7.2	28.8 $\pm$ 39.9	44.8 $\pm$ 34.7
<i>A. chlorotica</i> (juv)	153.6 $\pm$ 89.5	240.0 $\pm$ 119.2	195.2 $\pm$ 169.5	147.2 $\pm$ 97.6	211.2 $\pm$ 103.3	284.8 $\pm$ 199.3	118.4 $\pm$ 93.0	211.2 $\pm$ 131.6	428.4 $\pm$ 218.7	393.6 $\pm$ 116.3	649.6 $\pm$ 221.0	793.6 $\pm$ 363.0	1036.8 $\pm$ 509.7
<i>A. caliginosa</i> (ad)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	3.2 $\pm$ 7.2	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
<i>A. rosea</i> (ad)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	3.2 $\pm$ 7.2	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	3.2 $\pm$ 7.2	0.0 $\pm$ 0.0

**Supplementary table 2** Results of generalized linear mixed models with the repetition (location in the plot) as random factor for earthworm density in the undisturbed soil cores sampled in early March (during trap implementation) and early May (during trap removal). The full model included results for samples at 0 m, 0.3 m and 1 m from the UVS for both months combined. The model for April data included samples at 0 m, 0.3 m, 1 m and 6 m from the UVS. The model for May data included samples at 0 m, 0.3 m and 1 m from the UVS as

		All earthworms	<i>L. castaneus</i>	<i>A. chlorotica</i>
<b>Full model</b>				
Distance from UVS * month		0.60	0.61	0.14
Distance from UVS		<b>0.008</b>	<b>0.005</b>	0.20
Month		<b>&lt; 0.001</b>	<b>0.003</b>	0.22
<b>Early April data</b>				
Distance from UVS		<b>&lt; 0.001</b>	<b>&lt; 0.001</b>	<b>0.037</b>
<b>Early May data</b>				
Distance from UVS		0.052	0.098	0.11

sampling did not take place at 6 m from the UVS for this month. p-values < 5 % in bold.



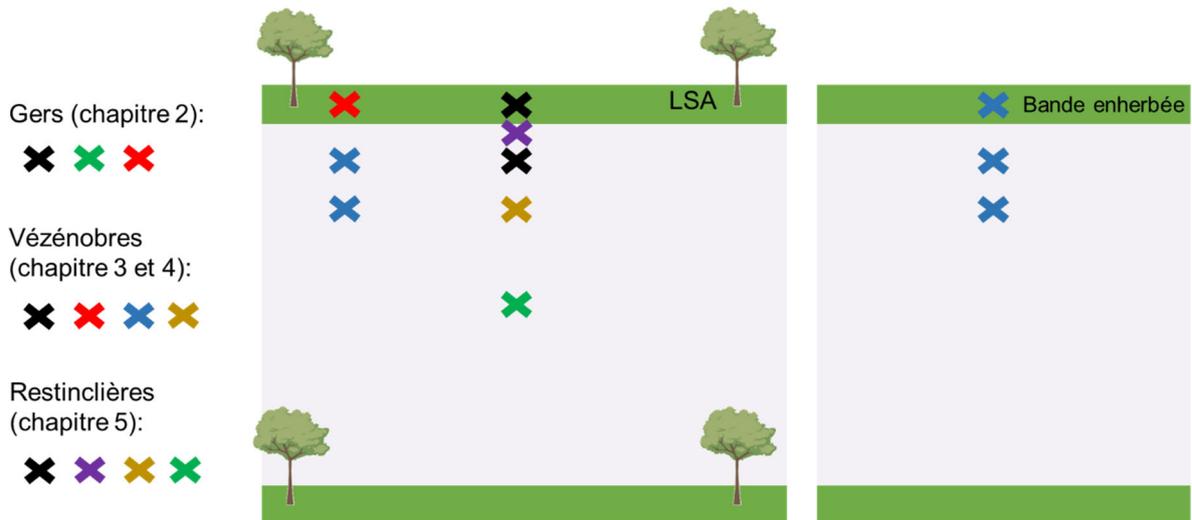
## **Discussion générale et conclusion**

Cette thèse avait pour objectif général de déterminer les effets du LSA sur la fertilité, les microorganismes et la macrofaune du sol au sein de parcelles agroforestières en allées cultivées françaises. Plus spécifiquement, il s'agissait d'observer les variations de ces propriétés entre le LSA et l'allée cultivée, et dans le voisinage du LSA. Nous avons ainsi étudié ces propriétés à différentes distances du LSA et au sein même du LSA. Nous avons pour cela échantillonné (i) deux sites de 6 et 10 ans en grandes cultures présentant des LSA semés de graminées dans le Gers, avec un travail du sol réduit sans labour dans les allées (chapitre 2 ; **Figure 1a**), (ii) un site maraîcher avec des arbres matures, un LSA spontané et une culture sur buttes dans les allées dans le Gard (Vézénobres, chapitres 3 et 4 ; **Figure 1b**) et (iii) un site en grandes cultures mature au LSA spontané et aux allées labourées dans l'Herault (Restinclières, chapitre 5 : **Figure 1c**).



**Figure 1** Photographies des différents sites étudiés

Afin de considérer spécifiquement l'impact du LSA, nous avons utilisé plusieurs stratégies (**Figure 2**). Nous avons échantillonné des sites jeunes aux arbres peu développés, à mi-distance entre deux arbres, ce qui nous a permis d'observer un impact principalement lié à la bande enherbée (chapitre 2). Nous avons également échantillonné un site plus âgé, présentant un témoin sans arbres mais avec des bandes enherbées (chapitres 3 et 4). Nous avons enfin étudié la variabilité du LSA lui-même en fonction de la distance à l'arbre (chapitres 2 et 3), en particulier via un design nous permettant de prendre en compte à la fois la distance à l'arbre et la distance au LSA (chapitre 3).



**Figure 2** Synthèse des plans d'échantillonnage utilisés dans les différents chapitres. Les croix matérialisent des points d'échantillonnage. Les croix noires sont les positions échantillonnées dans chacun des chapitres.

Nous avons étudié l'impact du LSA sur son voisinage par plusieurs méthodes. Nous avons échantillonné le LSA et une position à 1 m du LSA dans tous les sites (**Figure 2**). Dans le chapitre 2, nous avons également échantillonné une position témoin au milieu de l'allée cultivée comme référence, peu susceptible d'être influencée à la fois par l'arbre et par le LSA (allées larges, sites jeunes). Dans les chapitres 3 et 4, nous n'avons pu considérer que le voisinage du LSA du fait de la taille réduite de la parcelle (le milieu de l'allée cultivée se situant à 4 m de la bordure du LSA), mais l'avons caractérisé davantage par l'étude d'une position supplémentaire à 2,5 m du LSA. Dans le chapitre 5, nous avons observé un réel gradient de distance au LSA, mais uniquement pour les vers de terre.

Enfin, nous avons tenté d'appréhender la dynamique de cet effet par une approche saisonnière (chapitre 4) et par l'étude des mouvements de la macrofaune dans le voisinage du LSA (chapitre 5).

Dans cette discussion, je reviens sur les questions de recherche énoncées en conclusion de l'état de l'art et discute les implications de ces résultats et les interactions entre les variables étudiées. Je détaille ensuite les limites de cette étude, pour enfin conclure sur les résultats et les perspectives de cette thèse.

## 1. Réponse aux questions de recherche

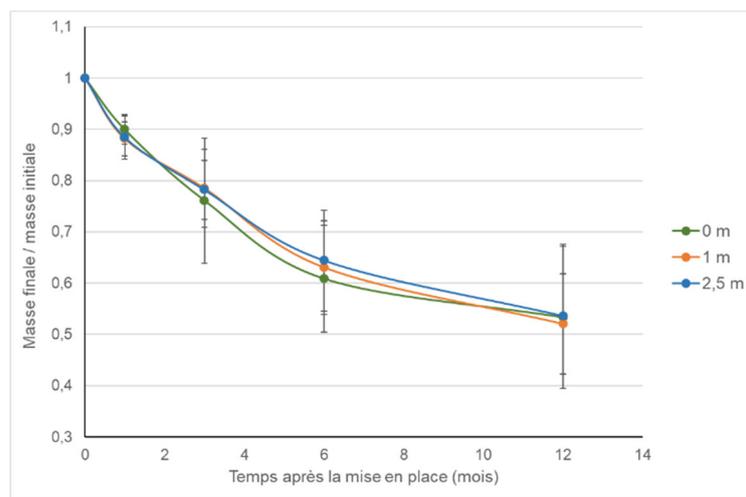
### 1.1. Quelles différences entre LSA et allée cultivée ?

#### Fertilité du sol et microorganismes

Nous avons trouvé une teneur en C organique du sol et en P disponible plus élevée dans le LSA que dans l'ensemble de l'allée cultivée dans les sites du Gers (chapitre 2), et par rapport à la position la plus éloignée du LSA à Vézénobres (à 2,5 m du LSA, chapitre 3). Cet effet est très probablement lié au LSA lui-même dans les sites jeunes, mais cela n'est pas confirmé à Vézénobres où aucune différence entre bande enherbée et allée cultivée n'est visible dans le témoin sans arbres.

Le LSA se distingue de l'allée cultivée par la présence d'une végétation permanente, n'entraînant pas forcément la production d'une biomasse végétale aérienne plus élevée que dans l'allée aux moments où la culture est présente, mais couvrant davantage le sol et de façon continue au cours de l'année. De plus, elle est associée à une biomasse racinaire plus importante car de nombreuses espèces y sont pérennes. Les apports de matière organique, en surface mais aussi dans le profil de sol (mortalité racinaire, exsudation) y sont donc plus importants, d'autant que dans l'allée cultivée, les cultures sont exportées. Cet apport accru de matière organique explique probablement l'augmentation de la teneur en C organique dans le LSA observée dans le Gers. Cardinael et al (2018) ont en particulier montré que les entrées de C dans le LSA proviennent surtout de la végétation herbacée. La conservation de ce carbone, qui est pourtant stocké dans une fraction peu stable (Cardinael et al, 2015), pourrait être liée à l'absence de travail du sol sous le LSA, contrairement à l'allée cultivée où l'exposition de la matière organique fraîche à l'action des microorganismes par les perturbations agricoles pourrait conduire à une minéralisation plus importante. A Vézénobres, l'augmentation de la teneur en C organique semble surtout liée à l'arbre, qui apporte lui aussi litière et turnover et exsudats racinaires dans sa proximité. Cependant, l'effet du LSA sur les entrées de C pourrait être masqué par un échantillonnage restreint à la proximité immédiate du LSA si celui-ci impacte sa proximité, ou par les pratiques agricoles dans les allées cultivées de ce site. Les allées cultivées y sont en effet couvertes chaque année par un mulch (bois raméal fragmenté (BRF), ou pailles), qui est susceptible d'augmenter fortement la teneur en C du sol en surface. En particulier, nous avons mesuré la vitesse de disparition du BRF apporté en surface par la mise

