



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

ECOLE SUPERIEURE DES SCIENCES AGRONOMIQUES

ECOLE DOCTORALE AGRICULTURE-ELEVAGE-ENVIRONNEMENT



THESE

Pour l'obtention du diplôme de **Doctorat en Sciences Agronomiques**

VERS DE TERRE ET SERVICES ECOSYSTEMIQUES EN RIZICULTURE PLUVIALE A MADAGASCAR. CONNAISSANCES DES PROCESSUS ET PROPOSITIONS D'INNOVATIONS AGRICOLES

Par

Onja Hasinahary RATSIATOSIKA

Soutenue le xx xxxxx 2018 devant le jury composé de

Jean de Neupomuscène
RAKOTOZANDRINY

Professeur titulaire
ESSA - Université d'Antananarivo

**Président
du Jury**

Heriniaina
RAMANANKIERANA

Professeur
CNRE

**Rapporteur
externe**

Harilala
ANDRIAMANIRAKA

Docteur/HDR
ESSA - Université d'Antananarivo

**Rapporteur
interne**

Lala Sahondra
RAFARASOA

Professeur
Faculté des Sciences - Université d'Antananarivo

**Examineur
externe**

Tovo
RAFOLISY

Docteur/HDR
LRI – Université d'Antananarivo

**Examineur
interne**

Eric
BLANCHART

Docteur/HDR
IRD – UMR Eco&Sols Montpellier

**Directeur de
thèse**

Tantely
RAZAFIMBELO

Professeur titulaire
LRI - Université d'Antananarivo

**Co-directeur
de thèse**



IN GOD I TRUST

"From Him come knowledge and understanding"

Prov 2:6 b

A la mémoire de dada « ZAFLI »

A ma chère et tendre neny « RASOARINORO Marie Bernadette »

A ma petite nièce « RATSIATOSIKA Miahly Mioraniaina »

REMERCIEMENTS

Ce travail achevé, je tiens à remercier toutes les personnes et entités qui ont pris part d'une manière ou d'une autre tout au long de l'élaboration de cette thèse.

Mes premiers remerciements s'adressent tout d'abord au Docteur Eric BLANCHART, Docteur/HDR, Directeur de recherche à l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD), pour avoir dirigé et encadré mon travail de thèse. Depuis mon mémoire d'ingénieur en 2014, vous m'avez su patiemment transférer votre intérêt pour les vers de terre. Je vous suis très reconnaissante d'avoir guidé mes premiers pas dans la recherche scientifique et de m'avoir laissée la chance de poursuivre mes études en thèse. Votre soutien permanent, vos conseils constructifs et toute la confiance que vous avez pu me témoigner tout au long de mon apprentissage dans la recherche me sont très indispensables pour ma carrière scientifique.

Mes pensées les plus sincères s'adressent au Professeur Tantely RAZAFIMBELO, Professeur titulaire, Directrice du Laboratoire des RadioIsotopes (LRI), qui a bien voulu accepté d'être mon co-directeur de thèse. Je vous remercie infiniment de m'avoir accompagnée tout au long de ma thèse. J'ai pu bénéficier de votre expérience académique, vos conseils techniques et encadrements scientifiques et surtout votre temps précieux que vous m'avez toujours consacré malgré vos obligations. Merci de m'avoir fait confiance pour mener cette thèse.

Mes profondes gratitude vont aussi à l'encontre de Professeur RAKOTOZANDRINY Jean de Neupomuscène qui a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Je remercie vivement et sincèrement Docteur/HDR Harilala ANDRIAMANIRAKA et Professeur Heriniaina RAMANANKIERANA d'avoir voulu rapporter cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères reconnaissances.

Mes vifs remerciements s'adressent au Professeur Lala Sahondra RAFARASOA et Docteur/HDR Tovo RAFOLISY d'avoir accepté de siéger parmi les membres de jury et d'évaluer cette thèse malgré les nombreuses et précieuses occupations qui leur incombent.

Mes sincères reconnaissances s'adressent au Professeur Lilia RABEHARISOA, Professeur titulaire, Directrice de l'Ecole Doctorale Agriculture – Elevage – Environnement (ED A2E), de m'avoir accueillie dans l'unité du LRI pendant mon mémoire d'ingénieur et d'avoir autorisé mon inscription en thèse en 2015 malgré la difficulté de transition entre l'ancien régime académique et le système LMD actuel.

J'adresse mes respectueuses reconnaissances au Docteur Laetitia BERNARD, Professeur Stéphane DE TOURDONNET, Docteur Bodovololona RABARY, Docteur Paulo SALGADO qui ont suivi cette thèse depuis le début au travers des réunions de comités et des rapports d'avancement. Je ne saurai assez vous remercier pour vos exigences scientifiques et vos conseils judicieux.

Mes sincères remerciements vont également au Docteur Jean TRAP, chargé de recherche à l'IRD pour son aide considérable dans les traitements statistiques, pour les discussions fructueuses de mes expérimentations dans son bureau et même pour tous les travaux sur terrain à Lazaina.

Je tiens à témoigner mes vives reconnaissances au Docteur Malalotiana RAZAFINDRAKOTO, post-doc au LRI pour ses appuis inestimables depuis mon mémoire d'ingénieur jusqu'à l'aboutissement de ma thèse.

Il me serait impossible d'oublier de remercier toutes les équipes de mes laboratoires d'accueil à Antananarivo (LRI) et à Montpellier (UMR Eco&Sols) sous la direction de Docteur Jean-Luc CHOTTE. Merci à tous les chercheurs, techniciens et personnels administratifs de ces laboratoires pour leur accueil chaleureux et leur transfert de compétences. Un grand merci particulier à Marie-Paule RAZAFIMANANTSOA, Josiane ABADIE, Jean Marc SOUQUET, Jean Larvy DELARIVIERE et Nancy RAKOTONDRAZAFY de m'avoir partagée leurs expériences enrichissantes dans tous les travaux de laboratoire réalisés dans cette thèse.

Je remercie le Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC) - Ambassade de France à Madagascar d'avoir soutenu financièrement mes séjours à Montpellier grâce à la bourse du gouvernement français (BGF) en 2015 et en 2017.

Je ne saurais oublier de remercier les personnels administratifs de l'IRD pour l'organisation des travaux sur terrain et surtout les chauffeurs qui m'ont été d'une aide considérable dans la collecte des vers de terre et les divers travaux aux champs. Un grand merci particulier à Modeste RAKOTONDRA MANANA pour ses aides précieuses dans tous mes travaux de terrain.

Je remercie également tous mes collègues doctorants A2E basés au LRI pour la solidarité qui existe entre nous, la grande aventure des tournages des films sur nos travaux de thèse, tout votre soutien lors du concours « ma thèse en 180 secondes ». Une pensée particulière à Harimenja, je te remercie pour ton amitié infaillible et ta gentillesse inestimable.

Je veux faire part aussi de toute ma gratitude à Ihaga RAINIHANJARIMANANA et Eric RANDRIANASOLO, les stagiaires en M2 qui ont réalisé leurs mémoires de fin d'étude dans le cadre de cette thèse.

Mes pensées vont aussi à ma famille qui m'a soutenue moralement et spirituellement pendant toute ma thèse. Merci infiniment pour votre soutien financier lors de ma dernière année de thèse où je n'avais plus de bourse.

Un grand merci à la personne qui me sert de modèle et de source d'inspiration. Merci pour tous les jours où tu me motives et m'encourages dans la réalisation de cette thèse.

RESUME

Les organismes du sol jouent un rôle clé dans les grandes fonctions écologiques du sol à la base des services écosystémiques : (i) le recyclage des nutriments, (ii) la dynamique des matières organiques, (iii) le maintien de la structure du sol, et (iv) la régulation des pathogènes. Dans l'optique d'améliorer la productivité et la durabilité agricole à Madagascar, la présente thèse vise à mieux comprendre l'implication des vers de terre dans les grandes fonctions écologiques du sol et dans la réponse de la plante et à tester la faisabilité de l'introduction des vers de terre au champ dans des systèmes rizicoles pluviaux des Hautes Terres de Madagascar. Pour cela, diverses expériences à différentes échelles ont été réalisées pour mieux comprendre l'effet de ces organismes sur les sols très peu fertiles et particulièrement fixateurs en phosphore que sont les Ferralsols des collines des Hautes-Terres de Madagascar.

Nos résultats en laboratoire montrent que les vers de terre (*Pontoscolex corethrus*) affectent positivement la nutrition et la croissance de la plante. L'amplitude de cet effet positif dépend essentiellement de la réponse des variétés. Nous avons trouvé une augmentation de la quantité de N total accumulée dans les parties aériennes du riz variant de 11% à 355% en présence des vers de terre. Pour la quantité de P total, cette hausse varie de 37% à 145%. En outre, la biomasse aérienne augmente de 27% à 99% en présence de vers de terre. A part la croissance et la nutrition des plantes, les vers de terre ont également un rôle important dans la régulation des pathogènes. L'interaction de l'apport de vers de terre et de la silice permet de réduire la sévérité globale de la pyriculariose tout en augmentant la croissance de la plante.

Au champ, l'introduction des vers de terre a permis une augmentation respective de 44% et de 14% des quantités de N total et P total dans la biomasse aérienne à la récolte du riz. Par ailleurs, les vers de terre affectent positivement la biomasse aérienne (+28%) et le rendement en grains du riz (+45%) au bout de 3 ans. Une amélioration de la séquestration de C est également induite par la présence de vers de terre. Le stock annuel de C augmente de 0,61 MgC ha⁻¹ an⁻¹ dans les sols où l'on a introduit des vers de terre pendant trois années. Ceci est probablement lié à l'amélioration de la structure du sol via une augmentation (+11%) de l'agrégation du sol.

Grâce aux effets bénéfiques des vers de terre dans la mise place de plusieurs services agrosystémiques, la biofertilisation à base de vers de terre ou une optimisation par différentes pratiques de l'action de ces organismes constituent des pistes prometteuses dans le cadre d'une intensification écologique de l'agriculture. Cette pratique innovante pourrait être une solution capitale pour améliorer la production agricole dans les agrosystèmes tropicaux bas intrants.

Mots-clés : Ingénieurs du sol, Agro-écologie, Phosphore, Agrosystèmes tropicaux bas intrants, Croissance végétale, Intensification écologique du sol

ABSTRACT

Soil organisms play a key role in the soil ecological functions at the basis of soil ecosystem services: (i) recycling of soil nutrients, (ii) decomposition of organic materials, (iii) maintenance of soil structure, and (iv) regulation of pests and pathogens. With the outcome to improve the productivity and sustainability of cropping systems in Madagascar, the present thesis aims to better understand the role of earthworms in the soil ecological functions and plant responses, and to test the feasibility of earthworm inoculation in field conditions in the rainfed rice systems in the Highlands of Madagascar. Numerous experiments at different scales were conducted in order to better understand the role of these organisms in very nutrient and carbon poor, phosphorus-fixing soils such as Ferralsols on hills in Malagasy Highlands.

In the laboratory, our results show that earthworms (*Pontoscolex corethrurus*) positively affect plant nutrition and growth. The magnitude of this positive effect depends essentially on the responsiveness of cultivars to the presence of earthworms. We found an increase ranged from 11% to 355% of the amounts of total N accumulated in the aerial parts of rice. For the total P amounts, such increase varied between 37% and 145%. In addition, aboveground biomass increases from 27% to 99% in the presence of earthworms. A part from plant growth and nutrition, earthworms also have an important role in the regulation of pathogens. The interaction of earthworm and silicon inputs reduces the overall severity of blast disease while increasing plant growth.

In the field, the earthworm inoculation increases by 44% and 14%, respectively the total N and total P amounts in the aboveground biomass of plant at rice harvest. In addition, earthworms positively affect aboveground biomass (+ 28%) and grain yields of rice (+ 45%) after 3 years. An improvement of C sequestration is also induced by earthworm presence. The annual C stock increases by 0.61 MgC ha⁻¹ year⁻¹ in soils where earthworms were introduced during three years. This is probably related to the improvement of soil structure by an increase (+ 11%) of the soil aggregation.

Thanks to the beneficial effects of earthworms in several agroecosystem services, the earthworm biofertilization or the optimization of their activity through various practices appear as promising ways to meet the context of ecological intensification of agriculture. This innovative practice could be a key solution for improving agricultural production in low input tropical agro-ecosystems.

Keywords : Soil engineers, Agroecology, Phosphorus, Low input tropical agro-ecosystems, Plant growth, Soil ecological intensification

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	vii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES PHOTOS	xiii
LISTE DES TABLES	xiv
Introduction générale.....	1
1 Contexte et problématique.....	1
1.1 Contexte général : l’agro-écologie comme modèle d’agriculture durable	1
1.2 Contexte local : le développement de l’agro-écologie à Madagascar pour améliorer la sécurité alimentaire et atténuer le changement climatique.....	2
2 État de l’art.....	3
2.1 Biens et services écosystémiques	3
2.2 Biodiversité du sol et fonctions écologiques	4
2.3 Les vers de terre comme ressource pour une agriculture durable	6
3 Stratégie de recherche	11
3.1 Objectif général	11
3.2 Questions scientifiques et hypothèses	12
3.3 Organisation des travaux de thèse	14
Chapitre 1 : Effet de l’introduction des vers de terre au champ, en situation paysanne, sur la croissance et le rendement du riz et d’autres services agrosystémiques	17
1 Introduction	18
2 Matériels et méthodes.....	19
2.1 Site d’étude	19
2.2 Dispositif expérimental.....	22
2.3 Traitement des données	28
3 Résultats	30
3.1 Paramètres du sol au début de l’expérimentation	30
3.2 Paramètres du sol à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale (2015 - 2016).....	32
3.3 Évolution des propriétés du sol au cours du temps	36

3.4	Evolution des propriétés agronomiques	40
3.5	Propriétés biologiques à la fin de la 4 ^{ème} saison culturale (2016 - 2017)	48
4	Discussion	51
4.1	Population des vers de terre	51
4.2	Effet des vers de terre sur les propriétés pédologiques.....	52
4.3	Effet des vers de terre sur les propriétés agronomiques	54
4.4	Effet du mode de gestion du sol sur les propriétés pédologiques et agronomiques ..	55
4.5	Effet de l'interaction entre l'introduction de vers de terre et le mode de gestion du sol sur les propriétés pédologiques et agronomiques.....	56
5	Conclusion.....	56
CHAPITRE 2 : Approche expérimentale en mésocosmes.....		58
Chapitre 2.1 : Effet des groupes fonctionnels de vers de terre, qualité des résidus et localisation des résidus sur la croissance et le rendement du riz		59
Présentation du chapitre 2.1		59
1	Introduction	61
2	Materials and methods	62
2.1	Study site and soil sampling	62
2.2	Experimental design	63
2.3	Mesocosm set-up	63
2.4	Plant growth.....	64
2.5	Plant and soil analyses	64
2.6	Statistical analyses	65
3	Results	67
3.1	Earthworm presence	67
3.2	Soil properties.....	67
3.3	Plant biomass.....	67
3.4	Rice grain yields and phosphorus acquisition	70
4	Discussion	70
4.1	Earthworm presence	70
4.2	Residue presence and identity	72
4.3	Location of residues.....	73

4.4	Effect of interaction between earthworms and residues	73
5	Conclusion.....	74
6	Synthèse du chapitre 2.1.....	75
	Chapitre 2.2 : Effet des vers de terre et des résidus sur la résilience des agrosystèmes au changement climatique.....	76
	Présentation du chapitre 2.2	76
1	Introduction	78
2	Materials and methods	79
2.1	Study site	79
2.2	Mesocosm set-up	80
2.3	Experimental design	80
2.4	Soil sampling and CO ₂ flux measurement.....	80
2.5	Statistical analyses	81
3	Results	81
3.1	Earthworm survival rate	81
3.2	Cumulative CO ₂ emissions	81
3.1	Soil respiration rate.....	83
3.2	Delta CO ₂	85
3.3	Q10	85
3.4	Nutrient availability	86
4	Discussion	88
4.1	Effect of earthworm presence and species identity	88
4.2	Effect of residue location.....	88
4.3	Soil temperature sensitivity	89
5	Conclusion.....	89
6	Synthèse du chapitre 2.2.....	91
	CHAPITRE 3 : Approche expérimentale en microcosmes	92
	Chapitre 3.1 : Caractérisation des activités phosphatasiques et suivi de la dynamique de phosphore inorganique dans les déjections de vers de terre.....	93
1	Introduction	94
2	Matériels et méthodes.....	95

2.1	Elevage de vers de terre	95
2.2	Expérience 1	96
2.3	Expérience 2	99
3	Résultats	100
3.1	Les principales molécules organiques phosphorées dans les turricules des vers de terre 100	
3.2	Les activités phosphatasiques dans les turricules des vers de terre et dans le sol ...	101
3.3	Évolution de la teneur en P extractible à la soude dans les turricules	102
3.4	Dynamique temporelle de Pi dans les turricules des vers de terre	103
4	Discussion	104
5	Conclusion.....	106
Chapitre 3.2 : Effet des vers de terre et de la dolomie sur les flux de P à l'interface sol-plante par marquage isotopique		107
Présentation du chapitre 3.2		107
1	Introduction	109
2	Materials and Methods	111
2.1	Soil sampling and preparation	111
2.2	Dolomite supply	111
2.3	Earthworms sampling, preparation and P analysis	111
2.4	Experimental design	112
2.5	Soil ³² P labelling.....	112
2.6	Microcosm set up.....	112
2.7	Plant measurements at the end of the experiment	112
2.8	Earthworm effect on soil aggregation and survival rates	113
2.9	Earthworm P turnover versus engineering activity in plant P gain	114
2.10	Statistical analyses	114
3	Results	114
3.1	Survival and engineering activity of earthworms.....	114
3.2	Effects of earthworms and dolomite on rice nutrition and growth.....	115
3.3	Earthworm turnover and engineering activity in plant P gain following inoculation 116	

4	Discussion	119
4.1	Survival and engineering activity of earthworms.....	119
4.2	Effects of earthworms and dolomite on rice nutrition and growth.....	119
4.3	Effects of earthworms and dolomite on rice P uptake: effect size and sources.....	120
5	Conclusion.....	122
6	Synthèse du chapitre 3.2.....	123
	Chapitre 3.3 : Réponse des différentes variétés du riz à la présence des vers de terre	124
	Présentation du chapitre 3.3	124
1	Introduction	126
2	Materials and methods	127
2.1	Soil sampling	127
2.2	Experimental design	127
2.1	Microcosm set-up	128
2.1	Measurements	128
3	Results	130
3.1	Earthworm survival rate	130
3.2	Effect of treatments on plant parameters	131
3.3	Ecological performance of rice cultivars.....	136
3.1	Trade-off between ecological and agronomic performances of rice cultivars	138
4	Discussion	139
4.1	Effect of earthworms	139
4.2	Response of rice cultivars to earthworms.....	140
5	Conclusion.....	141
6	Synthèse du chapitre 3.3.....	142
	Chapitre 3.4 : Effet des vers de terre sur la résistance du riz à la pyriculariose.....	143
1	Introduction	144
2	Matériels et Méthodes	146
2.1	Traitements étudiés.....	146
2.2	Description de l'essai.....	147
2.3	Inoculation du champignon	147

2.4	Autres mesures	148
2.5	Statistiques.....	148
3	Résultats	148
3.1	Survie des vers de terre.....	148
3.2	Biomasses du riz.....	149
3.3	Azote et phosphore accumulés dans les tissus du riz	150
3.4	Sévérité de la maladie.....	152
3.5	Compromis entre le gain de biomasse et la sévérité de la maladie	152
4	Discussion	153
4.1	Effet de la fertilisation en NPK	153
4.2	Effet de la silice	154
4.3	Effet des vers de terre	156
4.4	Effet de l'interaction entre silice et vers de terre.....	157
5	Conclusion.....	157
	Discussion générale et perspectives	159
1	Synthèse et discussion des résultats	160
1.1	Implications des vers de terre dans les grandes fonctions écologiques du sol à l'origine des services agrosystémiques: essais en microcosmes et en mésocosmes.....	161
1.2	Impacts des fonctions des vers de terre sur les services agrosystémiques dans les systèmes rizicoles pluviaux en situation paysanne	164
2	Aspect pratique de ce travail et perspectives.....	166
2.1	Biofertilisation à base de vers de terre : une proposition d'innovation agricole	166
2.2	Des nouvelles pistes de recherche	168
	Références bibliographiques	170

LISTE DES ABREVIATIONS

AC	:	Agriculture de conservation
AMP	:	Adénosine monophosphate
ANCOVA	:	Analyse de covariance
ANOVA	:	Analyse de variance
AP	:	Agronomic performance
ASS	:	Afrique Sub-Saharienne
ATP	:	Adénosine triphosphate
B	:	Bloc
BA	:	Biomasse aérienne
BR	:	Biomasse racinaire
BT	:	Biomasse totale
CIRAD	:	Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement
Da	:	Densité apparente
EP	:	Ecological performance
F6P	:	Fructose-6 phosphate
FAO	:	Food and agriculture organization
FOFIFA	:	Foibem-pirenena momba ny fikarohana ampiharina amin'ny fampanandrosoana ny ambany vohitra
Fr1-6P	:	Fructose 1-6 bisphosphate
G6P	:	Glucose-6 phosphate
HPiC	:	Chromatographie ionique capillaire haute pression
IAA	:	Acide indol-acétique
ISR	:	Induction de résistance systémique
L	:	Location of residues
LA	:	Leaf area
LAR	:	Labour avec restitution
LDMC	:	Leaf dry matter content
LRI	:	Laboratoire des radio-isotopes
LSR	:	Labour sans restitution
MGS	:	Facteur « mode de gestion du sol »

MO/OM	:	Matière organique/organic matter
NDVI	:	Normalized difference vegetation index
PCA	:	Principal component analysis
PCE	:	Percentage changes induced by earthworms
PGPR	:	Plant Growth Promoting Bacteria
Pi	:	Phosphore inorganique
Pi-NaOH	:	Phosphore inorganique extractible à la soude
Po	:	Phosphore organique
Po-NaOH	:	Phosphore organique extractible à la soude
PRI	:	Photochemical reflectance index
PrP	:	Pyrophosphate de sodium
Ptot-NaOH	:	Phosphore total extractible à la soude
PUE	:	Phosphorus uptake efficiency
R	:	Residue input
SC	:	Saison culturale
SEV_GI	:	Sévérité globale de la pyriculariose
SLA	:	Specific leaf area
Sol_i	:	Caractéristique du sol initial
SOM	:	Soil organic matter
SR	:	Rapport entre biomasse aérienne et biomasse racinaire (shoot:root ratio)
St	:	Stock
SV	:	Sans vers de terre
TSBF	:	Tropical Soil Biology and Fertility
UMR Eco&sols	:	Unité mixte de recherche « Ecologie fonctionnelle et biogéochimie des sols et des agroécosystèmes
V	:	Avec vers de terre
VDT	:	Facteur « vers de terre »

LISTE DES FIGURES

Introduction générale

- Figure 1** : Schéma conceptuel du fonctionnement du sol décrivant l'importance des interactions entre groupes fonctionnels du sol pour la réalisation des 4 principales fonctions écologiques nécessaires à la fourniture des services agrosystémiques. 5
- Figure 2** : Schéma conceptuel de la thèse..... 15

Chapitre 1: Approche expérimentale au champ

Effet de l'introduction des vers de terre au champ, en situation paysanne, sur la croissance et le rendement du riz et d'autres services agrosystémiques

- Figure 3** : Localisation de la zone d'étude 20
- Figure 4** : Courbe ombrothermique de Gaussen, Station Ivato Aéroport 2006 – 2012..... 20
- Figure 5** : Courbe ombrothermique de Gaussen pour la 1^{ère} saison (2013 – 2014) (5a), la 2^{ème} saison (2014 - 2015) (5b) et la 3^{ème} saison culturale (2015 – 2016) (5 c)..... 21
- Figure 6** : Pluviométrie pour chaque saison culturale durant l'expérimentation 21
- Figure 7** : Dispositif expérimental de l'essai vers de terre à Lazaina (Google Earth, 2014) .. 22
- Figure 8** : Plan du dispositif expérimental..... 23
- Figure 9** : Schéma montrant les opérations culturales réalisées au cours des quatre saisons culturales (SC) 28
- Figure 10** : Teneur (Figure 10a) et Stock en C (Figure 10b) selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). 33
- Figure 11** : Teneur (Figure 11a) et Stock en NH₄ (Figure 11b) selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). 33
- Figure 12** : Teneur (Figure 12a) et Stock en P (Figure 12b) selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). 34
- Figure 13** : Densité apparente selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4).. .. 34
- Figure 14** : Teneur (Figure 14a) et Stock en C (Figure 14b) selon le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). 35
- Figure 15** : Teneur (Figure 15a) et Stock en NH₄ (Figure 15b) selon le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). 35
- Figure 16** : Teneur (Figure 16a) et Stock en P (Figure 16b) selon le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). 36
- Figure 17** : Densité apparente selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016)..... 36

Figure 18 : Différence entre le stock de C à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale et le début de l'expérience selon l'apport des vers de terre (Figure 18a) et le mode de gestion du sol (Figure 18b).	37
Figure 19 : Différence P entre le stock de P à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale et le début de l'expérience selon l'apport des vers de terre (Figure 19a) et le mode de gestion du sol (Figure 19b).	38
Figure 20 : Différence de la densité apparente entre la fin de la 3 ^{ème} saison culturale et le début de l'expérience selon l'apport des vers de terre (Figure 20a) et le mode de gestion du sol (Figure 20b).	39
Figure 21 : Différence de la densité apparente entre la fin de la 4 ^{ème} saison culturale et le début de l'expérience selon l'apport des vers de terre (Figure 21a) et le mode de gestion du sol (Figure 21b).	39
Figure 22 : Pourcentage pondéral des agrégats > 2 mm (% du sol total) selon l'apport des vers de terre (22a) et le mode de gestion du sol (22b) à la 4 ^{ème} année d'expérimentation (2017).	40
Figure 23 : Evolution de la croissance en hauteur du riz selon l'apport de vers de terre à la 3 ^{ème} saison culturale (2015 - 2016).	41
Figure 24 : Evolution de la croissance en hauteur du riz au cours de son stade physiologique le mode de gestion du sol à la 3 ^{ème} saison culturale (2015 - 2016).	41
Figure 25 : Biomasses aérienne (BAT) et racinaire (BR) du riz selon l'apport de vers de terre à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale (2015 - 2016).	42
Figure 26 : Biomasses aérienne (BAT) et racinaire (BR) du riz selon le mode de gestion du sol à la 3 ^{ème} de l'expérimentation (2016).	43
Figure 27 : Rapport entre biomasse aérienne (BAT) et racinaire (BR) du riz selon l'apport de vers de terre à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale (2015 - 2016).	44
Figure 28 : Rapport entre biomasse aérienne (BAT) et racinaire (BR) du riz le mode de gestion du sol à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale (2015 - 2016).	44
Figure 29 : Rendements en grains du riz selon l'apport de vers de terre à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale (2015 – 2016).	45
Figure 30 : Rendements en grains du riz selon le mode de gestion du sol à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale (2015 - 2016).	45
Figure 31 : Quantité de N accumulé par les pailles de riz à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale selon l'apport de vers de terre (Figure 31a) et le mode de gestion du sol (Figure 31b).	46
Figure 32 : Quantité de P accumulé par les pailles de riz à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale selon l'apport de vers de terre (Figure 32a) et le mode de gestion du sol (Figure 32b).	47

Figure 33 : Quantités de N (Figure 33a) et P exportés (Figure 33b) par le riz à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale (2015 – 2016) selon l’apport de vers de terre.	47
Figure 34 : Quantité de N (Figure 34a) et P exportés (Figure 34b) par le riz à la fin de la 3 ^{ème} saison culturale (2015 -2016) selon le mode de gestion du sol.	48
Figure 35 : Densité des vers de terre à la fin de la 4 ^{ème} saison culturale (2016 -2017) selon l’apport de vers de terre (Figure 35a) et le mode de gestion du sol (Figure 35b)..	49
Figure 36 : Densité des vers de terre suivant leur stade de croissance et le mode de gestion du sol LSR (Figure 36a), LAR (Figure 36b), AC (Figure 36c) dans les parcelles témoins sans introduction de vers de terre (SV)	50
Figure 37 : Densité des vers de terre suivant leur stade de croissance et le mode de gestion du sol LSR (Figure 37a), LAR (Figure 37b), AC (Figure 37c) dans les parcelles avec introduction de vers de terre (V)	50
Figure 38 : Population des nématodes à la fin de la 4 ^{ème} année d’expérimentation selon l’apport de vers de terre (Figure 38a), le mode de gestion du sol (Figure 38b).	51

Chapitre 2: Approche expérimentale en mésocosmes

Chapitre 2.2 : Effet des vers de terre et des résidus sur la résilience des agrosystèmes au changement climatique

Figure 39 : Cumulative CO ₂ emissions per gram of C during the incubation. Error bars represent the standard deviation. Earthworm treatments are abbreviated as following: <i>Dichogaster saliens</i> (DI), <i>Pontoscolex corethrurus</i> (PO), Without earthworms (WE).....	84
Figure 40 : Respiration rate per gram of C during the incubation. Error bars represent the standard deviation. Earthworm treatments are abbreviated as following: <i>Dichogaster saliens</i> (DI), <i>Pontoscolex corethrurus</i> (PO), Without earthworms (WE).....	84
Figure 41 : Difference between cumulative CO ₂ per gram of C emitted at 35°C and 25°C (delta CO ₂ (35°C – 25°C)) during the incubation.	87
Figure 42 : Soil temperature sensitivity (Q ₁₀) during the incubation.....	87

Chapitre 3: Approche expérimentale en microcosmes

Chapitre 3.1 : Caractérisation des activités phosphatasiques et suivi de la dynamique de phosphore inorganique dans les déjections de vers de terre

Figure 43 : Prélèvement des turricules de surface (gauche) et mise en incubation dans des piluliers placés dans un bocal contenant de l’eau (droite)	95
Figure 44 : Chromatographie ionique haute pression (HPiC).....	96

Figure 45 : Concentration (μM) de différentes formes de P organique identifiées par l'HPiC dans les turricules des vers de terre selon leur âge	100
Figure 46 : Activités enzymatiques phosphatasiques dans le sol témoin et dans les turricules des vers de terre âgés de 0 jour (T0), de 2 jours (T2), de 5 jours (T5), de 8 jours (T8), de 15 jours (T15) et de 21 jours (T21).....	101
Figure 47 : Relation entre l'activité Fr1-6Pase et la teneur en Pi extractible à la soude dans les turricules	102
Figure 48 : Evolution des teneurs en P extractibles à la soude dans les turricules des vers de terre	102
Figure 49 : Relation entre la concentration en G6P et la teneur en Pi extractible à la soude dans les turricules des vers de terre	103
Figure 50 : Teneur en Pi-résine dans les turricules des vers de terre selon leur âge.....	103

Chapitre 3.2 : Effet des vers de terre et de la dolomie sur les flux de P à l'interface sol-plante par marquage isotopique

Figure 51 : Soil aggregation rate (% of total soil weight) according to dolomite (DL) and earthworms (EW) treatments.	115
Figure 52 : Principal Component Analysis performed on plant variables parameters. (A) Dolomite ("D") and earthworm ("E") treatment ordination (labels as barycentres) on the individual (black circle) factorial map. (B) Circle of correlations with active (bold) and supplementary (italic) variables. (C) Eigenvalue diagram. T : total rice biomass ; S : final shoot biomass; R : final root biomass ; S:R : shoot:root ratio ; P _t : P in plant biomass ; P _s : P amount in shoot ; P _r : P amount in root ; N : N amount in shoot ; K : K amount in shoot ; Ca : Ca amount in shoot ; Mg : Mg amount in shoot ; Ca:Mg : Ca:Mg ratio in shoot ; K:CM : K:(Ca+Mg) ration in shoot; L-value : L-value in shoot ; NDVI : Normalized Difference Vegetative Index; PRI : Photochemical Reflectance Index.	118
Figure 53 : Estimation of earthworm P turnover contribution on plant P gain following earthworm inoculation expressed in % of the L-value. -DL: absence of dolomite; +DL: presence of dolomite.	119

Chapitre 3.3 : Réponse des différentes variétés du riz à la présence des vers de terre

Figure 54 : Earthworm survival rate at the end of the experiment.....	131
Figure 55 : Principal Component Analysis performed on plant parameters. (A) Earthworm treatment ordination on the individual (black circle) factorial map. (B) Circle of correlations on the axis 1 and 2 of the factorial plan. (C) Contribution (%) of variables in axis 1. (D) Eigenvalue diagram. LA: leaf area; LDMC: leaf dry matter	

content; PRI: photochemical reflectance index; NDVI: normalized difference vegetation index; SR: shoot:root ratio; TB: total biomass; SHOOT_P: total P amount in shoot, ROOT_P: total P amount in root; PLANT_P: total P amount in plant; SHOOT_N: total N amount in shoot; PUE: phosphorus uptake efficiency 135

Figure 56 : Area of radar graph showing the ecological performance (i.e. the response of rice cultivars to the presence of earthworms) of each rice cultivar. 137

Figure 57 : Responsiveness of plant functional traits to earthworm presence. Values of ordinates corresponds to the percentage changes induced by earthworms (PCE) scaled between 0.1 (lowest value of PCE of the six rice cultivars) and 1.0 (highest value of PCE)..... 138

Figure 58 : Agronomic and ecological performances of rice cultivars. 138

Chapitre 3.4: Effet des vers de terre sur la résistance du riz à la pyriculariose

Figure 59 : Sévérité globale de la pyriculariose à la fin de l'expérience 152

Figure 60 : Variation de la biomasse aérienne (vert) et de la sévérité de la maladie (orange) par rapport au témoin (valeur dans un traitement / valeur du témoin). Calcul du gain agronomique = gain de biomasse / gain de sévérité de la maladie (en violet). 153

Discussion générale et perspectives

Figure 61 : Schéma récapitulant les effets des vers de terre sur le sol et la plante 167

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Enfouissement de tôles dans une parcelle avec vers de terre 24

Photo 2 : Collecte (2a), comptage (2b) et inoculation (2c) des vers de terre au champ 26

Photo 3 : Mesocosms with mulched (3a) and buried residues (3b)..... 65

Photo 4 : Microcosm set up 128

LISTE DES TABLES

Chapitre 1 : Approche expérimentale au champ

Effet de l'introduction des vers de terre au champ, en situation paysanne, sur la croissance et le rendement du riz et d'autres services agrosystémiques

Table 1 : Caractéristiques physico-chimiques du sol au début de l'expérimentation (horizon 0 – 10 cm). Moyenne et p-value des teneurs initiales en carbone (Ci), en azote total (Ntot i), en phosphore minéral (Prés i), du rapport C/N (C/Ni), du stock de carbone (StCi), du stock d'azote total (StNi), du stock de phosphore minéral (StPi) et de la densité apparente (Dai) ; i : initial ; SV: parcelles qui n'ont pas été inoculés en vers de terre ; V : parcelles où ont été introduits les vers de terre ; B : bloc.....	31
Table 2 : p-value de l'effet des facteurs sur les caractéristiques physico-chimiques du sol (horizon 0 – 10 cm) à la récolte du riz à la fin de la 3 ^{ème} année d'expérimentation (2016). Légende voir Table 1	32
Table 3 : p-value des différences entre les caractéristiques du sol à la fin de la 3 ^{ème} année d'expérimentation et au début de l'expérimentation pour la teneur en carbone (deltaC), la teneur en phosphore minéral (deltaP), le stock en carbone (deltaStC) et le stock en phosphore minéral (deltaStP).	37
Table 4 : p-value des différences entre la densité apparente à la fin de la saison culturale et au début de l'expérimentation (deltaDA) :	38

Chapitre 2: Approche expérimentale en mésocosmes

Chapitre 2.1 : Effet des groupes fonctionnels de vers de terre, qualité des résidus et localisation des résidus sur la croissance et le rendement du riz

Table 5 : Characteristics of plant materials	66
Table 6 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue presence and identity and residue location and their interaction on soil properties. Variables are abbreviated as following: total soil carbon (TotC) in g.kg ⁻¹ , ammonium (NH ₄) in mg.kg ⁻¹ , nitrate (NO ₃) in mg.kg ⁻¹ , inorganic phosphorus (Pi) in mg.kg ⁻¹	68
Table 7 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue presence and identity and residue location and their interaction on plant properties. Variables are abbreviated as following: SB: shoot biomass in g.pot ⁻¹ ; RB: root biomass in g.pot ⁻¹ ; TB: total biomass in g.pot ⁻¹ ; SR: shoot:root ratio; GY: grain yields in Mg ha ⁻¹ , Straw_ P : phosphorus accumulated in straw in mg kg ⁻¹ , Seeds_ P: phosphorus accumulated in seeds in mg kg ⁻¹ , Total_ P: total phosphorus uptake by rice in mg.pot ⁻¹	69

Chapitre 2.2 : Effet des vers de terre et des résidus sur la résilience des agrosystèmes au changement climatique

Table 8 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on cumulative CO ₂ emissions.....	82
Table 9 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on soil respiration rate.	83
Table 10 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on delta CO ₂ (35°C – 25°C) emission.	85
Table 11 : ANOVA table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on Q10.	86
Table 12 : ANOVA table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on soil ammonium (NH ₄) and available phosphorus (Pi) contents.....	86

Chapitre 3: Approche expérimentale en microcosmes

Chapitre 3.1 : Caractérisation des activités phosphatasiques et suivi de la dynamique de phosphore inorganique dans les déjections de vers de terre

Table 13 : Concentrations (C) de Po utilisées dans la méthode d'ajouts dosés.....	98
--	----

Chapitre 3.2 : Effet des vers de terre et de la dolomie sur les flux de P à l'interface sol-plante par marquage isotopique

Table 14 : Mean (SD) and two-way ANOVA statistics for plant variables measured after 28 days of growth in presence/absence of dolomite (-DL; +DL) and <i>Pontoscolex corethrurus</i> (-EW; +EW) in a Ferralsol from Madagascar.	117
---	-----

Chapitre 3.3 : Réponse des différentes variétés du riz à la présence des vers de terre

Table 15 : Agronomic criteria used in the selection of the six upland rice cultivars in the Highlands of Madagascar	127
Table 16 : ANOVA table of eta ² and p-value showing the main effects of earthworm and rice cultivars and their interaction on plant properties	132
Table 17 : Mean (SD) for variables measured after 8 weeks of growth in absence/presence of earthworms (-EW; +EW). Variables are abbreviated as following: LDMC: leaf dry	

matter content; SLA: specific leaf area; PRI: photochemical reflectance index; NDVI: normalized difference vegetation index; PUE: phosphorus uptake efficiency. Results on plant biomasses and nutrient contents are given per pot (i.e. for 3 rice plants) 133

Chapitre 3.4: Effet des vers de terre sur la résistance du riz à la pyriculariose

- Table 18** : P-value du résultat d'ANOVA montrant les effets principaux de la fertilisation (NPK), de l'apport de silice (Si) et de l'introduction des vers de terre (V) ainsi que leurs interactions sur les biomasses du riz 149
- Table 19** : Biomasses du riz (3 plantes) exprimées en mg. pot⁻¹ à la fin de l'expérience. Moyennes et écart-types de la biomasse aérienne (BA), de la biomasse racinaire (BR), du rapport entre biomasse aérienne et biomasse racinaire (SR) et de la biomasse totale (BT)..... 150
- Table 20** : P-value du résultat d'ANOVA montrant les effets principaux de la fertilisation (NPK), de l'apport de silice (Si) et de l'introduction des vers de terre (V) ainsi que leurs interactions sur les quantités de N total et P total dans les tissus du riz 151
- Table 21** : Azote (N) et phosphore (P) accumulés dans les tissus du riz à la fin de l'expérience. Moyennes et écart-types de N accumulés (mg N. pot⁻¹) dans la biomasse aérienne (N_BA), dans la biomasse racinaire (N_BR), dans la biomasse totale (N_BT) (mg N) et de P accumulés (mg P. pot⁻¹) dans la biomasse aérienne (P_BA), dans la biomasse racinaire (P_BR), dans la biomasse totale (P_BT). 151

Introduction générale

Introduction générale

1 Contexte et problématique

1.1 Contexte général : l'agro-écologie comme modèle d'agriculture durable

Depuis les années soixante, l'agriculture connaît une crise environnementale et sociale remettant en cause le modèle d'agriculture productiviste ou industriel. En effet, en dépit de ses résultats très positifs en termes de rendements agricoles et d'approvisionnement en nourriture, l'agriculture moderne intensive a entraîné des effets négatifs et non durables sur les ressources naturelles et l'environnement. De plus dans plusieurs pays du Sud, ce type d'agriculture est apparu comme non adapté aux besoins et contraintes d'un grand nombre de petits producteurs limités en ressources et en revenus.

Une réflexion critique menant au changement de paradigme dans le modèle de production agricole et la recherche agronomique a permis l'émergence du concept d'agriculture durable vers la fin des années quatre-vingts. L'objectif est alors de développer des systèmes alimentaires plus durables, plus sains et intégrant des considérations à la fois environnementales, économiques et sociales (Robertson & Swinton, 2005 ; Pretty et al., 2010 ; Altieri et al., 2015). Ce constat a abouti à l'émergence de l'agro-écologie qui est une approche agricole basée sur l'intensification des processus écologiques et aux interactions entre les composantes de l'agrosystème de façon à optimiser l'utilisation des nutriments et de l'énergie sur l'exploitation.

L'objectif des pratiques agroécologiques est de fournir de nombreux biens et services écosystémiques (ou plus exactement agrosystémiques, pour les systèmes cultivés) : approvisionnement en fibres et nourriture, séquestration du carbone et atténuation du changement climatique, résistance à l'érosion, régulation de la qualité de l'eau, résilience aux perturbations et aux stress (Hobbs & Govaerts, 2010 ; Powlson et al., 2016). L'agro-écologie est sensée fournir de nombreux avantages : une plus grande durabilité et résilience environnementale, la conservation des ressources naturelles (eau, sol, biodiversité), une réduction de la dépendance des petits exploitants aux intrants chimiques chers et difficiles d'accès, une plus grande productivité atteinte à travers une diversification des produits (Wezel et al., 2009 ; Silici, 2014). L'intensification écologique, dans le respect des considérations environnementales, économiques et sociales, est la base de la provision des services agrosystémiques et de la sécurité alimentaire (Bonmarco et al., 2013). Ainsi, l'agro-écologie constitue une piste prometteuse pour réduire l'insécurité alimentaire au niveau mondial. Actuellement, huit cent cinquante millions de personnes sont victimes de la famine, dont plus de la moitié sont des petits agriculteurs ou travailleurs agricoles vivant dans des zones rurales (FAO, 2011).

1.2 Contexte local : le développement de l'agro-écologie à Madagascar pour améliorer la sécurité alimentaire et atténuer le changement climatique

Madagascar est l'un des pays les plus pauvres de l'Afrique Sub-Saharienne (ASS) ; classé au 158^{ème} rang sur 188 pays dans le monde (Rapports sur le Développement Humain, 2016). Le taux de pauvreté est élevé affectant plus de 70 % de la population ; 52% vit en dessous du seuil d'extrême pauvreté (VAM, 2014). Le Ministère malgache de l'agriculture estimait en 2009 que 8% de la population souffre d'insécurité alimentaire chronique et 38% est considérée comme sous-nourrie. Récemment, une analyse globale de la sécurité alimentaire et nutritionnelle et de la vulnérabilité, menée par le Programme Alimentaire Mondial (PAM) a fait remarquer que cette situation ne s'est pas améliorée depuis une décennie. En effet, en 2012, 76% de la population demeuraient encore dans une situation sévère d'insécurité alimentaire ayant un régime alimentaire très pauvre, en qualité et en quantité (Rapport de la Consultation ODD, 2016). Cependant, l'agriculture représente le premier secteur économique, contribuant à environ 26% du PIB de la Grande Ile (INSTAT, 2011).

La riziculture occupe la première place dans le secteur agricole vu que le riz constitue l'aliment de base des Malgaches. Cependant, la production rizicole inondée ne suffit plus à nourrir une population croissante à cause de la saturation des bas-fonds. Dans ce contexte, les agriculteurs commencent à exploiter les terres de collines ou « tanety » pour y produire une riziculture pluviale. Ceci est particulièrement développé dans les régions de moyenne et haute altitude (700 à 1 800 m) de Madagascar (www.dp-spad.org). Or, les sols de tanety des Hautes-Terres sont des sols ferrallitiques acides, fortement désaturés, pauvres en matière organique et en N et P disponibles. En effet, la teneur élevée en sesquioxydes de fer et d'aluminium dans ces types de sols leur confère un fort pouvoir fixateur du P disponible du sol (Rabeharisoa, 2004). Ainsi, il s'avère nécessaire d'apporter des fertilisants pour pallier cette faible fertilité.

Cependant, les agriculteurs, dominés principalement par des petites exploitations à faible revenu n'ont pas d'accès aux fertilisants chimiques. Les matières organiques MO végétales (résidus de cultures, composts) et animales (fumiers) représentent un pool potentiellement important pour fournir des nutriments aux cultures. Toutefois, cette ressource est insuffisante. De plus, les cultures sur tanety sont pluviales et donc très sensibles et vulnérables au changement climatique. Les climatologues prévoient, pour les Hautes-Terres, une augmentation de la température, une réduction de la durée de la saison des pluies associée à une augmentation de l'intensité des pluies (rapport de la direction de la météorologie de Madagascar, 2008). L'érosion de ces sols fragiles risque alors de s'accroître avec une perte accrue de nutriments. En outre, l'attaque des maladies (pyriculariose) et des bioagresseurs (vers blancs et autres coléoptères, plantes parasites comme le striga, ...) constitue une contrainte majeure dans la culture de riz pluvial. L'utilisation des variétés qui répondent positivement à ces critères semble être une alternative prometteuse. Néanmoins, la diversité variétale exploitée par les producteurs reste très limitée surtout pour les zones en haute altitude. Ainsi, le

développement de l'agriculture rizicole pluviale des Hautes-Terres malgaches fait face à de nombreux défis et contraintes auxquels la recherche doit apporter des réponses.

C'est dans ce cadre que se situe cette thèse qui a pour objectif d'améliorer notre compréhension du système sol-plante et *in fine* de proposer des innovations agricoles prenant mieux en compte le compartiment écologique du sol. En agro-écologie, différentes pratiques sont généralement proposées pour intensifier écologiquement la production et la durabilité agricole : diminuer le travail du sol, intégrer l'élevage et l'agriculture, pratiquer des rotations, associer des plantes, introduire des plantes pérennes dans les champs ou dans l'exploitation, mieux valoriser les ressources organiques. Peu de pratiques prennent en compte les fonctions portées par les organismes du sol qui sont à l'origine des biens et services écosystémiques rendus par le sol. Dans l'optique de la manipulation des organismes du sol, nous allons plus spécifiquement étudier les vers de terre ; notre objectif est de mieux comprendre et pouvoir utiliser/intensifier les fonctions réalisées par ces organismes vis-à-vis des services agrosystémiques que sont la croissance végétale, la séquestration du carbone, la résistance face au réchauffement climatique, la résistance à l'érosion dans ces agrosystèmes et la résistance aux maladies. Cette forme d'intensification écologique a rarement été testée ; elle semble pourtant un moyen prometteur de restauration des agrosystèmes (Senapati et al., 1999 ; Ratnadass et al., 2014).

Une revue de l'état de l'art permettra de préciser les verrous de connaissances et ainsi définir dans une seconde partie la stratégie de recherche de ce travail.

2 État de l'art

2.1 Biens et services écosystémiques

Les biens et services écosystémiques sont définis comme les bénéfices que les humains peuvent tirer du fonctionnement des écosystèmes (Millenium Ecosystem Assessment, 2005). Ces services écosystémiques sont regroupés en quatre grandes catégories : (i) services d'approvisionnement, (ii) services de régulation, (iii) services culturels et (iv) services de support ou d'auto-entretien.

2.1.1 Les services d'approvisionnement

Il s'agit des produits obtenus à partir des écosystèmes ou agro-écosystèmes directement utiles à l'homme. On peut citer les produits alimentaires dérivés des plantes et animaux, l'eau potable, les fibres utilisées en tant que matières premières (bois, jute, coton, laine, soie ou chanvre), les combustibles (bois, bouses, biocarburant), et enfin diverses ressources génétiques, médicinales et ornementales.

2.1.2 Les services de régulation

Les écosystèmes dans leur fonctionnement, sont directement impliqués dans les échanges avec l'atmosphère. Le maintien de la qualité de l'air et du sol, la purification de l'eau et des déchets et la pollinisation des cultures font également partie des services de régulation assurés par les écosystèmes. En outre, ces services de régulation permettent de modérer ou réguler les phénomènes naturels. Ils assurent la régulation du climat, la modération des risques naturels (inondation, sécheresse,...) et de l'érosion ainsi que la régulation des maladies et des bioagresseurs.

2.1.3 Les services culturels

Ce sont les bénéfices immatériels que l'humanité peut tirer des écosystèmes. Ces services sont, notamment, l'inspiration esthétique, l'identité culturelle, le sentiment d'appartenance et l'expérience spirituelle liés à l'environnement naturel.

2.1.4 Les services de support ou d'auto-entretien

Ces services constituent le fondement de tous les écosystèmes et de leurs services. Ils sont liés à l'existence de la Vie sur Terre (formation des sols, production primaire, production d'oxygène). Les services de support ou d'auto-entretien sont indispensables à la production des autres services.

Dans les écosystèmes terrestres, le sol est l'élément fondamental dans la fourniture des services écosystémiques. Ceci est principalement lié au fonctionnement biologique du sol ou biofonctionnement du sol regroupant l'ensemble des fonctions assurées par les organismes vivants du sol. Cette biodiversité est connue pour remplir de nombreuses fonctions qui déterminent le fonctionnement du sol et assurent, entre autres, la croissance végétale.

2.2 Biodiversité du sol et fonctions écologiques

Le sol est un habitat de niches très diverses, complexe et hétérogène. En tant que milieu complexe polyphasique, le sol comprend une phase minérale, une phase organique, des vides remplis d'eau ou de gaz, incluant une grande diversité d'organismes vivants y compris les racines (Rabary, 2011). La biodiversité du sol en interaction avec les composantes physiques et chimiques du sol assure la réalisation des fonctions écologiques qui sont à l'origine des services écosystémiques. De nombreux articles scientifiques ont analysé et décrit l'importance des organismes du sol dans les quatre principales fonctions écologiques du sol : (i) la dynamique des matières carbonées, (ii) le recyclage des nutriments, (iii) le maintien de la structure du sol, et (iv) la régulation des pathogènes (Lavelle et al., 2006 ; Brussaard et al., 2007 ; Kibblewhite et al., 2008).

Dans la matrice du sol, ces quatre grandes fonctions écologiques sont assurées par des organismes de taille variée (mégafaune, macrofaune, mésofaune, microfaune et microorganismes) recouvrant de nombreux taxons, comprenant eux-mêmes des centaines voire des milliers d'espèces (Bachelier, 1978 ; Jeffery et al., 2010) (Figure 1). Outre leur taille, les organismes du sol peuvent être également classés selon leur fonction. D'une part, les ingénieurs du sol (vers de terre, termites, fourmis) renouvellent la structure du sol, tandis que les régulateurs (nématodes, collemboles et acariens) contrôlent la dynamique des populations des microorganismes du sol et agissent sur leur activité. D'autre part, les décomposeurs ou ingénieurs chimistes (bactéries et champignons microscopiques) permettent la minéralisation des matières organiques en facilitant la disponibilité des nutriments minéraux pour les plantes (Lavelle et al., 2006).

Parmi les ingénieurs du sol, les vers de terre jouent un rôle clé dans la promotion du fonctionnement du sol. Les vers de terre ont un impact majeur au niveau des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du sol, assurant le maintien de la capacité du sol à délivrer des services écosystémiques (Lavelle, 2002 ; Lavelle et al., 2006). Ils sont connus notamment pour agir sur la formation des sols, le cycle des nutriments, le contrôle de l'érosion (Lavelle et al., 2001 ; Blanchart et al., 2004 ; Blouin et al., 2013). Les vers de terre représentent la biomasse animale la plus importante des sols dans les écosystèmes terrestres, notamment dans les zones tempérées et les tropiques humides (Lavelle & Spain, 2001).

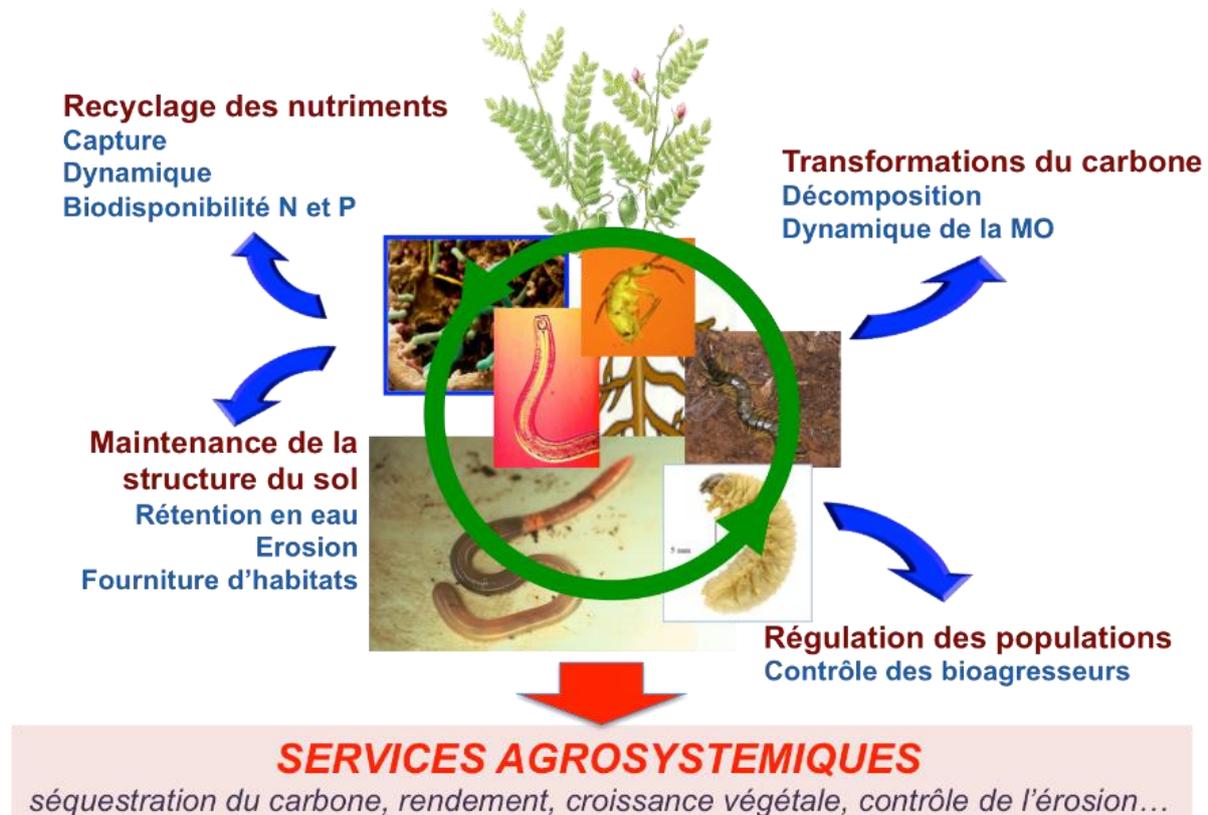


Figure 1 : Schéma conceptuel du fonctionnement du sol décrivant l'importance des interactions entre groupes fonctionnels du sol pour la réalisation des 4 principales fonctions écologiques nécessaires à la fourniture des services agrosystémiques (schéma E. Blanchart, 2012, non publié).

2.3 Les vers de terre comme ressource pour une agriculture durable

2.3.1 Historique des vers de terre

Historiquement, la perception qu'ont les humains du rôle des vers de terre a beaucoup varié selon les époques. Lors de l'antiquité, les Grecs et les Égyptiens leur accordaient une valeur importante vis-à-vis de la fertilité du sol. Aristote (384 – 322 av. J.-C.) qualifiait les vers de terre comme « intestins de la terre » tandis que Cléopâtre (69 - 30 av J.-C.) les avait élevés au rang d'animaux sacrés (Minnich 1977). Cependant, au Moyen-Âge, ils étaient considérés comme nuisibles et devaient être éradiqués des sols. La reconnaissance de leur rôle bénéfique a été par la suite réhabilitée grâce au dernier ouvrage de Charles Darwin intitulé « *The Formation of Vegetable Mould Through the Action of Worms With Observations on Their Habits* », publié en 1881. Il s'agit d'un ouvrage où l'auteur naturaliste met en évidence l'action capitale des vers de terre dans la formation des sols, de la libération d'azote pour les plantes, de l'enfouissement et de la protection des vestiges archéologiques. Depuis la seconde moitié du 20^{ème} siècle jusqu'à présent, ce travail a suscité de nombreux travaux de recherches en milieux tempérés et tropicaux portant sur l'impact des vers de terre sur la structure et la fertilité des sols, ainsi que sur la croissance végétale (Bouché, 1971 ; Sims et al., 1985 ; Edwards & Bohlen, 1996 ; Lavelle & Spain, 2001 ; Edwards, 2004).

2.3.2 Taxonomie des vers de terre

Les vers de terre appartiennent à l'embranchement des *Annelida*, à la classe des *Clitellata*, sous-classe des *Oligochaeta* et au sous-ordre des *Lumbricina*. Actuellement, il existe 20 familles de vers de terre qui sont décrites dans le monde.

A Madagascar, le premier inventaire des Annélides Oligochètes mené récemment par Razafindrakoto (2012) a permis de répertorier 8 familles de vers de terre (*Megascolecidae*, *Kynotidae*, *Acanthodrilidae*, *Eudrilidae*, *Ocneodrilidae*, *Glossoscolecidae*, *Moniligastridae*, *Octochaetidae*) qui se répartissent en 33 espèces dont 20 exotiques et 13 endémiques. Parmi les espèces endémiques, six ont été très récemment découvertes et décrites ; elles appartiennent au genre *Kynotus*. Le plus remarquable est *Kynotus giganteus* qui mesure près de 2 mètres de long.

2.3.3 Catégories écologiques des vers de terre

Dans le sol, les vers de terre sont classés en 3 catégories écologiques : (i) les épigés, (ii) les endogés et (iii) les anéciques. Ces catégories diffèrent selon des caractéristiques morphologiques, démographiques, comportementales et fonctionnelles (Bouché, 1971). Certaines espèces peuvent avoir des caractéristiques intermédiaires entre deux catégories (Vos et al. 2014) comme le cas des épi-anéciques, épi-endogés ou endo-anéciques.

- Les épigés

Les épigés sont des espèces de vers de terre qui vivent à la surface du sol ou dans la litière. Les épigés ne creusent pas ou font très peu de galeries. Généralement de petite taille (inférieur à 10 cm), ces vers de terre sont fortement mobiles. Ils disposent une forte pigmentation (couleur foncée rouge à brun) qui leur confère une protection aux rayons solaires et une forme de dissimulation dans la litière de feuilles mortes et les déjections animales (bouses) dans lesquelles ils vivent. Leur durée de vie est relativement courte (1 à 2 ans) mais leur taux de reproduction est élevé. Les vers juvéniles deviennent adultes en peu de temps (de 1 à 2 mois). Ces espèces de vers de terre se nourrissent de la matière organique en décomposition contenue dans cette litière.

Par leur régime alimentaire, les vers épigés ont un rôle majeur dans la décomposition de la matière organique à la surface du sol. Certaines espèces comme *Eisenia fetida* (en zone tempérée) ou *Eudrilus eugeniae* (en région tropicale) sont utilisées pour la fabrication de lombricompost. A Madagascar, on a trouvé quelques espèces épigées ou épi-endogées tels que *Amyntas minimus*, *Dichogaster modiglianii* et *Dichogaster saliens* (Razafindrakoto, 2012).

- Les anéciques

Les anéciques sont des espèces de vers de terre qui vivent en permanence dans des galeries verticales qu'ils creusent dans le sol. Ces vers de terre sont de grande taille (pouvant atteindre plus d'1 m), pigmentés à la tête (rouge à noir) et ont une durée de vie relativement longue (4 à 8 ans). Pour se nourrir, les anéciques sortent de leurs galeries verticales qui s'ouvrent à la surface du sol pour prélever de la matière organique superficielle. Ils l'enfouissent alors dans leurs galeries pour que la matière organique soit décomposée avant d'être ingérée avec du sol. Ils déposent leurs turricules (déjections) soit à la surface du sol, à l'ouverture de leur galerie, soit dans leur galerie où ils tapissent leur paroi. Ces vers de terre sortent généralement la nuit, afin de limiter le risque de prédation (Puga-Freitas, 2012). Les anéciques sont peu présents dans les régions tropicales mais dominants dans les sols des régions tempérées (80% de la biomasse totale de vers de terre). A Madagascar, les espèces telles que *Kynotus proboscideus sp nov.*, *Kynotus giganteus sp nov.*, *Kynotus sp4 nov.* et *Kynotus michaelsoni* se rapprochent de la classe des anéciques (Razafindrakoto, 2012).

- Les endogés

Les endogés sont des vers de terre qui vivent en permanence dans le sol. Ils se déplacent dans le sol en creusant des galeries horizontales. Ces vers de terre ont une taille très variable avec une durée de vie moyenne de 3 à 5 ans. N'ayant pas à se protéger des rayons lumineux, les endogés sont caractérisés par l'absence de pigmentation (rose pâle). Leur habitude alimentaire est hétérogène mais ils consomment principalement de la matière organique contenue dans le sol (on parle alors de géophages). Suivant leur préférence du type de matière organique, les endogés peuvent être subdivisés en 3 groupes : (i) les oligohumiques ingèrent le sol le plus pauvre en matière organique et vivent plutôt en profondeur ; (ii) les polyhumiques préfèrent le

sol le plus riche en matière organique et vivent près de la surface du sol ; (iii) les mésohumiques qui consomment du sol moyennement riche en matière organique (Lavelle, 1978 ; Jana, 2010). Les vers de terre endogés sont dominants dans les sols des régions tropicales. A Madagascar, l'espèce *Pontoscolex corethrurus* (mésohumique) a été répertoriée dans tous les écosystèmes malgaches (Razafindrakoto, 2012).

2.3.4 Rôles des vers de terre dans la fourniture de biens et services écosystémiques

Les vers de terre jouent un rôle capital dans les 4 grandes fonctions écologiques du sol qui sont à la base de la fourniture des services écosystémiques : (i) la dynamique des matières carbonées, (ii) le recyclage des nutriments, (iii) le maintien de la structure du sol, et (iv) la régulation des pathogènes (Lavelle et al., 2006 ; Brussaard et al., 2007 ; Kibblewhite et al., 2008). En effet, les vers de terre en tant qu'ingénieurs de l'écosystème, sont capables de modifier les paramètres physique, chimique et biologique du sol en modulant la disponibilité des ressources pour les espèces microbiennes (Jones et al., 1994). Cette modification de l'environnement « sol » est principalement causée par la très grande quantité de terre consommée chaque année et rejetée dans le sol sous forme de déjections ou turricules (Blanchart et al., 1999).

- *Zone d'influence des vers de terre*

L'ensemble du volume de sol sous l'influence des vers de terre a été nommé « la drilosphère » (Bouché, 1975). Elle concerne toute région de sol ayant été en contact direct avec les composés excrétés par les vers de terre que ce soit en surface ou dans le tube digestif. Elle comprend également toutes les structures, appelées biogéniques, laissées par les vers de terre après son passage (turricules et galeries) (Puga-Freitas, 2012).

En régions tempérées, la quantité journalière de sol qui transite dans le tube digestif d'un ver varie entre 0,08 et 0,50 g de sol sec/g ver pour les anéciques et entre 0,07 et 0,80 g de sol sec/g ver pour les épigés (Pelosi, 2008). Les vers endogés tropicaux excrètent quant à eux entre 1 et 7 g/g ver/jour pour les adultes et jusqu'à 35 g/g ver/jour pour les juvéniles de *Millsonia anomala* (Lavelle & Spain, 2001). En zone tropicale humide, avec des peuplements de vers de terre dont les biomasses sont de l'ordre de 500 à 1000 kg/ha, la quantité de sol ingéré par les vers de terre, et rejeté sous forme de turricules est de l'ordre de 1000 à 2000 Mg/ha/an, ce qui est l'équivalent d'une couche de sol de 8-16 cm passant chaque année, par hectare, dans le tube digestif des vers de terre. Par conséquent, les vers de terre jouent un rôle important dans la formation du sol (Blanchart et al., 1999). La production des turricules est importante durant la saison des pluies dans les régions tropicales, période à laquelle les vers de terre sont le plus actif (Nath & Chaudhuri., 2014).

- *Effet des vers de terre sur la dynamique de la matière organique*

Les différentes catégories écologiques de vers de terre ont d'importants impacts sur la dynamique de la matière organique (MO). Les épigés qui vivent dans la litière participent à la

fragmentation de la MO et facilitent sa minéralisation ultérieure par les microorganismes du sol (Pelosi, 2008). Une partie de cette MO est enfouie et mélangée au sol par d'autres vers de terre ou d'autres organismes. Ce phénomène de bioturbation a une répercussion sur la répartition spatiale de la MO à la surface du sol et dans le sol ainsi qu'à sa décomposition (Brown et al. 2000). L'incorporation de MO dans le sol sous l'action des vers de terre est suffisamment importante pour former les horizons organo-minéraux (A), que Darwin (1881) a décrit et a suggéré d'appeler « terre animale » au lieu de « terre végétale » en raison de ce processus.

Les vers de terre endogés et anéciques ingèrent du sol et de la MO qui vont être mixés pendant le passage dans leur tube digestif, pour être finalement excrétés sous forme de turricules. La digestion de la MO par les vers de terre s'effectue dans le cadre d'un mutualisme existant entre le ver de terre et les microorganismes qui sont ingérés avec le sol au travers de l'effet dit de « la belle au bois dormant » (Lavelle et al., 1995). Ce paradoxe se base sur le fait que la majorité des microorganismes du sol sont en état de dormance, du fait de leur incapacité à se déplacer et de la faible disponibilité du carbone assimilable dans le sol (Brown et al. 2000). La sécrétion d'eau et de mucus dans le tube digestif des vers de terre sont à l'origine de la stimulation de l'activité microbienne, ce qu'on appelle un « priming effect ». Le mucus fournit de la MO labile qui sert de source énergétique pour les microorganismes (Bernard et al., 2012). En moyenne, la sécrétion journalière du mucus est de 5,6 mg (matière sèche)/g ver (Bityutskii et al., 2012). Grâce à la stimulation de l'activité microbienne, les vers de terre ayant très peu d'enzymes digestives, participent à la dégradation des MO difficilement dégradables tels que la cellulose, la lignine, les tanins ou encore des complexes humiques (Brown et al. 2000).

Les vers de terre jouent un double rôle dans la dynamique de la MOS : (i) à court terme, ils stimulent la décomposition et la minéralisation des MO (Speratti & Whalen, 2008) ; (ii) à long terme, ils participent à la protection physique des MO contre la minéralisation à travers la formation des structures biogéniques stables, favorisant ainsi le stockage du carbone (Lavelle & Martin, 1992 ; Bossuyt et al., 2004, 2006 ; Coq et al., 2007).

- *Effet des vers de terre sur la dynamique des nutriments*

L'action des vers de terre sur la décomposition de la MO affecte la dynamique des nutriments dans le sol, notamment l'azote et le phosphore. En effet, durant la stimulation de l'activité microbienne au sein du tube digestif des vers de terre, le ratio carbone/azote va chuter progressivement. La majeure partie de l'azote sera convertie sous forme de nitrate ou d'ammonium. En parallèle, le potassium et le phosphore seront eux aussi convertis en une forme qui les rend disponibles pour la plante (Edwards, 2004). Cette forte activité microbienne continue pendant quelques jours dans les turricules de vers de terre. Des études ont montré que l'activité et l'abondance des populations de bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes impliquées dans le cycle d'azote restent très élevées dans les turricules (Businelli *et al.*, 1984 ; Parkin & Berry, 1999 ; Wu *et al.*, 2012), avec pour conséquence un accroissement des teneurs en NH_4^+

et NO_3^- . Ces biostructures sont ainsi généralement caractérisées par des teneurs en éléments minéraux plus élevées que le sol environnant. De nombreux travaux en milieu tempéré et en zone tropicale ont montré que les turricules des vers de terre présentent des teneurs en nutriments (NH_4^+ , NO_3^- , Mg^{2+} , K^+ et HPO_4^{2-}) élevées en comparaison avec un sol non ingéré (Syers et al., 1979 ; Mackay et al., 1983 ; Tiwari et al., 1989 ; James, 1991 ; Tapia-Coral et al., 2006 ; Chapuis Lardy et al., 2009).

Des études menées en laboratoire sur le principal ver de terre rencontré dans les agrosystèmes des Hautes-Terres de Madagascar (*Pontoscolex corethrurus*, Rhinodrilidae) ont montré une forte augmentation de la minéralisation du carbone, du priming effect (Bernard et al. 2012), et une forte libération de nutriments assimilables par les plantes (Chapuis-Lardy et al. 2009 et 2010). Parallèlement, Chapuis-Lardy et al (2010) ont observé une diminution de la biomasse bactérienne dans les déjections de vers de terre et Bernard et al. (2012) une profonde modification de la structure de la communauté bactérienne suite au passage dans le tube digestif avec notamment la stimulation de certaines familles comme les Chitinophagaceae et les Flavobacteriaceae.

- *Effet des vers de terre sur la dynamique de la structure du sol*

Les vers de terre jouent un rôle important dans la modification de la structuration du sol par l'intermédiaire de la bioturbation et la production des structures biogéniques (turricules) (Lavelle & Spain, 2001). Ils sont aussi à l'origine de grandes structures, comme les réseaux de galeries ou de chambres qui augmentent la macroporosité du sol et, par conséquent, contribuent à son aération, à la pénétration des racines en profondeur et à l'infiltration de l'eau (Lavelle, 1997).

L'action des épigés sur la structure du sol est relativement limitée. Pour les endogés, ils peuvent être subdivisés en deux groupes suivant leur impact sur la structure du sol. On distingue (i) les vers compactants qui produisent des macroagrégats stables à travers l'excrétion de gros turricules compacts réduisant ainsi la sensibilité du sol à l'effet splash et limitant le ruissellement ; et (ii) les vers décompactants (de petite taille), qui conduisent à la formation de petits agrégats (turricules de petite taille) permettant d'augmenter l'infiltration de l'eau (Blanchart et al., 2004).

- *Effet des vers de terre sur la régulation des populations des bioagresseurs*

Deux principales revues (Blouin et al., 2005 ; Wurst et al., 2010) apportent des synthèses sur les travaux de recherche concernant l'effet des vers de terre sur le contrôle des bioagresseurs. Il en ressort que la présence de vers de terre permet de réduire l'attaque des ravageurs des plantes (aériens et/ou souterrains) et la sévérité de maladies. Généralement, ces effets positifs des vers de terre sont associés directement à un effet de prédation sur les pathogènes, effectué par les vers de terre lors de la digestion ou indirectement via une meilleure nutrition des plantes et l'expression de gènes de résistance (Puga-Freitas, 2012 ; Wurst et al., 2010). D'un côté, le

passage du sol dans le tube digestif des vers stimule le développement de microorganismes antagonistes des nématodes phytoparasites (Boyer et al., 1998). De l'autre côté, plusieurs travaux de recherche ont été réalisés pour mettre en évidence les effets indirects des vers de terre sur les nématodes. Loranger-Merciris et al. (2012) ont mené une étude sur l'effet des vers de terre sur les nématodes phytoparasites des racines de bananier. Ils ont montré que les vers de terre réduisaient l'attaque des nématodes alors que leur nombre ne montrait pas de variation. L'explication des résultats réside dans le fait que les vers de terre augmentent significativement la vigueur de la plante à travers l'augmentation du P disponible dans le sol. Une étude similaire concernant l'attaque des nématodes phytoparasites (*Heterodera sacchari*) sur le riz a montré que la production de biomasse a chuté de 80% en absence des vers de terre. Cependant, la présence du ver de terre *M. anomala* annule cette réduction significative de la biomasse (Blouin et al., 2005). Les auteurs ont expliqué que la présence de vers de terre induit une pré-activation des mécanismes de défense de la plante permettant une meilleure régulation de la réponse au stress face aux attaques des nématodes.

Rares sont les travaux qui concernent les effets des vers de terre sur les maladies des plantes. Pour le contrôle des champignons phytopathogènes, l'étude de l'effet des vers de terre sur le piétin-échaudage du blé a montré que le nombre de nécroses dues au champignon étaient réduites de 63% en présence de vers de terre (Blouin et al., 2013). En effet, les vers de terre sont considérés comme agent de biocontrôle efficace dans la suppression de cette maladie (Stephens et al., 1994 ; Stephens & Davoren 1995).

3 Stratégie de recherche

3.1 Objectif général

Cette thèse a pour objectif général de compléter notre connaissance du rôle des vers de terre dans les agrosystèmes tropicaux bas intrants et de proposer des pistes pour mieux utiliser leurs fonctions écologiques dans les agrosystèmes pluviaux malgaches. On peut distinguer :

- des objectifs scientifiques concernant une amélioration de la compréhension du rôle des vers de terre vis-à-vis (i) des flux de nutriments (notamment N et P), de l'acquisition des nutriments par la plante, de la croissance de la plante, (ii) de la résilience face au changement climatique, (iii) de l'amélioration de la structure du sol, (iv) de la régulation des bioagresseurs ;
- des objectifs appliqués destinés à tester des inoculations de vers de terre au champ, en situation paysanne dans des systèmes rizicoles pluviaux.

3.2 Questions scientifiques et hypothèses

Les études de la littérature montrent, pour l'essentiel, des effets positifs des vers de terre sur la fourniture des services rendus par les agrosystèmes. Lavelle et al. (2016) font ainsi l'hypothèse que les dysfonctionnements observés dans les agrosystèmes « conventionnels » sont généralement liés à une absence de ces ingénieurs du sol. Pourtant ces organismes sont peu ou pas utilisés en agriculture. De trop rares études de bio-fertilisation incluant des vers de terre ont été réalisées dans le monde. On peut notamment citer une étude menée en Inde du Sud dans des plantations de thé où l'introduction de vers de terre conjuguée à des apports de MO a permis une amélioration de la production agricole (Senapati et al., 1999). La très faible diffusion de cette technique est principalement due au coût nécessaire à la production à grande échelle de vers de terre.

La manipulation de vers de terre à des fins agricoles nécessite par conséquent des recherches supplémentaires que ma thèse vise en partie à combler. En particulier, des questions concernant l'implication des vers de terre dans chacune des 4 grandes fonctions écologiques restent posées.

Les principales questions scientifiques non ou peu traitées dans la littérature scientifique concerne l'effet des vers de terre sur :

- La dynamique des nutriments : en particulier, malgré une synthèse récente (Chapuis-Lardy et al., 2011), on manque encore d'informations concernant notamment la dynamique du phosphore (P) dans les déjections des vers de terre ainsi que l'origine de ce P. Ces déjections ont une durée de vie de plusieurs mois/années (selon les sites et les espèces) (Blanchart et al., 1997) et il est nécessaire de comprendre comment évolue le pool de P inorganique biodisponible (P_i) pour les plantes dans ces déjections afin de comprendre si la plante peut y avoir accès. Cette donnée est notamment nécessaire pour améliorer les modèles d'activité des vers de terre sur le fonctionnement sol-plante (par exemple, le modèle Sworm, Blanchart et al., 2009). Enfin, suivant l'hypothèse que ce pool de P_i va augmenter dans les turricules au cours des premiers jours de leur existence, suite à une stimulation microbienne, il est important de comprendre d'où provient ce P_i et notamment s'il provient d'une minéralisation du P organique (P_o) par les microorganismes via la sécrétion d'enzymes phosphatasiques. Cette hypothèse est posée dans la mesure où les activités microbiennes sont renforcées dans les turricules, du moins tant qu'ils restent humides (Bernard et al., 2012).
- L'acquisition des nutriments et la croissance végétale. Comme rappelé ci-dessus, les vers de terre ont généralement un effet positif sur la croissance végétale et notamment sur la biomasse aérienne (Jana et al., 2010 ; Coulis et al., 2014), cet effet étant surtout notable pour les céréales (Noguera et al., 2010). Néanmoins, des travaux récents (Noguera et al., 2011) montrent un effet différent selon la variété de riz utilisée. Nous

chercherons dans ma thèse à vérifier si les vers de terre ont un effet dépendant du potentiel de réponse à déterminisme génétique du riz. L'objectif est notamment d'évaluer la réponse des principales variétés de riz pluvial cultivés sur les Hautes-Terres de Madagascar à la présence des vers de terre. Ceci étant nécessaire afin de connaître la performance écologique (réponse à la présence des vers de terre) de chaque variété et d'identifier les variétés qui offrent un meilleur compromis entre leurs performances écologiques et agronomiques (relative au rendement en présence de fertilisation minérale).

En ce qui concerne l'étude de l'effet des vers de terre sur l'acquisition de P, d'autres approches telles que le marquage isotopique seront utilisées pour permettre de suivre finement le devenir du P sous l'effet des vers de terre dans des sols ferrallitiques à forte capacité de sorption. L'hypothèse étant que l'apport de dolomie permettant de réduire la sorption de P par la phase solide du sol et la toxicité aluminique stimule l'effet positif des vers de terre sur la nutrition en P du riz.

- La séquestration du carbone et la résilience des agrosystèmes face au changement climatique. Il manque encore d'études au champ à moyen/long terme pour juger de l'effet des vers de terre sur la dynamique et l'évolution des stocks de carbone dans un sol. Nous étudierons cet aspect dans des études de terrain et parallèlement de mesurer l'effet des vers de terre sur l'amélioration de la structure du sol. Enfin, une question importante concerne la résilience des agrosystèmes au changement climatique (Hobbs & Govaerts, 2010). Les agrosystèmes en général à Madagascar sont très vulnérables face au changement climatique en cours et les développements agricoles doivent prendre en compte cette contrainte et proposer des systèmes plus résilients. Nous vérifierons notamment si les émissions de CO₂ (respiration microbienne signe de son activité) sont limitées dans des sols travaillés par les vers de terre auxquels des résidus ont été apportés lorsque la température augmente. Nous comparerons les différents traitements à deux températures espacées de 10°C, l'hypothèse étant que la présence antérieure des vers de terre limite les pertes en CO₂ lorsque la température s'élève ce qui limitera le déstockage du C.
- La régulation des pathogènes. De très rares travaux concernent l'effet des vers de terre sur le contrôle des maladies de plantes. On peut néanmoins citer les travaux de Blouin et al. (2005) sur les nématodes phytoparasites qui montrent cet effet positif des vers de terre sur la réduction de la maladie par les nématodes. A Madagascar, des interrogations se posent sur la gestion de la pyriculariose, principale maladie fongique du riz pluvial sur les Hautes Terres de Madagascar (Sester et al., 2014). L'intensité de la maladie

foliaire semble en partie contrôlée par des paramètres édaphiques et nous étudierons si les vers peuvent limiter cette maladie en rendant la plante plus résistante.

3.3 Organisation des travaux de thèse

La thèse sera organisée en trois grands chapitres, basés sur les échelles d'approches expérimentales :

- Le premier chapitre présentera les résultats d'une expérience d'introduction de vers de terre au champ, sur plusieurs années, en situations paysannes et destinées à comparer des situations conventionnelles ou agroécologiques (agriculture de conservation « AC ») en présence ou en absence de vers de terre. L'objectif est de vérifier qu'il est faisable et peu contraignant d'introduire des vers de terre dans des parcelles paysannes, et de vérifier que les vers de terre introduits vont améliorer les services agrosystémiques, notamment la croissance et le rendement du riz.
- Le deuxième chapitre présentera les résultats d'une expérience d'une année culturale réalisée en mésocosmes au champ afin de tester les meilleures associations 'espèces de vers de terre' x 'qualité de MO' x 'localisation de la MO' sur la croissance et le rendement du riz sur une saison culturale, et sur la résilience du système sol-plante à une augmentation de température ;
- Enfin, le troisième chapitre présentera les résultats d'expériences en microcosmes au laboratoire destinées à comprendre un certain nombre de processus écologiques par lesquels les vers de terre améliorent la croissance végétale. Il sera ainsi découpé en plusieurs sous-parties correspondant à des études différentes : caractérisation des activités enzymatiques et de la disponibilité du P dans les déjections de vers de terre, réponse des différentes variétés du riz à la présence des vers de terre, effet des vers de terre sur la résistance du riz à la pyriculariose (principale maladie fongique du riz).

Enfin, dans une conclusion générale, nous discuterons et synthétiserons l'ensemble des résultats acquis et proposerons quelques perspectives à ce travail, en cherchant notamment à proposer des innovations agricoles prenant mieux en compte des fonctions écologiques des sols portées par les vers de terre.

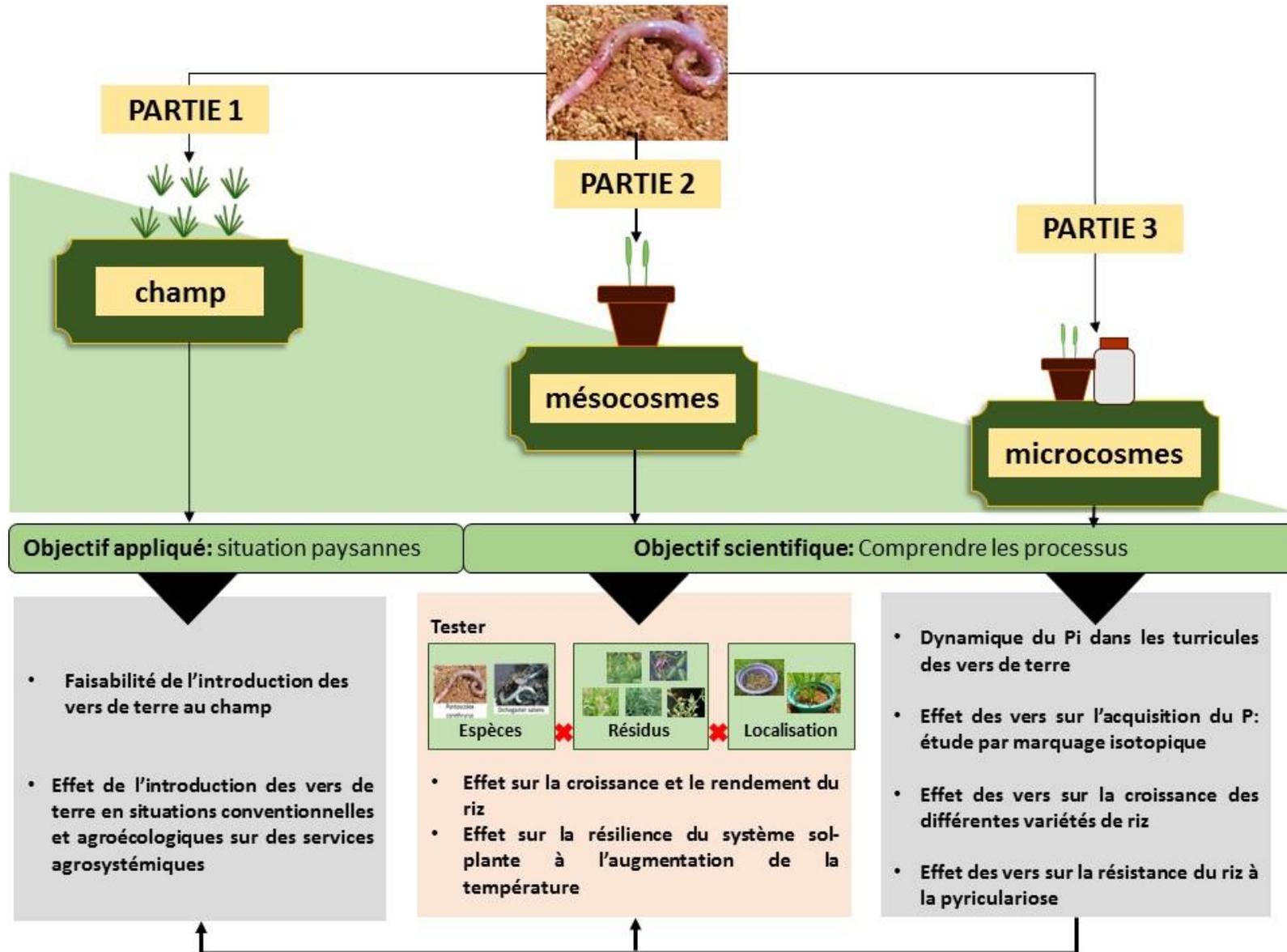


Figure 2 : Schéma conceptuel de la thèse

CHAPITRE 1 : Approche expérimentale au champ

Le chapitre 1 correspond à une expérience au champ pendant 4 années testant la faisabilité de l'introduction de vers de terre en situations paysannes dans des systèmes rizicoles pluviaux et évaluant les fonctions des vers de terre sur la mise en place des services agrosystémiques, plus particulièrement la croissance et le rendement du riz.



Chapitre 1 : Effet de l'introduction des vers de terre au champ, en situation paysanne, sur la croissance et le rendement du riz et d'autres services agrosystémiques

Résumé

Les vers de terre, qualifiés d'ingénieurs de l'écosystème, jouent un rôle clé dans la promotion du fonctionnement du sol et dans la fourniture de biens et services écosystémiques. En dépit de leurs potentialités très reconnues en conditions contrôlées, rares sont les études en plein champ supportant les effets positifs des vers de terre. Cette étude a pour objectif de tester sur le moyen terme (4 années) l'effet de l'introduction de vers de terre sur la croissance et le rendement en riz pluvial cultivé en situation paysanne. A Lazaina, un dispositif expérimental en quatre blocs a été installé sur un sol ferrallitique peu fertile. Six traitements ont été mis en place correspondant à des situations avec vers ou sans vers de terre et testant une pratique agroécologique (agriculture de conservation) et une pratique conventionnelle labourée avec restitution ou sans restitution organiques. Chaque année, des vers de terre de l'espèce endogée *Pontoscolex corethrurus* ont été inoculés au début de la culture (2 semaines après la levée du riz) à une densité de 75 ind m⁻². L'expérience a été lancée en 2013 pour une durée de quatre campagnes culturales. Les propriétés pédologiques et agronomiques ont été mesurées pour les trois premières saisons culturales. La quatrième saison a été consacrée à la mesure des propriétés biologiques et physiques du sol. Nos résultats montrent que le mode de gestion du sol n'a pas d'effet significatif sur aucun des paramètres étudiés, ce qui est probablement lié à la durée assez courte de notre expérience. C'est l'effet « ver de terre » qui entraîne les plus grandes différences. Après trois années d'introduction des vers de terre, le rendement du riz est supérieur de 44,6% par rapport aux traitements sans vers de terre, ceci indépendamment du mode de gestion du sol. Les résultats de la quatrième année ont montré la capacité des vers de terre introduits à survivre et à s'adapter au champ. En outre, les propriétés physiques comme l'agrégation du sol sont positivement affectées par les vers de terre. L'introduction de vers de terre dans des parcelles cultivées permet ainsi d'améliorer à la fois la production, le rendement et d'autres services agrosystémiques comme la séquestration du carbone et la résistance à l'érosion.

Mots-clés : *Pontoscolex corethrurus*, intensification écologique, phosphore disponible, carbone, agrégation, services agrosystémiques

1 Introduction

Le sol est un réservoir de biodiversité abritant 25% des espèces présentes sur Terre. La biodiversité du sol est cruciale pour le fonctionnement du sol. Particulièrement, les ingénieurs du sol assurent 4 grandes fonctions écologiques qui sont (i) le maintien de la structure du sol, (ii) le recyclage des nutriments, (iii) la transformation de carbone et (iv) la régulation des populations des bioagresseurs (Kibblewhite et al. 2008). Ces fonctions écologiques assurent la fourniture de nombreux biens et services écosystémiques tels que la croissance végétale, la séquestration de carbone et le contrôle de l'érosion (Brussaard et al. 2010 ; Lavelle et al. 2006). Grâce aux services écologiques rendus par les différents organismes du sol, l'une des techniques proposées pour l'intensification écologique de la production agricole consiste à introduire des organismes « bénéfiques » afin de réactiver les relations sol-plante. Si les introductions d'organismes concernent de façon fréquente les microorganismes (mycorhizes, rhizobia ou PGPR sous le terme de biofertilisants), très peu d'études dans le monde accordent une importance aux organismes « ingénieurs » tels que les vers de terre. Cependant, les vers de terre sont qualifiés d'ingénieurs de l'écosystème (Jones et al, 1994) ; ils jouent un rôle clé dans la promotion du fonctionnement des sols et dans la fourniture de biens et services écosystémiques (Brown et al., 1999 ; Cenci & Jones, 2009). Outre leur dominance au sein de la macrofaune du sol en termes de biomasse, les vers de terre ont des effets considérés comme bénéfiques sur les propriétés physiques, biologiques et chimiques des sols (Lavelle & Spain, 2001). Ils modifient la structure du sol par l'intermédiaire de la bioturbation et la production des structures biogéniques (turricules, galeries) (Blanchart, 1992 ; Blanchart et al., 1997). Les vers de terre influencent la structure du sol en formant des macropores (Lavelle, 1988). En outre, ils peuvent augmenter la stabilité des agrégats du sol (Li & Ghodrati, 1995). De surcroît, Edwards & Bohlen (1996) ont démontré que la présence de vers de terre a augmenté la croissance des plantes et les rendements des cultures dans les écosystèmes naturels et gérés.

À Madagascar, les vers de terre les plus couramment rencontrés dans les sols agricoles malgaches appartiennent à l'espèce *Pontoscolex corethrurus*. Des études en laboratoire et en mésocosmes ont montré les effets positifs de cette espèce sur la décomposition des matières organiques, sur le recyclage des nutriments, sur la biodisponibilité du phosphore pour les plantes (Coq et al., 2007 ; Chapuis-Lardy et al., 2009). Malheureusement, aucune étude en plein champ ne vient supporter ces observations. Or, Senapati et al. (1999) ont montré que l'introduction de *P. corethrurus* dans une plantation de thé en Inde, associée à des apports organiques, a permis d'augmenter la production de thé jusqu'à 240%.

La connaissance des caractéristiques spécifiques des vers de terre nous a conduits à étudier les impacts des vers de terre *P. corethrurus* (localement appelés « kankana mena ») sur les cultures, tout en essayant de répondre à ces questions de recherche :

« L'introduction de vers de terre a-t-elle une influence positive sur la croissance et le rendement des plantes cultivées sur les Hautes-Terres de Madagascar ? D'autres services agrosystémiques sont-ils affectés par les vers de terre ? ».

Cette étude a été entreprise sur un dispositif expérimental situé à Lazaina. L'expérimentation est menée sur le riz pluvial. Nous avons cherché à tester sur le moyen terme (quatre années) l'effet de l'inoculation de vers de terre en situation de plein champ sur différents paramètres pédologiques et agronomiques en vue d'évaluer les impacts des vers de terre sur les services agrosystémiques. Ces impacts sont mesurés sur des pratiques agro-écologiques (agriculture de conservation « AC ») et conventionnelles de labour avec restitution (LAR) ou sans restitution organique (LSR). Dans le respect des principes fondamentaux de l'AC, nous avons effectué un travail minimal du sol associé à une rotation du riz avec une association maïs + dolique dont les résidus constituent la couverture permanente du sol. Le critère de choix de l'association maïs-dolique repose dans le fait qu'elle procure une forte biomasse en année « zéro » de préparation de l'AC et, cultivée sans labour, elle est sensée préserver l'habitat des vers de terre introduits. Dans la présente étude, les vers de terre ont été introduits à une densité de 75 ind. m⁻². En effet, Spain *et al.* (1992) ont montré que les effets des vers de terre sont significatifs à partir de biomasse ou de densité de vers introduits dans le sol, au moins égales à 30 g.m⁻² et 60 ind.m⁻² de *P. corethrurus* adultes, respectivement.

2 Matériels et méthodes

2.1 Site d'étude

2.1.1 Localisation géographique

Le site expérimental se trouve dans le Fokontany d'Ambolotara, à 3 Km de Lazaina, Commune Rurale d'Ambohimanga Rova, District Antananarivo Avaradrano, Région Analamanga. Elle est située à 12 km au nord-est d'Antananarivo. Cette zone est délimitée géographiquement à 18°46'55.59'' de latitude Sud et 47°32'46.3'' de longitude Est, avec une altitude de 1274 m (Google Earth) (Figure 3).

2.1.2 Climat

Le climat du site est de type tropical d'altitude avec deux saisons bien marquées : une saison chaude et humide d'octobre à avril (7 mois) et une saison sèche et froide de mai à septembre (5 mois). Pendant les années 2006 à 2012, les précipitations mensuelles maximales ont été supérieures à 350 mm au mois de janvier. La température varie selon la saison avec une moyenne annuelle autour de 20°C (Figure 4). Durant l'expérimentation, les températures n'ont pas présenté de variations inter-annuelles importantes (Figure 5). Par contre, les précipitations lors de la 2^{ème} saison culturale (2014 -2015) ont été plus élevées que celles de la 1^{ère} saison (2013 – 2014) et 3^{ème} saison culturale (2015 – 2016) (Figure 5, Figure 6). Pendant la période culturale (début décembre - fin avril), la précipitation totale observée pour la 2^{ème} saison culturale a été de 1232 mm tandis qu'elle a été respectivement de 888 mm et 1082 mm pour la

1^{ère} et la 3^{ème} saison culturale. Les précipitations les plus fortes ont été enregistrées pour le mois de janvier (390 mm) et le mois de février 2015 (428 mm). Ce pic correspondait au passage d'un cyclone et à une période d'inondation à Antananarivo. Pour la 4^{ème} saison culturale (2016-2017), l'année a été marquée par une longue période de retard de pluie entraînant des répercussions importantes sur la culture. Malheureusement, les données climatiques ne sont pas encore disponibles.

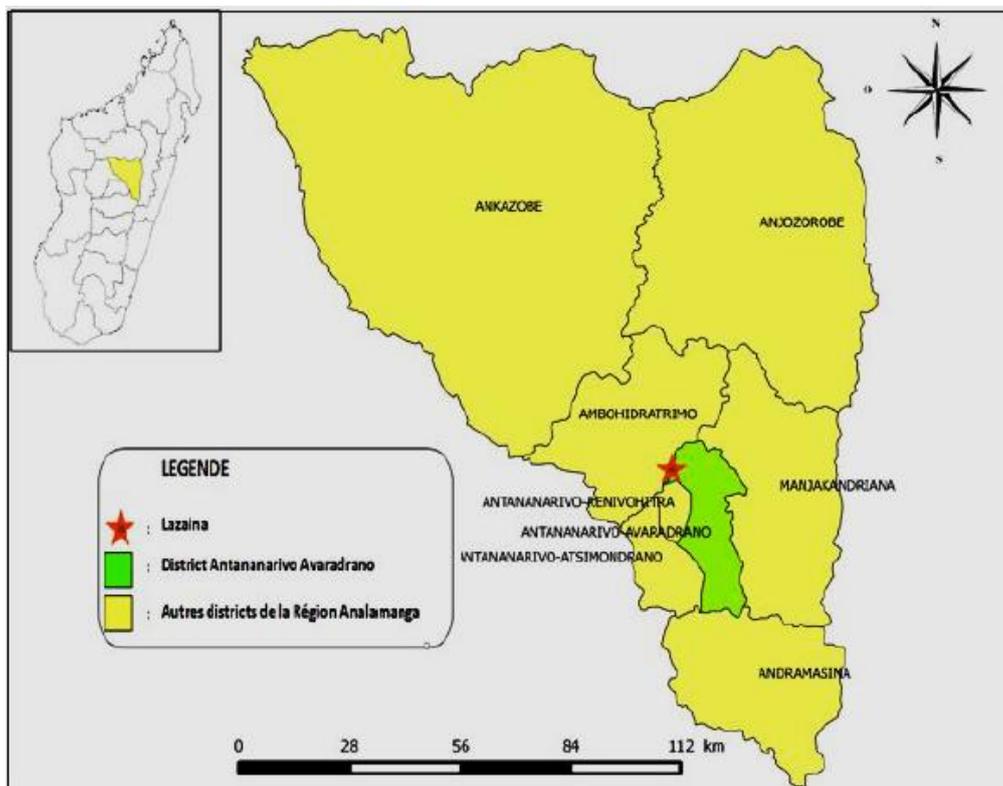


Figure 3 : Localisation de la zone d'étude

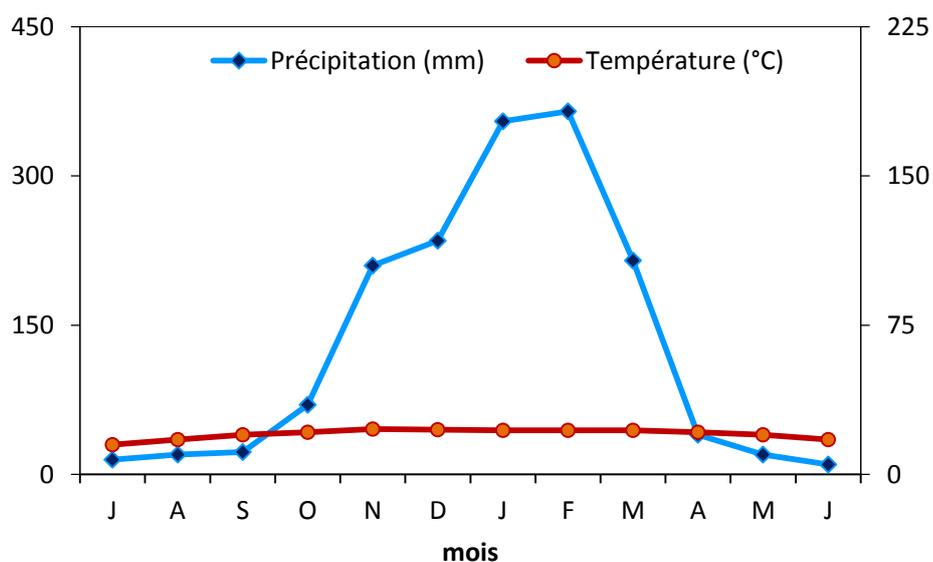


Figure 4 : Courbe ombrothermique de Gaussen, Station Ivato Aéroport 2006 – 2012

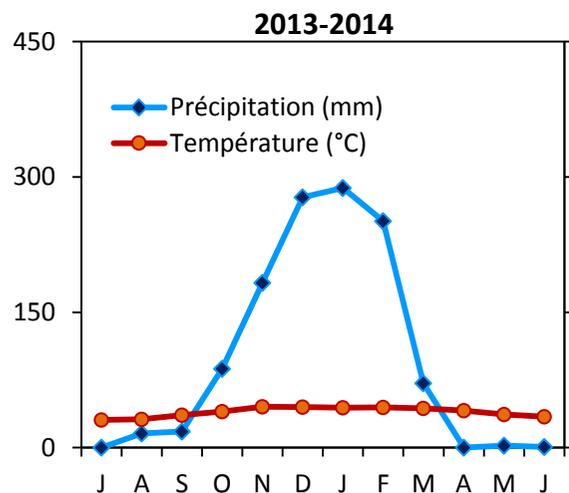


Figure 5a

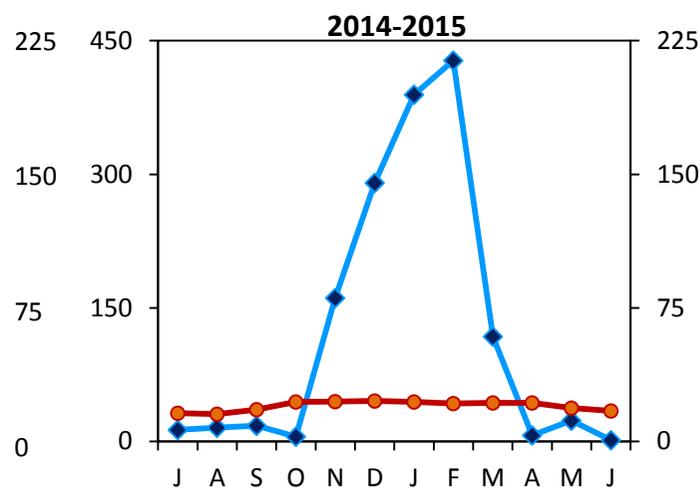


Figure 5b

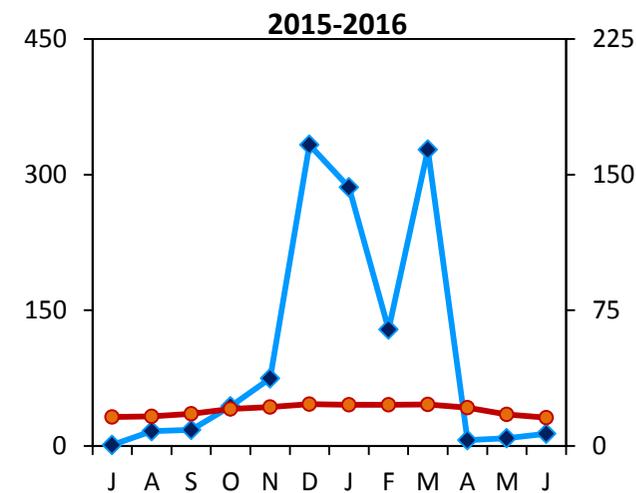


Figure 5c

Figure 5 : Courbe ombrothermique de Gaussen pour la 1^{ère} saison (2013 – 2014) (5a), la 2^{ème} saison (2014 - 2015) (5b) et la 3^{ème} saison culturale (2015 – 2016) (5 c)

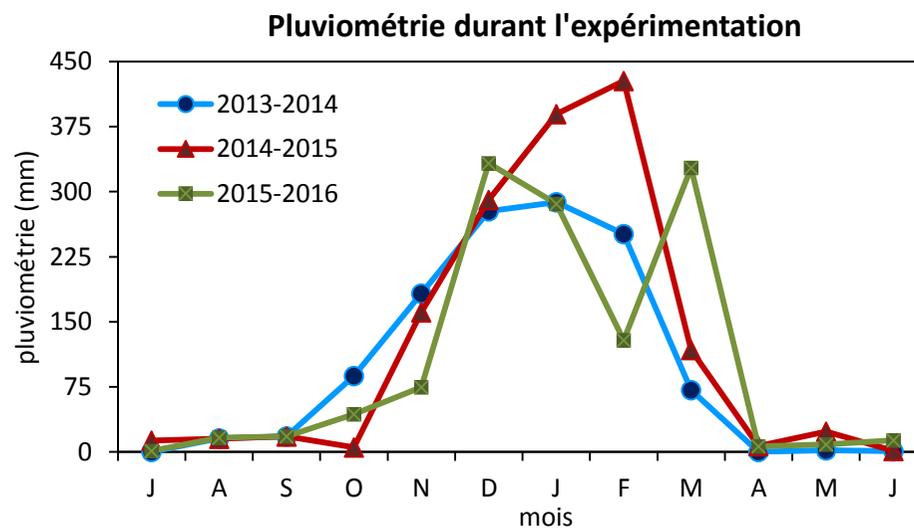


Figure 6 : Pluviométrie pour chaque saison culturale durant l'expérimentation

2.1.3 Sol et végétation

Le sol de Lazaina est un Ferralsol caractérisé par une forte proportion de kaolinite associée à des sesquioxydes de fer et d'aluminium. La texture du sol est de type argilo-sableuse avec une teneur moyenne en argile de l'ordre de 33 %. La formation végétale sur les parcelles en défriche est composée essentiellement par des Graminées *Aristida sp.*

2.2 Dispositif expérimental

2.2.1 Description du dispositif expérimental

L'expérimentation a été menée sur un dispositif d'essai au champ à Lazaina. Elle a été mise en place en 2006 par le Laboratoire des Radio-Isotopes (LRI). Cette station expérimentale appartient à la société privée « Vohitra environnement ».

Avant la mise en place de l'expérimentation en 2013, le terrain était en défriche depuis plus de 30 ans, cultivé en maïs de 2006 jusqu'en 2012, puis laissé en jachère pour la campagne culturale 2012-2013. Lors de la précédente expérimentation, deux traitements ont été testés dont (i) l'apport de fertilisation organique et (ii) l'apport de fertilisation organique associé à de l'engrais-minéral ($N_{11}P_{22}K_{16}$). Les parcelles élémentaires étant subdivisées en deux pour recevoir ces traitements.