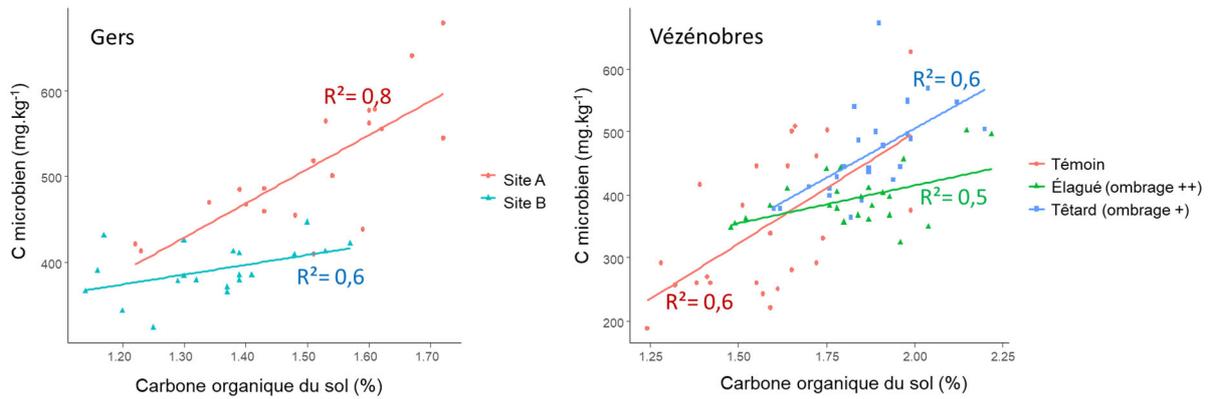
en place de sacs à litière à la surface du sol (maille 5 mm), et mesuré une disparition de près de la moitié de ce BRF au bout d'un an (ce qui ne signifie pas forcément qu'il a été décomposé, mais au moins incorporé au sol) (**Figure 3**). L'impact moins important de la végétation de la bande enherbée sur le C du sol à Vézénobres par rapport au Gers pourrait également être lié aux différences de gestion des LSA entre les sites. En effet, le semis d'espèces pérennes présentant un développement racinaire important (véritable « tapis racinaire » dans le site A) dans le Gers pourrait accroître grandement les apports de matière organique. Au contraire, la végétation spontanée du LSA à Vézénobres est moins compétitrice, et surtout dominée par du brome stérile, qui est une espèce annuelle avec un système racinaire moins développé.



**Figure 3** Evolution de la proportion de la masse de litière restante dans des sacs à litière initialement remplis de 10 g de BRF (15\*15 cm, maille 5 mm) en fonction du temps après leur mise en place (mai 2018), pour chaque distance au LSA, dans le site de Vézénobres.

Nous avons trouvé une biomasse microbienne plus élevée dans le LSA que dans la position la plus éloignée du LSA à Vézénobres (2,5 m du LSA) en présence d'arbres (chapitre 3), et la biomasse microbienne C et N tend à être plus élevée dans le LSA que dans l'allée cultivée dans les sites du Gers, bien que cela ne soit pas significatif (chapitre 2). Cette réponse est globalement corrélée à celle observée pour le C organique du sol (**Figure 4**). Le quotient métabolique  $qCO_2$  (vitesse de respiration de C par unité de biomasse microbienne) ne présente pas de réponse claire en fonction de la position dans la parcelle, et ce particulièrement dans les sites du Gers, où il présente des tendances opposées entre les deux sites étudiés (chapitre 2). Il est cependant plus élevé dans l'allée cultivée que dans le LSA à Vézénobres, et ce en présence et en l'absence d'arbres (chapitre 3) traduisant un investissement plus important des microorganismes pour leur maintenance énergétique que pour leur développement dans les allées cultivées.

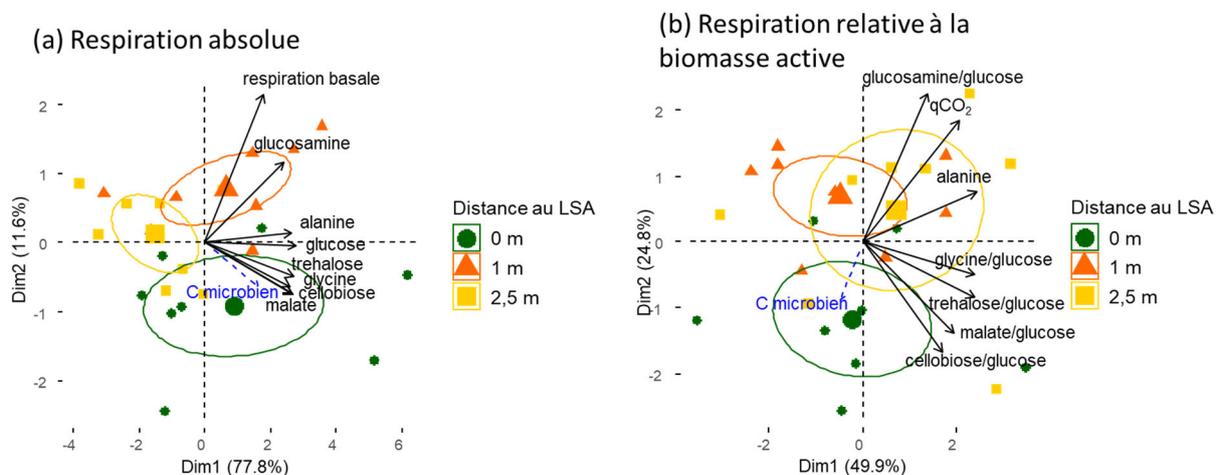
## Discussion générale et conclusion



**Figure 4** Corrélations entre le C microbien et le C organique des premiers 20 cm (Gers) ou 25 cm (Vézénobres) du sol au printemps. Les différences de pentes pourraient être liées aux différents modes de gestion des parcelles. Par exemple, le site A du Gers reçoit une fertilisation minérale en N importante, et la croissance microbienne n'y est probablement pas limitée par la disponibilité en nutriments. A l'opposé, le site B n'a reçu aucune fertilisation l'année de notre échantillonnage. A Vézénobres, les différences de pente semblent être davantage associées à la gestion de l'ombrage.

L'augmentation de la teneur en C du sol à partir de la matière organique apportée requière l'action des microorganismes. L'abondance et l'activité des microorganismes pourraient particulièrement être favorisées par l'augmentation du volume de la rhizosphère dans le LSA, source de C labile et connue pour être un hotspot d'activité et de croissance microbienne (Kuzyakov et Blagodatskaya, 2015). La variété des substrats parvenant au sol pourrait également favoriser la diversification des communautés microbiennes dans le LSA, et la stabilité du milieu favoriser des comportements microbiens oligotrophes, pouvant générer des processus de décomposition-stabilisation plus complets (Fanin et Bertrand, 2016). Ceci pourrait contribuer à expliquer l'augmentation dans l'efficacité d'utilisation du C observée dans le LSA par rapport à l'allée cultivée à Vézénobres (diminution du  $qCO_2$ ), représentative de communautés plus oligotrophes (Zhou et al, 2017). La variation de l'efficacité d'utilisation du C par les microorganismes décomposeurs entre sites pourrait s'expliquer par un impact de certaines pratiques agricoles. Par exemple, à Vézénobres le travail intensif des buttes de culture entraîne une perturbation importante du milieu, ce qui provoque généralement une augmentation du  $qCO_2$  similairement à ce que nous avons observé (Bastida et al, 2008). De plus, l'irrigation et les apports de fumier pourraient avoir grandement favorisé les organismes copiotrophes dans les allées cultivées (Francioli et al, 2016). Les allées sont beaucoup moins perturbées dans le Gers (travail du sol simplifié, peu d'intrants dans le site B), expliquant le manque de variation du  $qCO_2$  entre LSA et allée cultivée dans ces sites. De plus, les sites du

Gers sont assez jeunes, et le  $qCO_2$  décroît avec l'âge dans les milieux non perturbés (ici le LSA) (Zhou et al, 2017; Bastida et al, 2008), ce qui pourrait entraîner une variation plus visible entre LSA et allée cultivée dans les années à venir dans ces sites. La biomasse et l'activité accrues et l'efficacité des microorganismes dans le LSA entraîne probablement des flux de minéralisation de N et P importants qui expliquent l'augmentation de la teneur en P disponible observée dans le LSA. Cependant, la variation des profils cataboliques des communautés de microorganismes entre LSA et allée cultivée n'est pas si évidente. La mesure de la respiration microbienne en présence de différents substrats a surtout montré une variation similaire de la respiration avec la distance au LSA pour chacun des substrats sélectionnés. La distance au LSA pourrait ainsi davantage entraîner une variation quantitative de biomasse microbienne qu'une modification des profils cataboliques des communautés en présence (**Figure 5**). L'augmentation de la teneur en P disponible dans le LSA pourrait aussi être liée à l'action des microorganismes solubilisant le P, en particulier les champignons mycorhiziens associés aux racines. Battie-Laclau et al (2019) ont en particulier montré une augmentation de la densité des mycorhizes dans le LSA par rapport à l'allée cultivée dans le site B du Gers, et des résultats similaires ont été trouvés sur une autre parcelle aux Etats-Unis (Unger et al, 2013).



**Figure 5** Analyse en composantes principales de la respiration microbienne en présence de différents substrats pour le traitement têtard à Vézénobres en avril (méthode Microresp<sup>TM</sup>). (a) la respiration brute est utilisée, (b) la respiration en présence de différents substrats est normalisée par la respiration maximale (en présence de glucose, représentative de la biomasse microbienne active). La respiration basale est la respiration sans ajout de substrat. La teneur en C microbien du sol est utilisée comme variable illustrative.

## Macrofaune

Le LSA est plus riche en saprophages que l'allée cultivée dans tous les sites. De plus, la communauté de vers de terre est davantage représentée par des vers de terre anéciques dans le LSA que dans l'allée cultivée. Nous avons attribué cet effet à la présence du LSA, car il est visible dans les jeunes sites (chapitre 2), mais aussi dans le traitement témoin sans arbres dans les bandes enherbées à Vézénobres (chapitres 3 et 4). Cependant, les autres groupes trophiques ou catégories écologiques de la macrofaune ne présentent pas de réponse commune entre sites.

Les milieux présentant une végétation herbacée pérenne sont connus pour être favorables à une majorité de la macrofaune du sol, et en particulier à la faune se nourrissant de matière organique. Dominguez et al (2010) ont par exemple montré une abondance plus importante de la macrofaune et une décomposition favorisée dans des prairies naturelles, en comparaison à des parcelles agricoles. Les apports accrus de matière organique dans le LSA induits par la présence d'une végétation permanente sont susceptibles d'expliquer cette abondance accrue des saprophages, par l'augmentation de la ressource mais aussi l'amélioration des propriétés du sol (Moore et al, 2004). Par exemple, Sauvadet et al (2016) ont montré qu'une augmentation de la quantité de litière retournée au sol influence particulièrement les macro arthropodes détritivores. Cependant, Sauvadet et al (2016) ont aussi montré une augmentation de l'abondance des vers de terre endogés en réponse à l'addition de litière, ce qui n'est pas le cas de manière générale dans notre étude. Un autre facteur expliquant l'augmentation de l'abondance des saprophages seuls dans le LSA pourrait être la non perturbation du sol, permettant le maintien de litière en surface. En effet, les organismes saprophages étudiés vivent surtout dans la couche de litière à la surface du sol, comme montré par Doblaz-Miranda et al (2009), ou s'y nourrissent (en ce qui concerne les vers anéciques, Bouché, 1977). La couche de litière, tout comme la présence de végétation pérenne, fournit probablement à la fois une ressource et une protection contre les prédateurs et les variations climatiques. Au contraire, les organismes se nourrissant dans le sol ne sont pas fortement impactés par les modifications à la surface du sol, et pourraient même être favorisés par des apports de litière dans le sol dans l'allée cultivée (Roger-Estrade et al, 2010; Chan, 2001). A Vézénobres les saprophages sont de manière générale plus abondants dans le LSA bien qu'un mulch composé de BRF soit apporté dans l'allée cultivée. Les saprophages pourraient préférer la litière du LSA, de meilleure qualité. Cependant, le fait que la différence de répartition entre LSA et allée soit amplifiée juste après le travail du sol dans ce site (avril) révèle davantage un impact du travail du sol sur la mortalité

ou la destruction de l'habitat des organismes du sol (Roger-Estrade et al, 2010). De nombreux détritivores sont en particulier très sensibles aux perturbations et aux situations de stress (disponibilité en litière consommable, humidité) (Paoletti et al, 2007), et la présence de vers de terre anéciques repose sur le maintien de galeries permanentes (Capowiez, 2000).

La réponse variable des géophages (vers endogés) entre sites est probablement liée à la variation des pratiques agricoles au sein de l'allée cultivée. Ainsi, le labour à Restinclières pourrait être favorable aux endogés car il enfouit la matière organique et décompacte le sol sans pour autant trop le déstructurer, mais le travail rotatif du sol à Vézénobres réalisé pour obtenir des buttes de cultures adaptées au maraîchage pourrait avoir un impact plus négatif. Le travail réduit du sol sans labour dans le Gers ne semble pas produire d'effet clair, les vers de terre endogés étant plus abondants dans l'allée cultivée que dans le LSA dans un seul des deux sites (mais la proportion d'endogés par rapport à l'abondance totale des vers de terre y est bien plus élevée dans les allées cultivées que dans les LSA).

Si le LSA détermine la présence de macrofaune saprophage, son impact sur les autres groupes trophiques est bien moins prévisible. La répartition des prédateurs est variable selon les sites, tout comme celle des herbivores, probablement à cause de leur grande diversité, de leur comportement variable au cours du temps, et de leur plus grande capacité de déplacement. Par exemple, les organismes pouvant se nourrir et se déplacer en profondeur (chilopodes) semblent particulièrement peu impactés par la variabilité des milieux au sein de la parcelle. Les coléoptères, s'ils peuvent utiliser le LSA comme un lieu d'hivernation, ont souvent besoin d'évoluer dans des milieux ouverts pendant leurs phases d'activités (Harvey et al, 2008), ce qui est davantage le cas dans les allées cultivées que dans le LSA. D'ailleurs, le rôle des LSA dans la fourniture de régulateurs des ravageurs est entièrement basée sur l'idée d'une dispersion des organismes depuis le LSA. Si les herbivores sont essentiellement des consommateurs de racines, plus abondantes dans le LSA que dans l'allée cultivée, nombre d'entre eux sont aussi des ravageurs de la culture, ce qui peut expliquer leur abondance plus importante dans la culture dans certains cas.

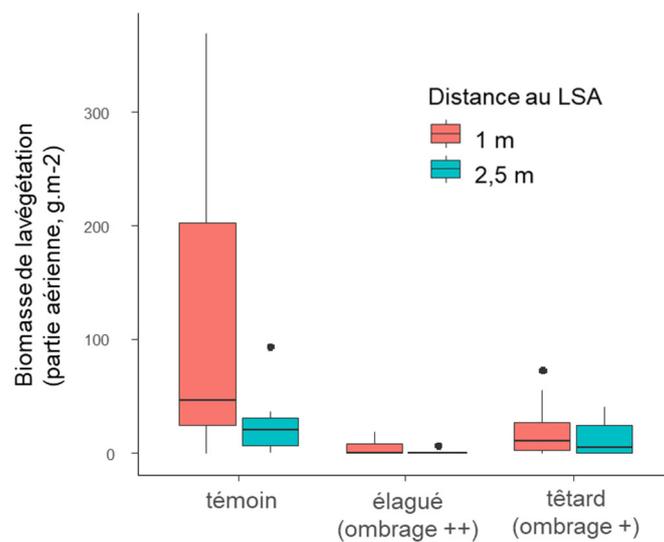
## **1.2. Quel effet de la proximité au LSA ?**

Nous avons trouvé une différence significative de la biomasse microbienne entre le LSA et la position à 1 m du LSA dans le Gers, suggérant que la différence de biomasse microbienne est plus marquée entre le LSA et sa proximité immédiate qu'entre le LSA et le milieu de l'allée

cultivée. Ceci est en particulier dû au site A (chapitre 2). Au contraire, il n'existe pas de différence de biomasse microbienne entre le LSA et 1 m du LSA dans un site âgé (Vézénobres, chapitre 3), suggérant un effet positif de la proximité immédiate au LSA sur l'augmentation de la biomasse microbienne. Cette augmentation de C microbien à 1 m du LSA par rapport à 2,5 m du LSA est également visible dans le témoin sans arbres dans les bandes enherbées. Cette réponse est similaire à celle observée pour le C organique du sol (**Figure 4**, corrélation entre C microbien et C organique du sol). La macrofaune répond également différemment à la proximité au LSA selon les sites. L'abondance de la macrofaune, et surtout des vers endogés, est ainsi particulièrement limitée à 1 m du LSA dans le site A du Gers (chapitre 2). Au contraire, l'abondance des vers de terre semble être augmentée près du LSA dans le site B, bien que cela ne soit pas significatif (chapitre 2). Cette tendance se confirme à Vézénobres, avec des abondances de vers de terre et de diplopodes présentant des valeurs intermédiaires entre LSA et 2,5 m du LSA à 1 m du LSA, au moins à certaines saisons (chapitre 4). De plus, cette tendance est visible en présence et en l'absence d'arbres. Elle est également visible à Restinclières, où la densité de vers de terre est augmentée à proximité du LSA (significativement jusqu'à 30 cm du LSA, chapitre 5).

Le LSA est susceptible de modifier les propriétés du sol dans son voisinage par l'apport de matière organique issue des racines ayant colonisé l'allée cultivée à proximité du LSA. Une partie de ces racines provient probablement de l'arbre dans des sites plus âgés. Cependant, nous n'avons pas trouvé de variation significative de la biomasse racinaire entre la position à 1 m du LSA et les positions plus éloignées dans les sites étudiés. Cardinael et al (2018) ont en particulier montré que si l'arbre peut être une source additionnelle de C pour l'allée cultivée via la litière issue des feuilles retournées au sol, les entrées de C issues du LSA sont restreintes au LSA. Ceci pourrait expliquer pourquoi la teneur en C et la biomasse microbienne ne sont pas augmentées à 1 m du LSA par rapport au milieu de l'allée cultivée dans les jeunes sites du Gers où l'influence de l'arbre est limitée. Cependant, Battie-Laclau et al (2019) ont observé la répartition des racines dans le site B du Gers, et trouvé que les racines du LSA colonisent bien l'allée cultivée à proximité du LSA, mais que ceci est davantage visible à partir du mois de juillet. De plus, si cette colonisation par les racines entraîne un accroissement de la densité d'hyphes dans l'allée cultivée, cela est visible à quelques cm du LSA seulement dans ce site. Un autre impact du LSA peut passer par la colonisation de sa proximité par des adventices. Bien que nous ayons montré dans l'état de l'art que l'impact de la présence du LSA sur la présence d'adventices est limité, nous avons effectivement trouvé une plus grande biomasse de

végétation adventive à 1 m qu'à 2,5 m du LSA en novembre à Vézénobres dans le traitement sans arbres, période où les buttes de cultures ne sont plus désherbées (**Figure 6**). Cette végétation peut constituer un apport de matière organique supplémentaire, pendant sa croissance mais également après son enfouissement dans le sol au moment du travail des buttes au printemps, ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la biomasse microbienne à 1 m du LSA dans le traitement sans arbres. L'augmentation de la ressource à proximité du LSA peut également expliquer la tendance à l'augmentation de l'abondance de certains organismes de la macrofaune dans cette position, qui pourrait à son tour entraîner une augmentation de la biomasse microbienne (facilitation de la décomposition par les saprophages et géophages).



**Figure 6** Biomasse de la végétation (parties aériennes) à 1 m et 2,5 m de la bande enherbée à Vézénobres en novembre. La médiane et les valeurs des différents quartiles sont représentés (boxplot).

La colonisation de l'allée par des racines issues du LSA et de l'arbre est également susceptible d'impacter négativement la proximité au LSA par un prélèvement des nutriments disponibles. Cet effet est en particulier souvent cité, avec la compétition pour la lumière, pour expliquer la diminution des rendements en bordure d'allée cultivée (Miller et Pallardy, 2001; Pardon et al, 2019). Cependant, cet effet est probablement davantage visible au moment de la croissance des arbres et lorsque la teneur en eau est limitante dans l'allée cultivée. Nos échantillonnages ont souvent pris place en tout début (printemps) ou en fin de croissance des arbres (automne). Nous avons réalisé un échantillonnage durant l'été à Vézénobres, mais les buttes de culture étant irriguées, l'effet de la compétition avec l'arbre était probablement peu visible.