Pour la présente étude, quatre parcelles élémentaires de ces anciens traitements ont constitué nos quatre blocs (Figure 7). Compte tenu de l'historique des parcelles, les sols ont été homogénéisés par labour au sein de chaque bloc. Autrement dit, les sols qui avaient reçus ou non une fertilisation minérale ($N_{11}P_{22}K_{16}$) lors de l'ancienne expérimentation ont été mélangés.



Figure 7 : Dispositif expérimental de l'essai vers de terre à Lazaina (Google Earth, 2014)

2.2.2 Traitements étudiés

Le dispositif expérimental est disposé en blocs complets en split-plot. Chaque bloc comprend 8 traitements répartis au hasard, issus de la combinaison de deux facteurs dont :

- le facteur « **introduction de vers de terre** (VDT) » à 2 modalités :
 - (i) 0 ind.m² de vers de terre introduits (SV) ;
 - (ii) 75 ind.m² de vers de terre introduits (V)
- le facteur « **mode de gestion du sol** (MGS) » à 3 modalités :
 - (i) une pratique de l'agriculture de conservation (AC) incluant une monoculture de riz en AC en rotation avec une association maïs-dolique en AC;
 - (ii) une pratique conventionnelle de labour de monoculture de riz avec restitution de paille (LAR)
 - (iii) une pratique conventionnelle de labour de monoculture de riz sans restitution de paille (LSR).

En totalité, le dispositif expérimental comporte 32 parcelles élémentaires (2 VDT x 4 parcelles MGS x 4 blocs), chacune ayant une superficie de 4,68 m² (2,6 m x 1,8 m) (Figure 8).

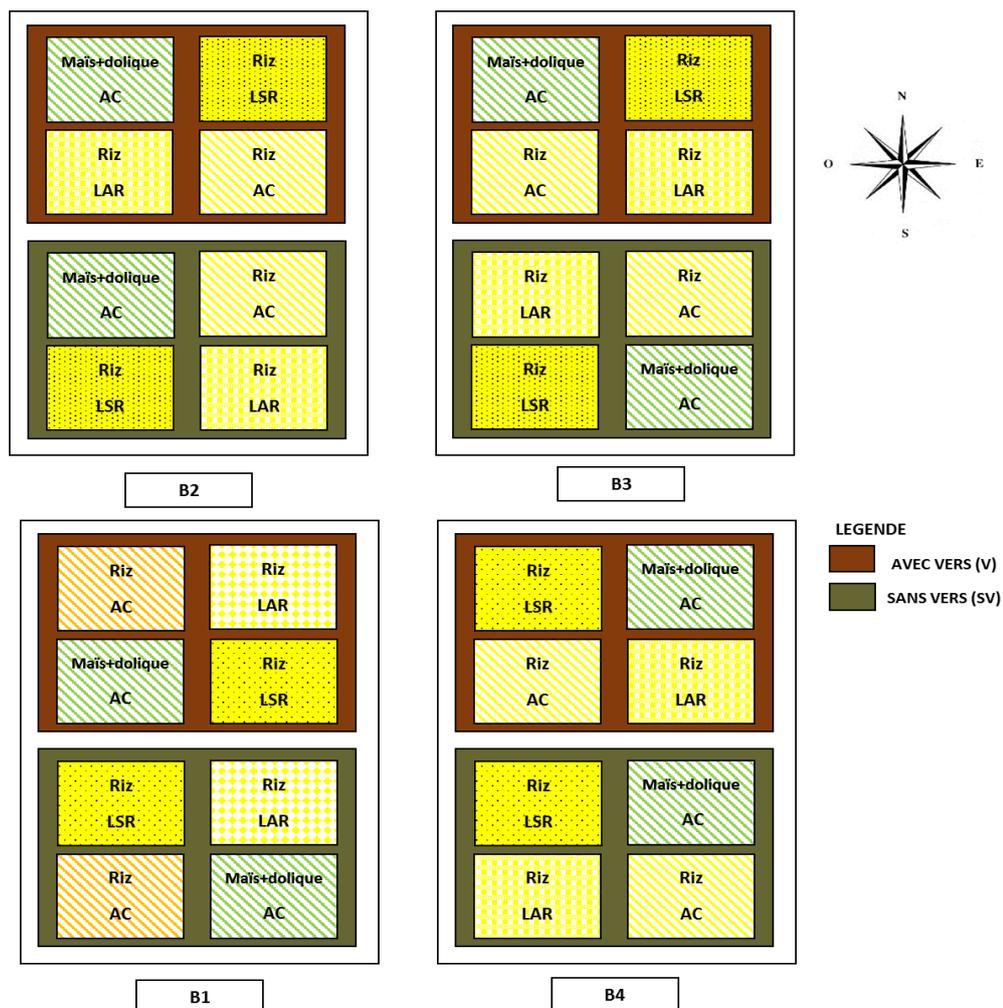


Figure 8 : Plan du dispositif expérimental

Lors de la première année d'expérimentation (2013-2014), le facteur mode de gestion de sol n'était pas pris en considération car les parcelles étaient toutes labourées pour homogénéiser le sol. De plus, cette saison correspondait à la première année d'installation de l'AC pendant laquelle le sol subit des opérations de labour et par la suite il n'est plus travaillé.

2.2.2.1 Cultures étudiées

Cet essai est composé par des cultures pures de riz et des cultures associées de maïs-dolique, pour la rotation de l'AC.

- Préparation des parcelles

L'opération de labour a été effectuée manuellement à l'aide de l'*angady*. Tous les traitements avec vers de terre d'un même bloc ont été regroupés en enfonçant verticalement, tout autour de la zone, des tôles dans le sol pour éviter la fuite des vers de terre (les tôles sont enfoncées de 30 cm dans le sol et dépassent de 5 cm à la surface du sol (Photo 1).



Photo 1 : Enfoncement de tôles dans une parcelle avec vers de terre

- Semis

Pour chaque campagne culturale, l'époque du semis a été similaire et a eu lieu vers mi-décembre. La densité et la disposition des plantes ont varié selon la culture.

Pour la culture du riz : l'écartement entre pieds est de 20 cm x 20 cm. La densité de semis du riz est de 80 kg ha⁻¹ avec 7 à 8 grains par poquet. La variété du riz utilisée est la FOFIFA 161 (Annexe 1).

Pour la culture de maïs-dolique : les lignes de maïs et de dolique sont alternées. Sur le rang, les pieds de maïs sont espacés de 45 cm ; on trouve ensuite une rangée de dolique dont l'écartement entre pieds est de 40 cm. Chaque parcelle élémentaire comprend deux lignes de maïs et deux lignes de doliques. La distance entre les deux lignes de maïs est égale à 90 cm. Tel est également le cas pour les deux lignes de doliques. Le semis a été réalisé simultanément avec celui du riz. Le nombre de grains de maïs et de dolique par poquet est de 3. Les variétés du maïs et de la dolique employées sont respectivement l'IRAT 200 et la dolique à graines marron. Les caractéristiques respectives de ces variétés sont décrites en Annexe 2 et Annexe 3.

- Fertilisation

La fertilisation organique est constituée de fumier de ferme à raison de 10 t.ha⁻¹ à la fois pour la culture du riz et pour l'association maïs-dolique. Pour la fertilisation minérale, l'engrais chimique N₁₁P₂₂K₁₆ a été utilisé sur toutes les cultures étudiées avec une dose de 200 kg.ha⁻¹. Lors de la phase de montaison, 50 kg.ha⁻¹ d'urée ont été apportés sur le riz et le maïs-dolique.

- Entretiens

Le resemis et le sarclage ont été les principales opérations effectuées pour l'entretien des cultures. Tous les poquets qui n'ont pas levé deux semaines après le semis ont été ressemés. Le sarclage s'effectuait manuellement, en laissant les résidus sur le sol. Il a été réalisé un mois après le semis et a ensuite été fait systématiquement tous les 15 jours.

Le MALABAR 500 EC (matière active : malathion 500 g.l⁻¹) était le produit phytosanitaire utilisé pour lutter, seulement en cas d'attaques, contre les pucerons (*Aphis craccivora*), avec une dose de 1 L.ha⁻¹ soit 1 mL.m⁻². Enfin, une lutte mécanique a été menée pour l'attaque des cigariers (*Apoderus humeralis*) en ramassant les cigares contenant les larves et en les détruisant sur les parcelles.

2.2.2.2 Vers de terre

L'espèce de vers de terre utilisée dans cette expérimentation est *P. corethrurus*. Les caractéristiques de ce ver de terre sont données en annexe 4. Les vers de terre ont été collectés à côté du dispositif expérimental de Lazaina, dans un endroit humide, sous des arbustes, notamment sous des eucalyptus, à moins de 100 m des parcelles expérimentales (Photo 2). Les vers collectés sont gardés dans un seau rempli de terre assez humide. Après cela, un tri a été effectué pour pouvoir isoler, puis compter les individus intacts de *P. corethrurus*. Enfin, les vers de terre identifiés sont répartis équitablement dans 4 seaux contenant de l'eau avant de les introduire dans chaque bloc. Au total, 6680 vers de terre ont été apportés chaque année entre début janvier et début février soit 1670 vers par bloc, ce qui représente une densité de 75 ind.m⁻². Il a fallu environ 3 jours à 5 personnes pour prélever les milliers de vers de terre nécessaires (ce qui renforce la faisabilité de cette pratique).



Photo 2 : Collecte (2a), comptage (2b) et inoculation (2c) des vers de terre au champ

2.2.3 Mesures effectuées

Les mesures effectuées au cours des 4 saisons culturales concernent les propriétés pédologiques, agronomiques et biologiques. La figure 9 résume les diverses opérations culturales et les principales mesures réalisées pendant chaque saison culturale.

2.2.3.1 Mesures des propriétés pédologiques

Premièrement, des mesures des paramètres du sol au début de l'expérimentation ont été effectuées afin de caractériser d'une part, l'état initial du sol et, d'autre part, la variabilité spatiale du terrain après l'homogénéisation par labour. Ainsi, des prélèvements de sol de 0-10 cm ont été effectués à l'aide d'une tarière sur toutes les parcelles. Les prélèvements ont été répétés six fois entre les lignes de cultures. Par la suite, les sols prélevés ont été mélangés pour avoir des échantillons composites sur lesquels les analyses en laboratoire (C, N minéral, P résine, pH) ont été effectuées. A part cela, un autre prélèvement de sol (0-10 cm) a été réalisé avec un cylindre pour déterminer la densité apparente initiale du sol.

En outre, à la fin de chaque saison culturale, des échantillons de sol ont été prélevés à l'aide d'un cylindre sur les parcelles de riz. Ceci étant effectué afin de caractériser les propriétés du sol selon les traitements étudiés et l'évolution des caractéristiques physico-chimiques dans le temps. Pour cela, la profondeur de prélèvements reste similaire à celle en début de l'expérimentation (0-10 cm). Par contre, deux répliqués de prélèvements par parcelle

élémentaire ont été effectués pour avoir deux échantillons de répétition terrain sur lesquels les analyses en laboratoire ont été effectuées. En tout, 4 échantillons ont été prélevés pour chaque parcelle dont deux échantillons ont été utilisés pour les analyses chimiques (C, NH₄, P résine) et deux autres pour la mesure de la densité apparente.

Enfin, des mesures de propriétés physiques du sol telles que la densité apparente et l'agrégation ont été réalisées à la 4^{ème} saison culturale. Pour ces deux paramètres, les prélèvements du sol ont été effectués avec un cylindre à raison de deux répétitions par parcelle élémentaire du riz. Pour l'agrégation, la technique utilisée est la séparation par simple tamisage à sec du sol séché à l'air libre, en utilisant un tamis de 2 mm de diamètre. Le calcul se base sur le pourcentage du poids des agrégats restant sur le tamis (diamètre > 2 mm) rapporté au poids total du sol. Ceci se rapproche de la technique utilisée par Blanchart et al. (1990) et Blanchart (1992).

2.2.3.2 Mesures des propriétés agronomiques

Les mesures des propriétés agronomiques consistent à évaluer les paramètres de croissance et de rendement du riz. La croissance de la plante peut s'apprécier par une augmentation de la hauteur de la plante ainsi que par la production de biomasse. Par conséquent, pour chaque saison culturale, la croissance en hauteur des plantes a été régulièrement suivie selon son stade physiologique. Toutes les plantes ont été mesurées sauf celles sur les bordures qui sont éliminées pour éviter les effets de bordure. En outre, les plantes mortes ou malades n'ont pas été mesurées. Les mesures ont été effectuées durant trois stades physiologiques dont (i) le début du tallage : 1 mois après semis (MAS) ; (ii) la fin du tallage : 2 MAS et (iii) la fin de la floraison : 3 MAS.

En ce qui concerne les biomasses (aériennes et racinaires) et le rendement, ces paramètres ont été mesurés à la récolte du riz, soit vers fin avril. La récolte intégrale (sauf les bordures et les plantes malades) a été utilisée pour quantifier la biomasse aérienne et le rendement en grains du riz. Des aliquotes (paille et grains) ont été par la suite analysés en laboratoire pour quantifier les teneurs et contenus en N et P. Ces derniers ont servi à quantifier l'exportation en N et P suivant les traitements étudiés. Pour la biomasse racinaire, l'échantillonnage a été effectué en utilisant la méthode dite TSBF (du programme 'Tropical Soil Biology and Fertility', Anderson & Ingram, 1993). Elle consiste à prélever un monolithe de sol de 25 cm x 25 cm à une profondeur de 10 cm. Deux répétitions par parcelle ont été effectuées suivant la diagonale des parcelles. La biomasse racinaire dans le monolithe a été triée manuellement en émiettant la terre. Les particules de sol présentes sur les racines ont été retirées.

2.2.3.3 Mesures des propriétés biologiques

Les mesures des propriétés biologiques concernent l'échantillonnage des vers de terre et des nématodes. Elles ont été réalisées presque à la fin de la 4^{ème} saison culturale avant l'arrêt des pluies (mars 2017), époque où l'activité de la faune du sol est généralement maximale. Pour les vers de terre, la méthode d'échantillonnage est similaire à celle utilisée pour la biomasse

racinaire. Les vers de terre sont triés manuellement dans le monolithe de sol, puis comptés et déterminés à l'espèce (*P. corethrurus* ou autres). Après cela, on les remet dans le sol.

Pour les nématodes, des prélèvements de sol (0 - 10 cm) entre les lignes de cultures ont été réalisés à l'aide d'un cylindre. L'humidité du sol a été calculée une fois arrivée au laboratoire. Par la suite, les nématodes ont été extraits du sol par élutriation (Seinhorst, 1962), à partir de 300 g de sol frais. Un piégeage actif par filtration de 48 heures a permis la collecte des individus vivants.

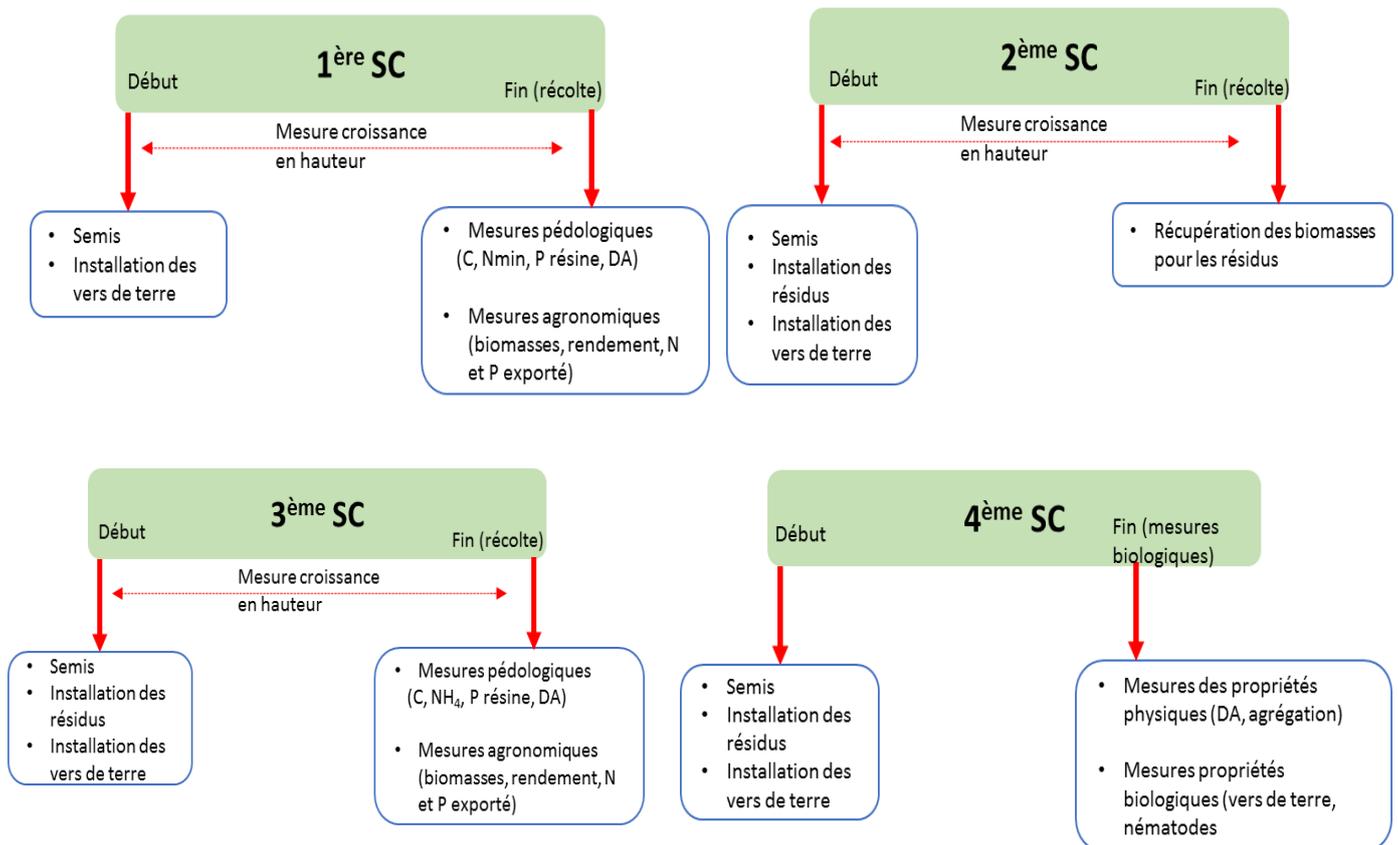


Figure 9 : Schéma montrant les opérations culturales réalisées au cours des quatre saisons culturales (SC)

2.3 Traitement des données

Les traitements statistiques ont été réalisés avec le logiciel statistique R (R Team 2016). Le seuil de significativité a été établi à une p-value < 0,05.

Pour les paramètres pédologiques, une analyse des paramètres du sol au début de l'expérimentation a été d'abord effectuée afin d'évaluer l'homogénéité des parcelles. Pour cela, les données initiales du sol ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) à un facteur (historique des parcelles). Des effets fortement significatifs (p-value < 0.001) de l'historique des parcelles ont été observés sur toutes les variables étudiées (Table 1). Par la suite, ces résultats ont été pris en compte dans l'analyse statistique des paramètres pédologiques mesurés à la fin de chaque saison culturale en réalisant une analyse de covariance (ANCOVA). Les covariables utilisées dans les modèles sont les caractéristiques initiales du sol. Cette approche

permet de réduire la variance du terme d'erreur résiduelle présent dans le modèle et rendre l'analyse plus puissante et plus précise. Lorsqu'un effet significatif des facteurs étudiés (vers de terre, mode de gestion du sol, caractéristiques du sol initial, bloc) a été détecté dans les résultats d'ANCOVA, une comparaison multiple des moyennes a été réalisée en utilisant la moyenne des moindres carrés (least square means) avec l'ajustement de tukey.

En ce qui concerne l'évolution des propriétés du sol dans le temps, une analyse de la différence entre les valeurs moyennes des propriétés du sol observées à la fin de l'expérimentation et leurs valeurs initiales a été effectuée. La différence obtenue se traduit en termes de gain (+) ou de perte (-) de carbone ou nutriments. Cette différence est calculée à partir de la formule ci-après :

Pour les teneurs, $\Delta C = C_f - C_i$; $\Delta P = P_f - P_i$;

Pour les stocks, $\Delta StC = StC_f - StC_i$; $\Delta StP = StP_f - StP_i$

où C_f , C_i , P_f , P_i , StC_f , StC_i , StP_f et StP_i étant respectivement les teneurs finales et initiales en C et en P et les stocks finaux et initiaux en C et en P.

Concernant les paramètres agronomiques, l'absence d'effet significatif des caractéristiques initiales du sol sur les paramètres pédologiques observée dans les résultats d'ANCOVA (Table 2) nous a conduits à effectuer une ANOVA à trois facteurs (vers de terre, mode de gestion du sol, bloc) sur l'ensemble des données. Cette analyse a été suivie d'un test post-hoc de tukey pour la comparaison multiple des moyennes.

Pour la présente étude, les résultats sur les propriétés pédologiques et agronomiques sont focalisés sur la troisième campagne culturale (2015 – 2016). Cela permet d'appréhender à la fois les effets cumulés de l'introduction des vers de terre (trois années d'apport) et du mode de gestion du sol (deux années de pratiques). De plus, des contraintes climatiques ont affecté nos mesures sur terrain lors de la deuxième campagne (2014 – 2015) et la quatrième campagne culturale (2016 - 2017). En janvier et février 2015, les très fortes précipitations associées à des dégâts causés par des zébus ont perturbé nos observations. En outre, de nombreuses plantes ont été atteintes d'une maladie fongique suite au taux d'humidité élevé et n'ont pas été mesurées. Lors de la quatrième saison culturale, la longue période de sécheresse a fortement affecté la levée du riz. L'insuffisance de la pluie induisait une faible croissance des plantes. Ainsi, la fin de la quatrième saison culturale dans cette étude ne correspondait pas à la récolte mais à la période de mesure des propriétés biologiques (mars 2017) où la pluie a été importante.

3 Résultats

3.1 Paramètres du sol au début de l'expérimentation

Les résultats d'analyses du sol à l'état initial montrent que les sols sont pauvres en carbone (donc en matière organique) ($< 20 \text{ gC.kg}^{-1}$) avec une teneur faible en éléments nutritifs tels que l'azote total ($< 2 \text{ gN.kg}^{-1}$) et le phosphore minéral (résine) ($< 20 \text{ mgP.kg}^{-1}$). Le rapport C/N est faible (entre 8 à 10). La densité apparente est également faible (entre $1,1$ à $1,2 \text{ g.cm}^{-3}$). Le pH_{eau} du sol est acide ($< 5,5$) (Table 1).

Concernant l'analyse de la variabilité spatiale inhérente aux parcelles, l'ANOVA a montré que l'historique des parcelles caractérisée par des modes de fertilisation différents a des effets significatifs sur les caractéristiques chimiques initiaux du sol (Table 1), malgré l'homogénéisation effectuée au moment du labour. Les analyses du sol montrent que les parcelles ayant antérieurement reçu une fertilisation organo-minérale (et correspondant dans notre essai au traitement sans vers de terre) ont des teneurs en carbone (+17.5%), azote total (+18.7%) et phosphore minéral du sol (+146%) plus élevées que celles ayant reçu une fertilisation uniquement organique (correspondant dans notre essai au traitement avec vers de terre). Une observation similaire a été constatée pour les stocks. Il en est de même pour la densité apparente, avec une p-value significative à 0,058. Les différences sont minimales ($1,14 \text{ g.cm}^{-3}$ contre $1,17 \text{ g.cm}^{-3}$) mais devront, néanmoins, être prises en compte dans l'évolution des propriétés du sol dans le temps. Cependant, l'historique des parcelles n'a pas d'effet significatif sur le pH (p-value = 0,448). Pour l'effet « bloc », une différence significative a été observée pour le pH (le bloc 4 ayant des pH plus faibles) et toutes les variables relatives à l'azote total dont la teneur et le stock en azote total (le bloc 1 avec des valeurs plus faibles) et ainsi que le rapport C/N.

Table 1 : Caractéristiques physico-chimiques du sol au début de l'expérimentation (horizon 0 – 10 cm). Moyenne et p-value des teneurs initiales en carbone (Ci), en azote total (Ntot i), en phosphore minéral (Prés i), du rapport C/N (C/Ni), du stock de carbone (StCi), du stock d'azote total (StNi), du stock de phosphore minéral (StPi) et de la densité apparente (Dai) ; i : initial ; SV: parcelles qui n'ont pas été inoculés en vers de terre ; V : parcelles où ont été introduits les vers de terre ; B : bloc.

	Ci	Ntot i	P prés i	C/Ni	StCi	StNi	StPi	Dai	pHi
	g.kg ⁻¹	g.kg ⁻¹	mg.kg ⁻¹		Mg.ha ⁻¹	Mg.ha ⁻¹	Kg.ha ⁻¹	g.cm ⁻³	
SV	16,8 a	1,84 a	10,65 a	9,46 a	19,27 a	2,10 a	12,13 a	1,14 a	5,31 a
V	14,3 b	1,55 b	4,33 b	9,29 a	16,74 b	1,83 b	5,08 b	1,17 a	5,34 a
p-value	0,005	< 0,001	< 0,001	0,747	0,028	0,011	< 0,001	0,058	0,448
B1	15,46 a	1,37 b	7,00 a	11,29 a	17,58 a	1,56 b	7,82 a	1,14 a	5,39 a
B2	16,54 a	1,85 a	8,78 a	9,04 b	18,79 a	2,11 a	9,97 a	1,14 a	5,40 a
B3	15,05 a	1,66 a	7,30 a	9,16 b	17,44 a	1,93 a	8,44 a	1,17 a	5,37 a
B4	15,20 a	1,90 a	6,90 a	8,00 b	18,22 a	2,27 a	8,20 a	1,19 a	5,14 b
p-value	0,605	< 0,001	0,530	0,014	0,807	< 0,001	0,579	0,073	< 0,001

Les valeurs en gras sont les p-value inférieures au seuil de signification $\alpha= 5 \%$.

3.2 Paramètres du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015 - 2016)

Les analyses statistiques montrent que les vers de terre n'ont pas d'influence significative sur toutes les variables étudiées sur les caractéristiques physico-chimiques du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (Table 2). Il en est de même pour les facteurs « mode de gestion du sol », « caractéristiques initiales du sol » et l'interaction entre « l'apport de vers de terre » et « le mode de gestion du sol ». Concernant le facteur « bloc », l'ANCOVA montre un effet significatif pour la teneur et le stock en C ainsi que la teneur en NH₄.

Table 2 : p-value de l'effet des facteurs sur les caractéristiques physico-chimiques du sol (horizon 0 – 10 cm) à la récolte du riz à la fin de la 3^{ème} année d'expérimentation (2016). Légende voir Table 1

	C	NH₄	P	StC	StNH₄	StP	Da
	g.kg ⁻¹	mg.kg ⁻¹	mg.kg ⁻¹	Mg.ha ⁻¹	Kg.ha ⁻¹	Kg.ha ⁻¹	g.cm ⁻³
VDT	0,191	0,708	0,183	0,288	0,902	0,172	0,295
MGS	0,915	0,786	0,144	0,934	0,837	0,169	0,851
Sol_i	0,818	0,138	0,379	0,960	0,126	0,484	0,720
BLOC	0,025	0,043	0,287	0,020	0,070	0,248	0,148
VDT*MGS	0,968	0,620	0,925	0,987	0,634	0,886	0,467

Une analyse plus détaillée des effets des facteurs étudiés (vers de terre, mode de gestion du sol) est décrite ci-dessous.

3.2.1 Effet des vers de terre sur les caractéristiques physico-chimiques du sol

Il est remarqué qu'en présence de vers de terre, les teneurs et les stocks en C, NH₄ et P sont plus faibles que ceux observés en absence de vers de terre (p-value < 0,05 ; Table 2). Pour les variables C et NH₄, la différence entre les deux traitements reste étroite (Figure 10, 11). D'une part, les valeurs moyennes observées pour la teneur en C sont de 22,6 ± 0,6 gC.kg⁻¹ en présence de vers de terre contre 23,8 ± 0,6 gC.kg⁻¹ en l'absence de vers, soit une différence inférieure à 5%. D'autre part, les valeurs moyennes mesurées pour la teneur en NH₄ sont de 4,38 ± 0,30 mgNH₄.kg⁻¹ pour le traitement avec vers de terre contre 4,54 ± 0,30 mgNH₄.kg⁻¹ pour celui sans vers, soit une différence inférieure à 4%. La même tendance s'observe pour les stocks en ces éléments, avec une différence inférieure à 5% pour le C et à 1% pour le NH₄. Cependant, la différence entre les deux traitements (avec vers et sans vers de terre) est plus marquée pour la teneur et le stock en P disponible. La comparaison entre les deux traitements a fait ressortir que la teneur et le stock en P disponible en présence de vers de terre présentent une différence respective de -27% et -29% en comparaison avec ceux en absence de vers de terre (Figure 12a et Figure 12b).

En ce qui concerne la densité apparente, ce paramètre n'est pas affecté par l'introduction des vers de terre. Nous avons mesuré une densité apparente sensiblement similaires pour les traitements avec vers ($1,26 \pm 0,01 \text{ g.cm}^{-3}$) et sans vers de terre ($1,24 \pm 0,01 \text{ g.cm}^{-3}$) (Figure 13).

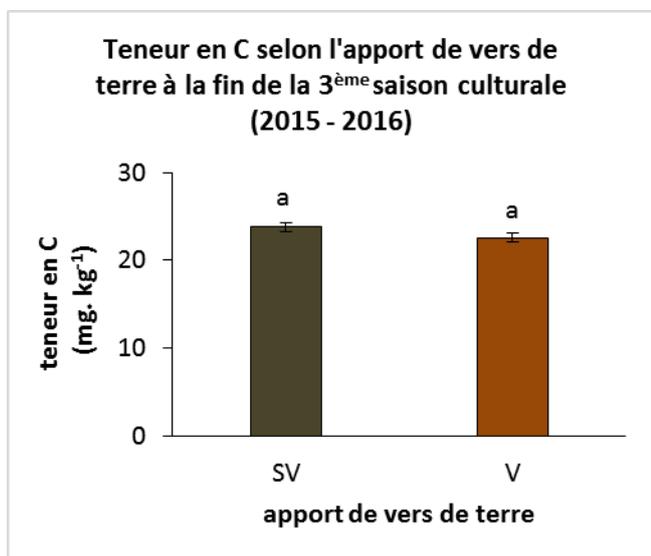


Figure 10a

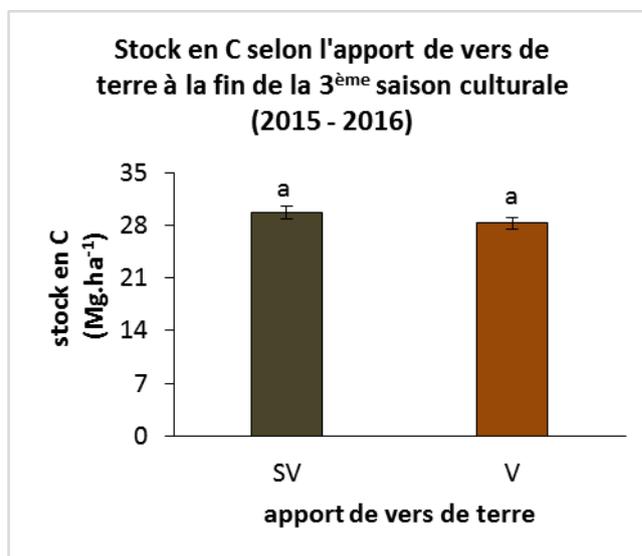


Figure 10b

Figure 10 : Teneur (Figure 10a) et Stock en C (Figure 10b) selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

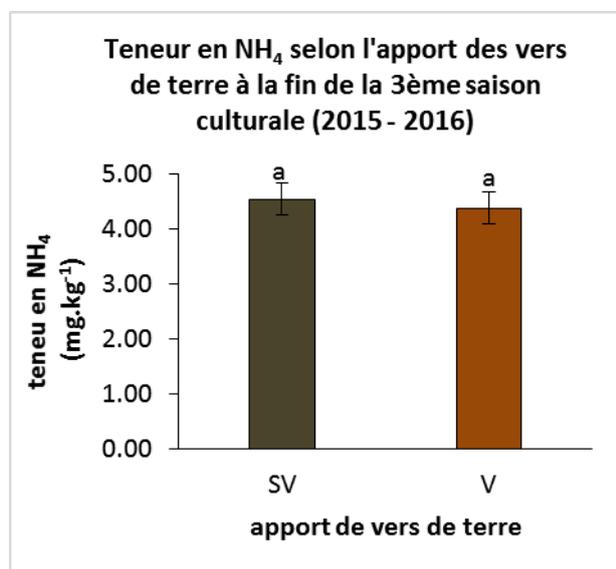


Figure 11a

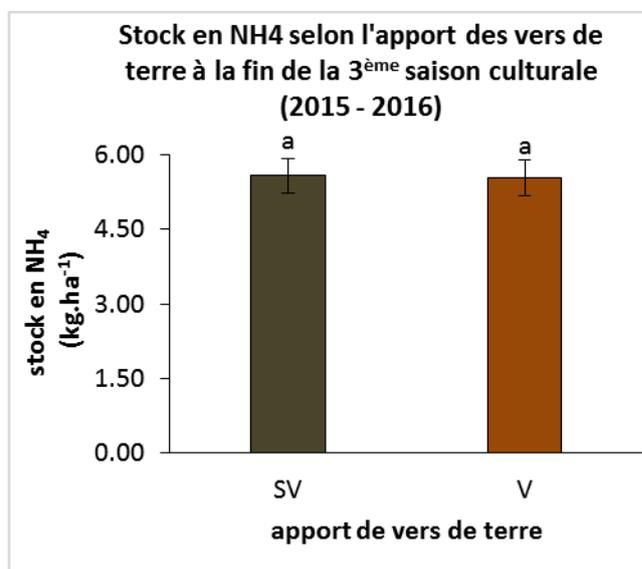


Figure 11b

Figure 11 : Teneur (Figure 11a) et Stock en NH₄ (Figure 11b) selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

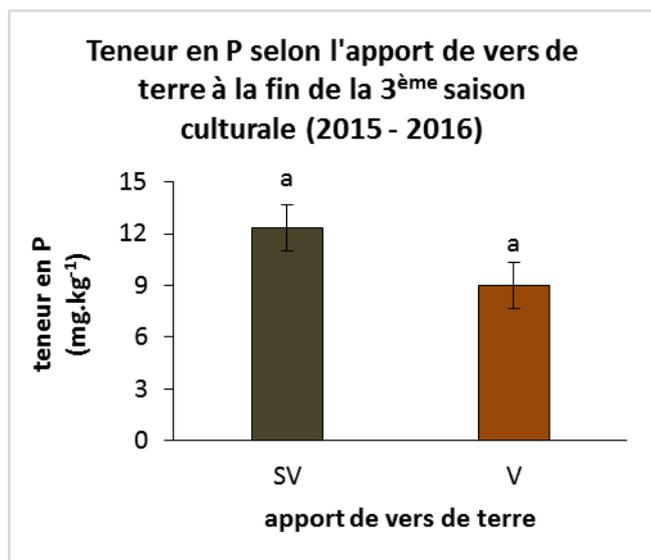


Figure 12a

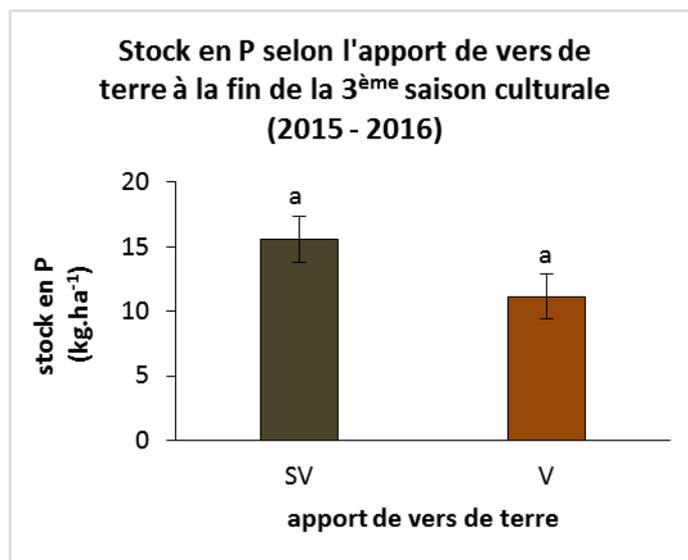


Figure 12b

Figure 12 : Teneur (Figure 12a) et Stock en P (Figure 12b) selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

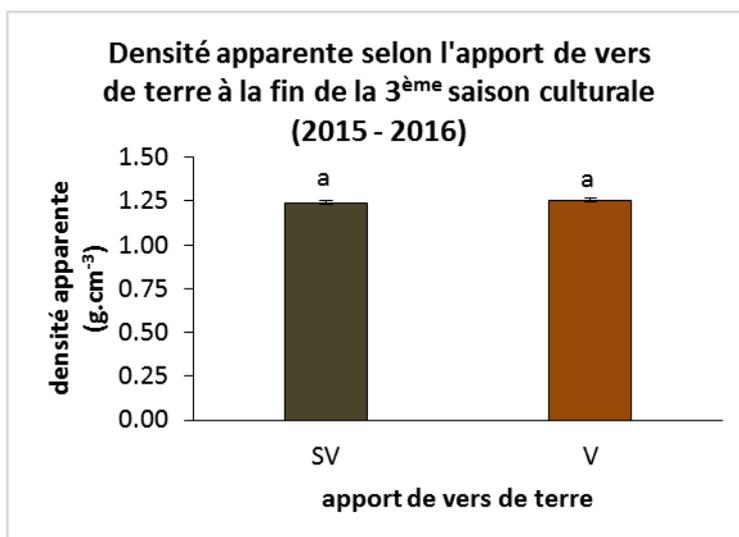


Figure 13 : Densité apparente selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.2.2 Effet du mode de gestion du sol sur les caractéristiques physico-chimiques du sol

Le mode de gestion du sol ne présente aucune influence significative sur les caractéristiques physico-chimiques du sol. Concernant la teneur en C, les valeurs moyennes mesurées pour chaque traitement oscillent autour de 23gC.kg⁻¹ (LSR : 23,15 ± 0,58 gC.kg⁻¹, LAR : 23,42 ± 0,64 gC.kg⁻¹ et AC : 22,98 ± 0,69 gC.kg⁻¹) (Figure 14 a). Pour la variable NH₄, la teneur est de l'ordre de 4 mgNH₄.kg⁻¹ quel que soit le mode de gestion du sol (LSR : 4,51 ± 0,33 mgNH₄.kg⁻¹, LAR : 4,28 ± 0,32 mgNH₄.kg⁻¹ et AC : 4,60 ± 0,33 mg NH₄.kg⁻¹) (Figure 15 a). Par contre, malgré l'absence de différence significative, le traitement AC a une teneur plus élevée en P disponible avec une valeur moyenne de 12,29 ± 1,21 mgP.kg⁻¹ contre 11,13 ± 1,20 mgP.kg⁻¹

pour le LAR et $8,68 \pm 1,21 \text{ mgP.kg}^{-1}$ pour le LSR. Cette hausse est plus marquée sur le stock en P disponible (pour l4AC : $15,28 \pm 1,59 \text{ kgP.ha}^{-1}$; pour LAR : $13,85 \pm 1,57 \text{ kgP.ha}^{-1}$; pour LSR : $10,88 \pm 1,58 \text{ kgP.ha}^{-1}$) (Figure 16 b). Pour la densité apparente, la valeur moyenne pour chaque traitement tourne autour de $1,25 \text{ g.cm}^{-3}$ (Figure 17).

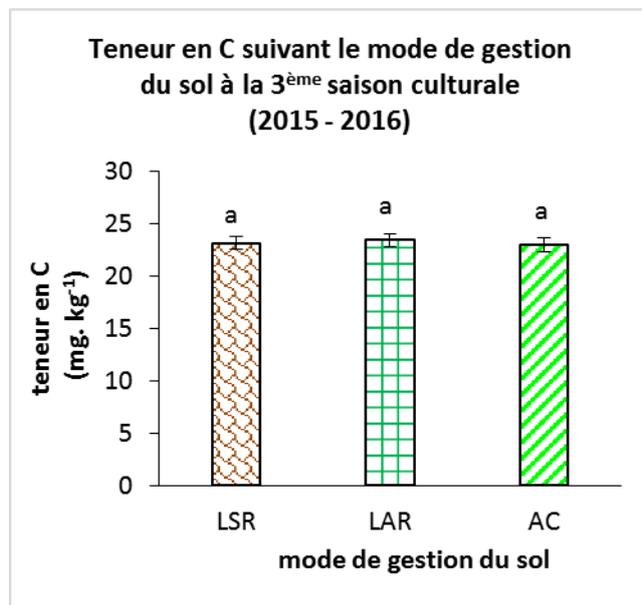


Figure 14a

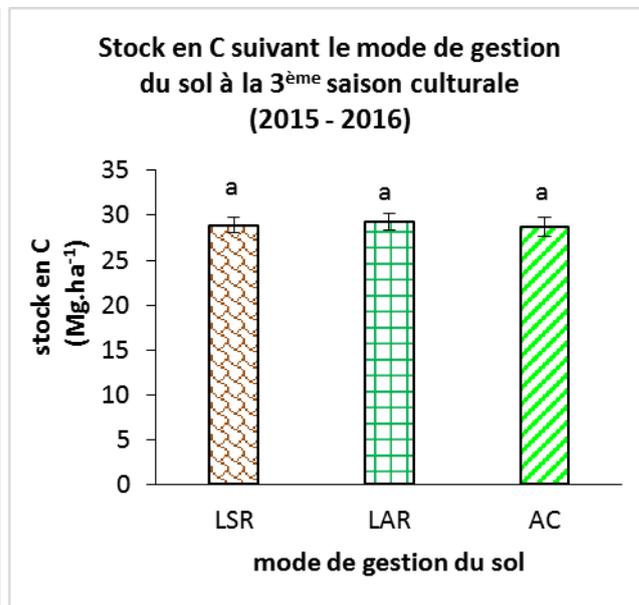


Figure 14b

Figure 14 : Teneur (Figure 14a) et Stock en C (Figure 14b) selon le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

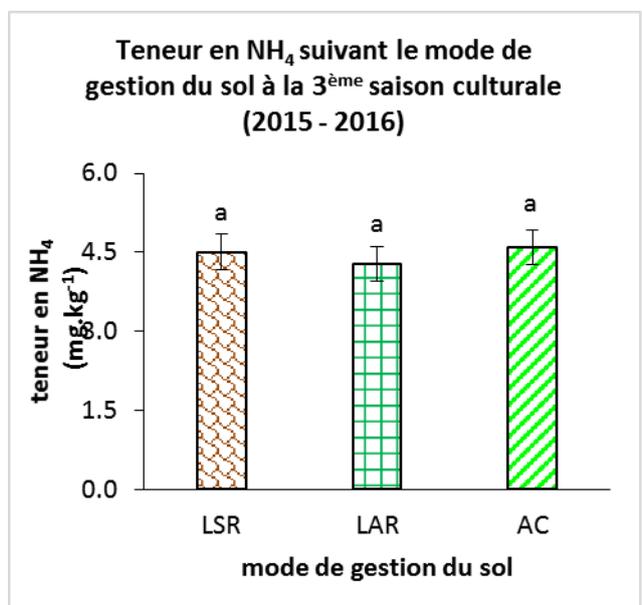


Figure 15a

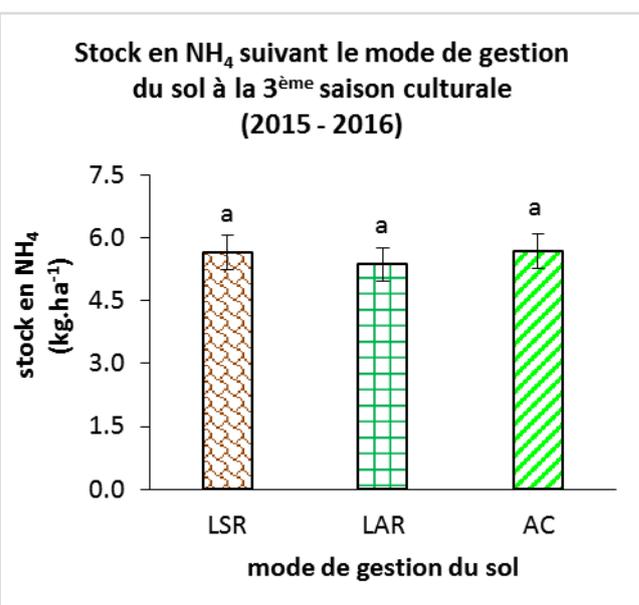


Figure 15b

Figure 15 : Teneur (Figure 15a) et Stock en NH₄ (Figure 15b) selon le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

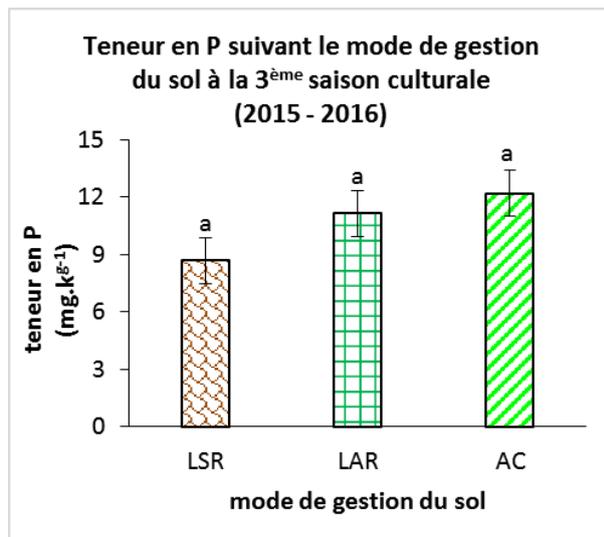


Figure 16a

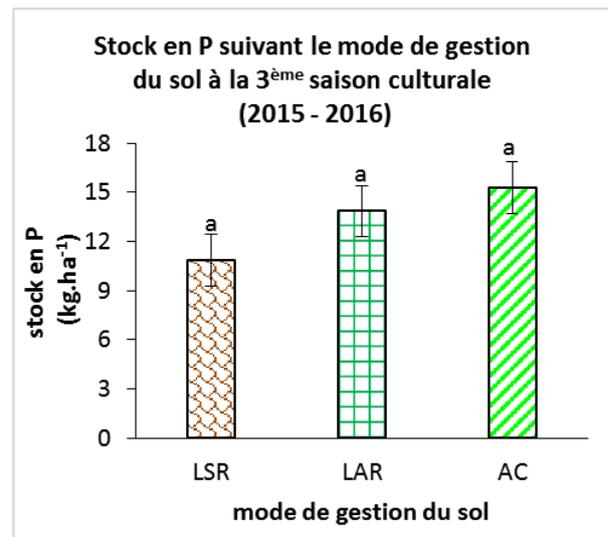


Figure 16b

Figure 16 : Teneur (Figure 16a) et Stock en P (Figure 16b) selon le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

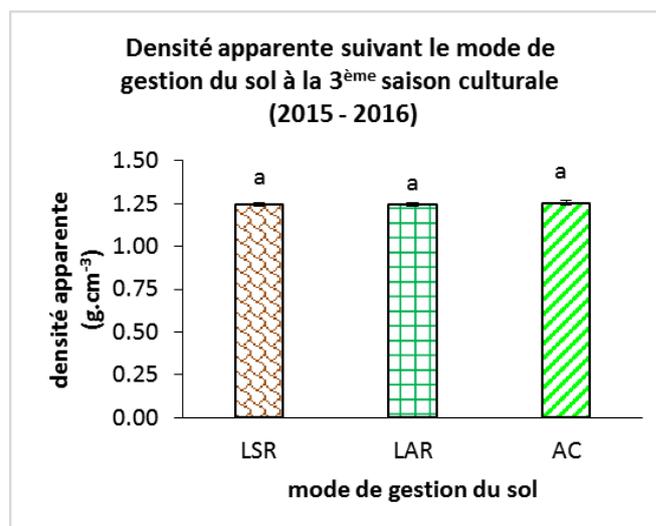


Figure 17 : Densité apparente selon l'apport des vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015-2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.3 Évolution des propriétés du sol au cours du temps

3.3.1 Évolution des propriétés chimiques du sol

Entre 2013 et 2016, l'introduction des vers de terre a permis une augmentation de la teneur en C ($\Delta C = 8,22 \pm 0,24 \text{ gC.kg}^{-1}$) et du stock en C du sol ($\Delta \text{StC} = 11,59 \pm 0,33 \text{ MgC.ha}^{-1}$) comparée à celle mesurée dans les traitements sans vers ($\Delta C = 6,50 \pm 0,25 \text{ g.kg}^{-1}$ pour la teneur ; $\Delta \text{StC} = 9,76 \pm 0,32 \text{ MgC.ha}^{-1}$ pour le stock) (Figure 18a). En termes de gain annuel, les vers de terre ont permis d'augmenter le stock de C de $0,61 \text{ MgC.ha}^{-1}.\text{an}^{-1}$. Pour le stock en P, cette hausse a été de $0,31 \text{ kgP.ha}^{-1}$ ($4,88 \pm 1,44 \text{ kgP.ha}^{-1}$ avec vers contre $3,96 \pm 1,44 \text{ kgP.ha}^{-1}$ sans vers).

¹ sans vers) (Figure 19a). Cependant, l'ANOVA montre une absence de différence significative (Table 3).

Table 3 : p-value des différences entre les caractéristiques du sol à la fin de la 3^{ème} année d'expérimentation et au début de l'expérimentation pour la teneur en carbone (deltaC), la teneur en phosphore minéral (deltaP), le stock en carbone (deltaStC) et le stock en phosphore minéral (deltaStP).

	deltaC g.kg ⁻¹	deltaStC Mg.ha ⁻¹	deltaP mg.kg ⁻¹	deltaStP kg.ha ⁻¹
VDT	0,135	0,218	0,465	0,659
MGS	0,089	0,056	0,132	0,120
BLOC	0,397	0,415	0,834	0,709
VDT*MGS	0,882	0,934	0,970	0,971

Les valeurs en gras sont les p-value inférieurs au seuil de signification $\alpha=5\%$.

Concernant le mode de gestion du sol, une différence significative associée à une p-value égale à 0,056 a été observée sur la différence entre le stock de C en 2013 et en 2016. La pratique de l'AC a permis un surplus de stock de C ($13,33 \pm 1,24$ MgC.ha⁻¹) comparé aux systèmes conventionnels de labour avec restitution ($9,06 \pm 1,24$ MgC.ha⁻¹) et sans restitution ($9,63 \pm 1,24$ MgC.ha⁻¹) (Figure 18a). Ce même constat a été noté sur le P minéral avec un gain de stock de $7,02 \pm 1,76$ KgP.ha⁻¹ pour le traitement AC contre $4,73 \pm 1,76$ KgP.ha⁻¹ pour le traitement LAR et $1,52 \pm 1,76$ KgP.ha⁻¹ pour le traitement LSR (Figure 19b). Toutefois, la différence n'est pas significative s (p-value = 0,120). Une absence d'effet significatif du facteur bloc ainsi que l'interaction entre l'apport de vers de terre et le mode de gestion du sol a été également constaté.