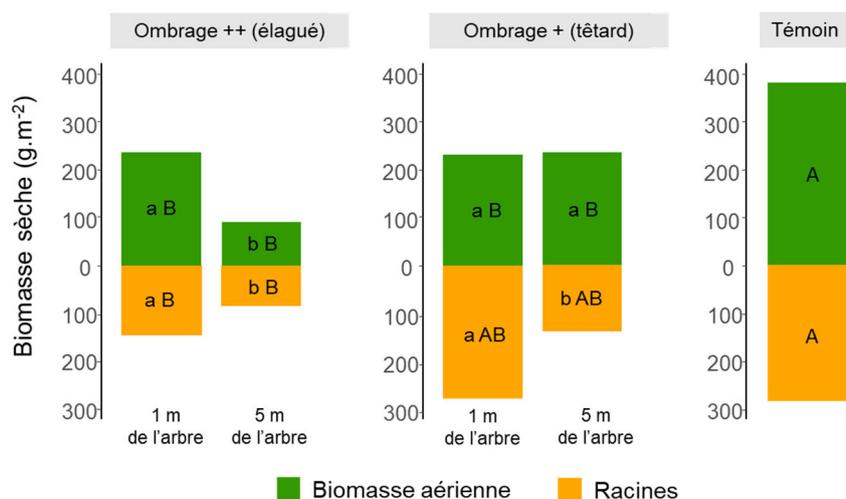
Un autre effet lié au voisinage du LSA est l'effet bordure. Ainsi, la proximité de bandes enherbées, et encore plus ici d'arbres, rend plus difficile les opérations agricoles dans leur proximité (travail du sol, semis, application de fertilisants et de pesticides), et les apports et pratiques peuvent ainsi être inégaux entre la parcelle agricole et sa bordure, soit ici entre le milieu de l'allée cultivée et sa bordure. Cet effet, auquel on peut attribuer la diminution des rendements observés en bordure de parcelle, a un impact d'autant plus grand que la parcelle est gérée de manière intensive (Romero et al, 2008). En ce qui concerne les organismes du sol, cet effet peut être négatif, par exemple en créant un écart de niveau entre LSA et allée dans le cas d'un labour, ou via une diminution de la quantité de fertilisants organiques et minéraux apportée en bordure de l'allée cultivée. Il pourrait cependant avoir un effet positif en limitant le travail du sol et les pertes de C, en limitant l'application de produits phytosanitaires potentiellement toxiques, et en permettant la colonisation par des adventices en provenance du LSA en bordure de l'allée cultivée. Dans le site A du Gers, la diminution de la teneur en N minéral à proximité du LSA pourrait être liée à son prélèvement par le LSA ou à une moins grande fertilisation à proximité du LSA. L'impact final est ici négatif, en diminuant la biomasse microbienne, mais aussi la densité de vers endogés.

Le manque de différences significatives entre proximité au LSA et positions plus lointaines pourrait être lié à un impact fort restreint aux premiers cm d'écart avec le LSA, comme le suggère l'étude du gradient de distance au LSA à Restinclières (effet significatif jusqu'à 30 cm du LSA seulement) et les résultats obtenus sur le site B du Gers par Battie-Laclau et al (2019). Dans ce cas, l'impact du LSA sur la création d'une hétérogénéité spatiale et l'amélioration des propriétés du sol au sein de l'allée cultivée paraît fortement limité. Il pourrait aussi être lié à une modification des propriétés du sol sur une zone plus large que celle échantillonnée, en particulier à Vézénobres où la position la plus distante au LSA est située à 2,5 m du LSA seulement. De plus, les résultats obtenus sont spécifiques aux 20 ou 25 premiers cm du sol, et, ne permettent pas de tirer de conclusions sur le sol plus profond, probablement moins impacté par les variations climatiques et les pratiques culturales en surface, mais probablement davantage par les racines issues de l'arbre.

### **1.3. Quel effet de la distance à l'arbre ?**

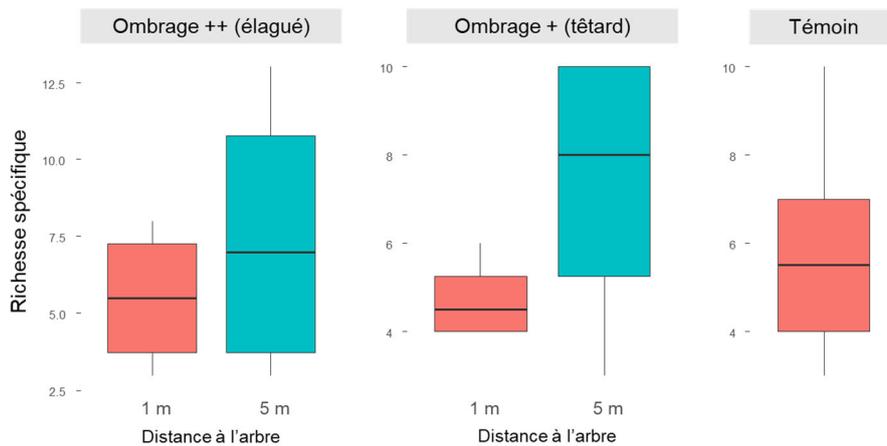
Dans les jeunes sites du Gers, nous n'avons pas trouvé de variation claire de la biomasse de la végétation du LSA avec la distance à l'arbre, et celle-ci présente une faible diversité. Bien que

ces observations aient eu lieu à une période peu adaptée à l'étude de la végétation (mars et avril), elles suggèrent une homogénéité de la végétation du LSA quand il est semé et que les arbres sont encore jeunes. A Vézénobres, nous avons trouvé une biomasse racinaire plus importante à proximité du LSA, et ce même une fois les racines attribuées à l'arbre exclues (**Figure 7**). Une diminution de la biomasse aérienne de la végétation est également visible en fonction de la distance à des arbres élagués dans le LSA (**Figure 7**). Cependant, aucune variation significative de la diversité de la végétation n'est observée en fonction de la distance à l'arbre (**Figure 8**). Le LSA est en particulier surtout représenté par quelques espèces majoritaires (par rapport à leur taux de recouvrement), en particulier du brome stérile. La proximité à l'arbre semble ainsi avoir un impact positif sur la biomasse mais pas sur la diversité d'un LSA spontané dans ces sites plus âgés. Ceci est étonnant car les arbres sont souvent cités pour leur impact négatif sur la culture sous leur canopée dans les systèmes agroforestiers tempérés (Miller et Pallardy, 2001), mais aussi sur la biomasse de la végétation herbacée de prairies dans des systèmes sylvopastoraux méditerranéens ou semi arides (Cubera et al, 2009; Menezes et Salcedo, 1999). Cependant, un impact positif de la proximité à l'arbre est parfois trouvé en milieu méditerranéen et assimilé à un enrichissement du sol en nutriments sous la canopée, et semble dépendant des conditions climatiques et de la richesse du milieu (Gea-Izquierdo et al, 2009). Cette différence de biomasse avec la distance à l'arbre pourrait être encore plus marquée avec des arbres plus espacés, comme le suggère la comparaison de la végétation du LSA à celle de bandes enherbées sans arbres présentant une biomasse aérienne et racinaire plus importante (**Figure 7**).



**Figure 7** Biomasse aérienne et racinaire de la végétation du LSA à Vézénobres (moyennes sur les 3 saisons). Différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives entre distances à l'arbre pour la biomasse aérienne ou racinaire pour un traitement d'ombrage donné. Différentes lettres majuscules indiquent des différences significatives entre traitements d'ombrage pour la biomasse aérienne ou racinaire.

## Discussion générale et conclusion

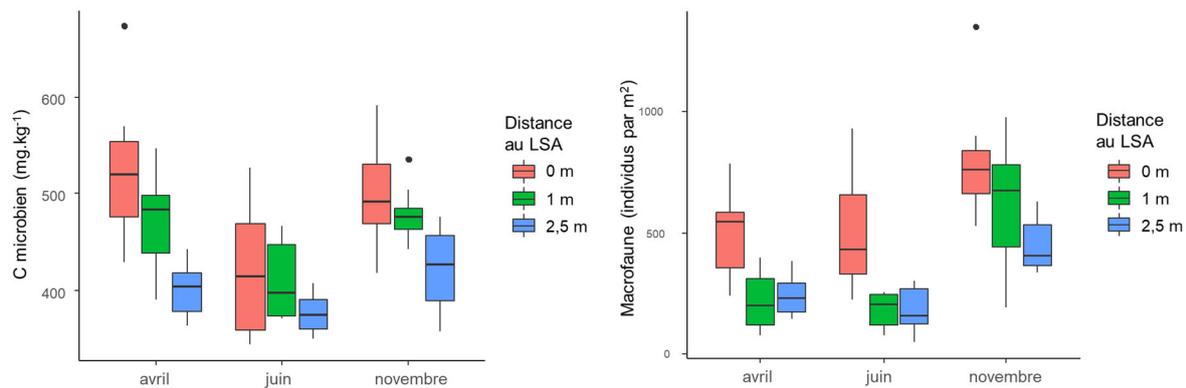


**Figure 8** Richesse spécifique de la végétation du LSA à Vézénobres déterminée au mois de juin. Aucune différence n'est significative.

Dans les jeunes sites du Gers, similairement à l'homogénéité de la végétation du LSA, nous n'avons pas trouvé de variation claire des propriétés de la macrofaune, des microorganismes du sol ou de la fertilité du sol avec la distance à l'arbre au sein du LSA. A Vézénobres, nous avons observé une augmentation de la biomasse microbienne et de la teneur en P disponible à proximité de l'arbre. Cet impact est assez localisé dans l'espace, étant spécifique au voisinage immédiat de l'arbre dans le LSA (traitement têtard), ou étendu à la zone la plus proche du LSA dans l'allée cultivée (traitement élagué). L'arbre est susceptible d'augmenter la fertilité du sol dans sa proximité immédiate (apports de matière organique, modification du microclimat, relargage de nutriments, solubilisation de nutriments essentiels), ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la biomasse de la végétation herbacée à proximité de l'arbre dans le LSA. Dans la modalité élaguée, ceci se reflète par une teneur en C du sol plus élevée le long du transect le plus proche de l'arbre. Cette augmentation de la biomasse de la végétation herbacée, en augmentant la densité racinaire et ainsi le volume de la rhizosphère, pourrait également participer à l'augmentation de la biomasse microbienne. Une augmentation de la fertilité près de l'arbre, également observée par Guillot et al (*in prep*) dans une parcelle adjacente à la nôtre à Restinclières, n'est cependant pas forcément suffisante pour entraîner une augmentation des rendements de la culture à proximité. Au contraire, ceux-ci sont souvent négativement impactés par la présence de l'arbre, car il existe également une compétition importante pour la lumière.

#### 1.4. Quel effet de la saison ?

Notre étude à Vézénobres sur plusieurs saisons (chapitre 4) a démontré l'importance de la variation saisonnière concernant d'une part l'abondance et la biomasse générale des organismes du sol (ce qui était attendu), mais aussi concernant la variation spatiale des propriétés des organismes du sol dans la parcelle, en particulier pour l'abondance de la macrofaune (**Figure 9**). La variation spatiale de la biomasse et du quotient métabolique des microorganismes suit au contraire les mêmes tendances à chaque saison, même si les variations de la biomasse microbienne avec la distance au LSA sont moins importantes en été (**Figure 9**).