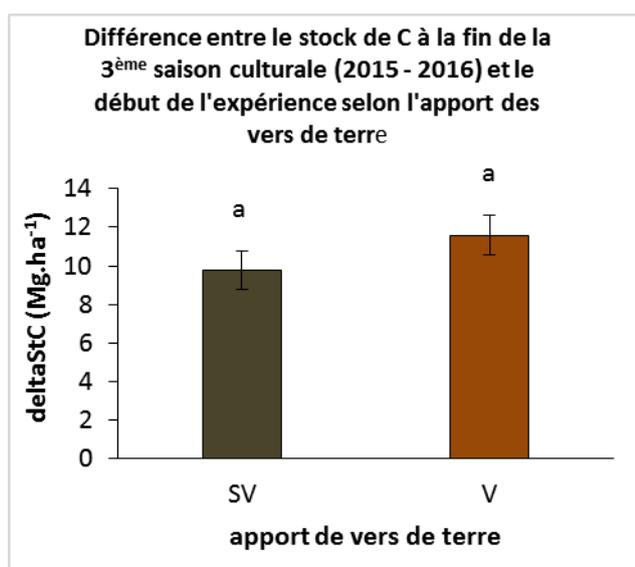


Figure 18a

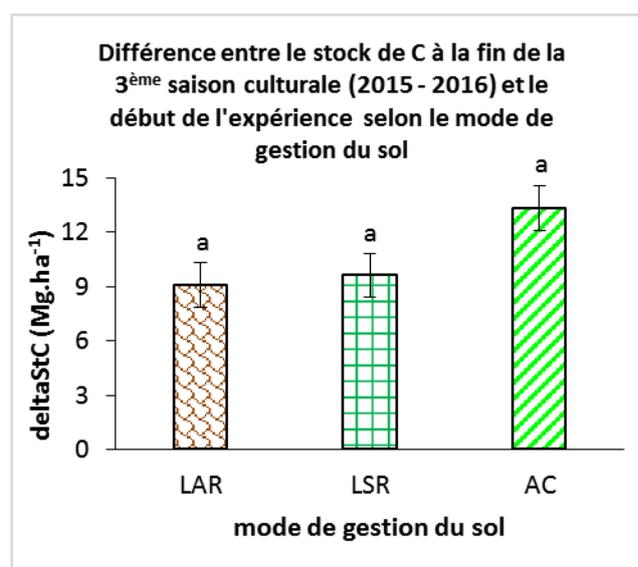


Figure 18b

Figure 18 : Différence entre le stock de C à la fin de la 3^{ème} saison culturale et le début de l'expérience selon l'apport des vers de terre (Figure 18a) et le mode de gestion du sol (Figure 18b). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

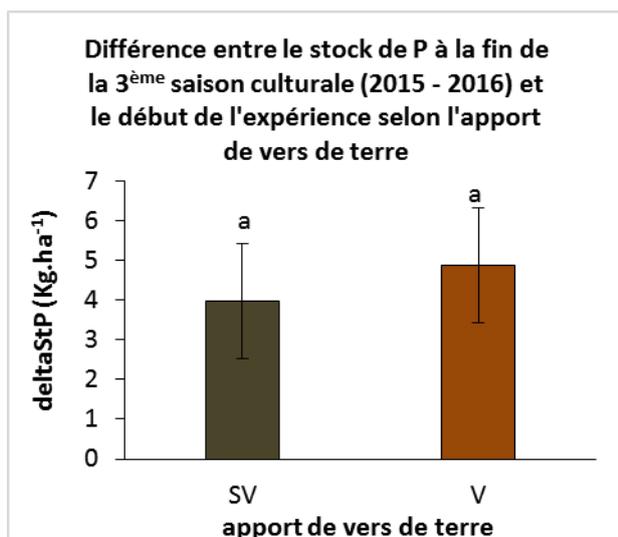


Figure 19a

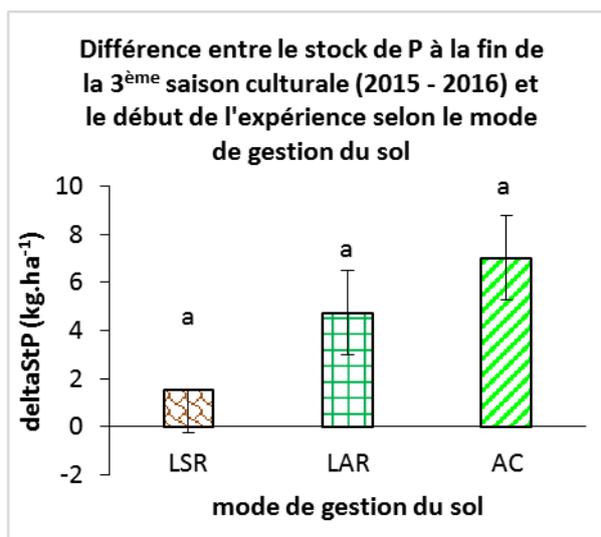


Figure 19b

Figure 19 : Différence P entre le stock de P à la fin de la 3^{ème} saison culturale et le début de l'expérience selon l'apport des vers de terre (Figure 19a) et le mode de gestion du sol (Figure 19b). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.3.2 Évolution des propriétés physiques du sol

3.3.2.1 Densité apparente

D'après les résultats d'ANOVA, on constate qu'aucun facteur étudié n'a d'influence significative sur l'évolution de la densité apparente du sol dans le temps (p-value > 0,05 que ce soit après 3 ans (2016) ou 4 ans (2017) d'étude) (Table 4). La densité apparente entre 2013 et 2016 a augmenté de 0,090 g.cm⁻³ que ce soit en présence ou en l'absence de vers de terre (Figure 20a). Entre 2014 et 2017, la densité apparente a augmenté de 0,065 g.cm⁻³ en présence de vers contre 0,075 g.cm⁻³ en l'absence de vers (Figure 21 a).

Table 4 : p-value des différences entre la densité apparente à la fin de la saison culturale et au début de l'expérimentation (deltaDA) :

	deltaDA (2016)	deltaDA (2017)
	g.cm ⁻³	g.cm ⁻³
VDT	0,825	0,649
MGS	0,102	0,181
BLOC	0,268	0,068
VDT*MGS	0,815	0531

Les valeurs en gras sont les p-value inférieures au seuil de signification $\alpha = 5\%$.

La pratique de l'AC a eu tendance à augmenter la densité apparente mesurée entre 2013 et 2016 (Figure 20b). Il en est de même pour les mesures entre 2014 et 2017 (Figure 21b). Par contre, les différences entre les trois traitements de mode de gestion de sol ne sont pas significatives ($p > 0,05$, Table 4). Similairement, une absence de différence significative a été remarquée pour le facteur bloc et l'interaction entre l'apport des vers de terre et le mode de gestion du sol (Table 4).

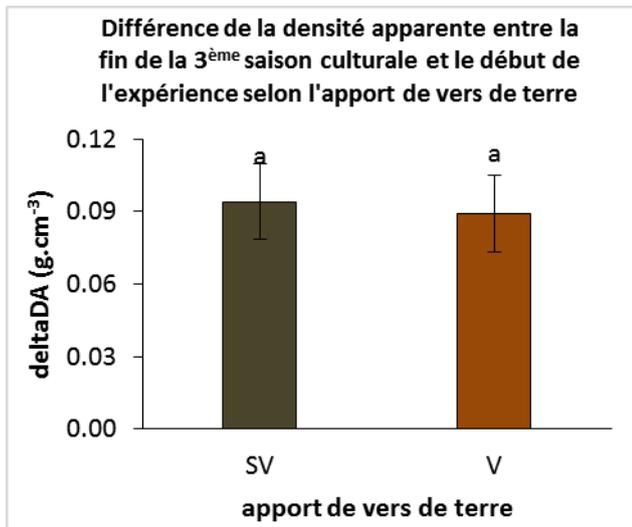


Figure 20a

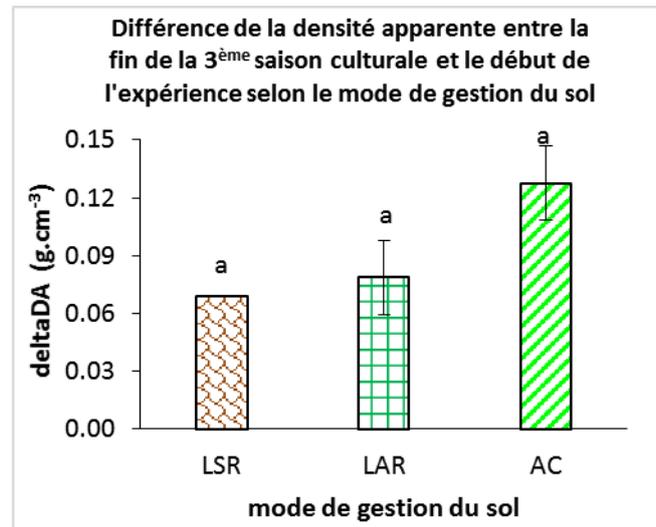


Figure 20b

Figure 20 : Différence de la densité apparente entre la fin de la 3^{ème} saison culturale et le début de l'expérience selon l'apport des vers de terre (Figure 20a) et le mode de gestion du sol (Figure 20b). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

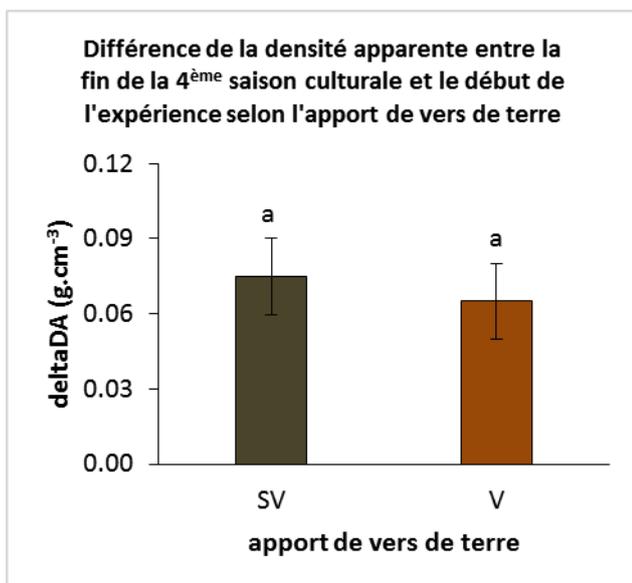


Figure 21a

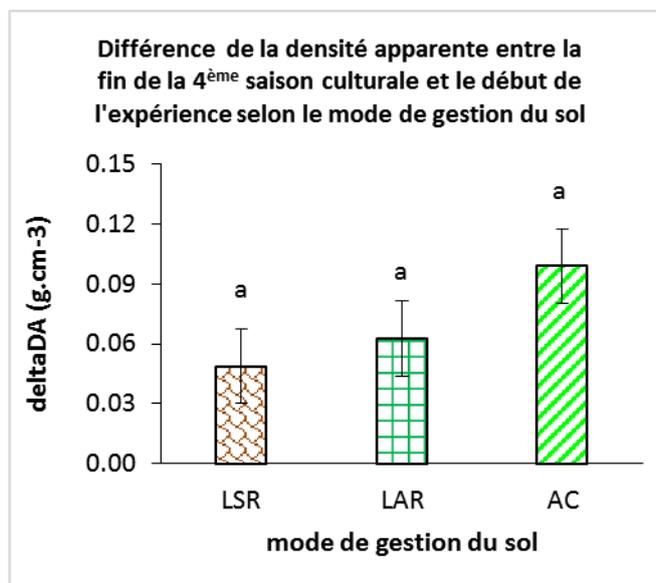


Figure 21b

Figure 21 : Différence de la densité apparente entre la fin de la 4^{ème} saison culturale et le début de l'expérience selon l'apport des vers de terre (Figure 21a) et le mode de gestion du sol (Figure 21b). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.3.2.2 Agrégation

D'après l'ANOVA, les vers de terre ont un effet fortement significatif sur le pourcentage pondéral des agrégats > 2 mm (p -value < 0.001). En présence de vers de terre, les agrégats de diamètre > 2 mm représentent 28% du poids de sol total à la fin de la 4^{ème} année d'expérimentation, tandis qu'en l'absence de vers de terre, ce pourcentage est de 17%.

Pour le facteur mode de gestion du sol MGS, les résultats montrent une absence de différence significative (p -value = 0,658). La proportion des agrégats > 2 mm tourne autour de 20% pour les 3 traitements (23,7±1,22% pour le LSR ; 21,3±1,22% pour le LAR et 23,2±1,22% pour l'AC). En outre, l'interaction entre l'apport de vers de terre et le mode de gestion du sol n'a pas influence sur le pourcentage pondéral des agrégats > 2 mm (p -value = 0,063). Tel est également le cas pour le facteur bloc (p -value = 0,490).

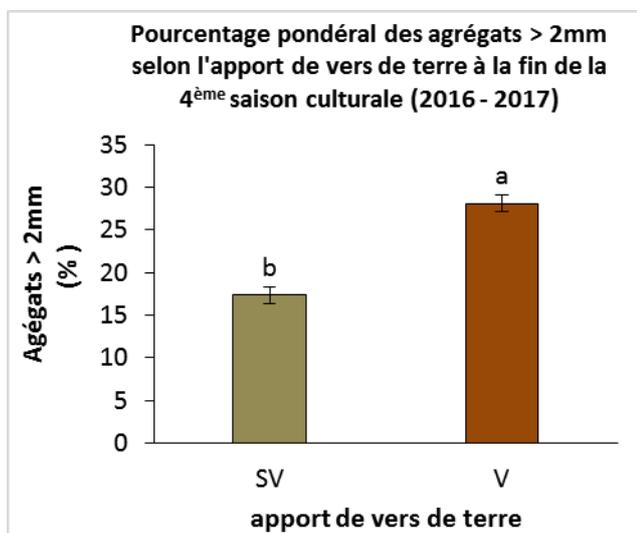


Figure 22a

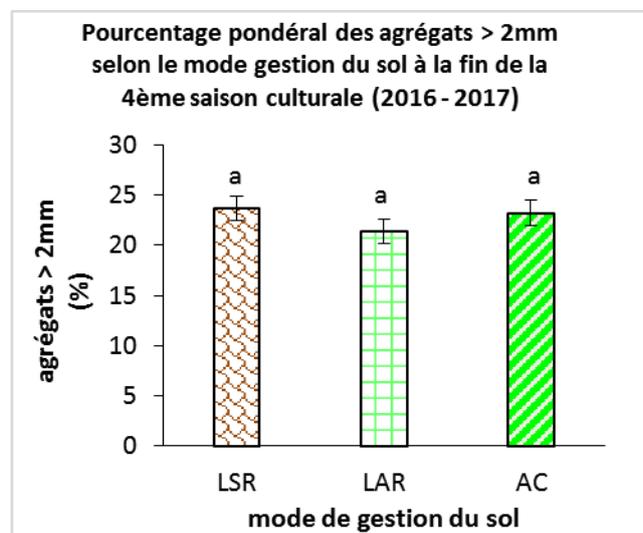


Figure 22b

Figure 22 : Pourcentage pondéral des agrégats > 2 mm (% du sol total) selon l'apport des vers de terre (22a) et le mode de gestion du sol (22b) à la 4^{ème} année d'expérimentation (2017). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards ($n = 4$). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.4 Evolution des propriétés agronomiques

3.4.1 Croissance en hauteur du riz

3.4.1.1 Effet des vers de terre sur la croissance en hauteur du riz

Les résultats montrent que l'effet des vers de terre sur la croissance du riz diffère selon les stades physiologiques de la plante. Au début du tallage, nous n'avons pas observé un effet significatif des vers de terre (p -value = 0,306). Les hauteurs du riz en présence et en absence de vers de terre sont respectivement de $18,1 \pm 0,5$ cm et $17,4 \pm 0,5$ cm. Cependant, à la fin du tallage et de la floraison, le riz a une meilleure croissance en hauteur en présence de vers de terre (p -value = 0,028 à la fin du tallage ; p -value = 0,007 à la fin de la floraison). Cela s'observe principalement au moment de la fin de la floraison où une augmentation de 10 cm de la hauteur

a été enregistrée en présence de vers (61,05 ± 2,24 cm contre 51,32 ± 2,24 pour le traitement sans vers) (Figure 23).

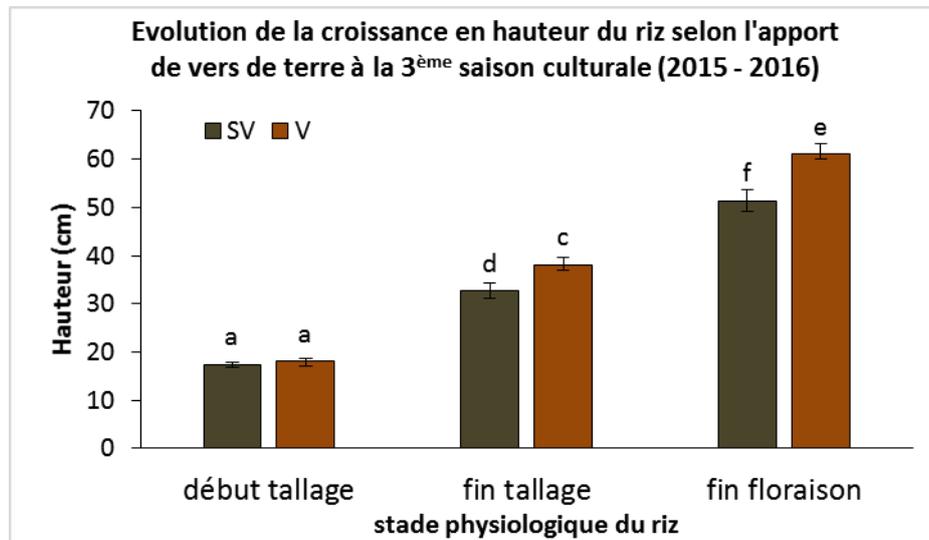


Figure 23 : Evolution de la croissance en hauteur du riz selon l'apport de vers de terre à la 3^{ème} saison culturale (2015 - 2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

- *Effet du mode de gestion du sol sur la croissance en hauteur du riz*

D'une manière générale, on constate que la hauteur du riz dans le traitement AC est plus faible que celle observée dans les traitements labours (LSR et LAR) quel que soit le stade physiologique de la plante (Figure 24). Cette différence est significative au début du tallage (p-value = 0,028), contrairement à la fin du tallage (p-value = 0,351) et de la floraison du riz (p-value = 0,403).

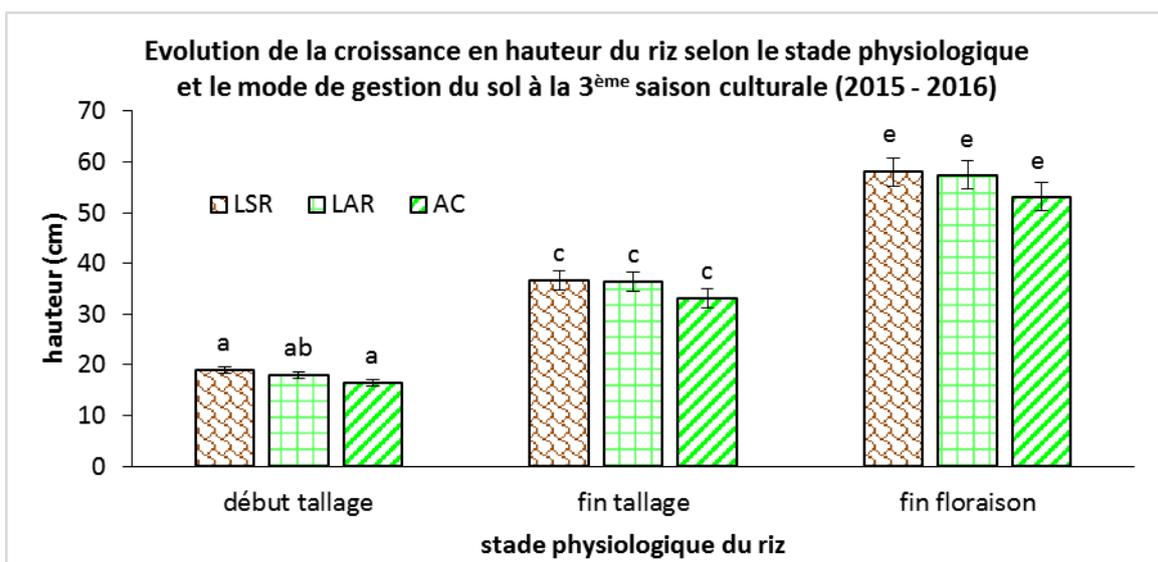


Figure 24 : Evolution de la croissance en hauteur du riz au cours de son stade physiologique le mode de gestion du sol à la 3^{ème} saison culturale (2015 - 2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

Une absence de différence significative a été constatée pour l'interaction « apport de vers de terre » et « mode de gestion du sol » pour tous les stades physiologiques du riz. Il en est de même pour les blocs.

3.4.2 Production en biomasse du riz

3.4.2.1 - Effet des vers de terre sur la production en biomasse du riz

En présence de vers de terre, les biomasses aériennes sont plus élevées de 28,5% (2156 ± 161 kg.ha⁻¹) comparées à celles en absence de vers (1677 ± 161 kg.ha⁻¹), avec une p-value significative à 0,060 (Figure 25). Pour la biomasse racinaire, les analyses statistiques montrent que les vers de terre ne présentent pas d'effet significatif (p-value = 0,984) ; les valeurs restent sensiblement constantes dans les traitements avec vers (1095 ± 114 kg.ha⁻¹) et sans vers de terre (1088 ± 114 kg.ha⁻¹) (Figure 25).

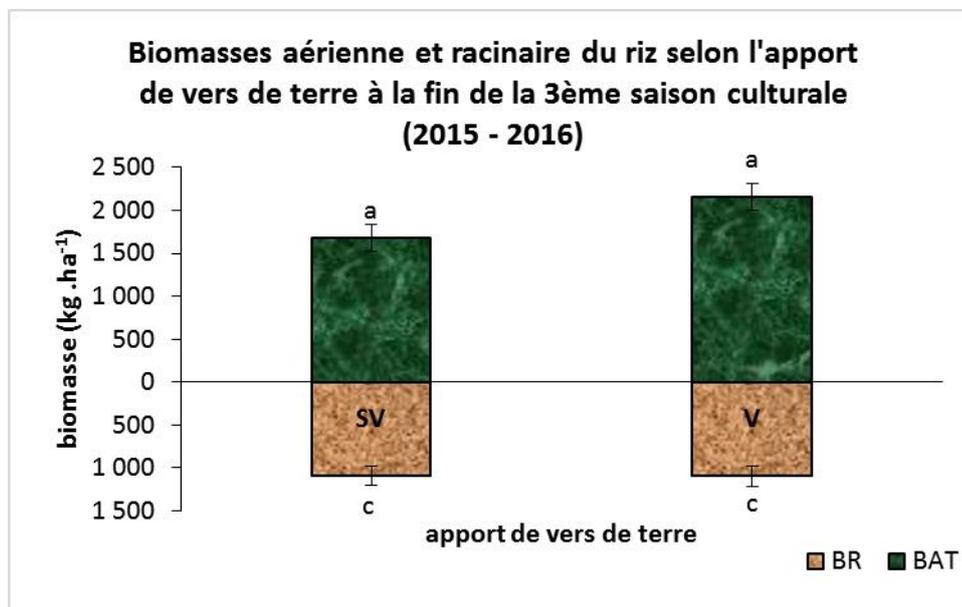


Figure 25 : Biomasses aérienne (BAT) et racinaire (BR) du riz selon l'apport de vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015 - 2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.4.2.2 Effet du mode de gestion du sol sur la production de biomasse du riz

La figure 26 ci-dessous met en exergue la variation des biomasses aérienne et racinaire du riz suivant le mode de gestion du sol adopté lors de la 3^{ème} saison culturale. On constate que le riz sous la pratique AC présente des biomasses aérienne et racinaire plus faibles que celles observées sur les systèmes labourés. Pour la biomasse aérienne, les valeurs moyennes mesurées sont de 2021 ± 203 Kg.ha⁻¹ pour le LSR, 2079 ± 203 Kg.ha⁻¹ pour le LAR et 1649 ± 222 Kg.ha⁻¹ pour l'AC. Pour la biomasse racinaire, les valeurs moyennes sont de 1280 ± 142 Kg.ha⁻¹ pour le LSR, 1193 ± 142 Kg.ha⁻¹ pour le LAR et 808 ± 156 Kg.ha⁻¹ pour l'AC. Cependant, cette différence n'est pas statistiquement significative avec une p-value respective de 0,300 et 0,094 pour la biomasse aérienne et racinaire.

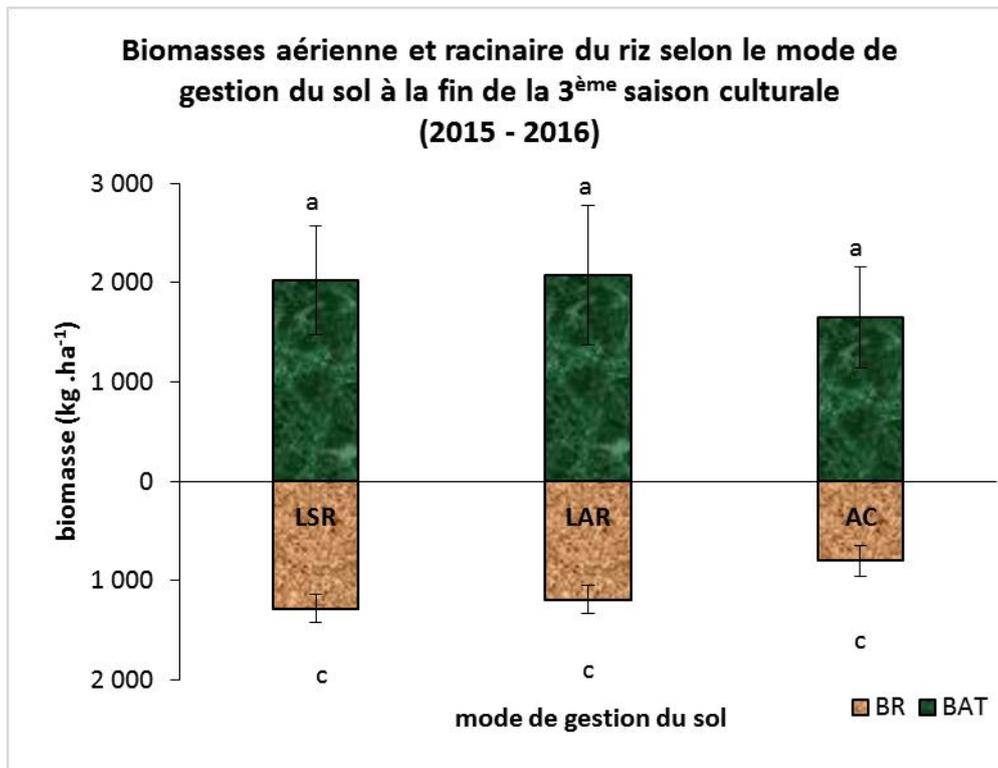


Figure 26 : Biomasses aérienne (BAT) et racinaire (BR) du riz selon le mode de gestion du sol à la 3^{ème} de l'expérimentation (2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres pour chaque histogramme indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

L'interaction entre « l'apport de vers de terre » et le « mode de gestion du sol » n'a pas d'effet significatif que ce soit pour la biomasse aérienne ou racinaire, avec une p-value respective de 0,584 et 0,828. Tel est également le cas pour les blocs (pour la biomasse aérienne : p-value = 0,535 ; pour la biomasse racinaire : p-value = 0,761).

3.4.3 Rapport entre biomasse aérienne et racinaire (rapport shoot/root) du riz

3.4.3.1 Effet des vers de terre sur le rapport shoot/root (S/R) du riz

Le rapport S/R est plus élevé dans les traitements avec vers par rapport à celui sans vers, avec une p-value significative à 0,091. Ce rapport est de $2,12 \pm 0,18$ en présence de vers tandis qu'il est de $1,65 \pm 0,19$ sans apport de vers (Figure 27).

3.4.3.2 Effet du mode de gestion du sol sur le rapport shoot/root (S/R) du riz

D'après l'ANOVA, une absence de différence significative sur le rapport S/R a été constatée pour le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} année de culture (p-value = 0,352). Par contre, on note une valeur plus élevée de ce rapport S/R pour le traitement AC par rapport à celui sous traitement conventionnel de labour (Figure 28). Les valeurs moyennes sont de $2,14 \pm 0,24$ pour le traitement AC tandis qu'ils sont respectivement de $1,66 \pm 0,22$ et $1,84 \pm 0,22$ pour les traitements LSR et LAR. L'interaction « apport de vers de terre » et « mode de gestion du sol » n'a pas d'effet significatif sur le rapport S/R (p-value = 0,997). Tel est également le cas pour le facteur « bloc » (p-value = 0,262).

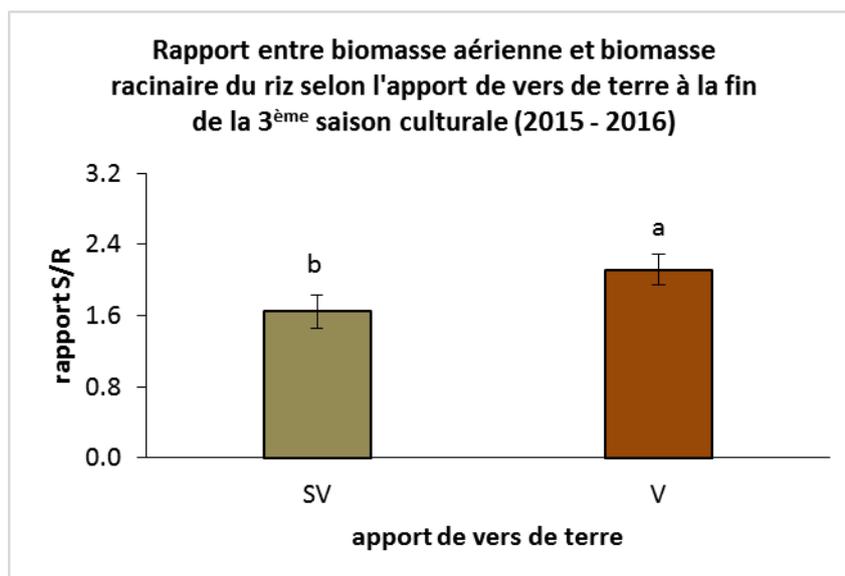


Figure 27 : Rapport entre biomasse aérienne (BAT) et racinaire (BR) du riz selon l'apport de vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015 - 2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

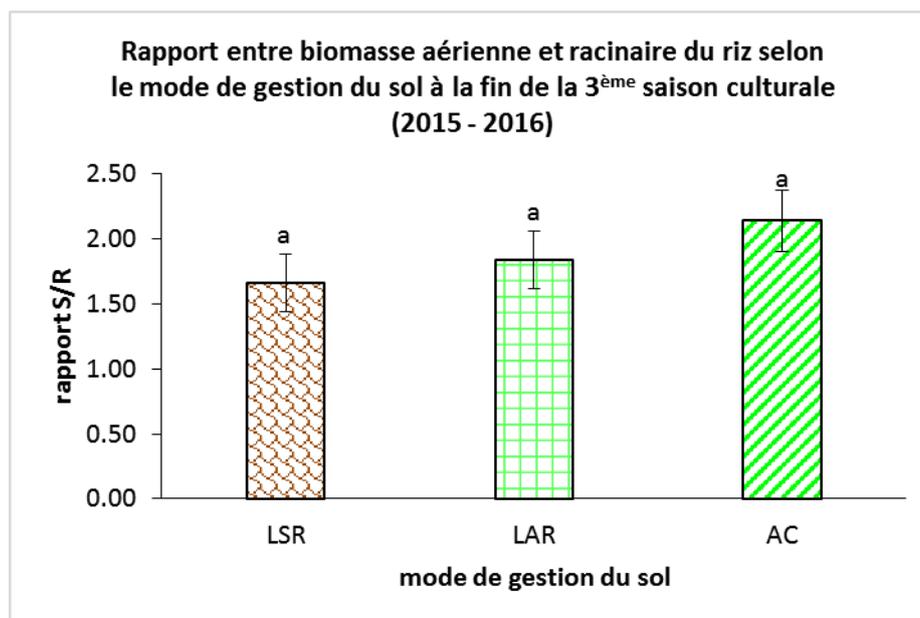


Figure 28 : Rapport entre biomasse aérienne (BAT) et racinaire (BR) du riz le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015 - 2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.4.4 Rendement en grains du riz

3.4.4.1 Effet des vers de terre sur le rendement en grains du riz

Les résultats montrent que les vers de terre affectent significativement le rendement en grains du riz à la fin de la 3^{ème} année de l'expérimentation (p-value = 0,040). En présence de vers de terre, le rendement était supérieur de 44,6% ($1,20 \pm 0,12 \text{ t.ha}^{-1}$) par rapport à l'absence de vers ($0,83 \pm 0,12 \text{ t.ha}^{-1}$) (Figure 29).

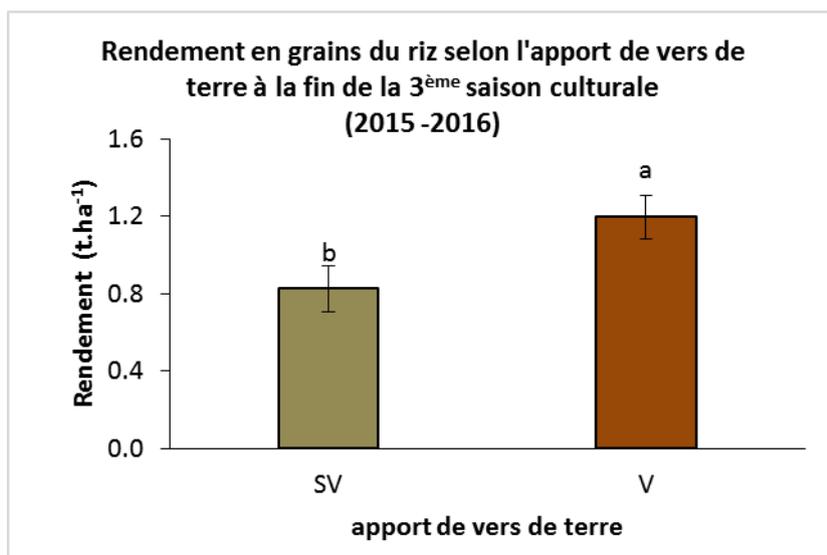


Figure 29 : Rendements en grains du riz selon l'apport de vers de terre à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015 – 2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.4.4.2 Effet du mode de gestion du sol sur le rendement en grains du riz

Conjointement aux résultats précédemment observés sur l'effet du mode de gestion du sol sur les biomasses aérienne et racinaire, le rendement en grains du riz à la 3^{ème} saison culturale est également plus faible sous la pratique AC par rapport à celui trouvé sous les systèmes labourés. Le rendement le plus élevé est enregistré sur le riz en LSR ($1,18 \pm 0,14$ t.ha⁻¹), suivi du riz en LAR ($1,01 \pm 0,14$ t.ha⁻¹) et enfin la plus faible valeur sur le riz en AC ($0,84 \pm 0,15$ t.ha⁻¹). Toutefois, ces moyennes ne diffèrent pas d'une manière significative, avec une p-value de 0,281.

En outre, l'interaction entre l'apport de vers de terre et le mode de gestion du sol n'a pas d'effet significatif sur le rendement en grains du riz (p-value = 0,802). Une observation similaire a été constatée pour le facteur bloc (p-value = 0,668).

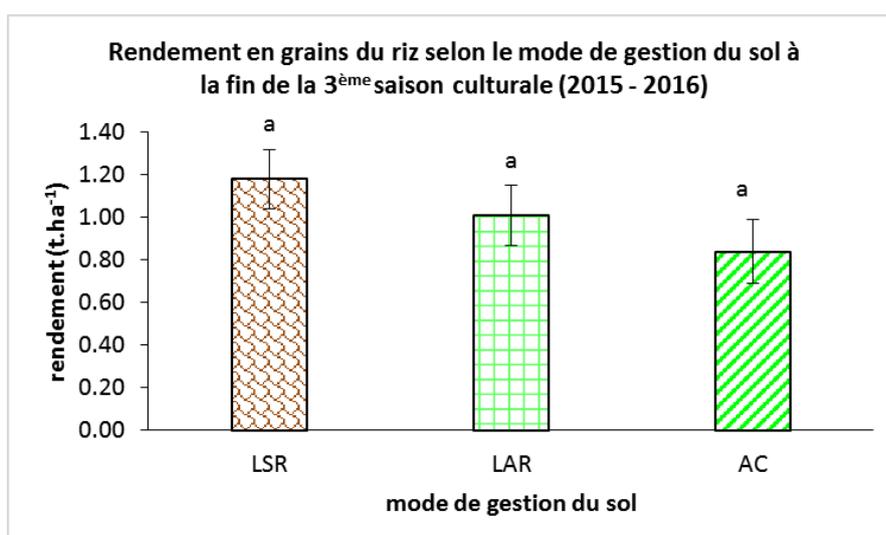


Figure 30 : Rendements en grains du riz selon le mode de gestion du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015 - 2016). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.4.5 Quantités de N et P accumulés par le riz

3.4.5.1 Effet des vers de terre sur les quantités de N et P accumulés par le riz

La quantité en N total accumulée par le riz est significativement influencée par l'introduction des vers de terre (p -value = 0,028). Un effet positif des vers a été observé avec une augmentation de 44,1% (5085 mgN contre 3528 mgN) (Figure 31). Cette tendance s'observe également pour la quantité de P total accumulé par le riz, avec une augmentation de 13,9% en présence des vers (532 mgP contre 467 mgP ; p -value = 0,063).

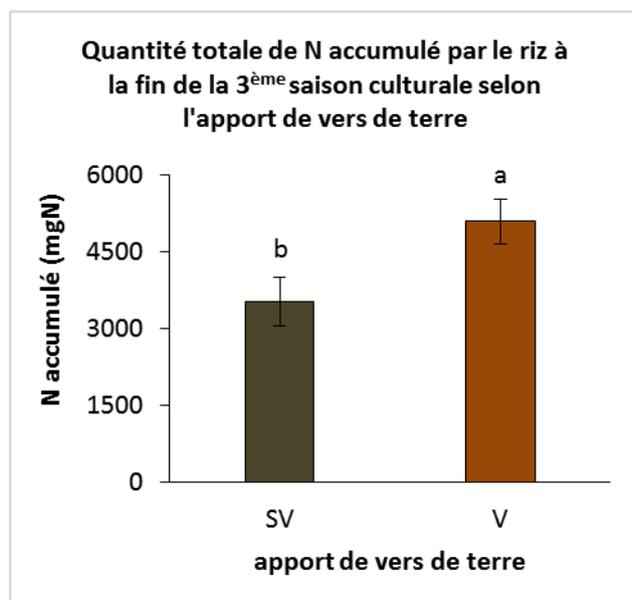


Figure 31a

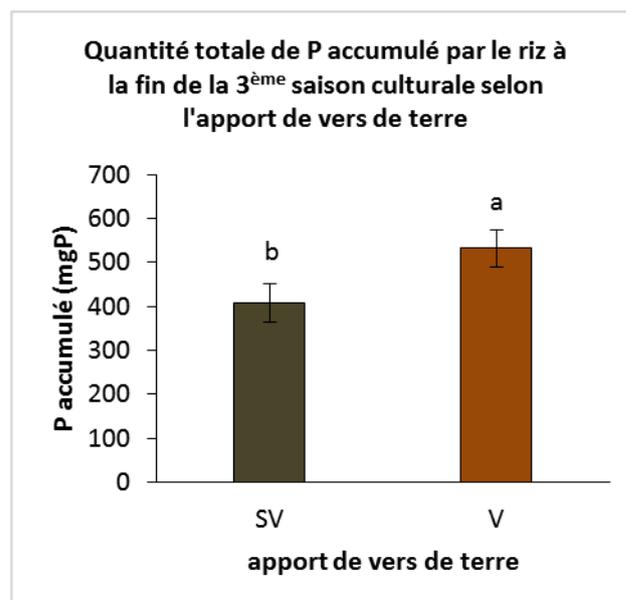


Figure 31b

Figure 31 : Quantité de N accumulé par les pailles de riz à la fin de la 3^{ème} saison culturale selon l'apport de vers de terre (Figure 31a) et le mode de gestion du sol (Figure 31b). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards ($n = 4$). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.4.5.2 Effet du mode de gestion du sol sur les quantités de N et P accumulés par le riz

Une absence de différence significative a été constatée entre les trois modes de gestion du sol sur les quantités de N et P accumulés par le riz (pour N accumulé : p -value = 0,253 ; pour P accumulé : p -value = 0,283). Cependant, la plus faible valeur a été enregistrée sur le traitement AC que ce soit pour l'accumulation de l'azote ou du phosphore (Figure 32).

L'interaction entre l'apport de vers de terre et le mode de gestion du sol n'est pas également significative (pour N accumulé : p -value = 0,740 ; pour P accumulé : p -value = 0,858). Il en est de même pour le facteur bloc (pour N accumulé : p -value = 0,251 ; pour P accumulé : p -value = 0,065).

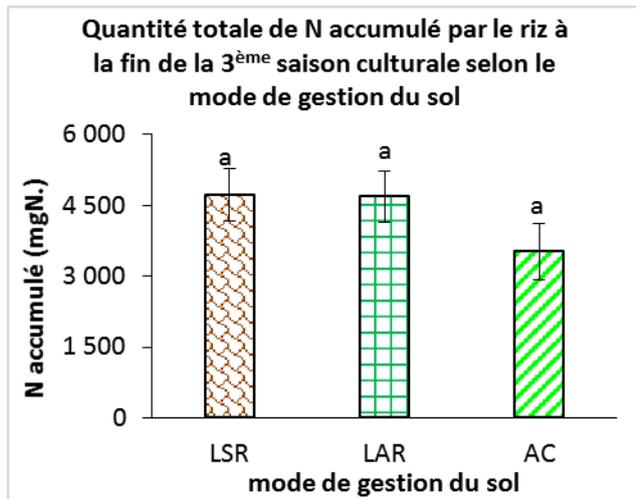


Figure 32a

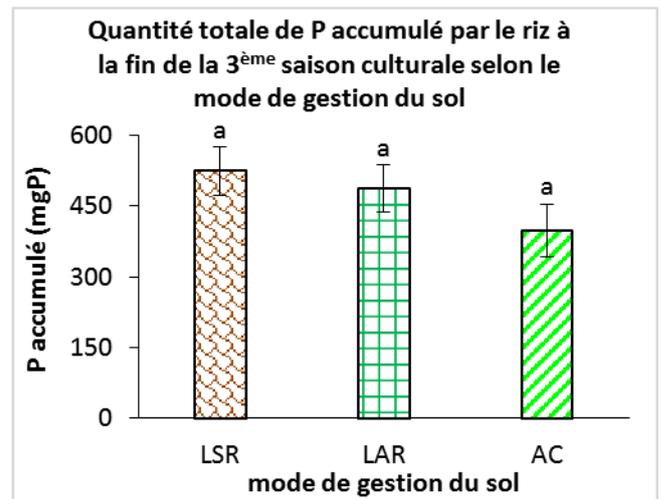


Figure 32b

Figure 32 : Quantité de P accumulé par les pailles de riz à la fin de la 3^{ème} saison culturale selon l'apport de vers de terre (Figure 32a) et le mode de gestion du sol (Figure 32b). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.4.6 Exportation de N et P par le riz

3.4.6.1 Effet des vers de terre sur l'exportation de N et P par le riz

Une absence de d'effet significatif des vers de terre a été notée sur les quantités de N et P exportés par le riz (pour N exporté : p-value = 0,063 ; pour P exporté : p-value = 0,167). Toutefois, nous avons noté que l'exportation de N et par le riz est significativement plus importante en présence de vers de terre. Pour l'exportation en N, cette quantité est de $21,96 \pm 1,91$ kgN.ha⁻¹ lorsque les vers étaient présents tandis qu'elle est de $16,44 \pm 2,04$ kgN.ha⁻¹ en l'absence de vers, soit une augmentation de 34% (Figure 33a). En ce qui concerne le P, le riz a exporté $2,31 \pm 0,18$ kgP.ha⁻¹ en présence de vers de terre contre $1,90 \pm 0,20$ kgP.ha⁻¹ lorsque les vers étaient absents, soit une augmentation de 21% (Figure 33b).

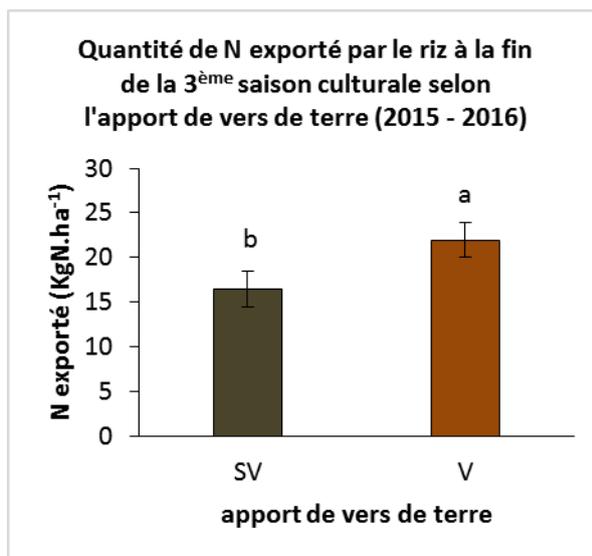


Figure 33a

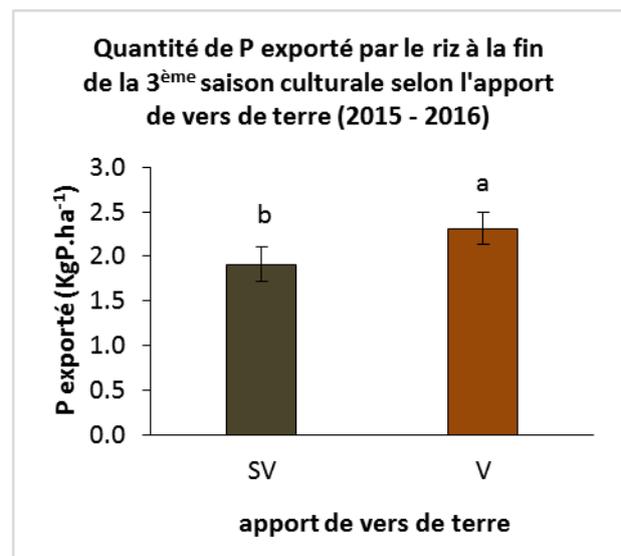


Figure 33b

Figure 33 : Quantités de N (Figure 33a) et P exportés (Figure 33b) par le riz à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015 – 2016) selon l'apport de vers de terre. Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards (n = 4). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

3.4.6.2 Effet du mode de gestion du sol sur l'exportation de N et P par le riz

Parmi les trois modes de gestion de sol, la plus faible valeur en termes d'exportation de N par le riz a été enregistrée sur le traitement AC. Sous systèmes conventionnels de labour, indépendamment de l'apport des résidus, le riz exporte en moyenne 20 kgN.ha⁻¹ (pour LSR : 20,34 ± 2,34 KgN.ha⁻¹, pour LAR : 20,44 ± 2,34 KgN.ha⁻¹). En AC, la quantité de N exporté est de 16,82 ± 2,57 kgN.ha⁻¹ (Figure 34a). Similairement à ce résultat, le traitement AC a tendance à exporter moins de P accumulé par le riz (pour LSR : 2,28 ± 0,22 KgP.ha⁻¹, pour LAR : 2,12 ± 0,22 KgP.ha⁻¹, pour AC : 1,93 ± 0,25 KgP.ha⁻¹) (Figure 32b). Pourtant, la différence observée entre les trois traitements n'est pas statistiquement significative (pour N exporté : p-value = 0,486, pour P exporté : p-value = 0,637).

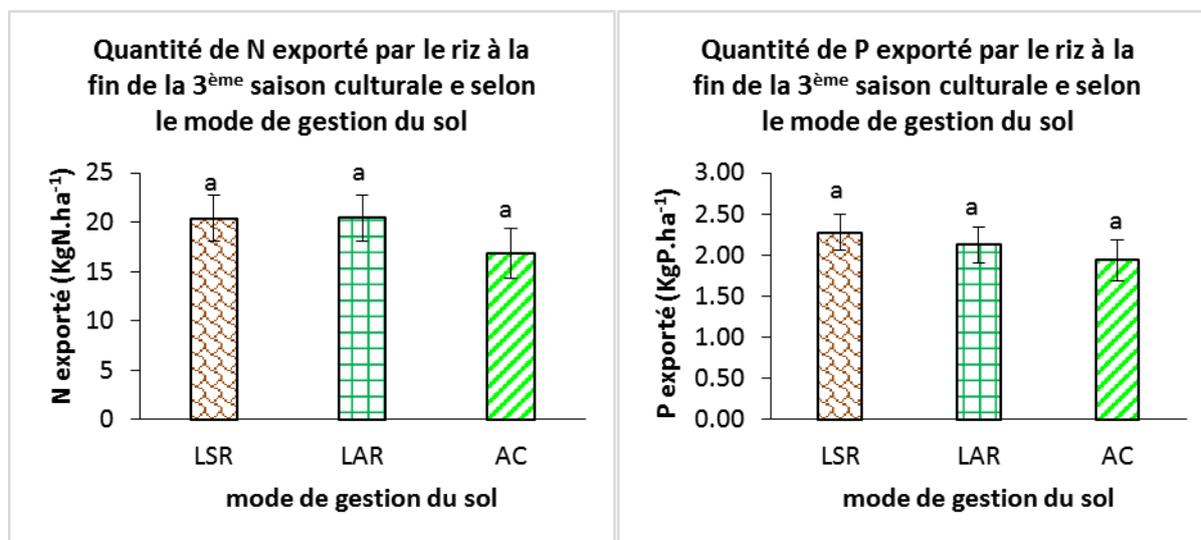


Figure 34a

Figure 34b

Figure 34 : Quantité de N (Figure 34a) et P exportés (Figure 34b) par le riz à la fin de la 3^{ème} saison culturale (2015 -2016) selon le mode de gestion du sol. Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

L'interaction entre l'apport de vers de terre et le mode de gestion de sol n'est pas également significative (p-value = 0,714 pour N exporté, p-value = 0,781 pour P exporté). Il en est de même pour le bloc (p-value = 0,271 pour N exporté, p-value = 0,070 pour P exporté).

3.5 Propriétés biologiques à la fin de la 4^{ème} saison culturale (2016 - 2017)

3.5.1 Population des vers de terre

Les résultats ci-dessous montrent la densité de *P. corethrurus* (juvéniles et adultes confondus) observée dans les différents traitements lors de l'échantillonnage effectué à la fin de la 4^{ème} saison culturale. La présence de ces espèces a été notée dans toutes les parcelles, que ce soit dans les traitements avec ou sans introduction de vers de terre, et ceci indépendamment du mode de gestion du sol. D'après les analyses statistiques, l'introduction des vers de terre a permis d'augmenter significativement la densité des vers de terre dans les parcelles (p-value 0,002).

En moyenne, $91 \pm 11 \text{ ind.m}^{-2}$ étaient présents dans les parcelles où les vers de terre ont été introduits. Par contre, $32 \pm 11 \text{ ind.m}^{-2}$ étaient naturellement présents dans les parcelles témoins (Figure 35 a).

Concernant le mode de gestion du sol, la pratique AC a eu tendance à augmenter à peu près deux fois plus la densité des vers de terre présents dans le sol ($89 \pm 11 \text{ ind.m}^{-2}$ contre $47 \pm 11 \text{ ind.m}^{-2}$ pour le LSR et $47 \pm 11 \text{ ind.m}^{-2}$ pour le LAR) (Figure 35b). Cette différence est significative à une p-value égale à 0,064. Pour l'interaction entre l'apport de vers de terre et le mode de gestion du sol, une absence de différence significative a été constatée (p-value = 0,740) et le facteur bloc (p-value = 0,241).

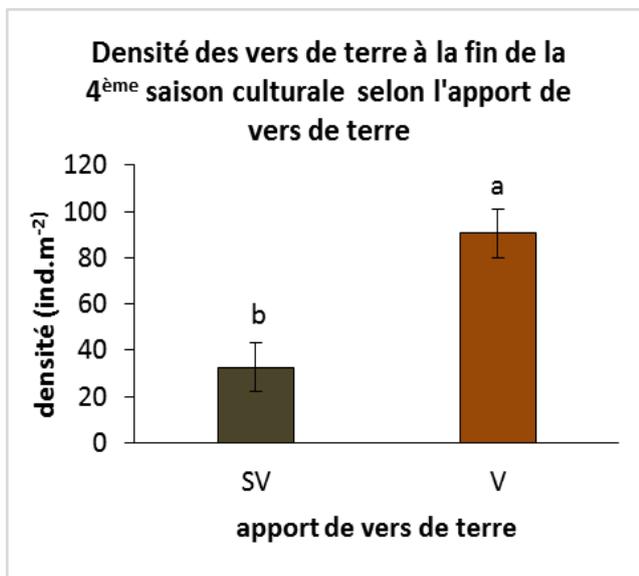


Figure 35a

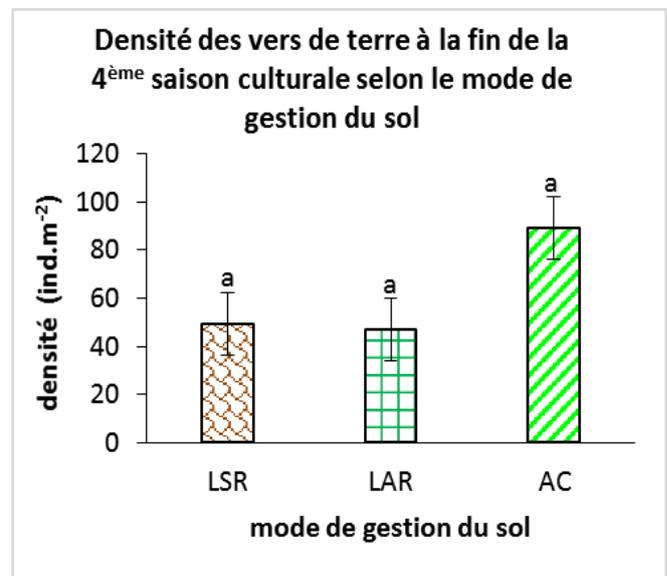


Figure 35b

Figure 35 : Densité des vers de terre à la fin de la 4^{ème} saison culturale (2016 -2017) selon l'apport de vers de terre (Figure 35a) et le mode de gestion du sol (Figure 35b). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

Une analyse plus détaillée de la répartition des vers de terre selon leur stade de croissance a montré que la présence des cocons a été notée seulement sur les parcelles témoins sans introduction de terre (Figure 36). Par contre, les juvéniles sont plus importants dans les parcelles où les vers de terre ont été introduits (Figure 37).