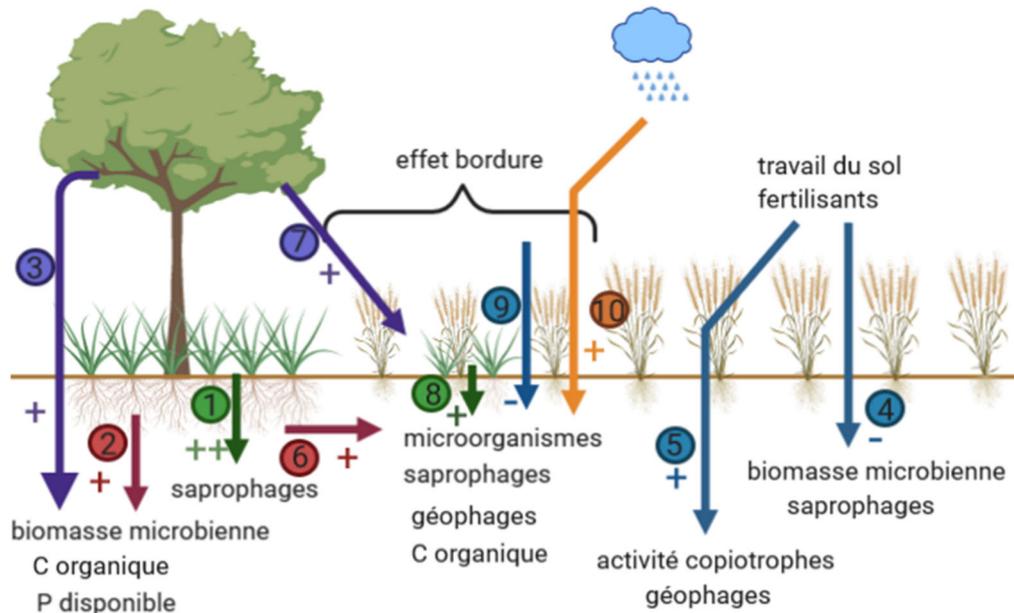


**Figure 9** Réponse de la biomasse microbienne et de la densité de la macrofaune à la distance au LSA en fonction de la saison pour le traitement têtard (ombrage +) à Vézénobres.

L'effet de la saison est essentiel à prendre en compte, car le choix de la période étudiée peut conduire à des conclusions différentes. Ainsi, une observation au printemps uniquement dans ce site aurait conduit à qualifier le LSA comme ayant un impact plutôt négatif sur son voisinage, l'abondance de la macrofaune étant particulièrement réduite dans les allées. Au contraire, en automne le manque de différences entre les différentes distances au LSA pour la quasi-totalité de la macrofaune pourrait conduire à imaginer un impact nul du LSA sur sa répartition. In fine, l'étude infra-annuelle que nous avons menée suggère que le LSA peut être un abri pour la macrofaune au printemps et en été. A d'autres saisons, le LSA pourrait servir de source de macrofaune, ce qui est en particulier suggéré par le gradient d'abondance des vers de terre endogés entre le LSA et la position à 2,5 m du LSA en novembre. De même, une observation en juin uniquement aurait pu empêcher d'observer une variation significative de la biomasse microbienne avec la distance au LSA. Un impact fort de la saison a aussi été montré par Battie-Laclau et al (2019) dans le site B du Gers en ce qui concerne la densité des racines et hyphes, et par Martin-Chave et al (2019) en ce qui concerne la macrofaune épigée à Vézénobres.

L'impact de la saison versus celui des pratiques culturales dans ces variations est cependant peu clair. La variation du climat joue probablement un rôle important, comme suggéré par la forte diminution de la biomasse microbienne en juin (**Figure 9**). Le travail du sol effectué en mars dans les buttes de culture explique cependant probablement davantage l'absence de macrofaune dans les buttes en avril.

La **Figure 10** récapitule la réponse à la distance au LSA sur l'ensemble des sites.



**Figure 10** Schéma récapitulatif des variations entre LSA et allée cultivée. Dans le LSA, (1) la végétation herbacée et l'absence de perturbation fournissent un habitat aux saprophages, (2) le volume accru de la rhizosphère favorise la croissance microbienne, la teneur en C et en nutriments, et (3) l'arbre apporte une ressource supplémentaire et procure un microclimat augmentant encore la fertilité du sol. Dans l'allée cultivée, les pratiques agricoles (4) ont un impact négatif sur des microorganismes oligotrophes et les saprophages, d'autant que les teneurs en C organique sont plus faibles, mais (5) peuvent impacter positivement certains organismes favorisés par la décompaction et l'apport de matière organique en profondeur. Dans le voisinage immédiat du LSA, (6) la colonisation par des racines du LSA peut augmenter la biomasse et l'abondance des microorganismes et des saprophages, ce qui (7) peut être amplifié par les apports de matière organique et la modulation du microclimat par l'arbre, qui impacte particulièrement la teneur en C, (8) l'effet bordure et la colonisation par des adventices peut encore accroître cet effet, mais aussi (9) impacter négativement les organismes du sol adaptés aux pratiques agricoles. Enfin, (10) l'effet bénéfique de la proximité au LSA peut être amplifié en saisons favorables, par exemple après des pluies suivant une période de sécheresse.

### 1.5. Mouvements de faune

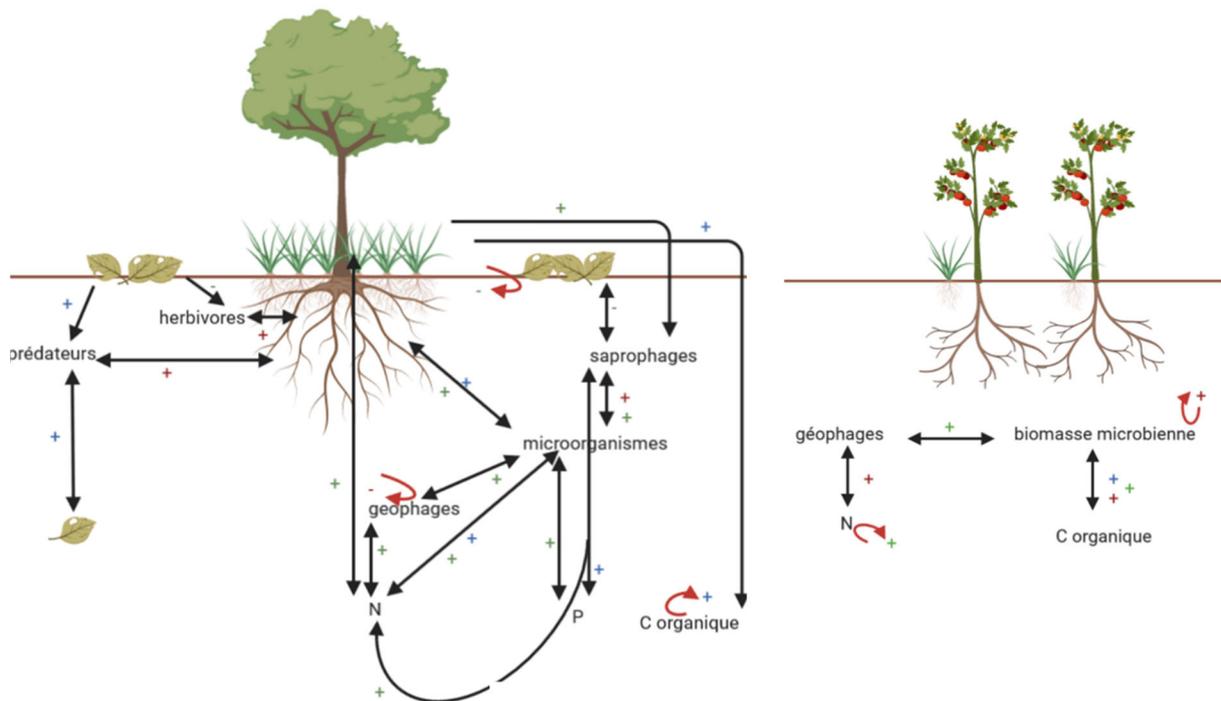
Si nous pouvons suggérer des mouvements de faune dans le chapitre 4, notre approche, basée sur des observations et non sur des études mécanistes, ne permet pas de conclure sur la réalité

de ces mouvements. En particulier, les différences observées entre saisons pourraient être dues à des régénérations locales des organismes s'ils ont été capables de s'enfouir dans le sol ou de survivre sous la forme de cocons, œufs ou nymphes. De même, nous ne savons pas si la déplétion en macrofaune observée en avril à Vézénobres dans les allées cultivées, ou à proximité immédiate du LSA dans le Gers, est liée à une mortalité dans les allées, ou au fait que ces organismes n'aient jamais été présents, ou à des mouvements vers d'autres zones de la parcelle. Le chapitre 5 a permis de se pencher sur l'existence de ces mouvements au sein d'une étude exploratoire. Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence des mouvements de vers de terre depuis le LSA vers l'allée cultivée au printemps. Cependant, comme suggéré précédemment, le printemps n'est pas forcément la période la plus optimale pour observer ces mouvements, et il serait intéressant de renouveler l'expérience en automne. De plus, du fait de la faible diversité présente (surtout 2 espèces de vers de terre), ces résultats sont peut-être spécifiques à ces deux espèces en particulier.

Cependant, cette expérience a montré que l'on pouvait détecter des mouvements de faune par cette méthode, car nous avons observé davantage d'entrées de vers endogés dans les pièges orientés vers l'allée cultivée que dans ceux orientés vers le LSA. Si elle ne nous permet pas de conclure sur des entrées dans le LSA (les pièges étant centrés à 30 cm du LSA), elle nous permet de détecter des mouvements en direction de la zone proche du LSA dans l'allée cultivée. L'augmentation de l'abondance des géophages à proximité du LSA observée dans l'échantillonnage de sol non remanié est en adéquation avec ces observations. Ainsi, l'augmentation de l'abondance des vers de terre à proximité du LSA n'est pas forcément liée à une dispersion depuis le LSA, mais probablement davantage à une dispersion depuis l'allée cultivée.

### **1.6. Interactions entre les variables mesurées et fonctions du sol**

Le type d'expériences réalisées (observations à un instant t, pas d'études des mécanismes mis à part dans le chapitre 5, beaucoup de paramètres variant simultanément) ne permet pas de déterminer les interactions entre les organismes étudiés, ni leurs impacts sur la fertilité finale du sol. Cependant, le site de Vézénobres ayant été bien caractérisé, et ce à plusieurs saisons, il est possible d'étudier les corrélations entre les différentes variables de manière à formuler des hypothèses sur les interactions et mécanismes à l'œuvre. Celles-ci sont synthétisées dans la **Figure 11**. Les corrélations ont été déterminées pour chaque saison et chaque milieu (LSA versus allée cultivée), pour les deux traitements avec arbres réunis.



**Figure 11** Corrélations entre les différentes variables étudiées (doubles flèches noires), pour le LSA et l'allée cultivée. Les corrélations sont établies par milieu et par saison pour les traitements arborés à Vézénobres. Le signe + représente une corrélation significative positive d'au moins 0,5, le signe - une corrélation significative négative d'au moins -0,5. La macrofaune est ici caractérisée par son abondance. Les microorganismes sont caractérisés par leur biomasse C. La végétation est caractérisée par sa masse sèche. Le C organique est la teneur en C organique du sol, le N la teneur en N minéral du sol, et le P la teneur en P disponible (méthode Olsen) du sol. Les flèches rouges représentent la corrélation de la variable étudiée avec le coefficient métabolique  $qCO_2$ . En bleu : données d'avril 2018, en rouge : données de juin 2018, en vert : données de novembre 2018.