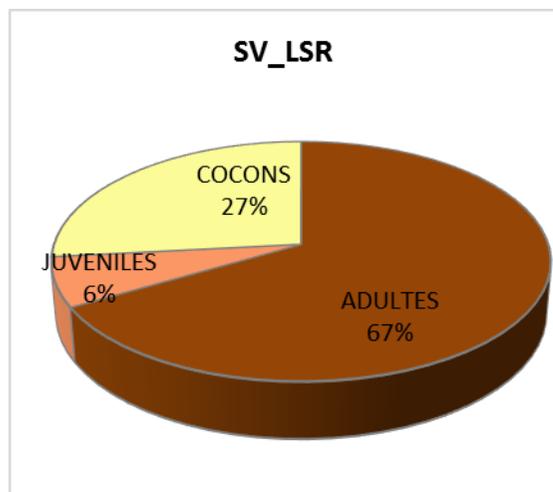


Figure 36a

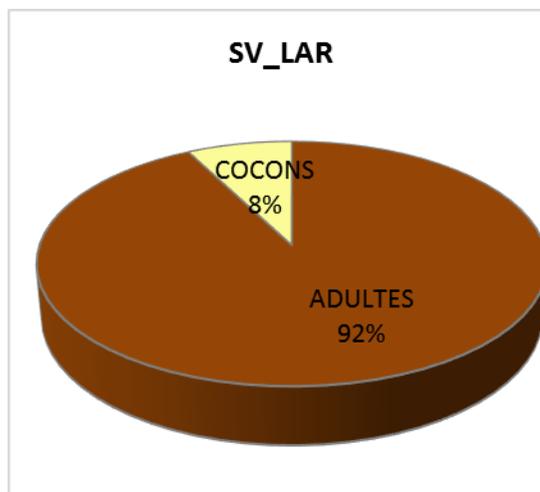


Figure 36b

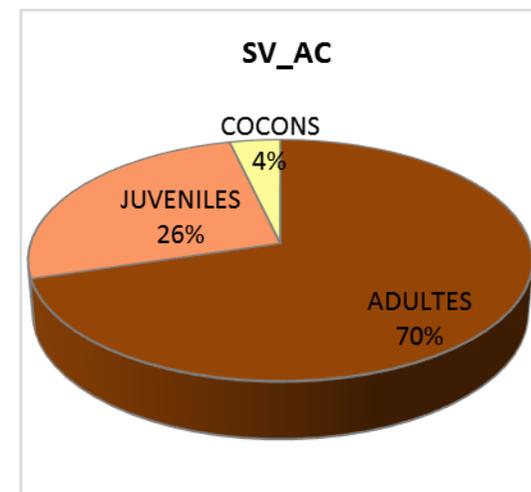


Figure 36c

Figure 36 : Densité des vers de terre suivant leur stade de croissance et le mode de gestion du sol LSR (Figure 36a), LAR (Figure 36b), AC (Figure 36c) dans les parcelles témoins sans introduction de vers de terre (SV)

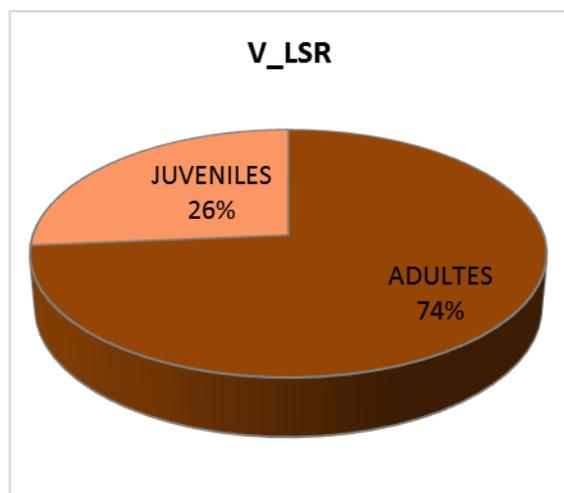


Figure 37a

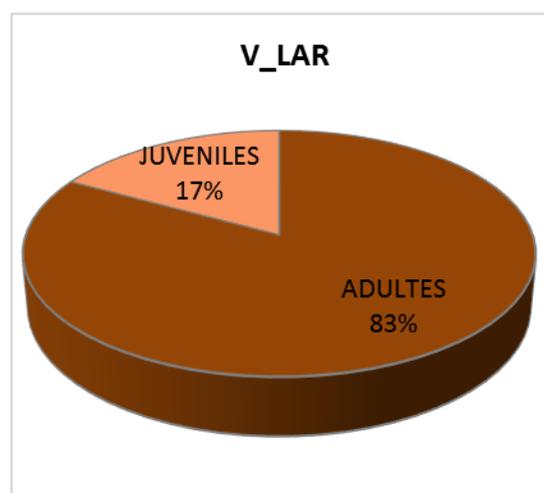


Figure 37b

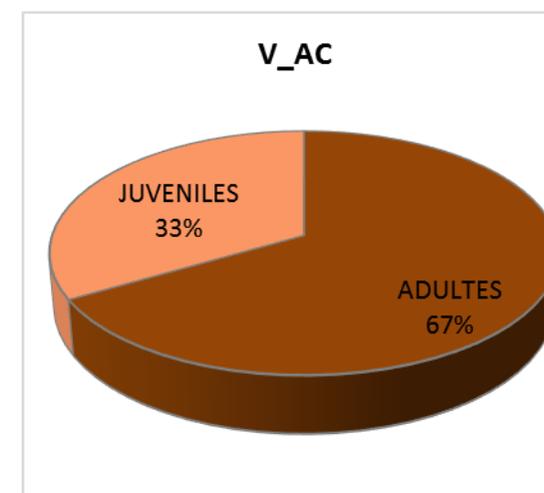


Figure 37c

Figure 37 : Densité des vers de terre suivant leur stade de croissance et le mode de gestion du sol LSR (Figure 37a), LAR (Figure 37b), AC (Figure 37c) dans les parcelles avec introduction de vers de terre (V)

3.5.2 Population des nématodes

L'analyse statistique révèle que l'introduction des vers de terre n'a pas d'influence significative sur la population des nématodes (p -value = 0.106). Toutefois, celle-ci est 1,4 fois plus élevée en présence de vers de terre ($4,07 \pm 0,61$ ind. g^{-1} sol) que lorsqu'ils sont absents ($2,84 \pm 0,39$ ind. g^{-1} sol) (Figure 38a). En outre, le facteur « mode de gestion du sol » n'a pas d'effet significatif sur l'abondance des nématodes dans le sol (p -value = 0,611). Pour le traitement LSR, la valeur moyenne est de $2,95 \pm 0,62$ ind. g^{-1} sol. Celle-ci est de $3,79 \pm 0,62$ ind. g^{-1} sol pour le traitement LAR tandis qu'elle est de $3,61 \pm 0,62$ ind. g^{-1} sol pour le traitement AC (Figure 38b). Une absence de différence significative a été observée sur l'interaction entre l'apport des vers de terre et le mode de gestion du sol (p -value = 0,391). Par contre, le facteur bloc a eu une influence sur la population des nématodes (p -value = 0,026). Les résultats montrent que les nématodes sont plus présents sur le bloc B3 par rapport aux autres blocs, avec une valeur moyenne de $5,61 \pm 0,72$ ind. g^{-1} de sol.

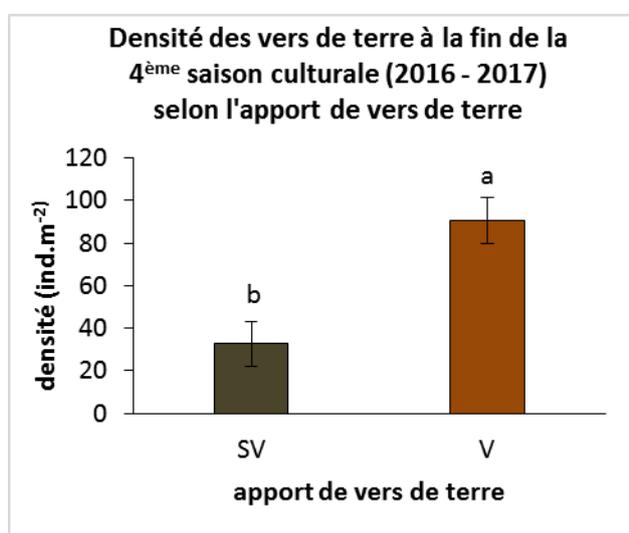


Figure 38a

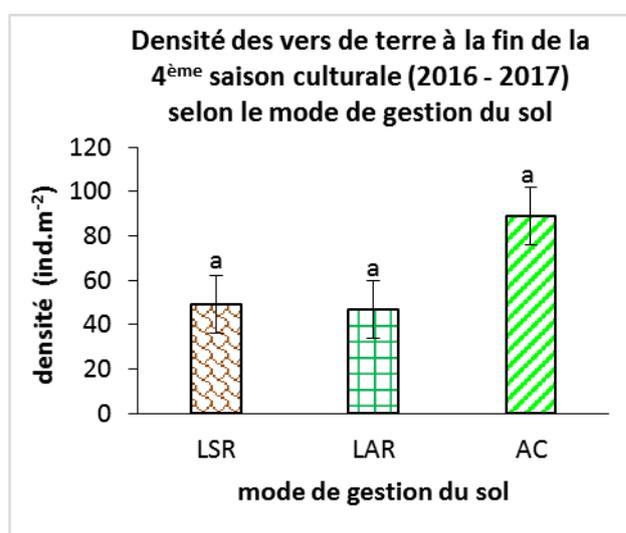


Figure 38b

Figure 38 : Population des nématodes à la fin de la 4^{ème} année d'expérimentation selon l'apport de vers de terre (Figure 38a), le mode de gestion du sol (Figure 38b). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards ($n=4$). Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de signification $\alpha=5\%$

4 Discussion

4.1 Population des vers de terre

Dans notre étude, aucune élimination préliminaire des vers de terre dans les parcelles n'a été effectuée avant l'introduction des vers de terre. Ainsi, la présence de l'espèce *P. corethrurus* dans les parcelles sans introduction de vers de terre à la fin de la 4^{ème} saison culturale reflète leur présence naturelle dans le sol de Lazaina. En moyenne, la densité de *P. corethrurus* naturellement observée dans notre expérimentation a été de 32 ind.m⁻². Ce résultat correspond à celui trouvé par Rabary (2011) lors de l'échantillonnage de macrofaune du sol dans les agrosystèmes pluviaux des Hautes-Terres de Madagascar, plus spécifiquement à Bemasoandro près d'Antsirabe. Dans

cette zone, la densité moyenne des vers de terre (principalement formés par l'espèce *P. corethrurus*) dans une rotation annuelle de riz - soja a été de 32 ind. m⁻² dans l'horizon 0-10 cm. Ceci pourrait atteindre jusqu'à 84 ind.m⁻² dans des systèmes de cultures à base de maïs et de soja à Andranomanelatra (Rabary, 2011). Cette espèce se répand donc dans les agrosystèmes pluviaux des Hautes-Terres de Madagascar, suggérant ainsi sa capacité à se développer dans les conditions pédo-climatiques de ces régions. En outre, *P. corethrurus* est largement connue pour sa tolérance élevée aux propriétés physico-chimiques du sol, à la température et à l'humidité du sol (Lavelle et al., 1987), permettant ainsi son adaptation et sa survie à différentes conditions. Cela constitue un avantage capital pour l'introduction de cette espèce dans les agrosystèmes pluviaux en vue d'augmenter la densité des vers de terre dans le sol. Notre expérimentation vient appuyer que les vers introduits au champ ont la capacité de survivre et de s'adapter au champ au moins pendant la période humide de la saison culturale. Cela s'observe par l'augmentation de la densité des vers de terre (jusqu'à 91 ind. m⁻² en moyenne) dans les parcelles où les vers ont été introduits. En outre, l'importance de la densité des juvéniles dans ce traitement est probablement liée à une reproduction plus forte (Tapia-Coral et al. 2005). Ceci rejoint aussi les observations de Senapati et al. (1999) qui ont introduits 200 individus de *P. corethrurus* dans des dispositifs très enrichis en matière organique et après 120 jours, ils ont observé que la population de ces vers de terre a augmenté à 3 355 individus dont une grande majorité de juvéniles. La survie et la reproduction des vers de terre introduits renforcent la faisabilité de la pratique d'introduction des vers de terre dans les parcelles paysannes.

En ce qui concerne l'effet du mode de gestion du sol sur l'abondance des vers de terre, la pratique AC a presque doublé la densité des vers de terre par rapport aux pratiques conventionnelles de labour. Plusieurs auteurs ont confirmé que l'AC améliore la diversité et l'abondance des organismes du sol, plus particulièrement les vers de terre (Blanchart et al. 2007 ; Chan, 2001 ; Coq et al. 2007 ; Eriksen-Hamel et al. 2009 ; Rabary, 2011). Ce rôle bénéfique de l'AC est généralement attribué (i) à l'absence de travail du sol, facteur auquel les vers de terre sont le plus sensibles et (ii) à la présence de résidus (matière organique) qui joue un double effet, celui de nourrir directement les vers de terre mais également de protéger le sol de variations climatiques trop sévères.

4.2 Effet des vers de terre sur les propriétés pédologiques

Dans la présente étude, les teneurs et les stocks en C du sol à la fin de la 3^{ème} saison culturale sont plus faibles dans le traitement où les vers de terre ont été introduits. Par contre, une analyse de la différence entre le stock de C après trois années d'introduction de vers de terre et le stock de C initial a montré que les vers de terre ont permis un surplus de stock évalué à +1,83 MgC.ha⁻¹ comparé au traitement sans apport de vers de terre. Cela suggère que l'échelle temporelle est un facteur important dans l'évaluation de l'effet des vers de terre sur la dynamique de la matière

organique. D'un côté, les vers de terre stimulent l'activité des microorganismes dans leur tube digestif et dans leurs turrículos frais (Lavelle et al., 1999 ; Brown et al., 2000 ; Chaoui et al., 2003) favorisant la minéralisation du C à court-terme. D'un autre côté, ils produisent des structures biogéniques (agrégats stables) capables de protéger le C de la minéralisation et augmentant le stock de C à long terme (Lavelle & Martin, 1992 ; Bossuyt et al. 2006 ; Coq et al. 2007, Lubbers et al. 2017). En ce qui concerne le surplus de stockage de C après trois années d'introduction de vers de terre, ceci peut être attribué à l'effet positif des vers sur la production de macroagrégats (+11% dans notre étude) caractérisés par leur capacité à protéger le C de la minéralisation. Une revue effectuée par Blanchart et al. (1999) a montré que *P. corethrurus* a une influence positive sur la production de macroagrégats. Coq et al. (2007) ont également trouvé des résultats similaires pour les sols ferrallitiques des Hautes Terres. Ces résultats permettent de classer *P. corethrurus* dans les espèces endogées à effets compactants (Blanchart et al., 2004). Cependant, ce mécanisme de compaction du sol par les vers de terre n'a pas été observé dans notre expérimentation. Que ce soit en présence ou en l'absence de vers, la densité apparente reste très proche pour les deux traitements. Blanchart et al. (1990) ont avancé que la compaction du sol est forte quand la biomasse des vers de terre compactants est élevée. Chauvel et al. (1999) ont démontré qu'une densité très élevée de *P. corethrurus* (400 individus m⁻²) provoquait une forte compaction des sols sous pâturage en Amazonie brésilienne. Une autre étude de biofertilisation a montré que *P. corethrurus* induisait une compaction du sol en absence d'amendements organiques (Hallaire et al. 2000). Par conséquent, la densité des vers de terre introduite dans nos parcelles (75 ind.m⁻²) et le fait d'apporter des amendements organiques ont limité l'effet des vers de terre sur la compaction du sol. Une observation de l'évolution des propriétés physiques du sol entre 2014 et 2017 a fait par ailleurs remarquer que la hausse de la densité apparente en présence de vers de terre est significativement plus faible comparée à celle en absence des vers de terre. Cela signifie que les vers de terre ont augmenté la porosité du sol au cours du temps probablement grâce à la création de galeries. A travers le processus de minéralisation, de nombreuses études ont montré que les teneurs en nutriments (NH₄⁺, NO₃⁻, Mg₂⁺, K⁺ et HPO₄²⁻) sont plus élevées dans les turrículos des vers de terre par rapport au sol non ingéré (Coulis et al. 2014 ; Chapuis-Lardy et al. 2009 ; James, 1991 ; Lavelle and Spain 2001 ; Mackay *et al.*, 1983; Noguera et al. 2010 ; Tiwari *et al.*, 1989 ; Syers *et al.*, 1979). Par contre, nos résultats ne sont pas conformes à ces études ; nous avons trouvé que les teneurs et les stocks en NH₄ et P minéral après introduction de vers de terre sont significativement plus faibles que ceux sans vers de terre introduits. Ceci peut être expliqué par le fait que les vers de terre ont probablement augmenté la minéralisation dans un premier temps en induisant à la fois une diminution de la teneur en C et une augmentation de la disponibilité en N et P du sol. Puis, les plantes ont prélevé ces nutriments pour contribuer à leur croissance et à leur développement.

4.3 Effet des vers de terre sur les propriétés agronomiques

Dans notre expérimentation, les vers de terre ont eu une influence sur plusieurs variables des paramètres agronomiques étudiés. Après introduction de vers de terre, les hauteurs des plantes mesurées à la fin du tallage et de la floraison sont significativement plus élevées par rapport à celles mesurées dans les traitements sans vers de terre introduits. L'absence d'effet positif sur la croissance en hauteur du riz au début du tallage peut être attribuée à la courte durée (une semaine) d'introduction des vers de terre au champ. Il est probable que l'activité d'ingénieurs des vers de terre durant une semaine n'a pas pu affecter la croissance de la plante qui a été semé depuis un mois. Cela suggère l'importance de la date d'introduction des vers de terre sur la croissance des plantes. Néanmoins, l'effet positif significatif des vers de terre observé sur la hauteur du riz au cours de ces derniers stades de croissance a été également constaté sur la biomasse aérienne (+28,5%) et le rendement en grains du riz (+44,6%). Une méta-analyse de la littérature effectuée par Van Groenigen et al. (2014) a montré que les vers de terre augmentent en moyenne la biomasse aérienne de 23% et le rendement en grains de 25%. En outre, à Yurimaguas (Pérou), l'introduction de *P. corethrurus* a permis d'augmenter la biomasse aérienne du riz de 35% (Pashanasi et al. 1996). Par ailleurs, dans une revue sur l'effet des vers de terre dans la production végétale en milieux tropicaux, Brown et al. (1999) ont reporté une augmentation supérieure à 42% du rendement en grains du riz en présence de vers de terre, ce qui correspond à notre étude. Les synthèses de Scheu (2003) et Brown (2004) ont montré que les vers de terre affectent (généralement) positivement la croissance des plantes via cinq mécanismes principaux : (i) la minéralisation de la matière organique, ce qui augmente la disponibilité des nutriments en particulier pour l'azote (N) mais aussi pour le phosphore (P); (ii) la modification de la porosité et l'agrégation du sol, ce qui améliore la disponibilité de l'oxygène et l'infiltration/rétention de l'eau dans le sol; (iii) la production de substances de croissance des plantes, de type auxine, via la stimulation de l'activité microbienne; (iv) le contrôle des ravageurs et des parasites et (v) la stimulation de symbiotes (mycorhizes et fixateurs d'azote). Notre résultat appuie surtout le premier mécanisme. L'accumulation en nutriments élevée en présence des vers de terre signifie une meilleure disponibilité des nutriments dans le sol, ce qui suppose une plus forte minéralisation. En outre, la valeur élevée du shoot:root ratio (2,12) pour les traitements avec vers de terre montre que les vers de terre ont contribué à l'enrichissement en nutriments du sol. Kreuzer et al. (2004), Partsch et al. (2006) et Laossi et al. (2010) ont trouvé également des effets significatifs des vers de terre sur le changement d'allocation de la biomasse. Selon la théorie de « l'équilibre fonctionnelle » (Brouwer 1962, 1963), les plantes investissent les ressources dans les organes qui sont responsables de l'acquisition de la ressource limitante (lumière, eau ou nutriments) (Poorter & Nagel, 2000). Ainsi, l'augmentation de l'allocation de la biomasse aux parties aériennes en présence de vers de terre pourrait indiquer que les vers de terre ont augmenté la disponibilité des nutriments du sol (Coulis et al., 2014). Ces nutriments ont été par la suite utilisés par la plante pour améliorer sa croissance et son rendement en grains. D'où

l'augmentation de l'accumulation en N et P par le riz en présence de vers de terre. Cela pourrait expliquer les faibles teneurs en NH_4 et P minéral du sol observées dans les traitements après introduction de vers de terre, les plantes les ayant absorbés. Par ailleurs, il a été remarqué que la décomposition des vers de terre (lorsqu'ils meurent) pourrait augmenter le prélèvement de l'azote par la plante (Whalen et al. 1999). Cependant, Van Groenigen et al. (2014) ont souligné que les vers de terre n'ont aucune influence significative sur l'augmentation de la production végétale lorsque leur survie est inférieure à 50%.

4.4 Effet du mode de gestion du sol sur les propriétés pédologiques et agronomiques

Le mode de gestion du sol ne présente aucun effet significatif sur les variables étudiées que ce soit au niveau des propriétés du sol ou des plantes. Dans notre étude, une tendance de l'augmentation des stocks en C et en P du sol entre 2014 et 2016 a été constatée pour le traitement AC. Or, la performance de l'AC dans la séquestration de C a été maintes fois démontrée dans de nombreuses études à Madagascar (Andriamaniraka, 2009 ; Razafimbelo, 2005). En outre, Andriamaniraka (2009) a mis en évidence que le bilan phosphaté en AC est très supérieur à celui en système conventionnel avec labour. Cependant, ces effets positifs ont été observés dans des dispositifs où l'AC a été pratiquée au moins pendant huit ans, ce qui est beaucoup plus long que la durée de notre expérimentation. Pourtant, il existe une corrélation significative entre l'âge de l'AC, la teneur en matière organique du sol et la teneur en azote total dans l'horizon 0 -30 cm du profil cultural (Blanchart et al., 2007 ; Maltas et al., 2009). Des augmentations significatives de la teneur en C ont été remarquées à Madagascar et à Brésil dans des pratiques AC supérieures à 4 ans. En outre, Maltas et al. (2007) ont démontré qu'après 10 ans de pratique d'AC, le stock en N organique a augmenté mais la disponibilité additionnelle en azote minéralisé a été faible. On peut alors suggérer que la durée de la pratique de l'AC (2 ans) dans notre expérimentation était trop courte pour faire ressortir l'effet positif de ce système par rapport aux systèmes conventionnels de labour. D'autres études ont montré que le passage d'un système conventionnel aux systèmes de production agroécologique, entre autres l'AC, nécessite une période de 3 à 5 ans pour être détectée (Parr et al., 1992 ; Altieri, 1995). Par ailleurs, la quantité de résidus apportée en AC joue un rôle clé, déterminant l'effet du système sur la production végétale. Une étude récemment menée par Ranaivoson (2017) a évoqué que la performance de l'AC sur l'augmentation du rendement en grains du riz a été principalement liée à l'effet positif du mulch sur la réduction de la pression des adventices pendant la période végétative du riz. Cet effet positif du mulch requiert une quantité de résidus de l'ordre de $10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$. Cela pourrait expliquer l'absence d'effet significatif de l'AC sur le rendement en grains du riz dans notre expérimentation. Les résidus que nous avons apportés dans l'AC n'étaient pas suffisants pour couvrir en permanence le sol, limitant ainsi l'effet du mulch sur la réduction de la pression des adventices.

4.5 Effet de l'interaction entre l'introduction de vers de terre et le mode de gestion du sol sur les propriétés pédologiques et agronomiques

Une absence d'effet significatif entre l'introduction de vers de terre et le mode de gestion du sol sur les propriétés pédologiques et agronomiques a été constatée dans notre expérimentation. Cela rejoint les résultats observés pour le facteur « mode de gestion du sol ». Or, dans notre étude, les résidus ont été utilisés principalement pour servir de nourriture pour les vers de terre mais également pour faciliter l'introduction des vers de terre au champ. L'échantillonnage des vers de terre à la fin de la 4^{ème} saison culturale confirme que l'AC favorise la présence de vers de terre. Pourtant, cela n'a eu aucun impact significatif sur les propriétés pédologiques et agronomiques. Probablement, ceci semble surtout dû à la durée assez courte de notre expérience et à l'insuffisance des résidus apportés.

5 Conclusion

Les vers de terre sont largement connus dans leurs effets considérés comme bénéfiques sur les propriétés physiques, biologiques et chimiques des sols, induisant ainsi des effets positifs sur la production végétale. Cependant, rares sont les études axées sur l'utilisation des vers de terre dans l'intensification écologique de la production agricole en situation paysanne. La présente étude a donc permis une avancée importante sur l'effet de l'introduction des vers de terre en plein champ sur la croissance et le rendement du riz pluvial. Notre expérimentation a mis en évidence que les vers de terre introduits ont la capacité de survivre et de s'adapter au champ, au moins pendant la saison de pluies. Leur abondance a été plus favorisée en AC que dans les systèmes conventionnels avec labour. Par contre, le mode de gestion du sol n'a eu aucune influence significative sur les paramètres pédologiques et agronomiques étudiés, ce qui est probablement lié à la durée assez courte de notre expérience. C'est l'effet « ver de terre » qui a présenté des résultats intéressants. Notre étude a montré que les vers de terre ont stimulé la minéralisation pendant la 3^{ème} saison culturale, augmentant ainsi la disponibilité de l'azote et du phosphore dans le sol. Grâce au prélèvement de ces nutriments, les plantes ont eu une meilleure croissance et un rendement plus élevé en présence de vers de terre. Après la fin de la 3^{ème} saison culturale, la croissance en hauteur du riz a été significativement plus élevée pour tous les stades physiologiques, ce qui conduit à une augmentation de la production de biomasses à la récolte. En outre, le rendement du riz a été supérieur de 44,6% par rapport aux traitements sans vers de terre. Par ailleurs, les propriétés physiques comme l'agrégation du sol ont été positivement affectées par les vers de terre. Le stock de C entre le début de l'expérience et la fin de la 3^{ème} saison culturale a également augmenté lorsque les vers de terre ont été introduits dans les parcelles. Vu ces résultats, l'introduction de vers de terre dans les agrosystèmes rizicoles pluviaux permet ainsi d'améliorer à la fois la production, le rendement et d'autres services agrosystémiques comme la séquestration du carbone et la résistance à l'érosion. Plusieurs mécanismes à travers l'influence des vers de terre

sur les grandes fonctions écologiques du sol permettent la mise en place de ces services agrosystémiques. Pourtant, il s'avère difficile de mettre en évidence l'effet des vers de terre sur l'ensemble de ces grandes fonctions dans une situation en plein champ où plusieurs facteurs environnementaux ne sont pas contrôlés. En perspectives, d'autres essais complémentaires en mésocosmes et en microcosmes semblent essentiels afin de mieux comprendre et appréhender les rôles des vers de terre vis-à-vis de la fourniture d'autres biens et services agrosystémiques tels que la résilience au changement climatique et la régulation de la population des bioagresseurs. Enfin, comme toutes les composantes des agroécosystèmes interagissent, le choix de la variété utilisée est probablement important pour déterminer les interactions entre les vers de terre et les cultures.

CHAPITRE 2 : Approche expérimentale en mésocosmes

Le chapitre 2 comporte une expérience en mésocosmes conduite au champ pendant une saison culturale. L'objectif est de mesurer l'effet des différents groupes fonctionnels des vers de terre associés à différents types de résidus, localisés soit en surface (mulch) soit enfouis dans le sol sur la croissance et le rendement du riz (Chapitre 2.1) et sur la résilience du système à l'augmentation de la température (Chapitre 2.2).



Chapitre 2.1 : Effet des groupes fonctionnels de vers de terre, qualité des résidus et localisation des résidus sur la croissance et le rendement du riz

Le chapitre 2.1 est adapté à l'article "*Earthworm functional groups, residue quality and management impact on upland rice growth and yield – An experimental study in the Madagascar Highland*" en soumission à Applied Soil Ecology.

Présentation du chapitre 2.1

L'expérience a été réalisée dans la Commune d'Andranomanelatra, District Antsirabe II, Région Vakinankaratra pendant une saison culturale (2014 – 2015). Le sol utilisé était un Ferralsol, prélevé dans un horizon superficiel (0-10 cm) et séché à l'air libre pendant 5 jours. Trois facteurs ont été étudiés : (i) la présence et l'identité spécifique des vers de terre noté « E » avec 3 modalités (sans vers de terre, + *Pontoscolex corethrurus*, + *Dichogaster saliens*), (ii) la présence et les types de résidus noté « R » avec 6 modalités (sans résidus, + *Crotalaria grahamiana*, + *Desmodium uncinatum*, + *Stylosanthes guianensis*, + *Eleusine coracana*, + *Zea mays*) et (iii) la localisation des résidus noté « L » avec deux modalités (en surface, enfouis).

P. corethrurus (Rhinodrilidae) est une espèce endogée de taille moyenne (10 cm) et *Dichogaster saliens* (Acanthodrilidae), une espèce épi-endogée de petite taille (5 cm) vivant à la surface du sol entre les racines des plantes. Les résidus utilisés dans cette expérience sont des Légumineuses (desmodium, crotalaire, stylosanthes) et des Graminées (éleusine, maïs) habituellement utilisés par les agriculteurs de la région. Les résidus ont été séchés, grossièrement découpés en morceaux de 5 cm et appliqués soit à la surface du sol (de façon à mimer une pratique de l'agriculture de conservation), soit enfouis et mélangés avec le sol à une profondeur de 0-5 cm (de façon à mimer un travail du sol superficiel).

A l'issue de la combinaison des facteurs « E », « R » et « L », 33 traitements répétés 4 fois ont été étudiés. Au total, 132 mésocosmes ont été mis en place dans cette expérience. Chaque mésocosme (seau de 15 litres) contenait 12 kg de sol, séchés à l'air libre. Après réhumectation du sol, 30 g de résidus (équivalent à 5t ha⁻¹) ont été apportés dans les traitements avec résidus. Concernant les vers de terre, 6 individus de *P.corethrurus* ont été apportés dans le traitement correspondant et 20 individus pour l'espèce *D.saliens* . Enfin, 2 grains de riz (FOFIFA 161) ont été semés dans chaque seau. Les propriétés pédologiques et agronomiques ont été mesurées à la fin de la saison culturale pour évaluer l'effet des traitements sur la croissance et le rendement du riz.

Earthworm functional groups, residue quality and management impact on upland rice growth and yield – An experimental study in the Madagascar Highland

Abstract

In Madagascar, agroecological practices to increase and sustain upland rice productivity are based on an intensification of soil ecological processes. The effects of earthworm presence and identity (*Pontoscolex corethrurus*, *Dichogaster saliens*, or no earthworms), residue presence and identity (*Crotalaria grahamiana* (Fabaceae), *Desmodium uncinatum* (Fabaceae), *Stylosanthes guianensis* (Fabaceae), *Eleusine coracana* (Poaceae), *Zea mays* (Poaceae) or no residues) and residue location (mulched or buried) on nutrient availability and rice growth and yield were investigated in outdoor mesocosms. Earthworms had no effect on soil nutrient availability and opposite effects on plant growth. The main significant effects on soil properties and crop yields were due to the presence, identity and location of the residues. The addition of *Desmodium* residues enhanced the total plant biomass, rice grain yields, soil nitrate content and total P uptake by rice.

Keywords: *Pontoscolex corethrurus*, *Dichogaster saliens*, Plant growth, Resource allocation, Soil nitrogen, Organic matter decomposition

1 Introduction

Agroecology is a recent paradigm that provides major importance to ecological processes occurring in agrosystems. A critical challenge of agroecological practices is to stimulate soil processes so that ecosystem goods and services will be provided in a way beneficial to farmers and society (Altieri 1999). These soil processes are driven by the large soil biodiversity responsible for delivering ecosystem services (Brussaard 2012; Lavelle et al. 2006). Indeed, soil organisms act and interact in very complex webs that control the main soil ecological functions at the basis of crop productivity: the maintenance of soil structure, recycling of soil nutrients, decomposition of organic materials, regulation of pests and pathogens (Kibblewhite et al. 2008). There is an increasing interest in the possibility of manipulating soil biodiversity in order to optimize soil ecological functions. Soil invertebrates are well known to be major actors for many of these ecosystem services (Lavelle et al., 2006). Some of these invertebrates have been defined as ecosystem engineers, i.e., organisms that directly or indirectly modulate the availability of resources to other species by causing changes in the physical states of biotic or abiotic materials (Lavelle, 1997). Earthworms, the highest animal biomass in the majority of terrestrial ecosystems, belong to this functional group (Lavelle & Spain 2001). They play an important role in the incorporation of organic residues into the soil and are greatly involved in the initial stages of residue decomposition (Bishop et al. 2008). Earthworms contribute to the release and recycling of nutrients by mixing organic and mineral matter, by ingesting soil and plant debris, by stimulating microbial activity, and by egesting casts into the soil or at the soil surface (Lavelle et al. 2016). Numerous studies have shown that freshly egested earthworm casts are hotspots of microbial activity generally characterized by an intense mineralization of organic matter and the release of nutrients available for plants (Aira et al., 2005; Chapuis-Lardy et al., 2011). In laboratory experiments, recent research has shown or confirmed that the presence of earthworms affects the diversity and activity of microorganisms (Bernard et al. 2012), increases both the decomposition of organic matter (in the short term) and its long-term storage (Coq et al. 2007), increases the availability of soil phosphorus (Chapuis-Lardy et al., 2009) and increases plant growth (Coulis et al. 2014; Jana et al. 2010). Thus, the management of earthworms is of great agricultural interest, especially for the restoration of ecosystems, and represents an excellent potential resource for managing ecosystem services (Byers et al., 2006; Jouquet et al., 2014; Lavelle et al., 2016). Earthworm species are classified into ecological categories that have functional significance: (i) epigeic (feed on surface litter and live in the upper layers of soils); (ii) anecic (feed on surface litter and make permanent vertical burrows); and (iii) endogeic species (feed on soil more or less enriched with organic matter and live in deeper soil layers) (Bouché, 1977). However, some species showing intermediate characteristics between two groups can be classified as epi-endogeic, epi-anecic or endo-anecic. Based on their behavior, earthworms of different ecological categories may contribute differently to ecosystem processes and thus, ecosystem services. They may affect nutrient mineralization and plant growth in different ways

(Butenschoen et al., 2009; Vos et al., 2014). Nevertheless, earthworms are generally absent or rare in conventional tilled systems (Blanchart et al., 2006, 2007) leading to soil ecological dysfunction (Lavelle et al., 2016).

Previous experiments indicated that the manipulation of soil engineers is possible only when coupled with the introduction of organic amendments (Lavelle et al., 2001). Amendments serve as food for soil engineers; there is scientific evidence that earthworms will modulate the dynamics of organic amendments in a different way than when soil engineers are absent (Doan Thu et al., 2013). However, little is known about the relationship between the potential of earthworm functional groups with residue quality at different locations (mulched or buried) in the perspective of manipulating earthworm activity to enhance plant growth and productivity.

In a mesocosm field experiment in the highlands of Madagascar, we explored the potential to manage earthworms and residues in a way beneficial to crop production and yield. These agroecological innovative practices are of great importance for the development of sustainable and productive rainfed rice production in the highlands of Madagascar.

The objective of this study was to assess the distinct and synergistic effects of (i) two functionally different earthworm species, (ii) five residue types, and (iii) two residue locations (mulched vs buried), on upland rice (*Oryza sativa*) growth and productivity and soil nutrient (nitrogen and phosphorus) availability. The residues came from plants commonly used in rainfed rice cropping systems in Madagascar, generally in rotation with rice. They were used because of their known interest in agroecological systems. We tested legume and grass residues because of their different biochemical compositions and decomposition kinetics (Thomas & Asakawa, 1993). Both residue locations were expected to impact the activities of earthworm functional groups since they have different habitats and food resources.

2 Materials and methods

2.1 Study site and soil sampling

The experiment was conducted at Andranomanelatra near Antsirabe, Vakinankaratra region, in the highlands of Madagascar (19°46'45"S, 47°06'25"E, 1600 m above sea level). The climate is an altitude tropical climate, with a dry and cold season from May to October and a wet and hot season from November to April. The mean annual rainfall is 1300 mm and the mean annual temperature is 16 °C. The soil is classified as a Ferralsol (FAO classification) with 62% kaolinitic clay, 19% silt and 19% sand. Bulk density is 0.9 g.m⁻² for the 0–10 cm layer and the pH_{H2O} is 5.7. The soil contained 29.4 gC kg⁻¹ and 1.77 gN kg⁻¹. The available (resin) P content was 0.71 mg kg⁻¹. The contents of iron and aluminum oxides were 47 and 17 g kg⁻¹, respectively (Chapuis-Lardy et al., 2009). The soil was collected from an adjacent fallow area. The topsoil layer (0–10 cm depth) was collected using a spade, then air-dried for 5 days, gently hand-crushed and mixed thoroughly. Most of the roots and vegetation debris were removed.

2.2 Experimental design

In a completely random design, we managed 33 treatments crossing (i) three earthworm treatments (endogeic *Pontoscolex corethrurus*, epi-endogeic *Dichogaster saliens* and no earthworms), (ii) six residue treatments (*Crotalaria grahamiana* (Fabaceae), *Desmodium uncinatum* (Fabaceae), *Stylosanthes guianensis* (Fabaceae), *Eleusine coracana* (Poaceae), *Zea mays* (Poaceae) and no residues), and (iii) two residue locations: mulched or partly buried in the first 5 cm of soil. Logically, when treatments without residues were applied, no data concerning the location of the residues were available. In total, we had eleven treatment combinations of residue management (*Crotalaria* mulched, *Crotalaria* buried, *Desmodium* mulched, *Desmodium* buried, *Stylosanthes* mulched, *Stylosanthes* buried, *Eleusine* mulched, *Eleusine* buried, *Zea* mulched, *Zea* buried, no residues) combined with three earthworm treatments. This explains the 33 treatments (11×3), and each was replicated 4 times to give a total of 132 mesocosms. Both earthworm species were collected in the fields near the experiment.

P. corethrurus (Rhinodrilidae) is a medium-size endogeic geophagous species; this peregrine species has been studied all over the tropics. In Madagascar, it is present in all pedoclimatic regions (Razafindrakoto et al., 2010). It can ingest large amounts of soil, creates a macroaggregate structure and affects microbial activity, nutrient cycling, and soil organic matter dynamics (Bernard et al., 2012; Chapuis-Lardy et al., 2009; Coq et al., 2007).

D. saliens (Acanthodrilidae) is a small epi-endogeic earthworm that lives between the roots of plants, especially grasses. It has been shown to strongly stimulate the priming effect in the rhizosphere, thus leading to an increased release of nutrients to plants (Bernard et al. unpub. data). Recently, a field trial in Madagascar showed that its introduction in soil led to a significant increase in rice yield (higher number of full grains compared to the absence of earthworms) (Bernard et al. unpub. data).

2.3 Mesocosm set-up

The mesocosms consisted of 15 L plastic buckets with a top diameter of 28 cm. Drains at the bottom of the mesocosms were drilled (6 holes with 1 cm diameter) to let the water flow. Each hole was filled with a cotton mesh so that water could easily flow down. The bottoms of the mesocosms were covered with a mosquito net to prevent earthworms from escaping. Mesocosms were filled with 12 kg of air-dried soil and were then introduced into the soil in the field so that surface level was similar inside and outside the mesocosms. They were randomly placed outside in natural weather conditions during the experiment.

Residues of five plant species were collected from agricultural fields in the same area. In the present experiment, *Desmodium* residues were collected from plants at a young stage of growth and predominantly taken in leaf material, while *Stylosanthes* residues mostly consisted of stem material (high stem:leaf ratio) taken from mature plants. *Crotalaria* residues were essentially in the form of twigs, whereas *Eleusine* and *Zea* residues were constituted by straw. The characteristics of the residues were extracted from the TSBF (Tropical Soil Biology and Fertility

Programme) database and kindly provided by Dr. Bernard Vanlauwe (IITA, Kenya); they are given in Table 5. Oven-dried residues were cut into debris approximately 2-3 cm length and were then added at a rate of 30 g dry mass per mesocosm, corresponding to the annual input made by farmers in no-till systems, i.e., 5 Mg dry mass ha⁻¹. Residues were either mulched (left at the soil surface) or partly buried (manually mixed into the upper 5 cm of soil). Then, mesocosms were irrigated to moisten the soil and reach field capacity at the beginning of the experiment.

Earthworm species were sampled near the study site. Six adults of the species *P. corethrurus* and twenty adults of the species *D. saliens* were added to each mesocosm.

At the time of sowing, each mesocosm received a small amount of fertilization (we used the compound fertilizer N₁₁P₂₂K₁₆ at a rate of 300 mg per container which was equivalent to 48,7 kg ha⁻¹). NPK was used as a starter fertilizer for the seedling growth. Finally, five seeds of rice (variety FOFIFA 161) were sown in each mesocosm. After 2 weeks, two seedlings were kept in each mesocosm. The experiment started in mid-November 2014 with the introduction of soil, earthworms, residues, and rice seeds, and lasted until mid-May 2015 with rice harvest.

2.4 Plant growth

Rice growth was assessed by measuring the height at different stages during the course of the experiment (tillering, panicle initiation, flowering and maturity). Moreover, the presence of pests was monitored regularly until rice harvest. The results of rice height were not shown in this study in order to focus on plant parameters at the end of the experiment.

2.5 Plant and soil analyses

At the end of experiment (rice harvest), the aerial parts were cut at the soil surface. The soil was removed from mesocosms and separated into three layers: 0–5, 5–10 and 10–20 cm. The soil of each layer was gently, manually disaggregated to check for earthworm presence. All analyses were performed in the 0–5 cm layer. After homogenization of the soil (each layer separately), an aliquot was sampled and stored at 4 °C for mineral N and available P analyses, while another aliquot was dried for classical analyses (total soil C and N).

Plant shoots and seeds were manually separated. Roots were carefully removed from each soil layer and washed to eliminate adhering soil particles. Shoot biomass and root biomass (sum of the root biomass in each layer) were weighed after drying at 60 °C for 72 h. Rice yield components were calculated by using the number of panicles, the number of grains per panicle, the percentage of filled grains, and the weight of a thousand grains (Efisue et al. 2014).

The P concentrations in shoots (Straw_P) and seeds (Seeds_P) were determined after digestion with chlorhydric acid (HCl) and analyzed with a spectrometer at 882 nm after a reaction with an ammonium molybdate solution. The total N and C contents in soil were measured by using a CHN microanalyzer (Fisons / Carlo Erba NA 2000), while the available soil P content in soil was measured using the resin method. Indeed, resin membranes function as plant roots in the extraction of soil-available P and therefore provide a close estimate (Sibbesen 1978). We

measured the resin-exchangeable P content by extracting 2 g of soil for 16 h with 30 ml of ultra-pure water and an anion exchange resin charged with NaHCO_3 , eluting the resin with 30 ml of 0.1 M HCl / 0.1 M NaCl for two hours. Phosphorus concentrations in the extract solutions were measured with the malachite green method (Ohno and Zibilske 1991). Mineral N was extracted with 1 M KCl.

2.6 Statistical analyses

All statistical analyses were done with the R software (R Team 2016) with a P-value threshold set at 5%. Three-way ANOVA models were used to test the effects of earthworms and residues on untransformed soil and plant variables. The three factors were: (1) the presence and species identity of earthworms coded “E” (no earthworms, *P. corethrurus*, *D. saliens*), (2) the presence and identity of the residues coded “R” (no residues, *C. grahamiana*, *D. uncinatum*, *S. guianensis*, *E. coracana* and *Z. mays*) and (3) the location of the residues coded “L” (mulch or buried). For each variable, we first performed a full (with all factor levels) ANOVA model using the “aov” functions from the “ade4” package (by default, it implements a sequential sum of squares). The normality of the data and the homogeneity of variance were checked using Shapiro and Levene’s tests, respectively. When there was no significant interaction effect, the type II sum of squares (SS) test was chosen with the function “Anova” from the package “car” in order to improve the initial model because it was more powerful in this case. If an interaction was present, a type III SS was used with the same function. The significance of the interactions and main effects was provided by these full improved models. The type of SS used in the improved models was indicated in the results section. We then specified the contrasts within the improved ANOVA model in order to distinguish the significant effects of the presence from that of the identity of both “E” and “R” factors. We finally detected the significant differences among levels within factors using the Tukey HSD post hoc test (function and package “TukeyC”).



(3a)



(3b)

Photo 3 : Mesocosms with mulched (3a) and buried residues (3b)

Table 5 : Characteristics of plant materials

Plant materials	C	N	P	Lignin (L)	Total Polyphenol (PP)	C:N	C:P	(L+PP) : N	References
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)				
<i>Crotalaria grahamiana</i>	37.8	3.04	0.14	7.05	2.00	12.4	273	2.98	database TSBF
<i>Desmodium uncinatum</i>	65	3.32	0.18	10.49	4.78	19.7	361	4.60	database TSBF
<i>Stylosanthes guianensis</i>	63.9	1.93	0.14	9.54	4.57	33.01	456	7.31	database TSBF
<i>Eleusine coracana</i>	-	-	-	-	-	82.1	-	-	Kushwah et al., 2014
<i>Zea mays</i>	42.8	0.73	0.07	9.18	0.93	57.7	626	13.76	database TSBF

3 Results

3.1 Earthworm presence

At the end of the experiment, the densities of *P. corethrurus* and *D. saliens* had decreased on average by 76% and 78%, respectively, in all treatments. The presence of residues increased the survival rate of earthworms 4-fold in comparison to treatments without residues (24% vs. 6%).

3.2 Soil properties

The analyses of variance and the contrast analysis showed that neither earthworm presence nor species identity significantly changed total soil carbon (C), soil ammonium (NH₄), nitrate (NO₃) and inorganic phosphorus content (Pi) (Table 6). However, we observed that the NO₃ content tended to be lower in the presence of both earthworm species than in their absence. It decreased by 9% and 8%, respectively, in the presence of *D. saliens* and *P. corethrurus*, which was significant at $p = 0.096$. In contrast, the presence and identity of the residues strongly affected the NO₃ content ($p < 0.001$). It was significantly higher with legume residues than with grass residues. The highest values were found in the treatments that received *Desmodium* (82.8 mg kg⁻¹) and *Crotalaria* residues (80.4 mg kg⁻¹), while the lowest values were found in the treatments that received *Zea* (58.4 mg kg⁻¹) and *Eleusine* residues (52.1 mg kg⁻¹). Total soil C was significantly higher with than without residues (27.8 vs. 25.6 g kg⁻¹, $p < 0.001$). Regarding the location of the residues, it was significantly higher with buried than with mulched residues (28.0 vs. 27.3 g kg⁻¹, $p < 0.001$).

3.3 Plant biomass

Shoot biomass, root biomass, total biomass and the shoot:root ratio were significantly affected by earthworm presence and species identity ($p = 0.021$, $p = 0.005$, $p = 0.013$, $p = 0.011$, respectively) (Table 7). In the presence of *D. saliens*, both shoot and root biomass were significantly lower (10.7 g and 5.3 g, respectively) than in the control without earthworms (11.1 g and 6.3 g, respectively) and in the presence of *P. corethrurus* (12.3 g and 6.5 g, respectively). Consequently, the total biomass was lower (16.2 g) in the presence of *D. saliens* compared to treatment with no earthworms, with a decrease by 7%. The highest biomass was found in the presence of *P. corethrurus* (18.8 g)

The shoot:root ratio increased in the presence of earthworms, with a more pronounced effect in the presence of *D. saliens* (2.07) than in the presence of *P. corethrurus* (1.91) compared to treatment without earthworms (1.82). With regards to the effect of identity and location of the residues on plant growth, the highest plant biomass (shoot, root and total biomass) was found in treatments including *Desmodium* and *Crotalaria* residues. The plant biomass was significantly higher with mulched than with buried residues ($p < 0.001$ for shoot biomass; $p = 0.011$ for root biomass and $p < 0.001$ for total biomass).

Table 6 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue presence and identity and residue location and their interaction on soil properties. Variables are abbreviated as following: total soil carbon (TotC) in g.kg⁻¹, ammonium (NH₄) in mg.kg⁻¹, nitrate (NO₃) in mg.kg⁻¹, inorganic phosphorus (Pi) in mg.kg⁻¹

Factors		Soil variables			
		C_tot	NH ₄	NO ₃	Pi
Main effects	<i>Earthworms (E)</i>	0.493 ns	0.203 ns	0.096 ns	0.746 ns
	<i>Residues (R)</i>	0.000***	0.646 ns	0.000***	0.079 ns
	<i>Location (L)</i>	0.000***	0.782 ns	0.131 ns	0.820 ns
Interactions	<i>E:R</i>	0.106 ns	0.728 ns	0.224 ns	0.559 ns
	<i>E:L</i>	0.789 ns	0.110 ns	0.966 ns	0.882 ns
	<i>R:L</i>	0.941 ns	0.726 ns	0.634 ns	0.878 ns
	<i>E:R:L</i>	0.730 ns	0.984 ns	0.076 ns	0.991 ns
Contrasts	<i>E:Input</i>	/	/	/	/
	<i>E:Species</i>	/	/	/	/
	<i>R:Input</i>	0.002 **	/	0.000***	/
Tukey HSD	<i>R:identity</i>				
	<i>R:Cro</i>	27.8 a	/	80.4 a	/
	<i>R:Des</i>	28.2 a	/	82.8 a	/
	<i>R:Sty</i>	27.4 a	/	64.7 b	/
	<i>R:Ele</i>	27.5 a	/	52.1 b	/
	<i>R:Mai</i>	27.7 a	/	58.4 b	/
	<i>NR</i>	25.5 b	/	58.2 b	/
Type of SS		II	II	II	II

ns : not significant at 5%. *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001. "/" not tested in the model if significant interaction or absence of both significant interaction and main effect.

Table 7 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue presence and identity and residue location and their interaction on plant properties. Variables are abbreviated as following: SB: shoot biomass in g.pot⁻¹; RB: root biomass in g.pot⁻¹; TB: total biomass in g.pot⁻¹; SR: shoot:root ratio; GY: grain yields in Mg ha⁻¹, Straw_ P : phosphorus accumulated in straw in mg kg⁻¹, Seeds_ P: phosphorus accumulated in seeds in mg kg⁻¹, Total_ P: total phosphorus uptake by rice in mg.pot⁻¹.

Factors		Plant variables							
		SB	RB	TB	S:R	GY	Straw_P	Seeds_P	Total_P
Main effects	<i>Earthworms (E)</i>	0.021 *	0.005 **	0.013 *	0.011 *	0.581 ns	0.482 ns	0.566 ns	0.355 ns
	<i>Residues (R)</i>	0.000 ***	0.000 ***	0.000 ***	0.915	0.007 **	0.655 ns	0.001**	0.043*
	<i>Location (L)</i>	0.000 ***	0.011 *	0.000***	0.046 *	0.000 ***	0.360 ns	0.639 ns	0.000 ***
Interactions	<i>E:R</i>	0.919 ns	0.621 ns	0.893 ns	0.175 ns	0.946 ns	0.376 ns	0.409 ns	0.959 ns
	<i>E:L</i>	0.445 ns	0.751 ns	0.480 ns	0.753 ns	0.336 ns	0.309 ns	0.137 ns	0.747 ns
	<i>R:L</i>	0.077 ns	0.153 ns	0.108 ns	0.146 ns	0.077 ns	0.696 ns	0.987 ns	0.348 ns
	<i>E:R:L</i>	0.624 ns	0.412 ns	0.511 ns	0.687 ns	0.382 ns	0.833 ns	0.449 ns	0.301 ns
Contrasts	<i>E:Input</i>	0.013 *	0.087 ns	0.026 *	0.004 **	/	/	/	/
	<i>E:Species</i>	0.522 ns	0.014 *	0.175 ns	0.298 ns	/	/	/	/
	<i>R:Input</i>	0.000***	0.000***	0.000***	/	0.000***	/	0.006 **	0.004 **
Tukey HSD	<i>R:identity</i>								
	<i>R:Cro</i>	13.41 a	6.97 ab	20.37 a	/	1.10 ab	/	2000 a	0.013 ab
	<i>R:Des</i>	14.42 a	7.70 a	22.12 a	/	1.46 a	/	2091 a	0.015 a
	<i>R:Sty</i>	10.42 b	5.49 bc	15.91 b	/	0.99 b	/	1964 ab	0.011 ab
	<i>R:Ele</i>	10.43 b	5.46 bc	15.89 b	/	1.13 ab	/	1834 ab	0.013 ab
	<i>R:Mai</i>	9.63 b	5.25 c	15.09 b	/	1.09 ab	/	1653 b	0.010 b
	<i>NR</i>	7.99 b	4.77 c	12.76 b	/	0.72 b	/	1629 b	0.008 b
Type of SS	II	II	II	II	II	III	II	II	

ns: not significant at 5%. *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001. "/" not tested in the model if significant interaction or absence of both significant interaction and main effect.

3.4 Rice grain yields and phosphorus acquisition

Statistical analyses showed that neither the presence of earthworms nor the species affected rice grain yields ($p = 0.581$, Table 7) or phosphorus acquisition ($p = 0.482$ for Straw_P; $p = 0.566$ for Seeds_P and $p = 0.355$ for Total_P). However, there was a significant effect of the presence and identity of the residues and their location on rice grain yields ($p = 0.007$). When residues were added, the rice grain yields increased by 1.6-fold (1.15 Mg ha^{-1}) compared to treatments without residues (0.72 Mg ha^{-1}) ($p < 0.001$). The highest increase was observed in the treatment that received *Desmodium* residues (1.46 Mg ha^{-1}), while the lowest increase was obtained in the treatment with *Stylosanthes* residues (0.99 Mg ha^{-1}). Considering all types of residues, we found that the rice grain yield was significantly higher for mulched (1.34 Mg ha^{-1}) than for buried residues (0.97 Mg ha^{-1}).

With regards to P acquisition, the identity of the residues affected significantly the P accumulated in seeds and total P uptake by rice ($p = 0.001$ and $p = 0.043$, respectively). *Desmodium* and *Crotalaria* increased the P accumulated in seeds across all treatments. For total P uptake, the highest value was observed in the treatment with *Desmodium* residues; it increased by 1.8 fold (0.015 mg) compared to the treatment without residues (0.008 mg).

4 Discussion

4.1 Earthworm presence

The first observation was the low density of living earthworms at the end of the experiment. This can be explained by the fact that the experiment lasted up to the harvest in mid-May 2015 at a time when rainfall had stopped for 5-6 weeks. As a consequence, the soil was dry when we sampled it, and it is likely that earthworms did not survive this drought. The low survival rates of earthworms in treatments without residues were probably attributed to the lack of food in addition to soil drought; it is likely that the presence of residues maintained the water content for a longer period. Despite the low earthworm abundance at the end of the experiment, visual observations of physical soil characteristics (burrows, macroaggregates) confirm that earthworms were present and active during the rainy period. Moreover, earthworm presence (irrespective of species) affected some soil and plant parameters; for example, they increased the rice height at maturity ($p=0.074$, data not shown). However, this positive earthworm effect on plant height was not confirmed by the rice grain yields, which suggests that earthworms probably died before grain filling. Similarly, in a review article, van Groenigen et al. (2014) noticed that earthworm presence did not significantly increase crop yields in experiments with survival rates lower than 50%, despite the fact that earthworm weight loss or gain was responsible for smaller variations in the size of the effect.

4.1.1 Effect of earthworm presence and species on soil properties

In our experiment, no significant effect of earthworm presence and species was found on soil chemical properties. We did not observe any enrichment of mineral N and available P in the soil

in presence of earthworms, as usually found in other earthworm experiments (Amador and Görres, 2005; Coulis et al., 2014; Chapuis-Lardy et al., 2009; Lavelle and Spain, 2001; Vos et al., 2014). Our findings showed that earthworm presence decreased the NO₃ content in the 0-5 cm upper soil layer although this was not significant. This might be because earthworms increased the N uptake for plant growth and production. In another experiment, Coulis et al., (2014) observed that the presence of earthworms increased the total N acquired by chickpea by 17 %. Another explanation for the decrease of soil nitrate is that earthworms could have increased microbial activity and biomass (Bernard et al., 2012), which could in turn increase microbial N immobilization (Van der Heijden et al., 2008). Nevertheless, we did not measure microbial biomass.

4.1.2 Effect of earthworm presence and species on plant properties

The presence of earthworms increased the shoot:root ratio, as already reported in several earthworm experiments (Coulis et al., 2014; Kreuzer et al., 2004; Laossi et al., 2010). Regarding the identity of earthworms, the shoot:root ratio was higher in the presence of both earthworm species, whereas a significant difference was observed only between the treatment with *D. saliens* and the treatment without earthworms. This finding suggests that the modification of biomass allocation depends on the earthworm species. The impact of *D. saliens* on biomass allocation may be explained by both trophic and non-trophic interactions between earthworms and plants (Coulis et al., 2014). These interactions are respectively based on:

- (i) the strategy of plants in optimizing resource allocation to the root system to efficiently take up nutrients (Laossi et al., 2010). It is well established that earthworms can increase the availability of soil nutrients (Chapuis-Lardy et al., 2011). Plants, in the presence of earthworms, would then produce less root biomass per shoot unit (Laossi et al., 2010). This explanation may also confirm our hypothesis on the decrease of the soil NO₃ content in the presence of *D. saliens*, probably because of higher N uptake;
- (ii) the release of phytohormones (Butenschoen et al., 2009; Noguera et al., 2010; Jana et al. 2010). Earthworms are known to trigger the release of molecules recognized as phytohormones by plants, in particular, an auxin-like effect (Muscolo et al., 1999), which may affect negatively root elongation so that root biomass decreases (Sukumar et al., 2013).

On the other hand, the presence of *D. saliens* reduced plant biomass (-7%), while *P. corethrurus* promoted higher total biomass (+16%) compared to the treatment without earthworms. Our results are consistent with a previous study by Jouquet et al. (2010), who found a lower plant biomass when *Dichogaster bolau* (a small epi-endogeic earthworm with similar functions to *D. saliens*) were present in vermicompost-treated soil. Observed differences between the effects of earthworm species are often attributed to variations in their feeding and burrowing behaviors (Bossuyt et al., 2006). However, the identification of the mechanisms responsible for the differential performance of earthworms needs further investigation.

4.2 Residue presence and identity

4.2.1 Effect of residue presence and identity on soil properties

In our study, the NO_3 contents were strongly affected by the identity of the residues. *Desmodium* and *Crotalaria* residues increased the soil NO_3 content, which suggests high N mineralization and microbial activity in those treatments. Generally, organic matter inputs with a low C:N ratio promote nitrogen release in soil, whereas organic matter with a high C:N ratio induces the immobilization of soil N by microorganisms (Abbasi et al., 2015; Chauvin et al., 2015). Legumes can fix substantial quantities of N by symbiotic fixation with soil bacteria (rhizobia) and are characterized by high N content with a narrow C/N ratio reducing the competition for available N by microorganisms and consequently enhancing the decomposition and nutrient release (Douglas and Rickman, 1992; Janzen and Kucey, 1988). In contrast, cereals are characterized by lower N content with a higher C:N ratio, resulting in N immobilization after incorporation (Parr and Papendick, 1978). However, the soil nitrate content in the treatment with *Stylosanthes* residues tended to be similar to those with cereal residues, suggesting microbial N immobilization in this treatment. Similar results have been reported in other studies (Mendham et al., 2004). This general pattern could be due to differences in the rate of residue decomposition, which is mainly driven by the biochemical quality of plant material (Heal et al., 1997). In general, water-soluble fractions are degraded faster (Knapp et al., 1983) followed by structural polysaccharides (hemicellulose and cellulose) (Harper and Lynch, 1981) and then lignin (Collins et al., 1990). In parallel, the (lignin+polyphenol):N ratio also determines the nitrogen release dynamics (Puttaso et al., 2011). It is also important to note that changes in biochemical composition during the growth period of most crop plants (Luna-Orea et al., 1996) affect residue quality; older plants (such as *Stylosanthes* in our experiment) are characterized by a decrease in water-soluble constituents, whereas the amount of hemicellulose, cellulose, and lignin increases. As a result, the residues of young plants (such as *Desmodium* and *Crotalaria* in our experiment) generally decompose more readily than those of older plants (Wise and Schaefer, 1994) and release more nutrients (Luna-Orea et al., 1996). Consequently, based on their biochemical composition, *Desmodium* and *Crotalaria* residues were of higher quality, while *Stylosanthes*, *Eleusine* and *Zea* residues were of lower quality.

4.2.2 Effect of residue presence and identity on plant properties

A similar trend was found between the effect of the identity of the residues on soil and plant properties, showing a stronger effect of legumes compared to cereals. The positive effect of *Desmodium* and *Crotalaria* residues on plant growth could be attributed to improved N and P supply. This is corroborated by the highest soil NO_3 concentration and P accumulated in rice seeds observed in those treatments in comparison to treatments with *Stylosanthes* and cereal residues. On the other hand, we observed that the rice grain yield was higher in the treatment

with *Desmodium* residues and lower with *Stylosanthes*. As explained above, the addition of residues with low C:N ratio and (lignin+polyphenol):N ratios increases the soil nutrient availability, which also affects nutrient uptake (Bakht et al., 2009) and then crop yields. Moreover, the low C:P ratio for *Desmodium* and *Crotalaria* increases P availability.

4.3 Location of residues

4.3.1 Effect of residue location on soil properties

The statistical analyses showed that the total soil C was higher for buried than for mulched residues. After weighing the residues at the end of experiment, we observed that the loss of litter for mulched residues was lower than for buried residues. When residues are placed on the surface, they are less associated with mineral soil and protected from microbial attack (Bossuyt et al., 2006); they thus decompose more slowly than when buried (Coppens et al., 2006; Curtin et al., 1998).

4.3.2 Effect of residue location on plant properties

The smallest plants and lowest grain yields were found in treatments in which the residues were buried (mixed in the upper 5 cm of soil) compared to treatments with mulched residues. These results confirmed the work of Bonkowski et al. (2000), who studied the effect of organic substrate heterogeneity in soil on ryegrass growth. They observed that plant growth was reduced when the organic substrate was homogeneously mixed into the soil. Basically, our result might be explained by two reasons: (i) with mulched residues, the moisture content of the soil was maintained (water conservation), and (ii) with buried residues, competition between plant roots and microbes for available nutrients increased. The effect of mulching on moisture conservation and crop productivity has been reported in previous studies (Zhang et al., 2005). It seems well established that conserving moisture through mulching is very impactful to plants during stress (Chakraborty et al., 2008). Conserving water in soil might have been useful to crops during grain filling (Li et al., 1999). This finding corresponds with our result on rice grain yield, which increased by 84% with mulched residues compared to buried residues.

4.4 Effect of interaction between earthworms and residues

In this study, crop residues were used as food for earthworms so that earthworm activity increased and earthworms could increase crop production by increasing nutrient release in their casts. Thus, we expected a synergy of the combination of earthworms (presence and species) and residues (identity and location) on soil and plant properties. However, we found no significant interacting effects. This could be explained by the magnitude of the effects of earthworms, which seems to depend not only on the presence of crop residues, earthworm density and type but also on the rate of residue application (van Groenigen et al., 2014). It has been reviewed that the positive effect of earthworms becomes larger when more residues are returned to the soil (application rate $\geq 6000 \text{ kg C ha}^{-1}\text{yr}^{-1}$) but greatly decreases at zero and very low residue application rates ($0 - 2999 \text{ kg C ha}^{-1}\text{yr}^{-1}$) (van Groenigen et al., 2014). In our experiment, the residue application rate

was typical of low input systems in the tropics, which could lead to a smaller effect of earthworms on soil and plant properties. Moreover, the drought at the end of the experiment was most likely the constraining factor for reaching the full potential of earthworm activity. Pashanasi et al. (1996) found that plant biomass production and grain yield in the presence of *P. corethrurus* increased during rainy seasons and decreased during dry seasons. Another experiment by Blouin et al. (2007) showed that the shoot biomass of rice did not increase in the presence of earthworms under drought conditions. Nevertheless, in rice rainfed cropping systems in the highlands of Madagascar, the dry season occurs generally after grain filling and during the whole period of maturity. Thus, the effects of earthworms are expected to strongly impact soil properties (release of nutrients, modification of the soil structure) at least during the rainy season, which could influence subsequent plant production. Interestingly, since residues improve moisture conservation in soil, high input systems (with high residue application rate) might provide excellent conditions for earthworm activity.

5 Conclusion

The aim of the present study was to manipulate earthworms and residues under field conditions in order to propose innovative practices to manage agricultural production in a sustainable manner. In this experiment, a positive effect of earthworm species on the modification of plant biomass allocation was found. However, we did not find a significant interactive effect between earthworms and residues. The most striking finding of our study was that the identity and location of the residues were the most important factors influencing soil nutrient content, plant growth and crop production, irrespective of earthworm presence. Adding fast-decomposing and high-quality residues such as legumes increased nutrient release, enhanced N-mineralization in the soil and then positively affected plant growth. The lack of evidence of the positive effect of earthworms and their interaction with residue input could be due to the low residue application rate and the drought that occurred at the end of the experiment. However, the effect of earthworms under drought conditions seemed to depend on the earthworm species. *D. saliens* induced a negative effect on rice total biomass, while a positive effect of *P. corethrurus* was observed. This result suggests that endogeic species such as *P. corethrurus* are better adapted to a water deficit than epi-endogeic species such as *D. saliens*. Controlling the population of introduced earthworm species is difficult under field conditions, requiring continuous introduction. Indeed, further research on the long-term effects of the manipulation of earthworms and plant residues is of great importance for sustainable agriculture in different agro-pedo-climatic areas.

6 Synthèse du chapitre 2.1

A la récolte, nos résultats montrent un faible taux de survie des vers de terre. Cela est probablement lié aux conditions climatiques défavorables (déficit hydrique) à leur développement pendant l'expérience. Toutefois, nous avons observé plusieurs biostructures (macroagrégats) et galeries dans les sols où les vers de terre ont été présents, ce qui confirme leur activité pendant au moins la saison des pluies. Malgré cela, les analyses statistiques montrent une absence d'effet significatif du facteur « présence et identité spécifique des vers de terre » sur les paramètres pédologiques à la fin de l'expérience. Par contre, un effet positif de la présence des vers de terre, indépendamment des espèces, a été noté sur le rapport entre biomasse aérienne et racinaire du riz. Cela suggère que les vers de terre ont la capacité de modifier l'allocation de la biomasse de la plante. Une observation intéressante a été l'effet contrasté des espèces de vers de terre sur la croissance du riz. En présence de *P. corethrurus*, une augmentation de 8% de la biomasse totale a été notée par rapport au contrôle. Au contraire, une plus faible biomasse (-7% par rapport au contrôle) a été enregistrée en présence de *D. saliens*. Cette observation suggère que *P. corethrurus* s'adapte mieux aux conditions de déficit hydrique que *D. saliens*.

Dans notre expérience, ce sont les facteurs « présence et type de résidus (R) » et « localisation des résidus (L) » qui déterminent la majorité de la variation de l'ensemble des paramètres étudiés. Pour les propriétés pédologiques, nos résultats montrent que la teneur en nitrate du sol a été significativement plus élevée en présence des résidus de Légumineuses comparée à celle en présence de Graminées. Toutefois, la teneur en nitrate du sol en présence des résidus de stylosanthes est sensiblement similaire à celle où l'on a apporté des résidus de Graminées. Ces différences relèvent de la qualité des résidus liée à leur composition biochimique, un facteur déterminant de leur vitesse de décomposition. Les résidus de desmodium et de crotalaire étant de meilleure qualité (forte teneur en N, faible C/N, faible (lignine + polyphénol)/N)) que les autres résidus de stylosanthes, d'éleusine et de maïs. En outre, la teneur en C du sol a été augmentée en présence de résidus, notamment lorsque ceux-ci ont été enfouis. Pour les propriétés agronomiques, nous avons observé que l'apport de résidus de desmodium et de crotalaire a fortement amélioré la production de biomasse (aérienne, racinaire et totale) du riz. Par ailleurs, le rendement en grains du riz a doublé en présence de résidus de desmodium (1,46 Mg ha⁻¹) comparé au traitement contrôle sans résidus (0,72 Mg ha⁻¹). Similairement, la quantité de P total accumulée dans la biomasse aérienne et dans les grains du riz a été augmentée de 1,8 fois dans les traitements avec desmodium. Ces résultats confirment que l'utilisation des Légumineuses à haute qualité et facilement décomposable permet d'augmenter la minéralisation, la nutrition et la production de la plante. Néanmoins, la localisation des résidus joue également un rôle important dans la croissance et le rendement du riz. Nos résultats montrent que les effets positifs des résidus sur la production de biomasse et du rendement en grains du riz sont plus importants lorsque les résidus sont localisés en surface que lorsqu'ils sont enfouis et mélangés au sol.

Chapitre 2.2 : Effet des vers de terre et des résidus sur la résilience des agrosystèmes au changement climatique

Le chapitre 2.2 est adapté à l'article "*Effects of earthworms and organic residues on the temperature sensitivity of soil respiration*", en cours de finalisation pour une soumission ultérieure.

Présentation du chapitre 2.2

Dans la continuité de l'étude décrite en chapitre 2.1, la présente expérience se focalise sur la résilience du système à l'augmentation de la température. Dans ce chapitre, seuls les mésocosmes où l'on a apporté des résidus de maïs sont étudiés. Ceux-ci correspondent à 9 traitements issus de la combinaison de 3 modalités de vers de terre (sans vers de terre, +*P. corethrurus*, + *D. saliens*) et 3 modalités de résidus (sans résidus, résidus de maïs en surface, résidus de maïs enfouis). Comme chaque traitement a été répété 4 fois, nous avons au total 36 mésocosmes. L'objectif de cette étude étant de vérifier si la présence antérieure des vers de terre et des résidus dans le sol permet de réduire les émissions de CO₂ lorsque la température augmente. Pour cela, des échantillons de sols (profondeur 0 – 5 cm) ont été prélevés dans chaque mésocosme et incubés à deux températures différentes (25°C et 35°C). Lors du prélèvement, les résidus à la surface et les débris de résidus dans le sol ont été enlevés manuellement. Les vers de terre ont été comptés dans chaque seau et enlevés du sol. Pour l'incubation, une prise de 20 g de sol sec a été mise dans un flacon en verre de 145 ml, puis humidifié avec de l'eau déminéralisé pour atteindre 80% de la capacité de rétention en eau du sol. Ceci étant effectué dans le but de réactiver les microorganismes du sol. L'incubation a été réalisée en deux séries selon la température d'incubation (25°C et 35°C). Pour chaque série, les échantillons de sols ont été d'abord pré-incubés à 25°C dans un incubateur pendant une semaine afin de stabiliser les activités des microorganismes du sol. Par la suite, l'incubation proprement dite a été effectuée pendant 21 jours. Durant cette période, l'humidité du sol a été retenue constante. Les émissions de CO₂ ont été mesurées aux jours 1, 3, 7, 10, 14 et 21 pour chaque température d'incubation. La quantité cumulée de C-CO₂ dans le flacon et le taux de respiration du sol ont été évalués. En outre, nous avons calculé la différence entre la quantité cumulée de CO₂ émise à 35°C et celle émise à 25°C (Δ CO₂). Par ailleurs, l'indice Q₁₀ a été mesuré en termes de ratio entre l'émission cumulée de CO₂ à 35°C et celle à 25°C. Ce paramètre représente l'augmentation des émissions de CO₂ du sol suite à une augmentation de la température de 10°C. Il permet d'apprécier la sensibilité de la respiration du sol à une augmentation de température. Enfin, les teneurs en NH₄ et en Pi disponible du sol ont été analysées à la fin de chaque incubation.

*Effects of earthworms and organic residues on the temperature sensitivity of soil respiration***Abstract**

In the context of sustainable agriculture and mitigating global warming, we assessed the effects of agroecological practices based on manipulating earthworm activity and residue management on soil temperature sensitivity. The mesocosms experiment was realized on Ferralsols in the Highlands of Madagascar with rice as crop. Residues were constituted by maize straw. At the end of this experiment, rice was harvested and both earthworms and remaining residues were removed from pots before soil sampling (0-10 cm). Soils samples were incubated and CO₂ emissions were monitored during 21 days in laboratory conditions. The full factorial design included three factors: previous activity of earthworm presence and species identity (*Pontoscolex corethrurus*, *Dichogaster saliens* and without earthworm), residue presence and location (buried residues, mulched residues and no residues) and temperature of incubation (25°C, 35°C). Our results showed that the presence of residues positively affected cumulative CO₂ emissions (+20.9%) and soil respiration rate (16.4%), with the effect being more emphasized in soils with buried residues than with mulched residues. No significant effect of the former presence of earthworms and species identity was found on overall soil respiration, irrespective of temperature levels. Interestingly, when temperature increased, the soil available P content was enhanced by 18.4% in soils where earthworms had been present. Considering the Q10 parameter, we recorded a quite constant value (1.5 to 1.7) in overall treatments, indicating that the former presence of earthworms and residues did not affect the sensitivity of soil respiration to temperature at the scale of our experiment. This is likely due to moderate response of global soil respiration to temperature. Further investigation is needed to assess the impact of earthworm activities and residues on Q10 indicator during plant growth to better determine which practices are more resilient with increasing temperature while enhancing plant production.

Keywords: *Pontoscolex corethrurus*, *Dichogaster saliens*, Maize residues, Carbon, Decomposition, Madagascar

1 Introduction

Soils are one of the major contributors of global carbon dioxide (CO₂) emissions, the most important greenhouse gas in terms of impact on the global radiative balance (IPCC, 2007). Rastogi et al. (2002) pointed out that soils are responsible for approximately 20% of global CO₂ emissions diffused into the atmosphere. Ultimately, CO₂ release from soils derives from soil respiration pathways (Raich and Schlesinger, 1992; Schimel, 1995) that can be partitioned into autotrophic respiration from plant roots and heterotrophic respiration from the decomposition of organic matter (Raich and Schlesinger, 1992). The latter, mainly driven by microbial activity (Hamdi et al., 2011, Chang et al., 2016), produces the largest part of CO₂ emissions from soil respiration (Rastogi et al., 2002; Bond-Lamberty et al., 2004; Chang et al., 2016). One of the most important abiotic factors affecting the heterotrophic component of soil respiration is the temperature (Kutsch et al., 2009, Davidson & Janssens, 2006; Kirschbaum, 2006). Indeed, higher temperatures enhance heterotrophic respiration rate and thus induce higher atmospheric CO₂ concentration (Cox et al., 2000; Jones et al., 2005). However, modelling studies of climate change by the Intergovernmental Panel on Climate Change (2014) suggest increasing global surface temperature worldwide. Across Africa, the “low-emissions scenario”, which considers a reduction of greenhouse gases emissions, expects global temperatures to increase by 1 to 2°C while the “high-emissions scenario” predicts an increase by 3.5 to 5°C. Thus, the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition is of great importance as it determines the feedback and the magnitude of warmer climate on the CO₂ amount released in the atmosphere (Davidson and Janssens, 2006; Cox et al., 2000; Luo et al., 2001; Reichstein et al., 2003). Q₁₀ is an important parameter to evaluate the temperature sensitivity of heterotrophic soil respiration. It is a factor by which soil respiration is multiplied when temperature increases by 10°C (Davidson et al., 2006).

In Madagascar, a prediction of higher temperature, shorter period of the rainy season with an increase in rainfall intensity has been reported (Tadross et al., 2008). Undoubtedly, smallholder farmers are the most vulnerable to climate change as they have limited resources and capacity to cope with agricultural shocks. Moreover, smallholder farmers in the Highlands of Madagascar develop their crops on fragile and poor Phosphorus-fixing Ferralsols. Current knowledge of the negative consequences of those aforementioned global changes on agricultural production points to the need to develop resilience and adaptation into agricultural systems. Resilience is here defined as the propensity of a system to retain its organizational structure and productivity following a perturbation (Holling, 1973). Agroecology, a new agricultural paradigm based on the intensification of ecological processes, is considered as an adaptive strategy to increase the productivity, sustainability, and resilience of agricultural production (Altieri, 2002). Agroecological practices optimizing functional biodiversity aboveground are widely recognized as beneficial to mitigate climate change (Altieri, 2015) whereas little information is available about belowground (soil) biodiversity and functions. Nevertheless, soil organisms play a key role in regulating ecosystem functioning and the response of soils to global change (Bardgett and van

der Putten, 2014). Earthworms, that act as ecosystem engineers (Jones et al. 1994) are known to regulate global carbon cycling through their feeding, burrowing, and casting activities (Curry and Schmidt, 2007). They are involved in processes that affect simultaneously CO₂ emissions through decomposition and mineralization of OM in the short-term and C sequestration through C incorporation in aggregate fractions in the long-term (Coq et al. 2007). The temporal scale dependence of the role of earthworms in the greenhouse gas balance of soils have received much attention in the literature (Lubbers et al. 2013, Zhang et al. 2013, Lubbers et al. 2017). However, there is a great lack of knowledge regarding the effect of earthworms on soil temperature sensitivity. The effect of earthworms on soil properties depends on their ecological strategy since earthworm belong to different ecological groups differing in their behaviours (Lavelle and Spain 2001). Earthworms are typically classified in three ecological groups: (i) epigeic species living in the upper layers of soils where they feed on surface litter, (ii) endogeic species living in the organo-mineral soil where they feed on soil less or more enriched with OM and (iii) anecic species living in the soil, creating permanent vertical burrows and feeding on fresh litter from the soil surface (Bouché, 1977). The presence and abundance of earthworms in agricultural soils depend on cropping practices, especially tillage and organic inputs (Lee and Foster, 1991; Cook and Linden, 1996; Chan, 2001). Indeed, numerous studies have shown that agroecological practices, such as no-tillage systems with living cover crop or mulch residues increase the density, biomass, activity, and diversity of earthworms (Chan, 2001, Schmidt et al. 2003, Coq et al. 2007). In addition, these cropping systems enhance carbon sequestration (Razafimbelo, 2005), beneficial to mitigate climate change in agricultural soils.

This study was part of a large project and aims at manipulating earthworm activity and crop residue management so that plant growth and yields in rice rainfed systems in the Highlands of Madagascar could be enhanced (Ratsiatosika et al., submitted Applied Soil Ecology). In the present study, we focused on the effect of earthworm presence and species identity, maize residue presence and location on temperature sensitivity of soil respiration. Maize, currently used by farmers in rotation with rainfed rice cropping systems in Madagascar, served as residues in the present experiment.

2 Materials and methods

2.1 Study site

The field experiment was conducted in the highlands of Madagascar in the region of Antsirabe (19°46'45"S, 47°06'25"E) at an altitude of 1600 m above sea level. The climate is an altitude tropical climate characterized by a dry and cold season from May to October and a wet and hot season from November to April. The average mean annual temperature is 16 °C and mean annual rainfall is 1300 mm. The soil is classified as a Ferralsol (FAO classification) with 62% of kaolinitic clay, 19% of silt and 19% of sand. In the upper 10 cm of soil, carbon content was 29.4 gC kg⁻¹, bulk density was 0.9 g.cm⁻³, pH_{H2O} was 5.7. Nutrient contents were low, especially total nitrogen (1.77 gN kg⁻¹) and available (resin) inorganic phosphorus (0.71 mg Pi kg⁻¹), whereas

iron and aluminum oxides contents were high (47 and 17 g kg⁻¹, respectively) (Chapuis-Lardy et al. 2009).

2.2 Mesocosm set-up

The field experiment was conducted in mesocosms and lasted 5 months during rice cropping cycle. The mesocosms consisted of 15 L plastic buckets with a top diameter of 28 cm. Before the buckets were filled with soil, their bottoms were drilled (6 holes with 1 cm diameter), filled with a cotton mesh so that water could easily flow down and covered by a mosquito net to prevent earthworms from escaping. Mesocosms were filled with 12 kg of air-dried soil and were then introduced into the soil so that surface level was similar inside and outside the mesocosms. They were randomly placed outside in natural weather conditions during the experiment.

2.3 Experimental design

The field experiment was a full factorial design. Nine different treatments were tested: 3 earthworm treatments (endogeic *Pontoscolex corethrurus*, epi-endogeic *Dichogaster saliens* and without earthworms) combined with 3 residue treatments (buried residues, mulched residues, and no residues). Maize residues were constituted essentially by straw with a C: N ratio equal to 57.7. 40°C-oven-dried residues were cut into debris approximately 2-3 cm length and were then added at a rate of 30 g dry mass per mesocosm, corresponding to the annual input made by farmers in no-till systems, i.e., 5 Mg dry mass ha⁻¹. Residues were either mulched (left at the soil surface) or partly buried (manually mixed into the upper 5 cm of soil). Each treatment was replicated 4 times to give a total of 36 mesocosms.

Both earthworm species were collected near the study site. Six adults of the endogeic species *P. corethrurus* and twenty adults of the epi-endogeic species *D. saliens* were added to each mesocosm. *P. corethrurus* (Rhinodrilidae) is present in all pedoclimatic regions in Madagascar (Razafindrakoto et al., 2010). It can ingest large amounts of soil, creates a macroaggregate structure and affects microbial activity, nutrient cycling, and SOM dynamics (Bernard et al., 2012; Chapuis-Lardy et al., 2009; Coq et al., 2007). *D. saliens* (Acanthodrilidae) is a small epi-endogeic earthworm that lives between the roots of plants, especially grasses. It has been shown to strongly stimulate the priming effect in the rhizosphere, thus leading to an increased release of nutrients to plants (Bernard et al. unpub. data).

At the time of rice sowing, a small amount of fertilization (we used the compound fertilizer N₁₁P₂₂K₁₆ at a rate of 300 mg per container which was equivalent to 48,7 kg ha⁻¹) was applied to each mesocosm as a starter fertilizer. Finally, five seeds of rice (variety FOFIFA 161) were sown and two seedlings were kept after two weeks in each mesocosm.

2.4 Soil sampling and CO₂ flux measurement

At the end of the experiment (rice harvest), mesocosms were removed, and their soil content was separated into 0–5, 5–10 and 10–20 cm soil layers. The soil of each layer was gently, manually disaggregated to check for earthworm presence. An aliquot of soil in the 0–5 cm layer

was sampled for incubation and CO₂ flux measurement. For each treatment, 20 g of air-dried soil was put in a glass bottle of 145 ml. The soil was moistened to 80% water-filled pore space with deionized water to reactivate soil microbial activity. Prior to incubation experiment, soils were pre-incubated for seven days at 25°C to allow the flush of respiration subsided and to reach constant microbial activity (Achat et al. 2009, Sun et al. 2015). Samples were incubated at two temperatures in incubators: 25°C and 35°C. The incubation lasted 21 days for each temperature. CO₂ accumulated in the bottle was regularly measured at days 1, 3, 7, 10, 14 and 21 of incubation period using a Varian CP4900 Microgas Chromatograph (Varian Chromatography Group, Walnut Creek, CA, USA). Soil moisture was maintained throughout the incubation period by weighing the bottles and correcting water loss with deionized water. After CO₂ measurement, the bottles were opened, flushed with ambient pressurized air for 90 seconds and resealed for the next measurement. Cumulative respiration expressed per gram of soil is strongly influenced by total organic carbon content. Then, cumulative respiration and soil respiration rate were expressed per gram of carbon. Total organic carbon content was measured by wet oxidation. Soil ammonium content was extracted with 1 M KCl. Available phosphorus was determined by the anion exchange resin method.

2.5 Statistical analyses

Analyses were done using R software (R Team 2016). A three-way ANOVA was first performed to test the effects of the (i) presence and species identity of earthworms (*D. saliens*, *P. corethrurus* and no earthworms), (ii) presence and location of maize residue (maize buried, maize mulched and no residue) and (iii) temperature of incubation (25 and 35°C) on CO₂ cumulative emission measured for each incubation time. Then, the influence of temperature on CO₂ emission was analysed by difference of CO₂ emission between 35°C and 25°C ($\Delta \text{CO}_2 (35^\circ\text{C} - 25^\circ\text{C})$). The factor Q10 indicating the temperature sensitivity of soil respiration were calculated using the equation: $Q10 = C\text{-CO}_2 (35^\circ\text{C}) / C\text{-CO}_2 (25^\circ\text{C})$. ΔCO_2 and Q10 variables were statistically analysed using two-way ANOVA testing for earthworm and residue effects and the interaction between these two factors. Differences among treatments were declared significant at the <0.05 probability level. Residuals of ANOVA were analyzed to test for normality. When a statistical significant difference was detected, multiple comparisons within the ANOVAs were made with orthogonal contrasts.

3 Results

3.1 Earthworm survival rate

At rice harvest, the average survival rate of earthworms was 28.2%. We found higher survival rate of *P. corethrurus* (17.5%) than *D. saliens* (17.5%). Considering the residue treatments, the presence of residues enhanced by 6-fold (39.08% vs 6.5%) the earthworm survival rate.

3.2 Cumulative CO₂ emissions

During the course of incubation, cumulative CO₂ emissions increased with time of incubation. Similar dynamics were observed for all treatments (Figure 39). The previous earthworm presence

and species identity had no significant effect on cumulative CO₂ emissions (Table 8). However, the presence of residues and their location and the temperature of incubation strongly affected cumulative CO₂ emissions ($p < 0.001$), irrespective of days of incubation. Contrast analysis showed that cumulative CO₂ emitted after 21-day incubation was 20.9 % higher in the presence of residues (17.3 mg C-CO₂. g⁻¹ C) compared to treatments with no residues (14.3 mg C-CO₂. g⁻¹ C). Moreover, cumulative CO₂ emissions were greater (+22.5%) when residues had been buried (19.1 mg C-CO₂. g⁻¹ C) than in the case of mulched residues (15.6 mg C-CO₂. g⁻¹ C). In addition, increasing temperature induced higher cumulative CO₂ emissions regardless of earthworm and residue treatments. At the end of incubation, the average value of cumulative CO₂ emissions at 35°C was 20.1 mg C-CO₂. g⁻¹ C while it was 12.5 mg C-CO₂. g⁻¹ C at 25°C. This corresponds to an increase of 60.8% due to higher temperature. An interactive effect of residue location and temperature was observed on days 1 and 3 of incubation (Table 8). However, the interaction became no significant at the end of the incubation time ($p = 0.339$).

Table 8 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on cumulative CO₂ emissions.

Factors	Day of incubation					
	1	3	7	10	14	21
Main effects						
Earthworm (E)	0.205	0.062	0.076	0.104	0.107	0.128
Residue location (L)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Temperature (T)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Interactions						
E : L	0.814	0.711	0.759	0.719	0.729	0.741
E : T	0.804	0.664	0.808	0.803	0.833	0.862
L : T	0.004	0.041	0.127	0.187	0.220	0.339
E : L : T	0.804	0.952	0.989	0.978	0.961	0.914
Contrasts						
Earthworm input	/	/	/	/	/	/
Earthworm species	/	/	/	/	/	/
Residue input	< 0.001	0.022	0.049	0.021	0.026	0.023
Residue location	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
L : T						
Residue input	0.016	0.239	/	/	/	/
Residue location	0.015	0.025	/	/	/	/

p-value in bold are significant at 0.05. "/" not tested in the model if absence of both significant main effect and interaction.

3.1 Soil respiration rate

Statistical analysis showed that neither the former presence of earthworms nor the species identity affected the soil respiration rate during incubation time, except on day 3 (p-value = 0.032, Table 9). Significant effect was primarily due to residue location and the temperature of incubation. Nevertheless, there was no significant effect of the interaction between earthworm treatments, residue treatments and the temperature of incubation. At the end of the experiment, the soil respiration rate was significantly higher in the presence of residues than in their absence (25.5 vs 21.9 $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{C h}^{-1}$, $p < 0.001$). Moreover, it was significantly greater with buried residues (28.1 $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{C h}^{-1}$) than with mulched residues (22.8 $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{C h}^{-1}$). Regarding the temperature of incubation, respiration rates at 35°C and 25°C showed different dynamics (Figure 40). Despite the fact that respiration rate decreased during incubation time irrespective of temperature levels, the magnitude of the decrease was significantly different between both temperatures. The highest temperature (35°C) induced a flush of respiration on the first day of incubation with an average value equal to 91.4 $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{C h}^{-1}$. It was about 3.5 times higher than the soil respiration rate measured on day 1 at 25°C. After this flush, the respiration rate declined rapidly and slowed down continuously to reach a minimum (26.8 $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{C h}^{-1}$) at the end of the experiment. The soil respiration rate at 25°C was quite linear during the course of experiment, and slightly decreased at the end of the experiment. The average values ranged from 26.4 $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{C h}^{-1}$ on day 1 to 21.5 $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{C h}^{-1}$ on day 21.

Table 9 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on soil respiration rate.

Factors	Day of incubation					
	1	3	7	10	14	21
Main effects						
Earthworm (E)	0.233	0.032	0.129	0.072	0.224	0.299
Residue location (L)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Temperature (T)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Interactions						
E : L	0.809	0.755	0.738	0.653	0.792	0.782
E : T	0.877	0.459	0.977	0.764	0.882	0.969
L : T	0.012	0.208	0.233	0.509	0.257	0.930
E : L : T	0.964	0.977	0.824	0.843	0.513	0.608
Contrats						
Earthworm input	/	0.109	/	/	/	/
Earthworm species	/	0.035	/	/	/	/
Residue input	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Residue location	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
L : T						
Residue input	0.019	/	/	/	/	/
Residue location	0.056	/	/	/	/	/

p-value in bold are significant at 0.05. "/" not tested in the model if absence of both significant main effect and interaction.

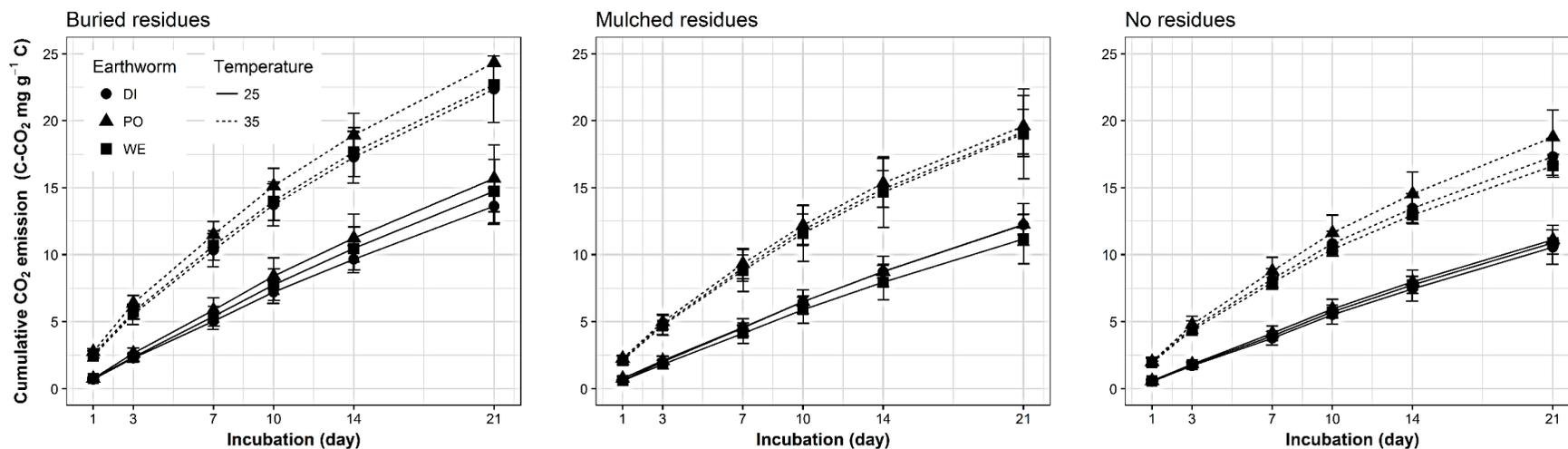


Figure 39 : Cumulative CO₂ emissions per gram of C during the incubation. Error bars represent the standard deviation. Earthworm treatments are abbreviated as following: *Dichogaster saliens* (DI), *Pontoscolex corethrurus* (PO), Without earthworms (WE)

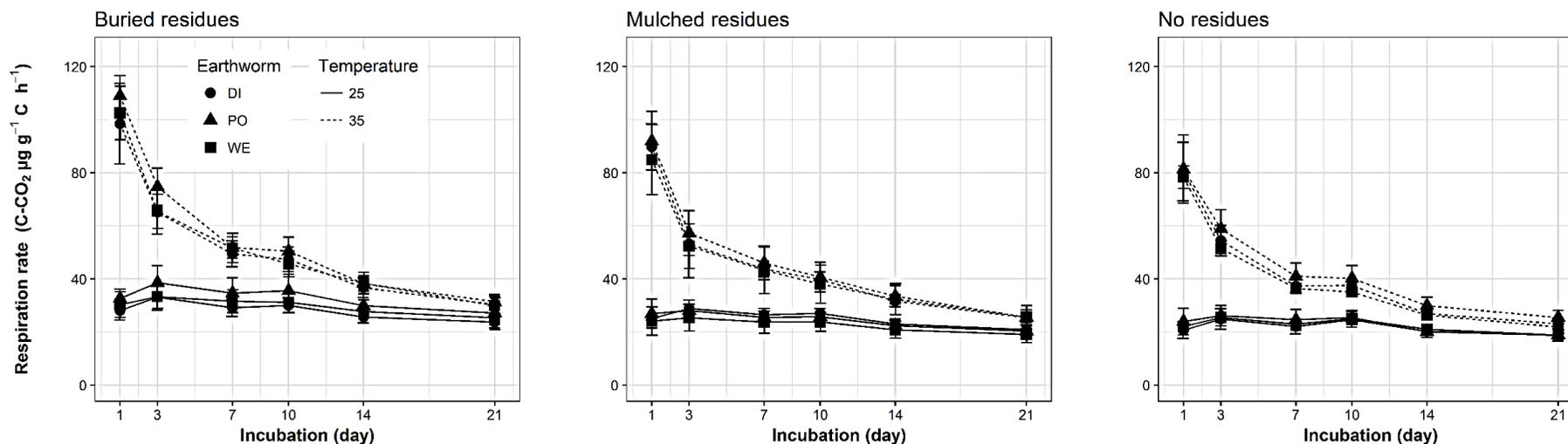


Figure 40 : Respiration rate per gram of C during the incubation. Error bars represent the standard deviation. Earthworm treatments are abbreviated as following: *Dichogaster saliens* (DI), *Pontoscolex corethrurus* (PO), Without earthworms (WE).

3.2 Delta CO₂

The difference between cumulative CO₂ emitted at 35°C and 25°C (Δ CO₂) increased with incubation time (Table 10, Figure 41). No significant effect of earthworm treatments was observed (Table 10). Conversely, the residue location affected Δ CO₂ during the whole incubation. At the end of the experiment, contrasts analysis showed that Δ CO₂ was significantly higher (+15.8 %) in the presence of residues than in their absence (7.89 vs 6.81 mg C-CO₂. g⁻¹ C). With regards to residue location, the p-value of contrasts analysis became greater during the course of experiment, ranging from 0.001 on day 1 to 0.054 on day 21 (Table 10). However, treatments receiving buried residues had the greatest Δ CO₂ with an average value of 8.40 mg C-CO₂. g⁻¹ C on day 21. For mulched residues, the average value was 7.38 mg C-CO₂. g⁻¹ C. The interaction between earthworms and residues had no significant influence on Δ CO₂, irrespective of days of incubation.

Table 10 : ANOVA and contrast table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on delta CO₂ (35°C – 25°C) emission.

	Factors	Day of incubation					
		1	3	7	10	14	21
Main effects	Earthworm (E)	0.732	0.364	0.434	0.278	0.309	0.342
	Residue location (L)	0.001	0.001	0.001	0.003	0.004	0.013
Interactions	E : L	0.677	0.779	0.871	0.690	0.521	0.258
Contrasts	Earthworm input	/	/	/	/	/	/
	Earthworm species	/	/	/	/	/	/
	Residue input	0.248	0.069	0.228	0.012	0.009	0.019
	Residue location	< 0.001	0.001	< 0.001	0.013	0.024	0.054

p-value in bold are significant at 0.05.. "/" not tested in the model if absence of both significant main effect and interaction

3.3 Q10

In line with the results observed for soil respiration rate, the temperature sensitivity of soil (Q10) also decreased from the start to the end of the experiment (Figure 42) for all treatments. Considering all treatments, the highest Q10 value (3.5) was observed on day 1 of incubation. Then, Q10 highly decreased until the end of the experiment. On day 21, the average value of Q10 was 2.2 times lower than that on day 1. The analysis of variance showed that the main effects of earthworms and residues were not significant during the course of experiment. Interestingly, their interaction had an influence on Q10 measured on day 21 (significant at p = 0.057, Table 11). Nevertheless, the difference between treatments was marginal. When residues were mulched and earthworms were present, irrespective of species identity, the soil temperature sensitivity was slightly lower (1.6) than in the absence of earthworms (1.7). On the contrary, the former presence of earthworms in soils with no residues or with buried residues slightly increased the soil temperature sensitivity (ranged from 1.5 to 1.7).

Table 11 : ANOVA table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on Q10.

	Factors	Day of incubation					
		1	3	7	10	14	21
Main effects	Earthworm (E)	0.543	0.958	0.844	0.750	0.773	0.818
	Residue location (L)	0.601	0.224	0.134	0.232	0.381	0.452
Interactions	E : L	0.487	0.368	0.168	0.082	0.058	0.057

3.4 Nutrient availability

The analyses of variance showed that NH_4 content was strongly affected by the temperature of incubation ($p < 0.001$, Table 12). At 35°C , the average value of NH_4 was higher by 132% than those at 25°C (4.92 vs 2.12 $\text{mg NH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$). With regards to the available Pi content, a significant effect of the interaction of earthworm treatments and the temperature of incubation was detected (p -value = 0.005 , Table 12). Increasing temperature enhanced P availability in treatments where earthworms were present. The average values ranged from 1.41 $\text{mg P} \cdot \text{kg}^{-1}$ at 25°C to 1.67 $\text{mg P} \cdot \text{kg}^{-1}$ at 35°C , which corresponds to an increase of 18.4 %. On the contrary, the available P content in the control without earthworms decreased by 21.6 % when temperature increased; the average values ranged from 1.39 $\text{mg P} \cdot \text{kg}^{-1}$ (at 25°C) to 1.09 $\text{mg P} \cdot \text{kg}^{-1}$ (at 35°C).

Table 12 : ANOVA table of p-value showing the main effects of earthworm presence and species identity, residue location, temperature of incubation and their interaction on soil ammonium (NH_4) and available phosphorus (Pi) contents.

	Factors	NH_4	Pi
Main effects	Earthworm (E)	0.465	0.001
	Residue location (L)	0.333	0.228
	Temperature (T)	< 0.001	0.594
Interactions	E : L	0.536	0.267
	E : T	0.286	0.012
	L : T	0.570	0.679
	E : L : T	0.150	0.108
Contrasts	E : T		
	Earthworm input	/	0.029
	Earthworm species	/	0.597
	E : L : T		
	Earthworm input	/	/
	Earthworm species	/	/

p-value in bold are significant at 0.05.. "/" not tested in the model if absence of both significant main effect and interaction

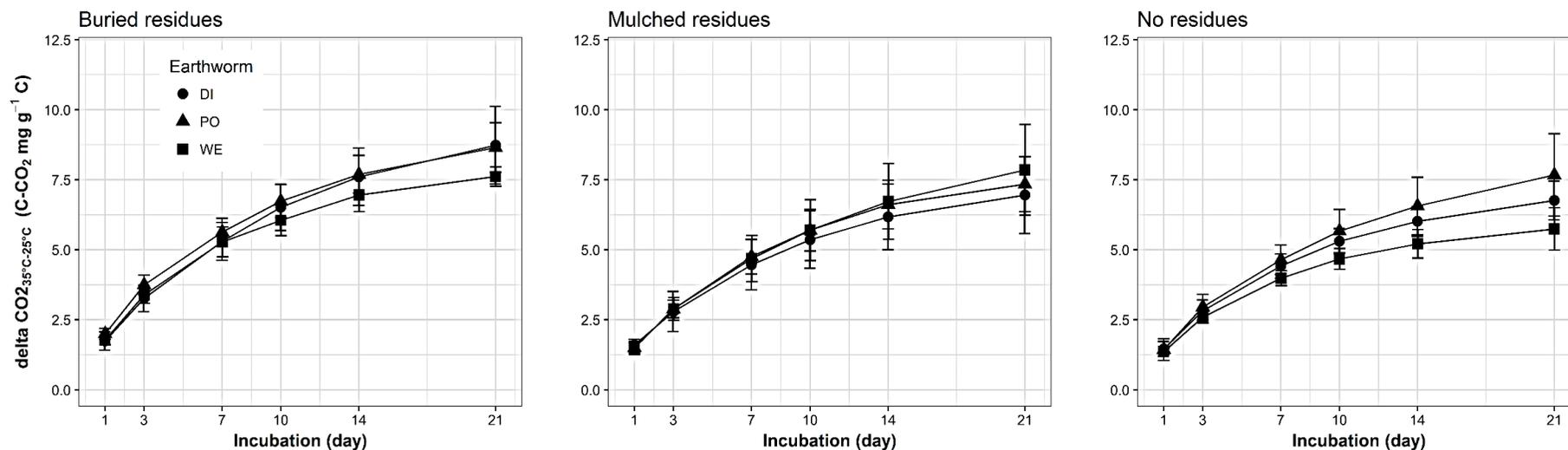


Figure 41 : Difference between cumulative CO₂ per gram of C emitted at 35°C and 25°C (delta CO₂ (35°C - 25°C)) during the incubation. Error bars represent the standard deviation. Earthworm treatments are abbreviated as following: *Dichogaster saliens* (DI), *Pontoscolex corethrurus* (PO), Without earthworms (WE)

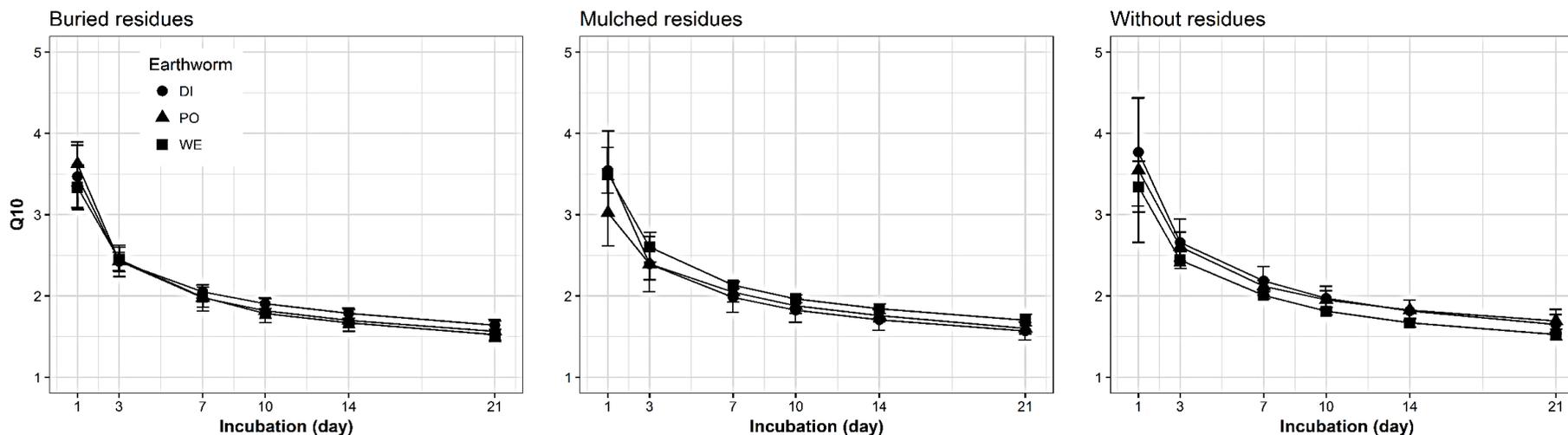


Figure 42 : Soil temperature sensitivity (Q10) during the incubation. Error bars represent standard deviation. Earthworm treatments are abbreviated as following: *Dichogaster saliens* (DI), *Pontoscolex corethrurus* (PO), Without earthworms (WE).