L'étude des corrélations par milieu révèle des interactions probablement plus importantes dans le LSA que dans l'allée cultivée, et de ce fait un fonctionnement plus complexe dans le LSA, et un découplage plus important entre végétation, organismes et fertilité du sol dans l'allée cultivée. Dans le LSA, la végétation herbacée vivante semble expliquer davantage la présence des organismes du sol associés à la décomposition de la matière organique que la nécromasse de la litière. En particulier, l'abondance des saprophages est associée à la biomasse aérienne végétale en novembre (qui leur fournit probablement un abri), et la biomasse microbienne est corrélée positivement à la biomasse racinaire (et donc au volume de la rhizosphère) en avril et novembre, périodes de plus grande activité. La biomasse de la végétation est également associée à la teneur en carbone organique du sol en avril, et au N minéral en novembre, probablement du fait de l'impact positif de la proximité à l'arbre sur la biomasse végétale et la fertilité du sol. La corrélation négative entre la nécromasse de la litière et l'abondance des saprophages et herbivores est probablement liée à l'abondance moins importante de la macrofaune en parallèle

de l'accumulation de feuilles mortes dans le traitement élagué en novembre. Au contraire, la nécromasse de la litière est corrélée positivement avec la présence de prédateurs en avril, peut-être car ceux-ci y trouvent refuge. Les corrélations entre les herbivores et prédateurs et la biomasse racinaire en juin sont probablement associées à la consommation de racines ou de consommateurs de racines par ces organismes, l'été étant favorable à l'activité des insectes qui en sont les principaux représentants. La biomasse microbienne est corrélée positivement à l'abondance des saprophages en juin et novembre, et à l'abondance des géophages en novembre, suggérant des interactions positives entre ces organismes. Enfin, l'abondance des géophages, saprophages et microorganismes est corrélée positivement à la teneur en nutriments, en particulier en novembre, suggérant soit un rôle dans la modification de la fertilité du sol, soit un effet de la fertilité du sol sur le développement de ces organismes.

Dans l'allée cultivée, les propriétés de la végétation ne sont pas directement corrélées à celles des organismes ou de la fertilité du sol. Cependant, nous n'y avons pas récolté les plants de tomates, mais les adventices présents, car notre échantillonnage était localisé entre les plants de tomates. L'abondance des géophages est corrélée positivement avec la teneur en N minéral en juin. La biomasse microbienne est aussi corrélée à toutes les saisons avec la teneur en C organique, ce qui n'était pas le cas dans le LSA.

## **2. Limites générales de la thèse**

Je ne discute ici que des limites générales de la thèse. Les limites spécifiques à la mise en place de dispositifs orientés ont été plus spécifiquement mentionnées dans le chapitre 5.

### **2.1. Design expérimental et nombre de parcelles**

Les résultats présentés dans cette thèse sont limités par le design des plans d'échantillonnage, et par le nombre et la taille des parcelles échantillonnées. Par exemple, à Vézénobres (chapitres 3 et 4), différents traitements d'ombrage sont présents, mais la combinaison de ces traitements n'est pas répétée au sein de plusieurs blocs. De plus, les traitements agroforestiers et le traitement témoin ont été mis en place sur deux parcelles avec des historiques un peu différents. Nous avons de ce fait restreint notre étude du site à une observation de la variation de l'effet de la distance au LSA, sans pouvoir tirer de conclusions sur l'effet ombrage lui-même. De plus, la taille réduite de la parcelle conduit nos répétitions à être très proches les unes des autres, et

remet en cause leur indépendance. Cela augmente également le risque d'observer une réponse non représentative, du fait d'une variation locale de la profondeur de la nappe phréatique par exemple. Cependant, nous avons tout de même choisi d'échantillonner ce site, car il n'existe pas à notre connaissance d'autre site dans le sud de la France possédant à la fois des bandes arborées et simplement enherbées intra parcellaires, et que cette configuration est particulièrement utile pour observer le rôle spécifique de la végétation herbacée du LSA. De manière générale, aucune parcelle étudiée au cours de cette thèse ne fait partie d'un réel dispositif expérimental mis en place à des fins de recherche. Cela est lié au faible nombre de dispositifs suivis et instrumentés en France (en particulier au début de ma thèse). De plus, cette thèse ne permet pas de répondre à la question d'un effet général de l'agroforesterie sur les propriétés étudiées, car nous n'avons jamais échantillonné de témoin agricole. Très peu de parcelles disposent d'un témoin agricole, et à notre connaissance les seules parcelles possédant un témoin agricole au sein d'un design en blocs permettant de tirer de réelles conclusions sur les différences observées sont extrêmement jeunes.

Il serait intéressant de pouvoir comparer les données que nous avons récoltées sur les organismes du sol à des observations réalisées pour différents types d'occupation du sol. Cependant, les référentiels existants ne concernent pas forcément les mêmes variables que celles que nous avons étudiées (par exemple, le Réseau de Mesure de la Qualité des Sols (RMQS) a quantifié l'ADN microbien et non le carbone), ou sont réalisées dans des zones climatiques et géographiques ne correspondant pas à nos études (les premières mesures de biomasse microbienne C et d'abondance des vers de terre du RMQS ont été réalisées en Bretagne, dans un contexte pédoclimatique bien différent). Les données de l'Observatoire Participatif des Vers de Terre permettent cependant de classer nos observations d'abondance des vers de terre comme proches de celles observées pour les systèmes cultivés en général (autour de 230 individus par m<sup>2</sup>) dans les allées cultivées (mis à part à Vézénobres où elles sont un peu inférieures), voir comme se rapprochant de celles observées dans des prairies (autour de 570 individus par m<sup>2</sup>) dans le LSA et à proximité immédiate dans le site B du Gers et à Restinclières. Cependant, cet observatoire ne donne pas d'informations sur le reste de la macrofaune du sol.

Dans l'étude du chapitre 2, nous n'avons échantillonné que deux parcelles agroforestières. Ce nombre n'est pas suffisant pour tirer des conclusions générales sur l'effet du LSA, d'autant plus que ces deux sites présentent des modes de gestion différents, l'un étant en agriculture biologique alors que l'autre reçoit des fertilisants minéraux et pesticides. Cependant,

l'échantillonnage de plus de parcelles n'a pas été possible du fait du temps disponible, l'échantillonnage de la macrofaune étant très chronophage. De plus, la forte variabilité souvent observée dans la répartition de la macrofaune, qui répond non seulement à l'hétérogénéité du milieu mais aussi à la proximité de conspécifiques du fait de son agrégation en patch (Briones, 2018), rend nécessaire la réalisation d'un nombre de répétitions important dans chaque site. Il nous a semblé utile de privilégier l'échantillonnage de la macrofaune au complet plutôt que de la réduire aux vers de terre (plus rapides à échantillonner) pour augmenter le nombre de parcelles, car ce paramètre est très peu étudié en système agroforestier tempéré. Le choix de ces deux parcelles, bien qu'ayant des apports d'intrants variables, s'explique par le faible nombre de sites disponibles. Nous avons privilégié des sites ayant en commun leur âge, gestion du LSA (semé), et modalités de travail du sol, car nous avons imaginé un impact plus important de ces paramètres pour des organismes endogés. Bien que nous ayons comparé les résultats de ces deux sites avec les sites de Vézénobres et Restinclières également échantillonnés dans cette thèse dans la discussion, les conclusions restent fortement sujettes à discussion, car ces sites diffèrent sur de trop nombreux paramètres (âge, gestion du LSA et l'allée cultivée, mais aussi contexte pédoclimatique).

A Restinclières (chapitre 5), bien que plusieurs parcelles soient disponibles, nous avons préféré localiser notre expérience sur une seule parcelle. Le temps nécessaire à la mise en place et à l'extraction des pièges rendait en effet impossible la réalisation d'un nombre de répétitions suffisant sur plusieurs parcelles. De plus, le côté exploratoire de cette expérience nous a conduit à choisir de tester deux types de dispositifs (avec et sans litière) afin d'augmenter nos chances d'observer des résultats, ce qui impliquait de doubler les dispositifs sur la parcelle. Enfin, un échantillonnage test préalable nous a permis d'observer une abondance de macrofaune très insuffisante pour tirer des conclusions statistiques dans les autres parcelles.

## **2.2. Choix des pratiques d'échantillonnage et des analyses**

Nous avons observé au cours de notre échantillonnage une grande variabilité de taille entre certains des organismes de la macrofaune étudiés. Ainsi, si l'extraction de blocs de sols paraît suffisante pour les plus petits organismes, elle pourrait être limitée pour l'extraction de certains vers anéciques de grande taille (un seul vers anécique trouvé à Restinclières par exemple). De plus, il apparaît assez illusoire de vouloir observer l'impact d'organismes de tailles très différentes sur un même plan, car ils ont probablement un impact très différent sur l'écosystème.

Nous avons pour cette raison choisi d'étudier de manière séparée vers de terre et macrofaune dans les sites du Gers présentant des vers de terre de taille très importante, mais même au sein des vers de terre nous avons eu des différences de taille conséquentes. De plus, si l'extraction dans des blocs de sols est très intéressante car elle permet de connaître tous les organismes présents et pas seulement les organismes actifs, il est probable que certains organismes s'enfouissent en dessous de la profondeur échantillonnée en période d'inactivité. Enfin, cette technique est probablement inadaptée pour capturer les organismes les plus rapides, dont la répartition peut de plus être davantage aléatoire et variables dans des intervalles de temps courts.

Nous avons échantillonné le sol pour les analyses des paramètres microbiens dans le même bloc de sol que la macrofaune. Cependant, la profondeur de sol échantillonnée n'est sans doute pas optimale pour observer un impact du LSA sur les microorganismes, d'autres études ayant trouvé des variations des propriétés microbiennes restreintes aux premiers centimètres du sol seulement dans des parcelles agroforestières (Beuschel et al, 2019) ou entre différents modes d'utilisation du sol (van Leeuwen et al, 2017). Ceci pourrait en particulier expliquer le manque de significativité des différences entre LSA et allée cultivée dans les jeunes sites du Gers, un effet dans les premiers centimètres pouvant être « dilué » par l'échantillonnage d'une plus grande profondeur. De même, nous avons choisi d'échantillonner les racines de la végétation au sein des mêmes blocs de sol pour pouvoir les associer directement aux propriétés de la macrofaune et des microorganismes mesurées. Cependant, le volume important de ces blocs de sol a empêché l'échantillonnage des racines les plus fines, qui sont les plus susceptibles de se développer depuis le LSA jusque dans l'allée cultivée (Battie-Laclau et al, 2019).

Le niveau taxonomique atteint dans la détermination de la macrofaune n'est pas homogène selon le type d'organismes. Ainsi, les conclusions sur la diversité des organismes du sol sont limitées aux vers de terre au niveau spécifique, ou réalisées à un niveau taxonomique moins précis (niveau du genre dans le Gers). Cependant, les observations réalisées pendant l'identification (classement par morphologies types) suggèrent une faible diversité de manière générale au sein de chaque groupe d'organismes, ce qui est souvent observé en milieux agricoles. La macrofaune varie probablement davantage par son abondance que par sa diversité. De même, la biomasse microbienne a surtout été caractérisée par des propriétés générales (biomasse, respiration), ne permettant pas de tirer de conclusions précises sur la variabilité des communautés présentes avec la distance au LSA. La méthode Microresp<sup>TM</sup> employée a en particulier montré ses limites dans la différenciation de la diversité fonctionnelle entre différents

habitats au sein d'une même parcelle, peut-être car les différences y sont trop faibles, ou la profondeur considérée trop importante.