4 Discussion

4.1 Effect of earthworm presence and species identity

In our study, there was no effect of the former presence of earthworms and species identity on overall soil respiration. Cumulative CO₂ emissions from soils where earthworms were previously present had similar values to those from control soils without earthworms. Numerous studies evaluating the effects of earthworms on soil respiration were not consistent with our results (Chapuis-Lardy et al., 2010, Lubbers et al., 2013, Lubbers et al., 2017, Speratti and Whalen, 2008). This can be explained by the fact that, in our study, earthworms had been removed from soil before the incubation time and were not present in the incubation flasks, thus limiting the impact of earthworm activities on soil respiration. Indeed, positive effect of earthworms on soil respiration is induced directly by the respiration of earthworms and their role in litter fragmentation (Lee, 1985) and indirectly by an increase of microbial activity in earthworm guts (Bernard et al., 2012) which are released via casting (Aira et al., 2009). However, a significant effect of the former presence of earthworms (+18.4 %) on P availability was detected when temperature increased (35°C). In contrast, a decrease by 21.6 % of available P content was observed in control without earthworms, which suggests higher fixation of inorganic P released into the soil solution. Correspondingly, Silveira and O'Connor (2013) observed that soil affinity to retain P increases with temperature (20°C to 32°C). Indeed, temperature has an influence on microbial biomass (Joergensen et al., 1990; Frey et al., 2008; Bradford et al., 2008; Wu et al., 2009), microbial diversity (Frey et al., 2008; Feng and Simpson, 2009), and microbial activities (Waldrop and Firestone, 2004; Steinweg et al., 2008; Bradford et al., 2008). However, a high microbial activity led to a high request of inorganic P as the growth of soil microflora is limited by P. In Ferralsols characterized by high contents of iron and aluminum oxides, available P in soil solution is rapidly sorbed on soil particles (Randriamanantsoa et al., 2013) and thus, induces the depletion of available P. Nevertheless, in soil with lower P conditions, the greater P demand of microorganisms leads to P immobilization. Accordingly, the release of available P occurred in treatments with earthworms suggested that available P contents in the soil appeared to have been high enough to trigger P immobilization by microorganisms and P sorption in soil particles. A major mechanism that could explain this striking finding is likely the higher mineralization of large pool of organic phosphorus in the presence of earthworms (Le Bayon and Binet, 2006, Sharpley and Syers, 1976).

4.2 Effect of residue location

The addition of residues strongly influenced the soil respiration; an increase of cumulative CO₂ emissions was observed in the presence of residues. Such increase can be attributed to more available C pools, which could provide an important source of energy for soil microorganisms and then, stimulate microbial activity. Moreover, residue location plays a leading role in soil respiration. We found that, at the end of the experiment, cumulative CO₂ emissions in soils with buried residues were higher (+22.5 %) than in soils with mulched residues. Additionally, similar

patterns were observed with regards to the soil respiration rate. This is in line with several studies where decomposition rates were significantly higher when plant residues were incorporated in the soil (Coppens et al., 2007, Coq et al., 2007). Ghidey and Alberts (1993) and Varco et al. (1993) showed that decomposition rates for many types of residue were 2-4 times higher in buried than in surface-placed. Indeed, the effect of residue on C mineralization have long been shown to be related to their decomposability, suggesting that buried residues had higher decomposability than mulched residues. This might be due to the greater contact of buried residues with soil microbial biomass allowing faster decomposition. Likewise, when residues are mixed into the soil, readily mineralizable substrates are abundant and that leads to an increase of soil microbial activity (Bonkowski et al., 2000).

4.3 Soil temperature sensitivity

Our results showed that cumulative CO₂ emissions increased by 60.8% when temperature increased (25°C to 35°C), implying a higher mineralization. This result might be supported by the greater content of NH₄ (+132%) at the end of the experiment in soil incubated at 35°C than that at 25°C. Regarding the residue treatments, the presence of residues increased CO₂ emissions with increasing temperature. Particularly, buried residues emitted more CO₂ than mulched residues when temperature was higher (35°C), but the difference was small as incubation time increased. Nevertheless, Q10 parameter was not significantly affected by residue treatments. At the end of the experiment, Q10 values ranged from 1.5 to 1.7 in overall treatments. This was in agreement with the findings of Hamdi et al. (2011). They found that the soil temperature range from 20°C to 50°C did have no influence on Q10; the average values seemed to be constant (1.7 – 1.8) irrespective of temperature levels. Moreover, a meta-analysis of worldwide soil respiration between 1989 and 2008 established that there was a moderate response of global soil respiration to temperature (Bond-Lamberty and Thomson, 2010). In this study, the Q10 value was around 1.5 which is consistent with our result. However, we observed that Q10 decreased as incubation time increased during the course of the experiment. On the first day of incubation, the average value of Q10 was 2.2 times higher than that at the end of incubation. This could be explained by the flush of respiration occurring upon increasing temperature between pre-incubation (25°C) and incubation (35°C). Thereafter, the decrease of Q10 since day 3 could be explained by (i) the substrate depletion (Liu et al., 2006; Steinweg et al., 2008; Hartley & Ineson, 2008) or (ii) thermal adaptation of microbial respiration (Waldrop and Firestone 2004; Eliasson et al., 2005; Fang et al., 2005; Luo et al., 2001; Bradford et al., 2008).

5 Conclusion

Based on the results of this study, we conclude that the presence of residues led to an increase of CO₂ emissions, with the effect being more emphasized with buried residues than mulched residues. The higher C mineralization occurring in treatments where residues were mixed into the soil might be related to higher microbial activity. The presence of earthworms and species

identity did have no influence on overall soil respiration. Interestingly, a significant effect of the interaction between earthworm treatments and temperature levels was observed on available P contents. In control with no earthworms, higher temperature increased P depletion resulted from P sorption on soil particles and P immobilization by soil microorganisms. However, the presence of earthworms under warming condition overcome P depletion, which might be explained by higher mineralization of large organic P pools. A slight but significant decrease of Q10 values was recorded in soils where earthworms had been present with mulched residues. Nevertheless, the soil temperature sensitivity remained quite constant in overall treatments. Our results showed that the former presence of earthworms and addition of residues did not affect the sensitivity of soil respiration to temperature. Further research should focus on assessing the impact of earthworm activities and residue location on Q10 indicator, during plant growth to better determine which practices are more resilient with increasing temperature while enhancing plant production.

6 Synthèse du chapitre 2.2

Une absence d'effet significatif de la présence antérieure des vers de terre dans les sols a été notée sur l'ensemble des variables liées à l'émission de CO₂ (quantité cumulée de CO₂, taux de respiration du sol, différence entre l'émission cumulée de CO₂ à 35°C et à 25°C), indépendamment de la température d'incubation. Cependant, dans la littérature, un effet positif des vers de terre (en activités) a été plusieurs fois reporté sur l'émission de CO₂. Cela est essentiellement expliqué par la respiration des vers de terre, leur rôle dans la fragmentation de la litière, ainsi que la stimulation des activités microbiennes dans leur tube digestif et dans les turricules. Dans notre expérience, l'absence des vers de terre dans les sols pendant l'incubation limite leur contribution à l'émission de CO₂. Toutefois, les sols travaillés par les vers de terre ont présenté des teneurs en phosphore disponible (Pi) plus élevées par rapport au contrôle lorsque la température d'incubation augmente (35°C). Cela suppose une plus forte minéralisation du pool de P organique dans les sols où les vers de terre étaient présents.

En ce qui concerne les résidus, leur apport a positivement affecté la quantité de CO₂ cumulée et également le taux de respiration du sol pendant toute la durée de l'expérience. Après 21 jours d'incubation, la quantité de CO₂ cumulée a été supérieure de 21% en présence de résidus tandis que le taux de respiration du sol a été plus élevé de 20%. L'effet positif des résidus a été plus marqué dans les traitements avec résidus enfouis comparé aux résidus en surface, quelle que soit la température d'incubation. Pourtant, cela n'a pas d'impact significatif sur la sensibilité de la respiration du sol à l'augmentation de la température. Nous avons trouvé une valeur constante de l'indice Q₁₀ (entre 1,5 à 1,7) dans l'ensemble de tous les traitements. Notre étude suggère que la présence antérieure des vers de terre dans les sols et l'apport et la localisation des résidus n'avaient aucune influence significative sur la sensibilité du sol à l'augmentation de la température. Par ailleurs, la littérature évoque une valeur stable de Q₁₀ (1,7 à 1,8) pour une température variant entre 20°C à 50°C, supposant une réponse globale de la respiration du sol à l'augmentation de la température. Toutefois, il s'avère intéressant de reprendre cette expérience sous un autre angle afin de mieux appréhender quelles pratiques seraient plus résilientes à l'augmentation de la température tout en gardant la production agricole. Pour cela, il serait nécessaire d'évaluer les impacts des vers de terre actifs et de l'apport et de la localisation des résidus sur la respiration du sol pendant la croissance végétale soumis à deux températures différentes.

CHAPITRE 3 : Approche expérimentale en microcosmes

Le chapitre 3 comporte quatre expériences en microcosmes à court-termes (28 à 56 jours). L'objectif est de comprendre le rôle des vers de terre dans le recyclage des nutriments, en particulier le recyclage de P, la croissance végétale et le contrôle des bioagresseurs. Les quatre expériences sont les suivantes :

- (i) Caractérisation des activités enzymatiques et suivi de la dynamique de P inorganique (P_i) facilement disponible dans les turricules des vers de terre (chapitre 3.1) ;
- (ii) Effet de la dolomie et des vers de terre sur les flux de P à l'interface sol- plante par marquage isotopique (chapitre 3.2) ; et
- (iii) Réponse des différentes variétés du riz à la présence des vers de terre (chapitre 3.3).
- (iv) Effet des vers de terre et de la silice sur la résistance du riz à la pyriculariose.



Chapitre 3.1 : Caractérisation des activités phosphatasiques et suivi de la dynamique de phosphore inorganique dans les déjections de vers de terre

Résumé

Les vers de terre jouent un rôle majeur dans la dynamique du phosphore (P). De nombreuses études ont montré que les turricules des vers de terre sont enrichies en P disponible (Pi). Cependant, la connaissance de l'évolution de ce pool de Pi libéré dans les turricules des vers de terre ainsi que l'origine de ce P restent encore partielles, notamment pour les Ferralsols très fixateurs en P des Hautes Terres de Madagascar. La présente étude a pour objectif (i) de caractériser les différentes formes de P organique (Po) contenues dans les turricules des vers de terre à différents âges, (ii) de mesurer les activités phosphatasiques relatives à la dégradation des Po et (iii) de suivre la dynamique temporelle de Pi libéré dans les turricules. Pour cela, des individus de l'espèce *Pontoscolex corethrurus* ont été élevés sur un Ferralsol. Les turricules de surface ont été prélevés et incubés à différentes durées pour suivre la cinétique des propriétés au cours du temps. Deux expériences ont été conduites : la première destinée à déterminer les différentes formes de Po dans les turricules des vers de terre à différents âges (0, 2, 5, 8, 15, 21 jours) par l'utilisation de la chromatographie ionique capillaire haute pression (HPiC) et à mesurer les activités enzymatiques relatives à la dégradation de Po dans les turricules. La deuxième est destinée à suivre la dynamique temporelle de Pi dans les turricules des vers de terre. Les résultats montrent la présence de six molécules de Po dans les turricules dont 88% constituées par le glucose-6-phosphate G6P et l'adénosine monophosphate AMP. Ces molécules proviennent des métabolites cellulaires des microorganismes du sol. Au cours du vieillissement des turricules, les activités enzymatiques phosphatasiques présentent une tendance constante, mais généralement plus faible par rapport aux activités phosphatasiques mesurées dans le sol sans vers de terre. Le Pi extractible à la résine diminue avec l'âge des turricules mais reste plus élevé après 23 jours (1,8 fois à 3,1 fois) comparé à celui du sol sans vers de terre. Ces résultats permettent de faire avancer les connaissances sur la dynamique de Pi dans les turricules, notamment la durée pendant laquelle les plantes peuvent avoir accès au Pi biodisponible libéré dans les turricules.

Mots-clés : Glucose-6-phosphate, Adénosine monophosphate, Chromatographie ionique haute pression, *Pontoscolex corethrurus*, Madagascar

1 Introduction

Le phosphore (P) est un élément indispensable à tous les organismes vivants. Il est le cinquième élément, en masse, composant la matière vivante. Le P joue un rôle majeur dans la croissance et le développement des végétaux en affectant divers processus métaboliques tels que la division cellulaire, le transport d'énergie, la biosynthèse des acides nucléiques ou des phospholipides, la photosynthèse et la respiration des plantes (Vance et al., 2003). Dans le sol, le P est présent sous deux principales formes (minérale et organique) se répartissant dans deux phases (solution du sol et phase solide du sol). Les ions orthophosphates ou P_i (pour phosphore inorganique) présents dans la solution du sol constituent la seule forme de P assimilable par les plantes. L'approvisionnement de ce pool de P_i en solution est sous l'influence de deux cycles : (i) un cycle biologique dans lequel les pools de P sont des formes organiques de P (P_o) dont les transferts sont gouvernés par des réactions biologiques telles que la minéralisation-immobilisation, l'activité de la racine et de la rhizosphère et (ii) un cycle géochimique dans lequel les pools de P sont des composés chimiques et minéralogiques dont les transferts sont gouvernés par des mécanismes abiotiques tels que la dissolution-précipitation, l'adsorption-désorption et la diffusion (Frossard et al., 2000 ; Hinsinger, 2001 ; Morel, 2002).

En milieu tropical, les sols sont essentiellement composés de Ferralsols (37%) et Acrisols (34%). Ces sols sont caractérisés par leur faible teneur en P_i en raison de la grande capacité de sorption des ions phosphate par les oxyhydroxydes de fer et d'aluminium présents en quantités abondantes (Fairhurst et al., 1999). A Madagascar, les Ferralsols recouvrent 35,4% de l'ensemble du territoire et recouvrent presque la totalité des hautes Terres (Razafimahatratra, 2011). De ce fait, la carence en P du sol est l'un des facteurs les plus importants limitant la production agricole. Afin de remédier à ce problème de fertilité phosphatée des sols, diverses solutions ont été déjà proposées telles que l'apport de matière organique, l'apport d'engrais minéral phosphaté, l'adoption de l'agriculture de conservation (Andriamaniraka, 2009). Cependant, la macrofaune du sol, en particulier les vers de terre, joue également un rôle clé dans le cycle de P. De nombreux travaux ont montré que les turricules (déjections) de vers de terre sont relativement enrichis en P_i par rapport au sol non ingéré (Sharpley & Syers, 1976; Chapuis-Lardy et al., 2011). Les mêmes tendances sont obtenues lorsqu'on mesure le P total ou différentes fractions de P dans les turricules (Kuczak et al., 2006 ; Guggenberger et al., 1996 ; Jimenez et al., 2003). A Madagascar, plusieurs études menées ces dernières années ont montré d'une part (i) que les vers de terre peuvent modifier profondément les diversités et activités microbiennes (Bernard et al., 2012) et d'autre part (ii) qu'ils ont eu une influence majeure sur la dynamique du P et son prélèvement par la plante (Chapuis-Lardy et al., 2010). Toutefois, cette connaissance de l'effet des vers de terre sur la disponibilité de P dans ces sols très peu fertiles reste encore partielle. Il manque encore des informations concernant notamment la dynamique du P dans les turricules des vers de terre ainsi que l'origine de ce P. Les turricules ont une durée de vie de plusieurs mois/années (selon

les sites et les espèces) (Blanchart et al., 1997) et il est d'une importance majeure de comprendre comment évolue le pool de Pi dans ces turricules. Cela permettrait plus spécifiquement de comprendre l'accessibilité de Pi disponible pour la plante. Cette donnée est notamment nécessaire pour améliorer les modèles d'activité des vers de terre sur le fonctionnement sol-plante (par exemple, le modèle Swarm, Blanchart et al., 2009). Enfin, suivant l'hypothèse que ce pool de Pi va augmenter dans les turricules au cours des premiers jours de leur existence, suite à une stimulation microbienne, il est important de comprendre d'où provient ce Pi et notamment s'il provient d'une minéralisation du Po par les microorganismes via la sécrétion d'enzymes phosphatasiques. Cette hypothèse est posée dans la mesure où les activités microbiennes sont renforcées dans les turricules, du moins tant qu'ils restent humides (Bernard et al., 2012). Deux expériences ont été conduites dans la présente étude, la première (expérience 1) destinée à déterminer les différentes formes de Po dans les turricules des vers de terre via une analyse chromatographique et à mesurer les activités enzymatiques relatives à la dégradation de Po dans les turricules. Cette première expérience a été cadrée dans une démarche exploratoire. La complexité de la méthode et le coût élevé des analyses a empêché d'effectuer des répétitions. La deuxième expérience (expérience 2) est destinée à suivre la dynamique temporelle de Pi disponible dans les turricules des vers de terre et compléter ainsi nos résultats de l'expérience 1.

2 Matériels et méthodes

2.1 Elevage de vers de terre

Des individus de l'espèce *Pontoscolex corethrus*, espèce la plus abondante dans les systèmes agricoles pluviaux des Hautes Terres de Madagascar ont été élevés sur un Ferralsol, prélevé sur le site de Lazaina (à 15 km au Nord-Est d'Antananarivo). Chaque 24 heures, les turricules déposés par les vers de terre à la surface du sol ont été récoltés manuellement à l'aide d'une spatule et d'une pince et placés dans des piluliers. Ces piluliers ont été immédiatement placés dans un bocal fermé contenant un petit volume d'eau (Figure 43) afin de maintenir l'humidité ambiante et d'éviter le dessèchement des turricules. Chaque jour, les bocaux ont été ouverts pour renouveler l'atmosphère.



Figure 43 : Prélèvement des turricules de surface (gauche) et mise en incubation dans des piluliers placés dans un bocal contenant de l'eau (droite)

2.2 Expérience 1

La première expérience a été lancée en octobre 2014 au LRI (Madagascar). Celle-ci porte sur deux analyses dont (i) la caractérisation des principales formes de molécules organiques phosphorées présents dans les turricules des vers de terre et (ii) la mesure des activités enzymatiques permettant de dégrader ces molécules organiques afin de libérer du Pi. Les turricules ont été incubés pendant des temps croissants : 0, 2, 5, 8, 15, 21 jours. A chaque temps, les échantillons ont été congelés afin de stopper toute activité enzymatique phosphatasique microbienne capable de transformer le Po en Pi. Pour t=0 jour, les turricules prélevés à la surface du sol ont été mis directement à congeler. Puis, les échantillons congelés ont été transférés à l'UMR Eco&sols (Montpellier) pour analyses.

2.2.1 Caractérisation des différentes formes de Po

La chromatographie ionique capillaire haute pression (HPiC) (Dionex BIO LC) a été utilisée pour séparer et quantifier les différentes formes de Po contenues dans les turricules des vers de terre (Figure 44). Le principe de la chromatographie ionique repose sur la séparation des ions dans des extraits liquides.



Figure 44 : Chromatographie ionique haute pression (HPiC)

- Préparation de l'extrait et mesure de P extractible à la soude

Avant l'analyse chromatographique proprement dite, le Pi dans les échantillons (turricules à différents âges) a été extrait avec la solution de NaOH (0,5 N). Pour chaque échantillon, une prise de 15 g de sol a été ajoutée de 15 ml de NaOH (0,5 N). Chaque extrait a été séparé en trois aliquotes afin d'effectuer (i) la mesure directe du Pi extractible à la soude (Pi-NaOH), (ii) la mesure de la concentration en P total extractible à la soude (P_{tot}-NaOH) et (iii) la séparation et la quantification des différentes formes de Po par l'utilisation de l'HPiC. Les extraits ont été

fortement colorés dû à l'extraction des acides humiques par le NaOH. Or, cela compromet le dosage de Pi-NaOH et l'analyse chromatographique. Afin de précipiter les acides humiques, les extraits pour la mesure de Pi-NaOH et l'analyse chromatographique ont été acidifiés avec la solution de HCl (6N). Le Pi-NaOH a été dosé suivant la méthode au vert de malachite. L'aliquote pour la mesure de P total a été acidifié (HCl 12 N) et mis en étuve à 105°C pendant une nuit afin de minéraliser toutes les formes organiques de P. Le dosage a été effectué par la méthode au vert de malachite. Le Po extractible à la soude (Po-NaOH) a été calculé par différence entre P_{tot}-NaOH et Pi-NaOH. Le résultat de Po-NaOH a servi de référence pour calculer le rendement (r) de Po obtenu par l'HPiC (Po-HPiC). Le calcul de « r » est obtenu par la formule $r (\%) = (\text{Po-HPiC} / \text{Po-NaOH}) * 100$. L'aliquote pour la mesure avec l'HPiC a été congelé à -20°C avant l'analyse chromatographique.

- Analyse chromatographique

Le mécanisme de séparation des ions dans une analyse chromatographique se produit par échange d'ions entre une phase stationnaire et une phase mobile. Dans notre étude, la phase stationnaire a été constituée par une colonne à résine cationique échangeuse d'anions. Ainsi, il permet de détecter toutes les différentes formes de Po en raison de leur charge négative liée au groupement phosphate. Selon leur taille et leur charge, ces anions sont adsorbés plus ou moins fortement sur la phase stationnaire. Une solution de NaOH (0,2 M) a été utilisée comme éluant dans la phase mobile. La présence d'ion hydroxyde (OH⁻) issu de cette solution a permis la désorption des anions fixés sur la phase stationnaire grâce à l'échange d'ions. La détection des ions se fait par mesure de conductivité. Pour supprimer la conductivité de l'éluant NaOH qui pourrait fausser le résultat, une injection d'acide sulfurique H₂SO₄ (12 mM) a été effectuée dans la colonne de neutralisation ou supprimeur. Pour les échantillons, la concentration élevée en Cl⁻ due à l'utilisation de l'HCl (6N) pour la précipitation d'acides humiques pourrait compromettre l'analyse chromatographique. Afin d'éliminer les ions Cl⁻, les extraits ont été filtrés et dilués dans une cartouche contenant de l'AgNO₃ (Dionex OnGuard II-AG cartridge, Thermo Scientific). Des mesures de Pi avant et après le passage de l'extrait dans la cartouche ont été effectuées pour évaluer la dilution induite par la cartouche d'AgNO₃.

La méthode d'ajouts dosés a été réalisée pour la quantification des Po dans les extraits (Rienitz et al., 2006). Cette méthode dont l'objectif a été de déterminer le temps de rétention de chaque forme de Po s'est avérée importante dans l'identification des pics correspondants aux différentes formes de Po lors de l'analyse des chromatogrammes. Pour cela, l'échantillon de turricules âgés de 15 jours (T15) ayant une quantité élevée a été choisi pour la méthode d'ajouts dosés. Six formes de Po dont le glucose-6-phosphate (G6P), l'adénosine monophosphate (AMP), le phytate, le pyrophosphate de sodium (PrP), l'adénosine triphosphate (ATP), et le fructose-1,6-bisphosphate (Fr1-6P) ont été achetées chez Sigma pour constituer les solutions mères. La raison du choix de ces formes de Po repose sur leur présence majeure dans la composition de la plupart

des sols (Kittima et al., 2015). Les solutions mères ont été préparées dans de l'eau ultrapure à une concentration finale de 60 mM pour l'AMP, 50 mM pour l'ATP et 10 mM pour les autres composés. Des solutions filles à trois différentes concentrations (C1, C2, C3, Table 13) ont été préparées à partir des solutions mères pour effectuer la gamme d'étalon. Afin de vérifier le temps de rétention des formes de Po, l'extrait de T15 (1 ml) mélangé à de l'eau ultrapure (0,24 ml) a été injecté dans l'HPiC. Ensuite, le même extrait de T15 (1 ml) ajouté des solutions filles (0,06 ml pour chaque solution) à forte concentration C3 a été injecté pour obtenir des pics bien visualisables. Le temps de rétention de chaque forme de Po a été déterminé en comparant les pics des chromatogrammes de l'extrait mélangé à l'eau ultrapure à ceux de l'extrait avec ajout de solutions de Po. Une fois le temps de rétention des différentes formes de Po déterminée, l'analyse chromatographique définitive des échantillons de turricules de différents âges a été effectuée. L'extrait de chaque échantillon (1 ml) ajouté de l'eau ultrapure (0,24 ml) a été injecté pour obtenir le chromatogramme correspondant. Pour le G6P, une dilution de 10 fois a été réalisée. Les concentrations des différentes formes de Po détectées par l'HPiC ont été évaluées à partir des aires du chromatogramme et des dilutions effectuées (Kittima et al., 2015).

Table 13 : Concentrations (C) de Po utilisées dans la méthode d'ajouts dosés.

Anions	Concentration (μM)		
	C1	C2	C3
G6P	80,6	161,3	241,9
AMP	648,4	803,2	967,7
PrP	48,4	96,8	145,2
Fr1-6P	40,2	80,3	120,5
ATP	483,9	645,2	806,5
Phytate	48,4	483,9	806,5

2.2.2 Mesure des activités enzymatiques phosphatasiques

Les phosphatases ont la capacité de minéraliser les substrats organiques (Po) en libérant du Pi dans la solution du sol. La mesure des activités phosphatasiques consiste à quantifier le Pi libéré via la dégradation de Po par l'activité phosphatasique. Dans cette analyse, nous avons mesuré les activités phosphatasiques des turricules à différents âges ainsi que celles du sol témoin. Différentes étapes ont été suivies afin de mesurer ces activités.

- Extraction des enzymes

Les enzymes ont été récupérés dans les turricules à différents âges et dans le sol témoin. L'extraction a été effectuée après broyage des échantillons en utilisant un tampon d'extraction (1 ml g⁻¹ sol). Ce tampon d'extraction est composé de trizma (50 mM avec un pH de 7,5), 4% de BSA (Bovine Serum Albumine) et 1% de triton. Le BSA est une protéine permettant d'extraire

les enzymes tandis que le triton est une membrane perméable permettant de récupérer la totalité des enzymes. Le broyage a été effectué à une vitesse de $6,5 \text{ m s}^{-1}$ pendant 2 fois 30 secondes. Entre temps, les tubes contenant les extraits ont été mis dans un plateau rempli de glace pour éviter la hausse de la température occasionnée par le broyage. En effet, la température pourrait dénaturer les enzymes. Après cela, les extraits ont été mis sur un agitateur rotatif pendant 30 min dans un réfrigérateur. Puis, on a ajouté un tampon de dilution (trizma à 50 mM avec un pH de 7,5) à raison de 2 ml g^{-1} sol. Les extraits ont subi ensuite une deuxième agitation pendant 10 min. Enfin, ils sont centrifugés (pendant 3 fois 5 min à 15 000 g) et congelés avant d'être utilisés.

- Préparation des substrats

La plupart des substrats étudiés dans cette analyse ont été déterminés à partir des résultats de Po identifiées par l'HPiC. Pour cela, sept substrats ont été utilisés dont le glucose-1-phosphate (G1P), le glucose-6-phosphate (G6P), l'adénosine monophosphate (AMP), l'adénosine diphosphate (ADP), l'adénosine triphosphate (ATP), le fructose-6-phosphate (Fr6P), et le fructose-1,6-bisphosphate (Fr1-6P). Ces substrats ont été préparés à 20 mM dans un tampon d'acétate 0,2 M à pH 5,5.

- Analyse proprement dite

Pour chaque substrat étudié, la cinétique de libération de Pi issue de l'activité phosphatasique a été déterminée en effectuant une incubation à 5 temps (0, 1h30, 2h30, 4h30 et 6h). La température d'incubation a été de 37°C . A chaque temps considéré, la réaction enzymatique a été stoppée en utilisant l'acide trichloroacétique (TCA) qui est un acide fort (pH = 2). L'acétate de sodium a été ajouté à la solution pour ajuster le pH à 5,5. Le TCA a permis de précipiter les protéines n'ayant pas réagi à l'activité enzymatique. Le Pi libéré pendant l'incubation a été ensuite dosé directement par la méthode au vert de malachite (Ohno & Zibilske, 1991). L'activité phosphatasique est exprimée en $\mu\text{g Pi. h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ sol sec.

2.3 Expérience 2

La deuxième expérience a été réalisée en février 2017 au LRI. Elle a consisté à suivre la cinétique du Pi (extraction résine) au cours du vieillissement des turricules mis en incubation et en comparaison avec des sols témoins. Les turricules de surface ont été prélevés et mis en incubation à différentes dates : 0, 1, 2, 7, 9, 14, 16 et 23 jours. Selon la quantité de turricules collectés, 4 ou 5 répétitions ont été effectuées pour chaque date. Les turricules ont été mis dans un réfrigérateur suivant leur âge. L'analyse porte sur la mesure de Pi par l'utilisation de la membrane résine échangeuse d'anions. Le dosage du Pi a été effectué par la méthode au vert de malachite (Ohno & Zibilske, 1991). Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur a été réalisée pour voir si l'âge des turricules a un effet significatif sur la teneur en Pi dans les turricules. Le seuil de

significativité a été établie au seuil de probabilité 0,05. Un test de tukey a été effectué pour la comparaison des moyennes. Le logiciel R a été utilisé pour les analyses statistiques.

3 Résultats

3.1 Les principales molécules organiques phosphorées dans les turricules des vers de terre

Les analyses en chromatographie ionique font ressortir six molécules organiques phosphorées présentes dans les turricules de vers de terre : le G6P, l'AMP, le phytate, le PrP, l'ATP, et le Fr1-6P. Le rendement de l'HPiC « r » a été en moyenne de 89%, ce qui indique que l'analyse en chromatographie ionique permet d'identifier la majorité des molécules de Po contenues dans les turricules de vers de terre. Le G6P et l'AMP sont les formes de Po les plus présentes dans les turricules quel que soit leur âge (Figure 45). En moyenne, ces molécules représentent respectivement 63% et 25% de la concentration totale de Po détectées par l'HPiC (Po-HPiC). Les autres molécules organiques phosphorées, plus particulièrement l'ATP et le Fr1-6P, ne représentent qu'une infime quantité (1,8% pour l'ATP et 0,4% pour le Fr1-6P) de la totalité de Po-HPiC dans les turricules des vers de terre élevés sur Ferralsol. Concernant l'évolution de Po selon l'âge des turricules, il est remarqué que la concentration totale de Po-HPiC est élevée dans les turricules de 2 jours (2250 μM) et 21 jours (2815 μM). Cela est dû respectivement au fait que la concentration en AMP se trouve à un niveau maximal à l'âge de 2 jours (719 μM) tandis que le pic de G6P (2004 μM) est observé à l'âge de 21 jours.

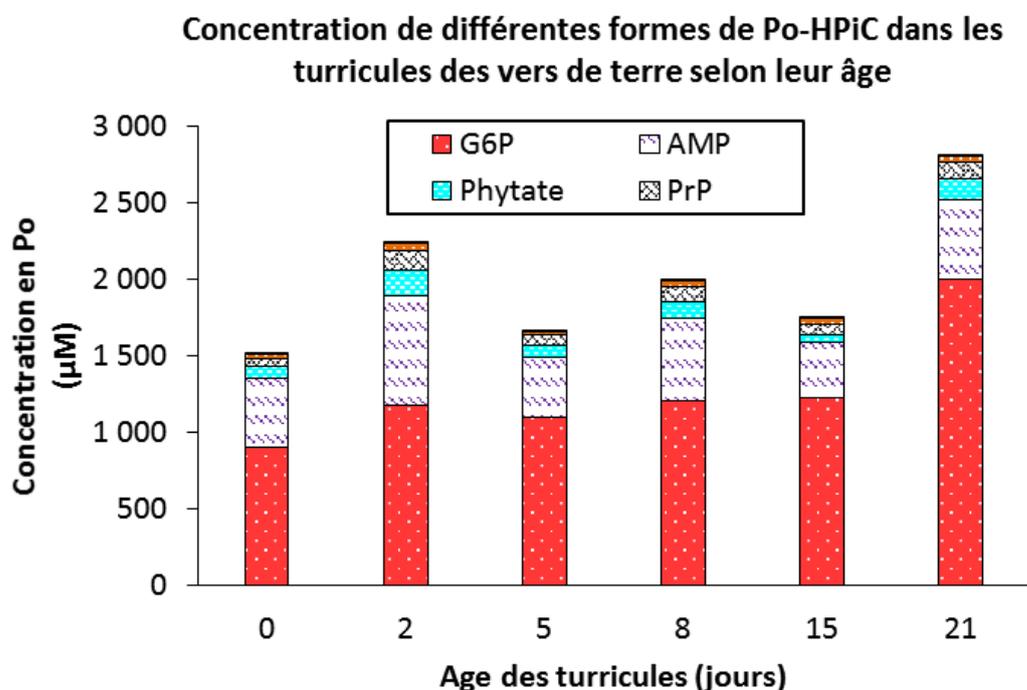


Figure 45 : Concentration (μM) de différentes formes de P organique identifiées par l'HPiC dans les turricules des vers de terre selon leur âge

3.2 Les activités phosphatasiques dans les turricules des vers de terre et dans le sol

Les turricules des vers de terre contiennent des activités enzymatiques phosphatasiques qui peuvent dégrader différentes molécules de Po présentes dans les turricules et libérer du Pi. Cependant, la vitesse de dégradation de ces molécules reste relativement faible avec une valeur inférieure à $0,01 \mu\text{g Pi} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ sol sec}$, quel que soit le substrat. La valeur la plus élevée est observée pour le Fr1-6Pase ($0,008 \mu\text{g Pi} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ sol sec}$), suivi de celles de l'ADPase et de l'ATPase qui présentent la même allure (Figure 46). Les vitesses de dégradation de G1P et de Fr6P sont les plus faibles dans les turricules des vers de terre. Au cours du vieillissement des turricules, les activités phosphatasiques restent sensiblement constantes sauf pour le Fr1-6Pase qui subit une légère diminution entre le 8^{ème} et le 21^{ème} jour. Une corrélation négative a été constatée entre le Fr1-6Pase et la concentration en Pi (Figure 47). En comparaison avec l'activité phosphatasique mesurée dans le sol témoin, il est remarqué que l'activité dans les turricules se trouve plus faible sauf pour le Fr1-6Pase et l'ATPase qui sont légèrement plus élevés (Figure 46).

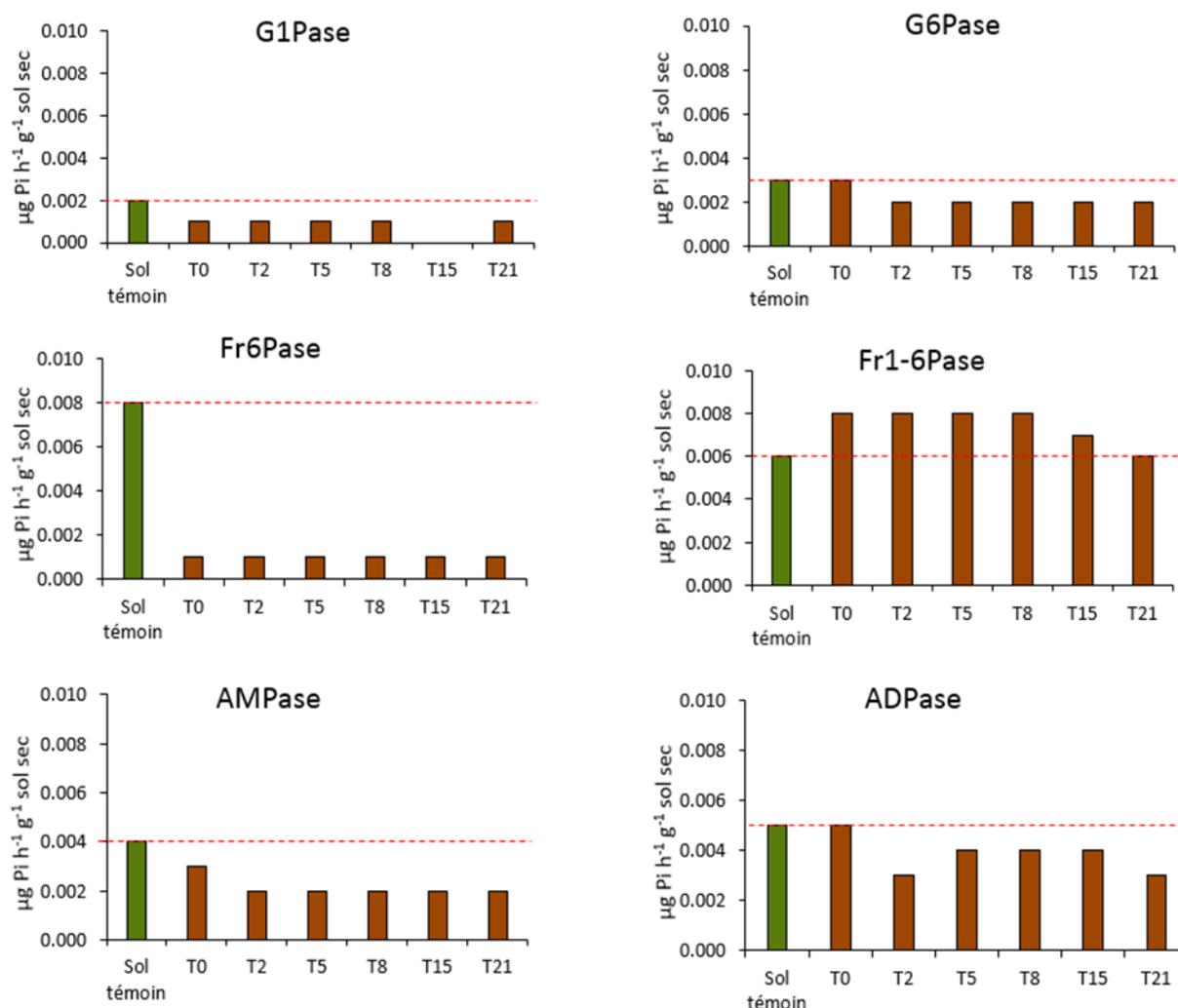


Figure 46 : Activités enzymatiques phosphatasiques dans le sol témoin et dans les turricules des vers de terre âgés de 0 jour (T0), de 2 jours (T2), de 5 jours (T5), de 8 jours (T8), de 15 jours (T15) et de 21 jours (T21)

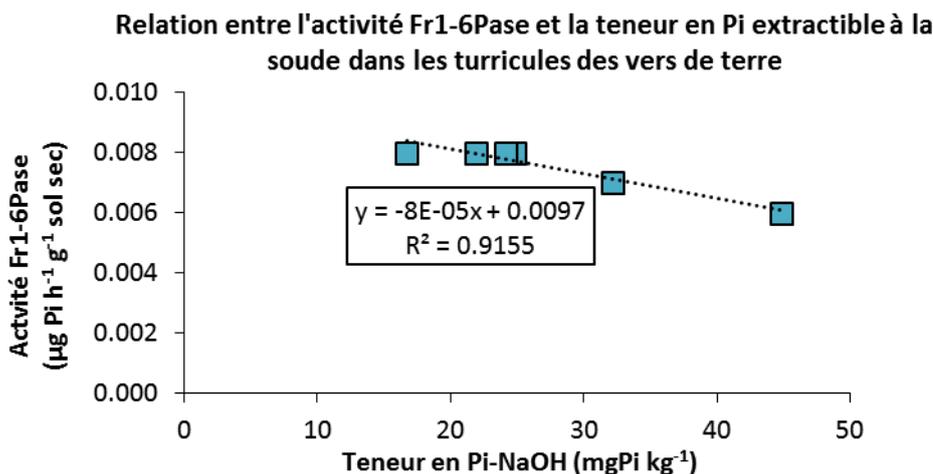


Figure 47 : Relation entre l'activité Fr1-6Pase et la teneur en Pi extractible à la soude dans les turricules

3.3 Évolution de la teneur en P extractible à la soude dans les turricules

La teneur en P total extractible à la soude (P_{tot}-NaOH) qui est la somme des teneurs en Po et Pi extractibles à la soude (Po-NaOH + Pi-NaOH) varie entre 82,8 à 116,1 mg kg⁻¹ dans les turricules des vers de terre. En moyenne, la teneur en Po-NaOH représente 72% de la teneur en P_{tot}-NaOH, avec une valeur qui se situe entre 57,9 à 93,1 mg kg⁻¹. Concernant l'évolution des teneurs en P dans les turricules des vers de terre, il est remarqué que la teneur en Po-NaOH diminue de 1,3 fois entre les turricules très frais de 0 jours et les turricules âgés de 21 jours (93,1 contre 71,3 mg kg⁻¹). Le cas inverse se présente pour la teneur en Pi-NaOH. Au cours du vieillissement des turricules, la teneur en Pi-NaOH augmente, passant initialement de 16,7 mg kg⁻¹ à 44,8 mg kg⁻¹ après 21 jours (soit une augmentation de 2,7 fois) (Figure 48). Une relation linéaire ($R^2 = 0,917$) a été notée entre la teneur en Pi-NaOH et la concentration en G6P dans les turricules des vers de terre (Figure 49).

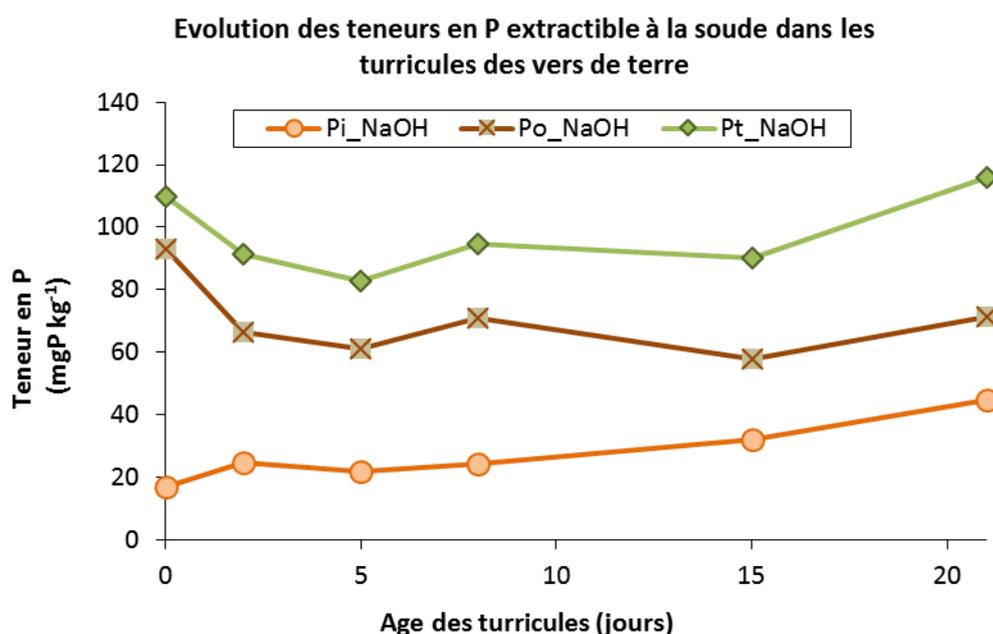


Figure 48 : Evolution des teneurs en P extractibles à la soude dans les turricules des vers de terre

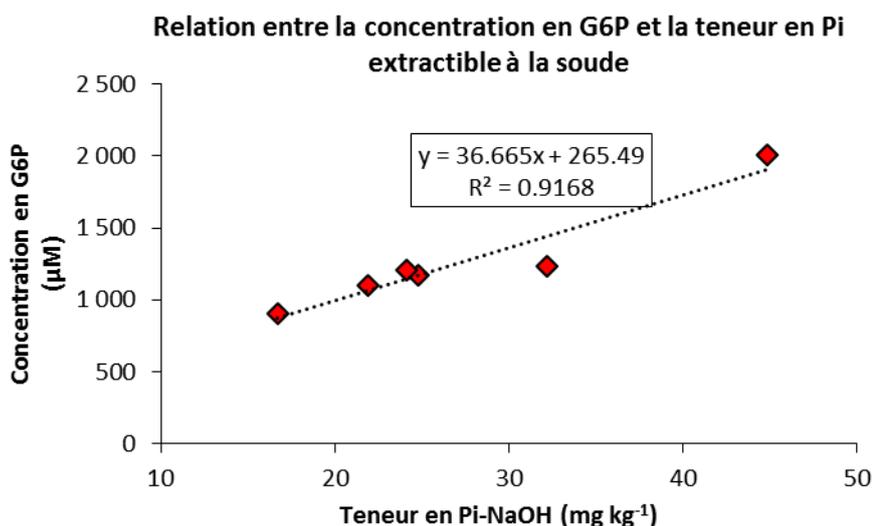


Figure 49 : Relation entre la concentration en G6P et la teneur en Pi extractible à la soude dans les turricules des vers de terre

3.4 Dynamique temporelle de Pi dans les turricules des vers de terre

La Figure 50 montre une relation polynomiale ($R^2 = 0,916$) entre la teneur en Pi extractible à la résine (Pi-résine) et l'âge des turricules des vers de terre. Une diminution rapide de la teneur en Pi s'observe entre les turricules très frais de 0 jours et les turricules âgés de 3 jours. La valeur moyenne passe de $4,95 \text{ mg kg}^{-1}$ à $3,09 \text{ mg kg}^{-1}$, soit une diminution de 38%. La diminution de la teneur en Pi se poursuit entre le 3^{ème} et le 9^{ème} jour mais moins fortement. A partir du 9^{ème} jour, les valeurs moyennes de la teneur en Pi ne présentent pas une variation importante. Les valeurs moyennes se situent entre $1,50$ à $2,00 \text{ mgP kg}^{-1}$. Malgré la diminution de la teneur en Pi au cours du vieillissement des turricules, le résultat d'ANOVA indique que quel que soit l'âge des turricules, ils présentent une teneur en Pi significativement plus élevée (1,8 fois à 3,1 fois) ($p\text{-value} < 0,001$) en comparaison avec le sol témoin qui affiche une valeur moyenne de $0,90 \text{ mgP kg}^{-1}$.

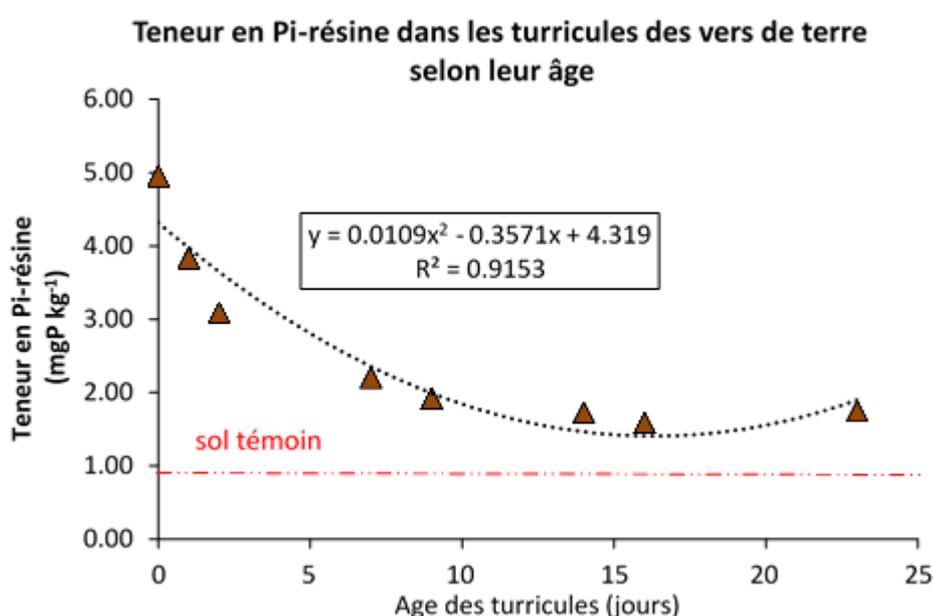


Figure 50 : Teneur en Pi-résine dans les turricules des vers de terre selon leur âge

4 Discussion

Nos résultats montrent qu'à travers l'analyse chromatographique, six molécules de Po ont été détectées. Nous avons constaté une prédominance de G6P (63%) et de l'AMP (25%) représentant au total 88% de la concentration en Po quantifié par l'HPiC. Cela rejoint les observations de Kittima et al. (2015) qui ont trouvé que 77% de la concentration en Po total dans un Ferralsol du Brésil étaient constituées de G6P (50%) et d'AMP (27%). Ces molécules, provenant principalement des métabolites cellulaires des microorganismes du sol (Bünneman et al., 2011) ont été probablement libérées suite à la lyse cellulaire lors de l'extraction à la forte solution alcaline de NaOH (0,5 N). En comparant les valeurs observées par Kittima et al. (2015) et celles que nous avons mesuré dans notre expérience, il est remarqué que la concentration en G6P est plus élevée dans les turricules des vers de terre. Cela pourrait suggérer un meilleur développement des microorganismes dans les turricules. La stimulation de l'activité microbienne et l'augmentation de la diversité microbienne dans les turricules des vers de terre ont été plusieurs fois démontrées dans la littérature (Aira et al., 2005; Bernard et al., 2012; Chapuis-Lardy et al., 2011 ; Lavelle et al., 2016). Ainsi, l'augmentation de la concentration en G6P dans les turricules âgés de 21 jours est probablement liée à une plus forte biomasse microbienne.

Concernant les activités enzymatiques phosphatasiques, notre résultat a indiqué que les vitesses de dégradation des différentes formes de Po dans les turricules des vers de terre ont été plus faibles comparées à celles mesurées dans le sol témoin. Zhang et al. (2000) ont également observé une diminution des phosphatases acides et alcalines dans les turricules de vers de terre en dépit d'une augmentation de Pi, suggérant ainsi la minéralisation du Po dans l'intestin plutôt que dans les turricules. Cette hypothèse avait déjà été énoncée par Devliegher et Verstraete (1996). En effet, la minéralisation du Po est plus poussée dans l'intestin grâce (i) au pH plus élevé du contenu de l'intestin (6,0 à 6,8) comparé au sol (5,0 à 5,4) (Barois et Lavelle, 1986), (ii) au changement dans l'adsorption de Pi sur la phase minérale du sol induit par une compétition entre les ions phosphates et les groupes carboxyles d'une glycoprotéine de mucus produit par les vers de terre dans leur intestin (Chapuis-Lardy et al., 2009 ; Lopez-Hernandez et al., 1993), et (ii) à l'augmentation de l'activité microbienne lors de la digestion (Lopez-Hernandez et al., 1993). Ceci est confirmé par les valeurs élevées de Pi disponible (Pi-résine) dans les turricules très frais de 0 jour qui diminuent au cours du vieillissement des turricules (mais reste supérieure au Pi-résine du sol témoin). Lopez-Hernandez et al. (1993) ont conclu dans leurs travaux que le P disponible dans les turricules des vers de terre élevés sur des sols à forte capacité de rétention de P subit une rapide diminution avec l'âge des turricules. Ils ont trouvé une durée de 4 jours pour *P. corethrurus*. Cette diminution pourrait être expliquée par le fait que les microorganismes immobilisent le Pi libéré. Toutefois, notre première expérience avec l'extraction à la soude montre clairement une augmentation de la teneur en Pi-NaOH au cours du vieillissement des turricules. En effet, le Pi extrait avec la forte solution alcaline de NaOH (0,5N) et le Pi extrait avec la résine proviennent de deux compartiments de P différents. La résine permet de quantifier

le P labile (biodisponible) en imitant l'absorption de P par la racine via la membrane échangeuse d'anions (van Raij et al., 2009). Quant à la soude, elle permet de désorber le Pi modérément labile lié au fer et à l'aluminium (Turner et al., 2005 ; Costa et al., 2016) qui se trouve en quantité importante dans le Ferralsol. Cela permet d'expliquer la valeur élevée observée pour la teneur en Pi-NaOH (16,7 à 44,8 mgP kg⁻¹) comparée à celle de la teneur en Pi-résine (1,58 à 4,96 mgP kg⁻¹). Par contre, une étude réalisée par Chapuis-Lardy et al. (2009) sur les turricules de *P. corethrurus* élevé sur un Ferralsol de Lazaina a montré une teneur en Pi-NaOH plus faible que ce que nous avons trouvé, avec une valeur égale à 8 mg P kg⁻¹. En effet, dans la présente étude, la concentration de la solution de NaOH utilisée a été 5 fois supérieure à celle utilisée par Chapuis-Lardy et al. (2009). Dans les travaux de Kittima et al. (2015), les auteurs ont suggéré d'utiliser une forte solution alcaline (NaOH 0,5 N au lieu de 0,1 N) pour améliorer la qualité des pics de détection au cours de l'analyse chromatographique. Cette forte solution alcaline permet ainsi d'augmenter la désorption de Pi modérément labile dans les turricules des vers de terre. L'augmentation de Pi-NaOH au cours du vieillissement des turricules suggère alors une augmentation du Pi fixé par le fer et l'aluminium avec l'âge des turricules, ce qui induit une diminution du P disponible. Or, lorsque le Pi disponible se trouve réduit, les microorganismes immobilisent le Pi disponible.