### **2.3. Détermination des causes et effets de nos observations**

Il est difficile de déterminer avec précision quels facteurs sont responsables des variations observées dans notre étude. En effet, la mesure des propriétés étudiées au champ ne permet pas d'isoler les différents facteurs pouvant intervenir. Ainsi, il est difficile de déterminer si l'effet du LSA est davantage le résultat d'une absence de perturbation ou de la présence de végétation herbacée, de séparer clairement un effet LSA d'un effet arbre, et de savoir si l'impact des différents types de végétation est plutôt dû à des apports de litière, à la modification de l'habitat, ou à des modifications du microclimat, la plupart de ces propriétés variant simultanément. Par exemple, l'étude sur Vézénobres révèle surtout un effet de la présence d'arbres en addition d'un LSA. Cependant, le développement d'une végétation herbacée sous les arbres est inhérent à la non perturbation, et cette non perturbation dépend elle-même de la gestion particulière des systèmes sylvoarables en milieu tempéré. Etudier ces éléments de manière séparée, en plus d'être complexe, n'aurait donc pas énormément de sens. Pour étudier le rôle spécifique de la végétation herbacée, on peut imaginer la supprimer par l'application d'herbicides ou la mise en place d'un mulch, mais l'on se retrouve alors face à un biais expérimental. Un désherbage mécanique reviendrait lui à créer une perturbation. De plus, la part de l'effet du LSA versus des pratiques agricoles dans la variation des propriétés entre LSA et allée cultivée est compliquée à déterminer, car nous ne disposons pas de suffisamment de sites ayant des pratiques agricoles similaires. Les interactions entre les deux milieux sont en particulier fortement susceptibles d'évoluer en fonction de l'intensité des pratiques agricoles dans l'allée cultivée et de la gestion du LSA.

L'approche saisonnière appliquée nous a permis d'avoir une idée de la dynamique à l'œuvre dans une parcelle agroforestière. Elle nous révèle le besoin de prendre en compte la variation saisonnière dans de futures études, mais ne nous permet pas de savoir si cette dynamique dans la réponse des organismes du sol est réellement liée à la saison (température, pluviométrie, cycle de vie des organismes), ou davantage aux pratiques de gestion car ces différents paramètres varient simultanément (par exemple, l'automne est une période favorable par une humidité importante, mais aussi dans notre étude du chapitre 4 car le sol n'a pas été perturbé depuis une plus longue période, et car le BRF a commencé à se dégrader).

Enfin, du fait des interactions complexes liant les organismes du sol et de leur étude au champ, il est impossible de déterminer les interactions ayant eu lieu entre ces organismes et l'impact final de la présence de ces organismes sur la fertilité du sol. Nous ne pouvons ainsi pas établir de relations de causes à effets. En particulier, nous ne pouvons attribuer avec certitude une variation de la fertilité du sol dans le LSA par rapport à l'allée cultivée à une variation de la biomasse et densité des organismes du sol, car ces deux milieux présentent probablement des fonctionnements très différents, pouvant conduire à une réutilisation plus ou moins rapide des nutriments libérés. La détermination des processus à l'œuvre requière une étude en conditions contrôlées. De plus, l'apport d'intrants peut fortement impacter la variation de la fertilité du sol. Par exemple, le manque de réponse claire du N minéral est probablement lié à la fertilisation azotée (organique ou minérale) apportée dans la plupart des allées cultivées. De plus, si des relations ont pu être établies entre les microorganismes et les organismes de la micro et mésofaune dans certaines études (Hunt et al, 1987), la macrofaune impacte une plus grande échelle, a une capacité de déplacement plus importante, un plus haut degré d'omnivorie et une plus grande variabilité de formes ce qui complique son étude. Enfin, le fait que nous n'ayons pas mesuré l'abondance d'organismes pouvant servir d'intermédiaires entre les différents organismes étudiés (micro et mésofaune) nous empêche probablement d'observer des relations claires.

### **3. Conclusion et perspectives**

Ma thèse a permis d'étudier la variation de l'abondance de la macrofaune, de la biomasse et respiration microbienne et de la teneur en C et nutriments avec la distance à l'arbre et au LSA au sein de parcelles agroforestières en allées cultivées du sud de la France. Elle a permis d'étudier plus spécifiquement le rôle du LSA dans la création d'une hétérogénéité spatiale. Cette thèse révèle que bien que le rôle du LSA soit souvent peu mentionné dans les parcelles agroforestières, il est très probablement responsable d'une partie de la variation des propriétés du sol et des organismes du sol dans la parcelle. Ainsi, le LSA forme un habitat favorable pour la macrofaune du sol, en particulier les saprophages. Le LSA est aussi probablement responsable de l'augmentation de la teneur en C dans la ligne d'arbre, par des entrées de matière organique accrues et la non perturbation du sol, augmentant également la croissance microbienne sous le LSA. Cependant, la part de l'impact du LSA versus de l'arbre dans la

variation de la fertilité du sol et de la biomasse microbienne n'est pas si claire, et pourrait dépendre du contexte (pratiques agricoles et de gestion du LSA). L'impact du LSA sur son voisinage est plus variable, et probablement dépendant de l'âge de la parcelle, des pratiques agricoles et des conditions climatiques. L'abondance des saprophages et des microorganismes pourrait être augmentée dans la proximité immédiate du LSA, même si la visibilité de cet effet dépend fortement du site et de la date d'échantillonnage. Les organismes du sol présentent en effet une dynamique importante, que ce soit par des déplacements (macrofaune) ou par une forte dépendance aux modifications des conditions environnementales (microorganismes). Cette thèse a démontré l'intérêt du suivi saisonnier des parcelles, en particulier pour la macrofaune, dont la répartition au sein de la parcelle ne peut être décrite par une simple mesure à un instant *t*. Enfin, nous avons cherché à développer une méthode permettant de quantifier les déplacements de la macrofaune entre LSA et allée cultivée. Cela nous a permis de révéler des mouvements de vers de terre depuis l'allée cultivée vers la zone proche du LSA au printemps, mais remet en question le rôle du LSA comme source de faune.

La confirmation du rôle du LSA dans la provision d'un habitat pour les organismes du sol requière des études additionnelles, présentant un suivi temporel, au sein de parcelles présentant différents modes de gestion du LSA et de l'allée cultivée. En particulier, des études observant de manière plus précise la variation des propriétés du sol le long d'un véritable gradient de distance au LSA sont nécessaires. La détermination des mécanismes à l'œuvre requière également la mise en place de dispositifs expérimentaux répétés. Ceux-ci pourraient consister en l'utilisation de pièges orientés placés à différentes distances du LSA similairement à la technique que nous avons employée dans le chapitre 5. La mise en place de pièges orientés est d'ailleurs actuellement utilisée via des techniques un peu différentes dans le site de Vézénobres (travaux de Yvan Capowiez), et l'élaboration d'une technique optimisée nécessitant un travail moins chronophage pourrait être intéressante afin de permettre une mise en œuvre plus facile et répétable. D'autres techniques pourraient également être utilisées, comme la limitation des échanges entre LSA et allées cultivées par l'instauration de barrières physiques (laissant passer les racines mais pas la macrofaune par exemple). Cependant, ces techniques peuvent entraîner une contrainte forte pour l'agriculteur. Elles pourraient donc plus facilement être mises en places sur des sites dédiés à l'expérimentation –dans lesquels les pratiques de gestion pourraient de plus être davantage contrôlées et uniformes –ou requièrent une collaboration et des échanges plus importants entre chercheurs et agriculteurs. Par exemple, le fort investissement des propriétaires du site de Vézénobres dans les activités de recherche permet d'y réaliser de

nombreuses mesures, et a permis d'y instaurer un dispositif expérimental réduit. De plus, si le maintien d'une plus grande diversité et abondance d'organismes du sol dans le LSA et à proximité du LSA est important face à la perte de biodiversité observée actuellement, son intérêt pour la fourniture de services écosystémiques intéressants d'un point de vue agricole reste grandement à démontrer. La détermination de l'effet final de l'hétérogénéité spatiale de la répartition des organismes du sol au sein de parcelles agroforestières sur la fertilité ou les autres services écosystémiques liés au sol est cependant très complexe à démontrer au champ, et les études en mésocosme ou macrocosme habituellement réalisées pour y remédier ne sont pas optimisées pour étudier des patrons spatiaux aussi importants. Cependant, la reproduction des conditions rencontrées à différentes distances du LSA en conditions contrôlées, ou des expériences d'incubation de sol prélevé à différentes distances du LSA peuvent apporter quelques éléments de réponse. La détermination de l'impact des systèmes agroforestiers sur la fertilité du sol au champ pourrait s'effectuer dans des parcelles présentant des interventions agricoles réduites. En particulier, les effets positifs de l'introduction de lignes d'arbres et du LSA associé dans les parcelles agroforestières ne sont pas forcément valorisés par les pratiques agricoles mises en œuvre dans la plupart de ces systèmes, en particulier ceux à visée expérimentale. Par exemple, le fort impact du travail du sol sur les communautés d'organismes du sol peut limiter l'effet positif de la proximité du LSA. De même, l'apport de fertilisants en quantités importantes ou de pesticides et herbicides empêche probablement d'observer l'impact des lignes d'arbres sur le recyclage des nutriments ou la régulation biologique. La valorisation de systèmes plurispécifiques repose probablement sur une modification des pratiques agricoles habituellement réalisées en systèmes monospécifiques, et il paraît ainsi essentiel d'étudier différentes combinaisons systèmes plurispécifique / pratiques agricoles. Ceci permettrait de proposer des modes de gestion adaptés aux parcelles agroforestières en allées cultivées.

## Références

- Bastida F., Zsolnay A., Hernández T., García C., 2008. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma*, 147, 159-171.
- Battie-Laclau P. et al, 2019. Role of trees and herbaceous vegetation beneath trees in maintaining arbuscular mycorrhizal communities in temperate alley cropping systems. *Plant Soil*.
- Beuschel R., Piepho H.-P., Joergensen R.G., Wachendorf C., 2019. Similar spatial patterns of soil quality indicators in three poplar-based silvo-arable alley cropping systems in Germany. *Biol. Fertil. Soils*, 55, 1-14. Consultable : <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1324-3>.
- Bouché M.B., 1977. Stratégies lombriciennes. *Ecol. Bull.*, 25, 122-132.
- Briones M.J.I., 2018. The serendipitous value of soil fauna in ecosystem functioning: The unexplained explained. *Front. Environ. Sci.*, 6.
- Capowiez Y., 2000. Differences in burrowing behaviour and spatial interaction between the two earthworm species *Aporrectodea nocturna* and *Allolobophora chlorotica*. *Biol. Fertil. Soils*, 30, 341-346.
- Cardinael R. et al, 2018. High organic inputs explain shallow and deep SOC storage in a long-term agroforestry system - Combining experimental and modeling approaches. *Biogeosciences*, 15, 297-317.
- Cardinael R. et al, 2015. Impact of alley cropping agroforestry on stocks, forms and spatial distribution of soil organic carbon — A case study in a Mediterranean context. *Geoderma*, 259-260, 288-299. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.06.015>.
- Chan K.Y., 2001. An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils. *Soil Tillage Res.*, 57, 179-191.
- Cubera E., Nunes J.M., Madeira M., Gazarini L., 2009. Influence of *Quercus ilex* trees on herbaceous production and nutrient concentrations in southern Portugal. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 172, 565-571.
- Doblas-Miranda E., Sánchez-Piñero F., González-Megías A., 2009. Vertical distribution of

- soil macrofauna in an arid ecosystem: Are litter and belowground compartmentalized habitats? *Pedobiologia (Jena)*, 52, 361-373.
- Domínguez A., Bedano J.C., Becker A.R., 2010. Negative effects of no-till on soil macrofauna and litter decomposition in Argentina as compared with natural grasslands. *Soil Tillage Res.*, 110, 51-59.
- Fanin N., Bertrand I., 2016. Aboveground litter quality is a better predictor than belowground microbial communities when estimating carbon mineralization along a land-use gradient. *Soil Biol. Biochem.*, 94, 48-60. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.11.007>.
- Francioli D. et al, 2016. Mineral vs. organic amendments: Microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies. *Front. Microbiol.*, 7, 1-16.
- Gea-Izquierdo G., Montero G., Cañellas I., 2009. Changes in limiting resources determine spatio-temporal variability in tree-grass interactions. *Agrofor. Syst.*, 76, 375-387.
- Harvey J.A., van der Putten W.H., Turin H., Wagenaar R., Bezemer T.M., 2008. Effects of changes in plant species richness and community traits on carabid assemblages and feeding guilds. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 127, 100-106.
- Hunt H.W. et al, 1987. The detrital food web in a shortgrass prairie. *Biol. Fertil. Soils*, 3, 57-68.
- Kuzyakov Y., Blagodatskaya E., 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biol. Biochem.*, 83, 184-199.
- van Leeuwen J.P. et al, 2017. Effects of land use on soil microbial biomass, activity and community structure at different soil depths in the Danube floodplain. *Eur. J. Soil Biol.*, 79, 14-20. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2017.02.001>.
- Martin-Chave A., Béral C., Mazzia C., Capowiez Y., 2019. Agroforestry impacts the seasonal and diurnal activity of dominant predatory arthropods in organic vegetable crops. *Agrofor. Syst.*, 93, 2067-2083.
- Menezes R.S.C., Salcedo I.H., 1999. Influence of tree species on the herbaceous understory and soil chemical characteristics in a silvopastoral system in semi-arid northeastern Brazil. *Rev. Bras. Cienc. Solo*, 23, 817-826.

- Miller A.W., Pallardy S.G., 2001. Resource competition across the crop-tree interface in a maize-silver maple temperate alley cropping stand in Missouri. *Agrofor. Syst.*, 53, 247-259.
- Moore J.C. et al, 2004. Detritus, trophic dynamics and biodiversity. *Ecol. Lett.*, 7, 584-600.
- Paoletti M.G. et al, 2007. Detritivores as indicators of landscape stress and soil degradation. *Aust. J. Exp. Agric.*, 47, 412-423.
- Pardon P. et al, 2019. *Juglans regia* (walnut) in temperate arable agroforestry systems: effects on soil characteristics, arthropod diversity and crop yield. *Renew. Agric. Food Syst.*
- Roger-Estrade J., Anger C., Bertrand M., Richard G., 2010. Tillage and soil ecology: Partners for sustainable agriculture. *Soil Tillage Res.*, 111, 33-40. Consultable : <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2010.08.010>.
- Romero A., Chamorro L., Sans F.X., 2008. Weed diversity in crop edges and inner fields of organic and conventional dryland winter cereal crops in NE Spain. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 124, 97-104.
- Sauvadet M., Chauvat M., Fanin N., Coulibaly S., Bertrand I., 2016. Comparing the effects of litter quantity and quality on soil biota structure and functioning: Application to a cultivated soil in Northern France. *Appl. Soil Ecol.*, 107, 261-271.
- Unger I.M., Goyne K.W., Kremer R.J., Kennedy A.C., 2013. Microbial community diversity in agroforestry and grass vegetative filter strips. , 395-402.
- Zhou Z., Wang C., Jiang L., Luo Y., 2017. Trends in soil microbial communities during secondary succession. *Soil Biol. Biochem.*, 115, 92-99. Consultable : <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.08.014>.

**Résumé :** Les systèmes agroforestiers en arrangements linéaires sont composés d'une alternance de lignes d'arbres et d'allées cultivées. Leur intérêt dans la fourniture de services écosystémiques commence à être bien démontré. En particulier, ils auraient un impact positif sur l'accessibilité des nutriments, la teneur en carbone des sols et l'augmentation de la biodiversité des invertébrés du sol associés à la fourniture de services écosystémiques (cycle du carbone et des nutriments, régulation des ravageurs, etc). Cependant, peu d'études ont pris en compte l'hétérogénéité spatiale de la fertilité et des organismes du sol au sein de ces systèmes. Une question essentielle est pourtant de déterminer si le fonctionnement du sol est impacté seulement sous la ligne d'arbres, ou si les allées cultivées bénéficient de la présence de cette ligne d'arbres. De plus, les effets positifs des systèmes en allées cultivées sont souvent attribués à l'arbre. Cependant, la ligne d'arbres n'est pas cultivée et le sol n'y est pas travaillé, entraînant le développement d'une végétation majoritairement herbacée, naturelle ou semée, formant un linéaire sous arboré (LSA). Ce LSA pourrait jouer un rôle particulièrement important dans l'apport de matière organique dans les premiers centimètres du sol, et fournir un habitat intéressant pour les organismes du sol. L'objectif de mon projet de doctorat est de déterminer l'impact du LSA sur la variation spatiale de la fertilité du sol et de certains organismes associés (microorganismes et macrofaune), au travers de différentes observations et d'une expérimentation *in situ*.

Pour cela, j'ai étudié dans un premier chapitre les variations de la fertilité et des organismes du sol au sein du LSA (avec la distance à l'arbre) et entre LSA et allée cultivée, dans deux jeunes parcelles en grandes cultures dans le Gers. Cette étude a montré d'une part que la distance à l'arbre ne modifie pas les propriétés de LSA semés. D'autre part, elle a montré que de jeunes LSA peuvent induire une augmentation de la teneur en C et en P disponible dans les premiers cm du sol sous le LSA en comparaison avec l'allée cultivée, mais que leur effet sur la variation de la biomasse et respiration des microorganismes du sol et sur l'abondance de la macrofaune est moins clair. Les organismes du sol peuvent même être négativement impactés par la proximité au LSA. Deuxièmement, j'ai étudié la variation de la fertilité et des organismes du sol en fonction de la distance au LSA à différentes saisons au sein de trois modalités d'ombrage, dans une parcelle de 22 ans cultivée en maraîchage dans le Gard. Cette parcelle a été échantillonnée selon un design permettant de prendre en compte la distance à l'arbre, mais également l'impact de bandes enherbées sans arbres. Cette étude a montré que le LSA impacte fortement l'abondance de la macrofaune du sol et l'efficacité des microorganismes dans le LSA indépendamment de la présence et proximité à l'arbre, mais qu'il induit peu d'hétérogénéité au sein de l'allée cultivée dans sa proximité immédiate. De plus, la présence des arbres impacte davantage la fertilité du sol que le LSA. Enfin, il existe une grande variabilité de la réponse des organismes du sol en fonction de la saison, le LSA pouvant être un refuge pour la macrofaune à certaines saisons, alors que la distribution de la macrofaune dans la parcelle est plus homogène à d'autres saisons. J'ai étudié dans un dernier chapitre les mouvements de vers de terre à proximité du LSA dans une parcelle de 23 ans en grandes cultures près de Montpellier. Cette étude suggère qu'au printemps, les vers de terre endogés se déplacent davantage vers le LSA que vers l'allée cultivée.

**Mots clés :** linéaire sous arboré – agroforesterie – macrofaune du sol – biomasse microbienne – carbone organique du sol – fertilité du sol

**Abstract:** Alley cropping systems are composed tree rows alternating with crop alleys. Their interest in providing ecosystem services is increasingly acknowledged. In particular, they could have a positive impact on nutrient accessibility, soil carbon content and increased soil invertebrate biodiversity associated with the provision of ecosystem services (carbon and nutrient cycling, pest regulation, etc). However, few studies have taken into account the spatial heterogeneity of soil fertility and soil organisms within these systems. A key question, however, is whether soil functioning is impacted only below the tree row, or whether crop alleys benefit from the presence of the tree row. Moreover, the positive effects of alley cropping systems are often attributed to the tree. However, the tree row is not cultivated and not tilled, resulting in the development of predominantly herbaceous vegetation, either natural or seeded, forming an understory vegetation strip (UVS). This UVS could play a particularly important role in providing organic matter in the first few centimeters of the soil, and provide an interesting habitat for soil organisms. The objective of my PhD thesis is to determine the impact of the UVS on the spatial variation of soil fertility and some associated organisms (microorganisms and macrofauna), through various observations and an experimentation *in situ*.

I studied in a first chapter the variations of soil fertility and soil organisms within the UVS (with the distance to the tree) and between UVS and crop alleys, in two young plots in the South-West France. This study has shown on the one hand that the distance to the tree does not modify the properties of the UVS with sown UVS. On the other hand, it showed that young UVS can induce an increase in the C and available P contents in the first centimeters of soil under the UVS compared to the crop alley, but that their effect on the variation of soil microbial biomass and respiration and on the abundance of macrofauna is less clear. Soil organisms may even be negatively impacted by the proximity to the UVS. Secondly, I studied the variation of fertility and soil organisms with the distance to the UVS at different seasons within three shade treatments in a 22 year old market gardening plot in the South of France. This plot was sampled using a design that took into account the distance to the tree, but also the impact of herbaceous strips without trees. This study showed that the UVS has a strong impact on the abundance of soil macrofauna and the efficiency of microorganisms in the UVS independently of the presence and proximity to the tree, but that it induces little heterogeneity within the crop alley in its immediate vicinity. Moreover, the presence of trees has a greater impact on soil fertility than the UVS. Finally, there is a great variability in the response of soil organisms depending on the season, and the UVS can be a refuge for macrofauna at some seasons, while the distribution of macrofauna in the plot is more homogeneous at other seasons. In a final chapter, I studied the movement of earthworms near the UVS in a 23 year old plot near Montpellier. This study suggests that in spring, inoculated earthworms move more towards the UVS than towards the crop alley.

**Keywords:** understory vegetation strip – agroforestry – soil macrofauna – microbial biomass – soil organic carbon – soil fertility