Suite à la lyse cellulaire induite par la forte solution alcaline de NaOH, le Pi immobilisé par les microorganismes du sol est probablement libéré, contribuant ainsi à l'augmentation du Pi-NaOH au cours du vieillissement des turricules. La relation linéaire positive entre la teneur en Pi-NaOH et la concentration en G6P suppose alors que plus les turricules sont âgés, plus le Pi est fixé par le fer et l'aluminium et plus les microorganismes immobilisent le Pi disponible. Toutefois, une mesure directe de la biomasse microbienne dans les turricules de différents âges s'avèrerait importante afin de mieux appréhender la relation entre activité microbienne et Pi disponible. Concernant l'évolution des activités phosphatasiques au cours du vieillissement des turricules, une tendance relativement constante a été observée, sauf pour le Fr1-6Pase qui présente une légère diminution entre le 8^{ème} et le 21^{ème} jour. Cette période correspond à l'augmentation de la teneur en Pi-NaOH dans les turricules. Bien que l'activité Fr1-6Pase soit corrélée négativement à la teneur en Pi-NaOH, la faible concentration en Fr1-6P (0,4% de la concentration totale de Po-HPiC) dans les turricules des vers de terre ne permet pas de conclure que le Pi libéré dans les turricules des vers de terre provient de la dégradation de la molécule de Fr1-6P via l'activité Fr1-6Pase. Compte tenu de ces résultats, notre hypothèse selon laquelle l'augmentation du pool de Pi dans les turricules des vers de terre est liée à l'activité des microorganismes du sol via la sécrétion d'enzymes n'est pas vérifiée. L'importance de notre étude réside dans la connaissance de la durée de la disponibilité de Pi (Pi-résine) dans les turricules des vers de terre. Au bout de 23 jours, la teneur en Pi est toujours élevée dans les turricules comparé au sol témoin, ce qui indique que la plante peut toujours avoir accès à ce pool de Pi.

5 Conclusion

Le principal objectif de cette étude était de caractériser les différentes formes de Po dans les turricules des vers de terre, de mesurer les activités phosphatasiques relatives à la dégradation des Po et de suivre la dynamique temporelle de Pi libéré dans les turricules. Notre étude a permis de mettre en évidence la présence de six molécules de Po identifiées par la chromatographie ionique. Les molécules de G6P et de l'AMP sont les formes de Po les plus présentes et l'ensemble constitue 88% de la concentration totale de Po dans les turricules. Ces molécules proviennent essentiellement des métabolites cellulaires des microorganismes du sol. Au cours du vieillissement des turricules, les activités enzymatiques phosphatasiques présentent une tendance constante, mais généralement plus faible par rapport aux activités phosphatasiques mesurées dans le sol sans vers de terre. Le pool de Pi libéré dans les turricules des vers de terre dépend de la méthode d'extraction. Le Pi extractible à la soude augmente avec l'âge des turricules tandis que le cas inverse se présente pour le Pi extractible à la résine. La soude permet d'extraire le pool de Pi modérément labile tandis que la résine permet d'extraire le pool de P labile. Nos résultats suggèrent que plus les turricules sont âgés, plus le Pi fixé par le fer et l'aluminium augmente et plus le Pi disponible se trouve immobilisé par les microorganismes. Malgré la diminution de la teneur en P disponible au cours du vieillissement des turricules, la valeur reste plus élevée par rapport à celle du sol sans vers de terre. Ces résultats permettent de faire avancer les connaissances sur la dynamique de Pi dans les turricules, et mettent en évidence la durée pendant laquelle les plantes peuvent avoir accès au Pi biodisponible libéré dans les turricules ; les turricules étant enrichis en P facilement disponible, par rapport au sol témoin, pendant au moins 23 jours ce qui en fait des sites préférentiels pour l'acquisition du P par les racines des plantes.

Chapitre 3.2 : Effet des vers de terre et de la dolomie sur les flux de P à l'interface sol-plante par marquage isotopique

Le chapitre 3.2 est adapté à l'article "*Transfer of ^{32}P ions from soil to upland rice in a Malagasy Ferralsol following dolomite and earthworm additions*" en cours de finalisation pour une soumission ultérieure.

Présentation du chapitre 3.2

L'objectif de cette étude est de tester la fertilisation en duo basée sur l'apport de vers de terre et de la dolomie sur le flux de P_i à l'interface sol-plante en utilisant le radio-isotope ^{32}P comme traceur. Deux facteurs ont été étudiés : (i) l'apport de vers de terre (avec vers, sans vers) et (ii) l'apport de dolomie (avec dolomie, sans dolomie). Chaque traitement a été répété 5 fois. Le sol utilisé était un Ferralsol prélevé sous bozaka (*Aristida sp.*) à Lazaina. Les vers de terre (*Pontoscolex corethrurus*), également prélevés à Lazaina, ont été élevés dans ce sol pendant 5 jours. Le reste du sol a été séché à l'air libre, tamisé à 2 mm puis défauné par autoclavage pour éviter la présence des vers de terre (adultes, juvéniles, cocons). Avant de faire le marquage du sol défauné par le traceur ^{32}P , une inoculation bactérienne équivalente au sol natif a été effectuée. Par la suite, 500 g de sol marqué ont été placés dans des pots en plastique de 1l. Les vers de terre (3 vers par pot) ont été rincés 3 fois avec de l'eau distillée avant d'être introduits dans les pots. A la surface du pot, nous avons mis 100 g de sable stérile pour réduire la suspension de la radioactivité. Enfin, 8 grains de riz pluvial (variété B22) ont été semés dans chaque pot. L'expérience a été conduite en serre pendant une durée de 28 jours. A la fin de l'expérience, nous avons mesuré les biomasses aérienne, racinaire et totale de la plante. En outre, les quantités de N total et de P total dans les tissus de la plante, ainsi que les teneurs en magnésium (Mg), potassium (K) et calcium (Ca) dans les parties aériennes ont été déterminées. A part cela, la valeur L de la partie aérienne, un indicateur de la quantité de P potentiellement disponible pour la plante, a été également évaluée. Enfin, la teneur en P total des tissus des vers de terre a été mesurée pour quantifier la contribution du turnover des vers de terre dans la valeur L.

Transfer of ³²P ions from soil to upland rice in a Malagasy Ferralsol following dolomite and earthworm additions

Abstract

Because crop production in the Ferralsols of the Malagasy highlands are strongly limited by phosphorus (P), identifying and understanding factors that optimize P availability for plants are urgently required. By correcting soil pH and stimulating gross organic P mineralization, respectively, liming with dolomite and bio-fertilization are both promising agro-ecological practices involved in soil P availability improvement. Here, we investigated the interactive effect of dual fertilization of dolomite and earthworms (*Pontoscolex corethrurus*) on inorganic P flows from soil to plant using the ³²P labelling technique in order to better understand how these practices may improve crop production. We found that after 28 days of growth, plant nutrition (N, P, Ca, K and Mg) and growth were mostly driven by earthworm inoculation instead of dolomite supply, despite high earthworm mortality at the end of the experiment. Dolomite tended to reduce plant functions. Interestingly, earthworms strongly mitigated this negative effect and the highest beneficial effects were observed when both dolomite and earthworms were added. We also observed great increase in the L-value caused by earthworms, by 109% and 268% in the absence and presence of dolomite, respectively. As no living earthworms were observed at the end of the experiment, we calculated the possible contribution of earthworm turnover on plant P gain following bio-fertilization. In average, 30% and 13% of the plant P gain following earthworm addition can be attributed to earthworm turnover in the presence and absence of dolomite, respectively. To conclude, the dual fertilization of earthworms and dolomite appears as a promising agro-ecological way to ensure sustainable and high rice production from low-input systems of smallholder farmers in the Highlands of Madagascar.

Keywords: endogeic *Pontoscolex corethrurus*, ³²P-labelling, dolomite lime, upland rice, Madagascar

1 Introduction

In Ferralsols of tropical regions, the availability of nutrients for cultivated crops is very low (Glaser et al., 2002). Phosphorus (P) is commonly the major limiting nutrient in these soils because of considerable and quick sorption of orthophosphates ions on insoluble Fe/Al-complexes and clay (Gérard, 2016; Ramaroson et al., 2017). This is the case of the highlands of Madagascar where soils are mostly acidic Ferralsols characterized by poor P availability which limits plant production (Randriamanantsoa et al., 2013; Rakotoson et al., 2014). In these soils, it is not rare to measure a low P content in the soil water solution around 0.01 mg kg^{-1} and below 5 mg kg^{-1} using anion exchange resin membranes (Randriamanantsoa et al., 2013; Randriamanantsoa et al., 2015; Gérard, 2016). It is noteworthy however that a significant proportion of total P is in organic forms in these soils (Randriamanantsoa et al., 2015), being potentially mineralized by biological processes and thus potentially available for crops (Oberson and Joner, 2005). The role of the soil biodiversity seems thus crucial in order to enhance the available P pool available for crops from the mineralization of the organic P pool. This biological role can however be strongly limited in these soils because of quick sorption of newly mineralized orthophosphates ions on the solid phase.

As a result, two not exclusive soil managing strategies emerged and appear as promising agroecological ways to overcome crop P deficiency. First, liming with dolomite (an available resource in Madagascar) can be a suitable practice to overcome soil acidity, Al toxicity and phosphate sorption by (Fe/Al) oxyhydroxides (Fageria and Baligar, 2008). This practice has been widely used in Brazil (Roth and Pavan, 1991; Fageria, 2001; Fageria and Baligar, 2008; Fageria and Knupp, 2014). Second, fertilizing the soil with key organisms (also an available resource in Madagascar) may constitute a relevant technique to stimulate the soil biological activity and thus the mineralization of the organic P.

Among the potential bio-fertilizers, earthworms are one of the most important soil organisms involved in key ecosystem functions (Blanchart et al., 1999; Huhta, 2006; Blouin et al., 2013; Coleman and Wall, 2015). Through their activity, they increase clay-humic complexes formation, improve soil structure (Blanchart et al., 1999), stimulate the microbial activity (Binet et al., 1998) and shape the microbial community structure (Bernard et al., 2012). The beneficial roles of earthworms on soil nutrient cycling and plant nutrient uptake has been widely reported (Noguera et al., 2010; Coulis et al., 2014). In tropical Ferralsols, they are known to increase soil nutrient plant-availability (Pashanasi et al., 1996; Chapuis-Lardy et al., 2011). The inoculation of earthworms in the soil, both at the greenhouse and field levels, has already been conducted in the tropics as a promising agro-ecological practice with encouraging results on crop production (Pashanasi et al., 1996; Fragoso et al., 1997; Brown et al., 1999; Senapati et al., 2002). Similarly, in the highlands of Madagascar, recent studies showed that earthworm inoculation (*Pontoscolex corethrurus*) significantly increase rice P nutrition and rice yield (Ratsiatosika, 2018). Far less is

known about the P sources from which the earthworms increase plant P nutrition. Do the gain of P in plant following earthworm inoculation originated from the mineralization of endogenous organic P (corresponding to “*engineering activity*”) or from the release of (exogenous) P after natural earthworm death (corresponding to “*earthworm turnover*”)? As far as we are aware, no measurements of the relative contribution of the engineering activity and the earthworm turnover on the plant P gain induced by earthworm inoculations have yet been taken in the literature. This is probably due to the difficulty to assess P flow at the soil-plant interface without manipulating radioactive isotopic P sources.

Chapuis-Lardy et al. (2009) highlighted that the increase of the amount of isotopically exchangeable P ions within 1 minute ($E_{1\text{min}}$) in *P. corethrurus* casts from Malagasy soils showed different magnitude according to soil texture. It was higher (+176%) in a clayey-soil in Andranomanelatra and lower (+57%) in a sandy-clayey soil in Lazaina. In contrast to the E-value, the L-value technique measures the fraction of soil P that is exchangeable with added isotope P as measured by plant uptake, by labelling the soil with carrier-free $^{32/33}\text{PO}_4$ ions (Larsen, 1952; Frossard et al., 1994). Thus, the L-value uses the plant to sample the specific activity of soil exchangeable P. In a comparative ^{32}P labelling study, any increase in unlabelled phosphates (^{31}P) production will affect the L-value by decreasing the specific activity in the plant, making possible to assessment of the effect of a particular treatment on the fate of P from soil to plant. The L-value technique, widely used in soil-plant studies (Brookes, 1982; Bolan et al., 1984; Pypers et al., 2006; Frossard et al., 2011; Rakotoson et al., 2014), constitute a relevant tool to characterize the plant-available P sources driven by earthworms.

The supply of lime, besides its well-known positive effects on the soil mineral fertility (Naidu et al., 1990; Haynes and Naidu, 1998; Fageria, 2001; Raboin et al., 2016), is also known to affect the biological compartments of the soil and to stimulate the biological activity by higher soil pH (Frostegård et al., 1993; Bakker et al., 2000; Formanek and Vranova, 2002). Inversely, the presence of earthworms may also alter the effects of liming on the soil functioning, for instance by mixing the lime with the soil (Baker et al., 1999; Chan, 2003; Chan et al., 2004). It is also thus possible that the mechanisms by which earthworms improve plant nutrition was affected by addition of the lime.

In this study, using a 28-days greenhouse pot experiment, we aimed at evaluating the interactive effects of earthworms (*P. corethrurus*) and dolomite liming on inorganic P flows from soil to plant (*Oryza sativa*) using the ^{32}P labelling technique. We took the opportunity of both the L-value technique and the low earthworm survival rate to estimate the relative contribution of (i) the engineering activity and (ii) the earthworm-P turnover on plant P gain following earthworm inoculation in comparison to the control. We hypothesized that (1) in a P-depleted Ferralsol from the highlands of Madagascar, the positive effects of the endogeic earthworm *P. corethrurus* on rice P nutrition will be enhanced when Pi sorption on the soil solid phase and Al toxicity are

reduced with dolomite liming (this constitutes our H1) and (2) the benefits of earthworm inoculation on plant P nutrition will mostly be the result of high engineering activity rather than earthworm-P turnover (this constitutes our H2).

2 Materials and Methods

2.1 Soil sampling and preparation

We sampled the first 10 cm of a Ferralsol soil under natural savanna from the experimental station of the “Laboratoire des Radio-Isotopes” in Lazaina (18°46'55 59° S, 47°32'46 3°N, 1274 m altitude, Madagascar) in October 2016. The site had been under weedy fallow vegetation dominated by *Aristida* sp. grasses for at least 10 years. The soil had a sandy-clay texture, a pH of 5.5, a total organic C content 20.8 g kg⁻¹, a C:N ratio of 16, a total P content of 380 mg kg⁻¹ and an Olsen P content of 7.12 mg kg⁻¹. More information about the soil can be found in Ranoarisoa et al. (2018). In order to remove earthworms (adults, juveniles and also cocoons) from soil, the soil was air-dried, sieved at 2 mm, humified at 50% of its water-holding capacity and autoclaved during 10 minutes at 100°C. Because autoclaving is also known to alter the microbial biomass, a bacterial inoculation was made from fresh soil using a two steps protocol (see Supporting Information 1). We provided 28.2 mg-N and 3.4 mg-P per kg dry soil as bacterial biomass N and P, which corresponded to the amount of the native soil. The soil was gently mixed by hand during 15 minutes for homogeneous inoculation. By mixing by hand during 15 minutes, we then provided 28.2 mg-N as NH₄Cl and 3.4 mg-P as KH₂PO₄ per kg dry soil as a basal mineral fertilization for plant growth.

2.2 Dolomite supply

We then split the soil into two portions: one with and one without dolomite powder CaMg(CO₃)₂ (Louis Dreyfus Commodities Madagascar, Antananarivo). We provided 1 mg kg⁻¹ of dolomite lime in the second portion by gently mixing the soil and the dolomite powder by hand during 15 minutes until homogeneous spreading. The first aliquot (without dolomite) was also mixed in the same condition. The composition of the dolomite lime was 29% of CaO, 20% of MgO with a particle size ranging from 0.01 to 2 mm. Previous tests showed that providing 1 mg kg⁻¹ of dolomite increased the soil pH by 0.77 unit (from 5.59 to 6.36) (Ranoarisoa et al., 2018).

2.3 Earthworms sampling, preparation and P analysis

We sampled living individuals of *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta: Rhinodrilidae) manually using a spade in the experimental station of the “Laboratoire des Radio-Isotopes” in Lazaina in October 2016. Earthworms were inoculated in the same fresh soil (not autoclaved) used for the experiment during 5 days before the beginning of the experiment. Before their inoculation in the microcosms, we rinsed the individuals three times with distilled water and weighted it. In parallel, twenty fresh individuals were weighted, dried during 48 hours at 65°C

and weighted again. Dried tissues were finely and manually ground in a mortar and total P was analyzed in the tissues after 550°C overheat for 5 h and digestion of plant tissues with nitric acid 65%. P concentration was determined in the digest solutions using Molybdenum blue method developed by Murphy and Riley (1962). The absorbance was measured at 740 nm. We repeated the full procedure (from drying earthworms to P analysis) three times. The total P amount in earthworm tissues was expressed in mg-P per dry g of earthworm.

2.4 Experimental design

Two dolomite treatments with 5 replicates were considered: (1) the control with a native pH at 5.5 (-DL) and (2) the dolomite treatment with pH of 6.3 (+DL). Two biological treatments were considered: (1) the control without earthworms (-EW) and (2) the earthworm treatment with *Pontoscolex corethrurus* (+EW).

2.5 Soil ³²P labelling

The entire amount of the autoclaved soil required for the experiment was labelled with a ³²P radionuclide source delivered in HCl 1M (P102616H/1, PerkinElmer®, Belgium) and diluted in water with an activity rate of 0.1 mCi kg⁻¹ dry soil. The volume of ³²P, corresponding to 86 ml.kg⁻¹, was high enough to achieve a uniform labelling. During labelling, the soil was gently mixed by hand during 15 minutes in a large plastic container. The ³²P-labeled soil was then brought to 80% of the WHC by adding nanopure water. The soil was mixed again during 15 minutes.

2.6 Microcosm set up

The equivalent of 500 g of ³²P-labelled dry soil was introduced in 1L plastic pots previously pierced at the bottom to avoid water accumulation. 100 g of sterile and acid-wash sand was provided at the top on the soil to reduce radioactive dust suspension. Eight seeds of rice (cultivar B22) were planted in each microcosm. We introduced 3 adults of *Pontoscolex corethrurus* per microcosm. The pots were placed in the confined greenhouse for radioactive P handling in the ‘Laboratoire des Radio-Isotopes’ (Antananarivo, Madagascar). The soil moisture content was maintained at 80% WHC twice a day during all the experiment by weighting the pots. The climatic condition within the greenhouse was monitored with a climatic station (WatchDog Series Weather Stations, software SpecWare 9 Pro Spectrum Technologies).

2.7 Plant measurements at the end of the experiment

After 28 days of growth, the photochemical reflectance index (PRI) and the normalized difference vegetation index (NDVI) were measured by PlantPen PRI 200 & NDVI 300. Then, plants were gently removed from the pots. The roots, the remaining seeds and the aerial parts of plants were separated, washed and dried at 65°C during 48 h and finally weighted. Total P content

in plants, roots and seeds was determined after crushing, overheated at 550°C for 5 h and digestion of plant tissues (subsamples of 1 g) with nitric acid 65%. P concentration was determined in the digest solutions using Molybdenum blue method developed by Murphy and Riley (Murphy and Riley, 1962). Total C and N contents in plant were determined by CHNS/O elemental microanalyser (Flash 2000 Series, CHNS/O 122 Analysers Thermo Scientific, IRCOF, France). Standard controls (wheat tissues) with known amount of total C, N and P were used to check assay quality. We analysed total Mg, K and Ca concentrations in the digest solutions of the shoot tissues using Atomic Absorption Spectroscopy (Thermo Scientific iCE 3000 SERIES, China).

The shoot digests were analysed for ^{32}P radioactivity with a liquid scintillation analyzer (Tri-Carb 2800 TR, PerkinElmer) after addition of 2.5 mL of liquid scintillation cocktail (Ultima Gold XR). Internal plant material standard was used in the digestion as quality control. The ^{32}P activities in the aqueous labelling solutions were measured at the same time as plant digests and all radioactivity concentrations were radioactive-decay corrected. Specific activity (SA) of shoot P was calculated from the ratio between r/R (remaining radioactivity in harvested shoots/introduced radioactivity) and shoot P uptake. Shoot P uptake from soil was calculated by subtracting the total final shoot P amount to shoot P originated from the seed. The total amount of P used by plants from seeds was calculated by subtracting final to initial seed P. The L-value, which is a proxy of the amount of plant-available P, was estimated using:

$$L = (P_{\text{shoot}} - P_{\text{seed}}) / (r/R)$$

with P_{shoot} : the total amount of P in the shoot (mg P); P_{seed} : the amount of P in shoot derived from the seed (mg P); r: the total radioactivity ^{32}P in harvested shoot (kBq), R: the introduced radioactivity (kBq).

The L-value is potentially affected by several bio-chemical P processes occurring in the soil. As a consequence of these P transformations (mineralization of soil organic P, microbial immobilization/remineralization, earthworm P turnover, dissolution/precipitation, etc.), the specific activity of exchangeable P in the soil as measured by plant uptake, may decrease at a faster rate than that caused by exchange processes at the soil surfaces, leading to different L-values (Di et al., 1997). In our study, any changes in P flow from the soil to the plant in the presence of the dolomite and earthworms will be reflected by the L-value.

2.8 Earthworm effect on soil aggregation and survival rates

We used soil aggregation as a proxy of earthworm activity. More precisely, all the soil in pots was dried at room temperature during several weeks and then gently sieved at 2 mm. The soil amount greater than 2 mm was weighted and expressed in percentage of initial total weight. As it was not possible to manipulate ^{32}P labelled soil, we determined earthworm survival rates in

supplementary unlabelled pots (n=3 for each treatment) incubated in the same conditions by manually manipulating the soil in search of individuals or cocoons.

2.9 Earthworm P turnover versus engineering activity in plant P gain

The relative contribution of earthworm P turnover and engineering activity on plant P gain following earthworm inoculation was derived from P content in earthworm tissues and the L-value. First, we calculated the total amount of P added in pot (in mg-P dry kg⁻¹ of soil) from earthworm tissues by multiplying mass of inoculated *P. corethrurus* individuals with earthworm P contents. This amount was referred as “earthworm-P”. Second, for both dolomite treatments, we calculated the difference in mean L-value (in mg-P kg⁻¹ of soil) between “+EW” and “-EW” treatments. This difference value was referred as “L-value gain” induced by earthworm. We finally expressed earthworm-P in % of L-value gain, corresponding to the contribution of the earthworm P turnover in plant P gain (in %) following earthworm inoculation (PT). This calculation was done for the mean value of earthworm P content, but also from the maximal and minimal values, corresponding to the of upper and lower bounds, respectively. The contribution of earthworm engineering activity (EA) in plant P gain was estimated using:

$$(2) EA = 100 - PT$$

2.10 Statistical analyses

All tests were done with the R software (Team, 2016). Statistical significance was set at $P < 0.05$. Means and standard deviation (SD) was computed per treatments for all variables. We performed two-way ANOVA models with dolomite or ‘DL’ (presence/absence) and earthworm or ‘EW’ (presence/absence) treatments as factors for plant variables using the “aov” functions from “ade4” package. The normality of the data and the homogeneity of variance were checked using Shapiro and Levene’s tests, respectively. When there was no significant interaction effect, because more powerful in this case, type II sum of squares (SS) was chosen with the function “Anova” from the package “car” in order to improve the initial model. If interaction was present, type III SS was used with the same function. A Principal Component Analysis (PCA) was performed on the data set with the function “dudi.pca” from the “ade4” package to analyse the dispersal of treatments.

3 Results

3.1 Survival and engineering activity of earthworms

After 28 days of growth, no earthworms nor cocoon were recorded on overall supplementary unlabelled pots (n = 12). We did not observe any dead earthworms or decay tissues in the soil or near to the roots. However, the soil aggregation rate increased from 3.5% for the control to 15.5%

in presence of earthworms, irrespective of the presence of dolomite (Figure 51). We found numerous biogenic structures in the soil where earthworms were inoculated.

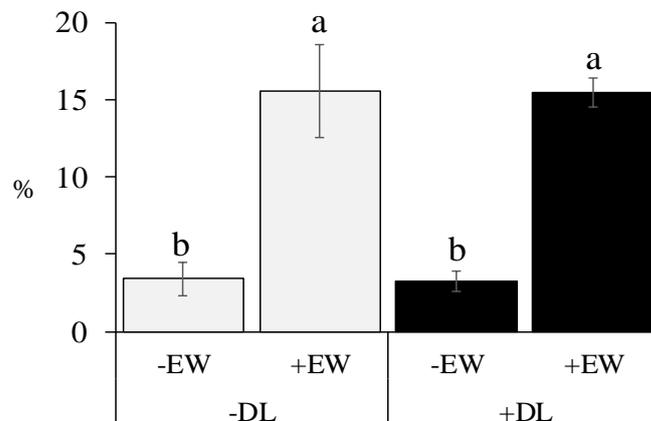


Figure 51 : Soil aggregation rate (% of total soil weight) according to dolomite (DL) and earthworms (EW) treatments. Different letters (a and b) indicates significant difference among treatments according to ANOVA at $P < 0.05$

3.2 Effects of earthworms and dolomite on rice nutrition and growth

Significant effects of *Pontoscolex corethrus* on rice shoot (increase of 36%) and total biomass (increase of 21%), as well as the shoot:root ratio were found (Table 14). The presence of dolomite did not significantly increase the positive effects of *P. corethrus* on plant growth even if the highest shoot biomass values were found when both dolomite and earthworms were added (ca. 700 mg pot⁻¹). The presence of dolomite, however, reduced significantly the root biomass (decrease of 14%) and the total rice biomass (decrease of 9%), regardless the earthworm treatment. Accordingly, the two-way ANOVA did not exhibit significant interaction between these two factors for these plant traits.

We also found positive effects of *P. corethrus* on plant P nutrition, *i.e.* the earthworms significantly increased total P amounts in shoot and root, again with or without liming (Table 14). In the presence of dolomite, the presence of the earthworm doubled the total amount of P in shoot and the total P amount in plant increased by 64%. The ³²P labelling revealed also higher L-value in the presence of earthworms (Table 14). More precisely, the L-value significantly increased by 109% and 268% after the inoculation of *P. corethrus*, in the absence and presence of dolomite, respectively. We thus found a highly significant interaction between “earthworm” and “dolomite” factors, for this variable, as revealed by the statistical analyses (P -value = 0.006) (Table 14).

For the other nutrients, we also observed significant positive effects of *P. corethrus* on shoot N and K amounts, with an increase of 12% and 17%, respectively (Table 14). Shoot N and K amounts were also significantly (positively) affected by liming but to a lesser extent. The same pattern was observed for the shoot N:P ratio. Surprisingly, Ca amounts in shoot tissues did not significantly increase when the soil was limed, but Mg did especially when both dolomite and earthworms were added (significant interaction, P -value of 0.009). The shoot Ca:Mg and

K:(Ca+Mg) ratios were strongly impacted by the supply of dolomite but not by the presence of earthworms. Finally, we observed a significant effect of *P. corethrurus* on shoot NDVI and PRI.

The PCA performed on plant variables revealed a strong effect of earthworms on the first axis (explaining 56% of total inertia) and a weaker effect of dolomite supply on the second axis (explaining 19% of total inertia) (Figure 52). The first axis was negatively correlated with shoot biomass, P and Ca amounts in shoot, total P in plant (negative scores corresponding to the presence of earthworms). The second axis was highly correlated with root biomass, shoot Ca:Mg and K:(Ca+Mg) ratios (positive scores corresponding to the absence of dolomite). The L-value, N and Mg amount in shoot, NDVI, PRI and the shoot:root ratio exhibited intermediate (negative) scores on the two first axes, corresponding the presence of both earthworms and dolomite.

3.3 Earthworm turnover and engineering activity in plant P gain following inoculation

The initial total P content in earthworms was in average 5.3mg-P dry g⁻¹ (data not shown). In absence of dolomite, the contribution of earthworm-P turnover to plant P nutrition (PT) corresponded to 30.1% of the L-value. The maximal PT value calculated from the highest earthworm P content was 38.1% while the lowest one was 22.1% (Figure 53). The presence of dolomite significantly increased the contribution of the engineering activity of earthworms on plant P gain (P -value = 0.002). Indeed, we observed lower PT contribution values with an average of 13.3% in presence of dolomite (Figure 53). The maximal PT contribution value was 16.8% and the minimal was 9.7% for this treatment.

Table 14 : Mean (SD) and two-way ANOVA statistics for plant variables measured after 28 days of growth in presence/absence of dolomite (-DL; +DL) and *Pontoscolex corethrurus* (-EW; +EW) in a Ferralsol from Madagascar.

Variables	Unit	Treatments											Two-way ANOVA			
		-DOL						+DOL						Factors		
		-EW			+EW			-EW			+EW			DOL	EW	Interaction
Shoot biomass	mg pot ⁻¹	537	(65)	b	677	(36)	a	466	(41)	b	692	(47)	a	0.253	0.000***	0.085
Root biomass	mg pot ⁻¹	441	(71)	a	445	(27)	a	370	(67)	a	390	(14)	a	0.023*	0.623	0.762
Shoot : root ratio	ratio	1.20	(0.2)	a	1.50	(0.1)	a	1.30	(0.2)	b	1.80	(0.1)	a	0.104	0.000***	0.283
Total biomass	mg pot ⁻¹	978	(118)	b	1122	(29)	a	836	(103)	b	1082	(49)	a	0.042 *	0.000***	0.283
Shoot P amount	mg pot ⁻¹	0.37	(0.05)	b	0.61	(0.09)	a	0.30	(0.03)	b	0.60	(0.12)	a	0.321	0.000***	0.490
Root P amount	mg pot ⁻¹	0.24	(0.05)	b	0.32	(0.02)	a	0.23	(0.04)	a	0.31	(0.06)	a	0.632	0.002**	0.951
Total P amount	mg pot ⁻¹	0.61	(0.09)	b	0.95	(0.11)	a	0.55	(0.06)	b	0.95	(0.16)	a	0.572	0.000***	0.545
Shoot L-value	mg-P kg ⁻¹	13.6	(1.9)	b	28.4	(2.7)	a	10.6	(1.3)	b	39.0	(11.5)	a	0.083	0.000***	0.006**
Shoot N amount	mg pot ⁻¹	15.1	(2.3)	a	16.10	(0.7)	a	15.00	(0.88)	a	17.40	(1.1)	a	0.001*	0.002*	0.370
Shoot K amount	mg pot ⁻¹	19.1	(2.6)	a	20.20	(1.1)	a	14.60	(2.89)	b	19.20	(3.7)	a	0.042*	0.031*	0.187
Shoot Ca amount	mg pot ⁻¹	1.8	(0.5)	a	1.90	(0.1)	a	1.50	(0.12)	b	2.10	(0.2)	a	0.865	0.017*	0.093
Shoot Mg amount	mg pot ⁻¹	1.2	(0.2)	a	1.20	(0.1)	a	1.40	(0.19)	b	1.90	(0.2)	a	0.000***	0.003**	0.009**
Shoot N:P ratio	ratio	38.8	(6.7)	a	22.40	(2.7)	b	54.60	(9.5)	a	24.20	(4.6)	b	0.064	0.000***	0.294
Shoot Ca:Mg ratio	ratio	1.4	(0.1)	a	1.50	(0.1)	a	1.10	(0.11)	a	1.00	(0.1)	a	0.000***	0.644	0.532
Shoot K:(Ca+Mg) ratio	ratio	6.50	(1.16)	a	6.30	(0.6)	a	4.90	(0.43)	a	4.60	(1.0)	a	0.001**	0.607	0.852
Shoot NDVI	ratio	0.78	(0.00)	b	0.80	(0.00)	a	0.78	(0.00)	a	0.80	(0.01)	a	0.775	0.000***	0.490
Shoot PRI	ratio	0.048	(0.003)	b	0.058	(0.005)	a	0.053	(0.006)	a	0.058	(0.002)	a	0.238	0.003**	0.392

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. Letters (a and b) indicates significant differences between '-EW' and '+EW' treatments within dolomites treatments according to the Student t test at $P < 0.05$. NDVI : Normalized Difference Vegetative Index. PRI : Photochemical Reflectance Index.

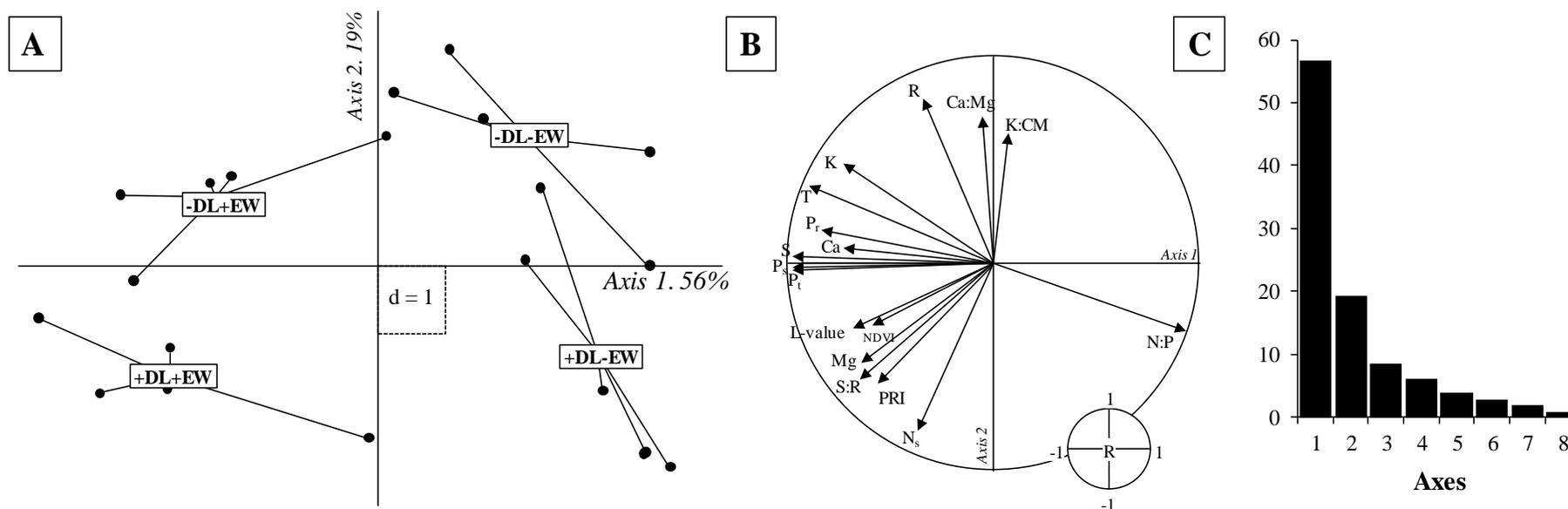


Figure 52 : Principal Component Analysis performed on plant variables parameters. (A) Dolomite (“D”) and earthworm (“E”) treatment ordination (labels as barycentres) on the individual (black circle) factorial map. (B) Circle of correlations with active (bold) and supplementary (italic) variables. (C) Eigenvalue diagram. T : total rice biomass ; S : final shoot biomass; R : final root biomass ; S:R : shoot:root ratio ; P_t : P in plant biomass ; P_s : P amount in shoot ; P_r : P amount in root ; N : N amount in shoot ; K : K amount in shoot ; Ca : Ca amount in shoot ; Mg : Mg amount in shoot ; Ca:Mg : Ca:Mg ratio in shoot ; K:CM : K:(Ca+Mg) ration in shoot; L-value : L-value in shoot ; NDVI : Normalized Difference Vegetative Index; PRI : Photochemical Reflectance Index.

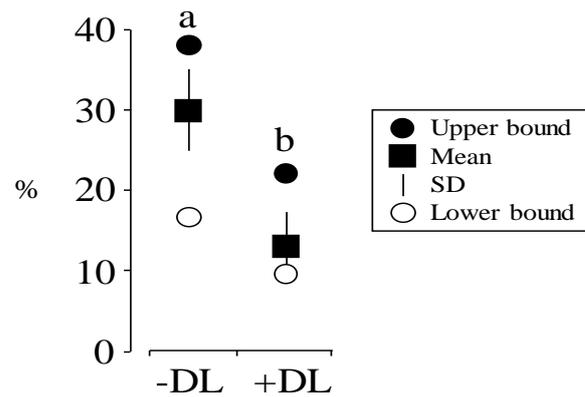


Figure 53 : Estimation of earthworm P turnover contribution on plant P gain following earthworm inoculation expressed in % of the L-value. -DL: absence of dolomite; +DL: presence of dolomite. Letters (a and b) indicates significant differences between the dolomite treatments according to Student t test at $P < 0.05$.

4 Discussion

4.1 Survival and engineering activity of earthworms

Despite daily irrigation (twice a day) and not excessive air temperature in the greenhouse, we observed a very high earthworm mortality rate at the end of the experiment. We did not identify the reasons of this statement. However, the last time we observed fresh casts at the top of the pots was on the 19th days after the beginning of the experiment, suggesting that earthworms remained active during more than half of the experiment period. This is confirming by the analysis of the soil aggregation rate at the end of the experiment which was greatly higher in the earthworm treatment (15.5%) in comparison to the control (3.5%). We also observed numerous casts in the soil and biogenic structures such as galleries in the pots from the earthworm treatment, suggesting intense activity of the earthworms. The work of Chapuis-Lardy et al. (2009) revealed that on average, *P. corethrurus* produced 1.5 g casts per earthworm per day in this soil. Based on this result, cast production during the 19-day period of earthworm activities would be 85.5 g corresponding to about 17.7% of total soil weight. But we measured an aggregation rate of 15.5% in pots with earthworms and only 3.5% in the control, suggesting that the period of earthworm activity was slightly less, around 15 days. It is thus reasonable to conclude that the engineering activity of the earthworms happened at least during the first two weeks and the high mortality of earthworm may occur a little more than a week before the end of the greenhouse experiment.

4.2 Effects of earthworms and dolomite on rice nutrition and growth

It is remarkable to note that, despite high earthworm mortality, the total variance in plant parameters was mostly driven by the presence of earthworms and not by the dolomite supply, as revealed by the PCA. Indeed, we found significant increases in shoot and total biomasses by 28.5% in average after the inoculation of the earthworms. Van Groenigen et al. (2014) showed in a recent meta-analysis that earthworms increased significantly the shoot biomass by 23% and total biomass by 21%. Similarly, Brown et al. (1999) reported higher rice shoot biomass (increase

of 35%) in the presence of earthworms. Likewise, our findings about the increasing effects of earthworms on plant nutrition (N, K, Ca and Mg) corroborate well with those published in the literature. In contrast, the supply of dolomite did not improve plant nutrition and growth as great as earthworm inoculation did. These findings corroborated with numerous studies who found a decreasing effect of dolomite on rice growth (Fageria, 2001; Fageria and Knupp, 2014; Raboin et al., 2016). Indeed, the application of dolomite is well-recognized to increase soil pH and reduce Al toxicity (Fageria et al., 1995). However, the soil P availability decreased with increasing soil pH which is likely due to the interaction of P ions with calcium as Ca phosphate (Ranoarisoa et al. 2018). It was confirmed with the reduction of shoot Ca amount (-16%) in treatments with dolomite alone. In such P limitation, available P could have been immobilized by soil microorganisms. Therefore, the low P availability probably explained the weak growth and nutrition of rice in treatments where dolomite was supplied. Interestingly, when earthworms were combined with dolomite, they strongly mitigated the detrimental effect of dolomite on rice growth and nutrition. It is thus possible that the increase in soil pH induced by dolomite stimulated the activity of soil microorganisms and enhanced the mineralization of larger organic-P pool in earthworm casts (Chapuis-Lardy et al., 1998; Kuczak et al., 2006).

4.3 Effects of earthworms and dolomite on rice P uptake: effect size and sources

Alike the other nutrients, earthworms strongly increased plant P amount (increase of ~100%) while dolomite did not. These findings support the works of Coulis et al. (2014) and Vos et al. (2014) who found an increase in plant P uptake in treatments with earthworms. A large body of literature showed that earthworm activities, especially soil ingestion and casting activities, play a key role in soil P availability (Kuczak et al., 2006; Chapuis-Lardy et al., 2009; Le Bayon and Milleret, 2009; Chapuis-Lardy et al., 2011; Coulis et al., 2014; Vos et al., 2014). However, here, this increase in plant P amount following earthworm inoculation was accompanied by a great rise in the L-value, i.e. 109% and 268% upsurges in the absence and presence of dolomite, respectively. This huge increase in the L-value in presence of earthworms suggested that a great production of unlabelled orthophosphates ions by earthworms which probably did not originate only from soil organic P mineralization.

Usually, five mechanisms were reported as major determinants of the stimulation of plant growth by (living) earthworms: (i) an increased mineralization of soil organic matter; (ii) modifications of soil porosity and aggregation; (iii) production of plant growth substances via the stimulation of microbial activity; (iv) control of pests and parasites and (v) stimulation of symbionts (Le Bayon and Milleret, 2009)(Brown et al. 2004). It is important to add a last mechanism: the turnover of the earthworms. Indeed, in this study, our observations raised questions about the mechanisms through which earthworms induced positive effects on plant growth and nutrition (especially P which is the main limiting nutrient) since no living earthworms were collected at the end of the experiment. As we did not find dead earthworms nor decaying earthworm tissues

in overall treatments, we hypothesized that earthworms were completely mineralized. In that case, the release of P through the decomposition of earthworms might triggered the increase in the L-value.

Our mean earthworm P content (0.53%) was in the same order of magnitude as those from the literature, *e.g.* Lourdummy and Uma (2012) found 0.38% of P in tissues of *Lampito mauritii* (Oligochaeta: Megascolecidae) while Monebi and Ugwumba (2016) found higher values around 0.6% for the tropical earthworm *Alma millsoni* (Oligochaeta: Glossoscolecidae). Lower values were found for *Lumbricus rubellus* (Oligochaeta: Lombricidae) with less than 0.15% (Janković et al., 2015). The amount of P in earthworm decay tissue introduced in each pot was thus low but not negligible, with a mean value of 2.2 mg P pot⁻¹ (which is equivalent to 4.4 mg P kg⁻¹ soil). However, in high P-sorbing Ferralsols, the majority of Pi released into soil solution is rapidly sorbed by the soil solid-phase due to high contents of iron/aluminium oxyhydroxides and low pH. This assumption was recently confirmed by the study of Ranoarisoa et al. (2018) who found that 40 h after the addition of Pi in the same acidic Ferralsol with a dose of 20 and 200 mg P kg⁻¹, 94% and 99.99% of the added Pi were adsorbed by soil, respectively. It is thus not possible to directly relate the amount of P in earthworm tissues with the total amount of P take up by the plant following the inoculation of earthworms.

Rather, the equilibrium between the added ³²P and exchangeable native ³¹P is potentially affected by several bio-chemical P processes occurring in the soil (microbial immobilization, organic P mineralization, sorption/desorption or precipitation/dissolution and plant uptake), including the turnover of earthworms. The specific activity of the available P in the soil, as measured by plant uptake, may decrease at a faster rate than that caused by the exchange processes at the soil surfaces, leading to higher L-values (Di et al., 1997). It was not possible here to assess the effect of earthworms on chemical P processes such as P sorption on the solid phase, precipitation and mineral P dissolution. However, it is well known that earthworms stimulate organic P mineralization (Le Bayon and Milleret, 2009; Chapuis-Lardy et al., 2011). Thus, we supposed that any increase in the L-value in rice tissue after the inoculation of the earthworms may result from higher release of free orthophosphates ions by soil organic P mineralization or/and earthworm P turnover. To go further, we thus estimated the relative contribution of earthworm P turnover (PT) and engineering activity (EA) on rice P gain following earthworm inoculation in comparison to the control using the initial earthworm P content, the mass of inoculated individuals and the rice L-value. This estimation is however based on the assumption that (i) orthophosphates ions from the mineralization of the earthworms behave at the soil-solution interface exactly as P ions from the mineralization of soil organic P and (ii) all tissues of the earthworm were mineralized at the end of the experiment as discussed earlier. In absence of dolomite, we found that about 30% of the rice P gain following biological fertilization may result from earthworm turnover and thus 70% may originate from engineering activity. Engineering activities may involve three possible pathways: (i) an increase of P availability due to a change

of P-sorption complex during gut transit, (ii) a higher solubilisation of unavailable inorganic P forms as a result of the stimulation of microorganism's activities, and (iii) an increase in the mineralization of organic P induced by priming effect (Le Bayon and Milleret, 2009; Coulis et al., 2014). This could be beneficial for the plant P uptake because of proliferation of roots growing in casts. Another pathway through which earthworms can positively affect the L-value is the burrowing activity (Chapuis-Lardy et al. 2011, Le Bayon & Milleret 2009) related to an improvement of soil nutrient exploration. Indeed, numerous studies reported a higher proportion of roots in earthworm burrows compared to those outside (Ehlers et al. 1983, Pitkänen & Nuutinen 1997, Sveistrup et al. 1997). Moreover, soil aeration and the patchiness of P distribution through burrows could possibly emphasized the soil nutrient exploration (Le Bayon & Binet. 2006), and thus plant P uptake.

It is important to note that this estimation of P turnover in plant P nutrition is probably overestimated in comparison to field situations due to (i) the very low survival rate of *P. corethrurus*, (ii) the local effects, *i.e.* the low volume of soil may favor close proximity of rice roots with earthworm decay tissues, optimizing earthworm-³¹P use by plants, (iii) the device used in the experiment preventing earthworms to escape from unfavorable growth conditions. It is thus unlikely that the turnover of earthworms in experiments conducted at the field level reaches 30% of plant P gain following earthworm fertilization. This is particularly true in the case where the experimenters limed the soils. Indeed, the contribution of engineering activity in plant P gain following earthworm inoculation strongly increased in presence of dolomite with a mean value around 87%. As quoted earlier, the increase in soil pH induced by dolomite may stimulate the activity of soil microorganisms and enhance the mineralization of larger organic-P pool in earthworm casts (Chapuis-Lardy et al. 1998; Patron et al. 1999). Thus, the increase in the L-value in the combination of earthworms and dolomite could possibly be attributed to the enhancement of mineralization of organic-P pool in casts of earthworms beside the turnover of earthworms.

5 Conclusion

The inoculation of earthworm had great increasing effects on plant nutrition and growth in comparison to dolomite supply. We showed that the maximal (*i.e.* whether all the ³¹P of the earthworm tissues is mineralized and fuels the diffusive orthophosphate ions compartment) contribution of earthworm-P turnover on plant P gain following earthworm inoculation was 38% and 22% in the presence and absence of dolomite, respectively. This suggested that a great proportion (at least 62%) of the increase in the L-value induced by earthworms was related to engineering activity of the earthworm. Interestingly, earthworms strongly mitigated the negative effects of dolomite on the L-value, rice growth and nutrition in treatments where both earthworms and dolomite were added, suggesting that earthworms had the potential to stimulate rice growth and nutrition in acidic Ferralsol without correcting soil pH. However, the dual input of dolomite and earthworms provided the highest rice growth and nutrition. This dual fertilization is thus a promising way for low-input systems of smallholder farmers in the Highlands of Madagascar.

6 Synthèse du chapitre 3.2

Nos résultats montrent que contrairement à l'ajout de dolomie, l'apport des vers de terre est un facteur déterminant dans la croissance et la nutrition du riz. En présence des vers de terre, la biomasse aérienne du riz augmente de 36%, indépendamment de la présence de dolomie. En outre, les vers de terre stimulent la nutrition en P (mais aussi N, K, Ca et Mg) du riz. Par contre, la croissance des plantes est plus faible en présence de dolomie, avec une réduction significative de 14% de la biomasse racinaire et de 9% de la biomasse totale. Une observation importante est le fait que les vers de terre ont la capacité de réduire cet effet négatif de la dolomie. La biomasse aérienne la plus élevée a été observée en présence de dolomie et des vers de terre. Il en est de même pour la valeur L (P prélevé par la plante). Nous avons trouvé les vers de terre augmentent la valeur L respectivement de 109% et de 268% en absence et en présence de dolomie. Cependant, cette forte augmentation ne peut être attribuée à la seule minéralisation du P organique. Nous n'avons trouvé aucun vers de terre vivant ni des tissus en décomposition des vers à la fin de l'expérience. Il est probable que le turnover des vers de terre a contribué à la hausse de la valeur L. Nous avons donc estimé la contribution du turnover des vers à la valeur L. Nos calculs montrent qu'au maximum, 38% du P prélevé par la plante proviendrait du turnover des tissus des vers de terre. Par conséquent, cela signifie que la majorité du P prélevé par la plante (minimum 62%) proviendrait des activités d'ingénieurs des vers de terre (création de galeries, production de turricules). Nos observations sur le taux élevé de l'agrégation du sol dans les traitements avec vers de terre ainsi que la présence de biostructures ont confirmé les activités des vers pendant l'expérience. En se basant sur la quantité d'agrégats qu'ils produisent journalièrement, nos estimations parviennent à une durée d'activités des vers d'environ 15 jours. Notre étude suggère que l'ajout en duo de la dolomie et des vers de terre est une pratique agroécologique prometteuse permettant d'augmenter la croissance et la nutrition des plantes dans ces sols.

Chapitre 3.3 : Réponse des différentes variétés du riz à la présence des vers de terre

Ce chapitre est adapté de l'article : "*Trade-off between ecological and agronomical performances of rice cultivars in the Highlands of Madagascar*", en cours de finalisation pour soumission ultérieure.

Présentation du chapitre 3.3

L'objectif de ce chapitre est d'évaluer les performances écologiques des principales variétés de riz pluvial cultivées dans les Hautes-Terres de Madagascar. Cette performance écologique est basée sur la réponse de ces variétés à la présence des vers de terre. A termes, la finalité est d'identifier des variétés qui offrent un meilleur compromis entre la performance écologique et la performance agronomique (rendement en présence de fertilisation chimique). Pour cela, une expérience en pots a été conduite au Laboratoire des Radio-Isotopes pendant une durée de 8 semaines. Nous avons testé l'effet de la présence des vers de terre (*Pontoscolex corethrurus*) sur la croissance, la nutrition et la physiologie de six variétés de riz pluvial (B22, FOFIFA 161, FOFIFA 172, FOFIFA 182, NERICA 4 et WAB 880). Le sol utilisé était un Ferralsol prélevé à Lazaina. Chaque pot contenait 1 kg de sol, 3 vers de terre et 3 grains de riz. Les pots ont été placés sur une table sous des conditions climatiques naturelles. A la fin de l'expérience, des variables liées à la physiologie (PRI, NDVI, surface foliaire, ratio de la masse fraîche et de la masse sèche de la feuille, surface foliaire spécifique), à la croissance (hauteur, biomasse aérienne, biomasse racinaire, rapport entre biomasse aérienne et biomasse racinaire, biomasse totale) et à la nutrition (N total et P total dans les tissus de la plante) ont été mesurées.

Trade-off between ecological and agronomical performances of rice cultivars in the Highlands of Madagascar

Abstract

In Madagascar, high-yielding rice cultivars were developed to cope with cold conditions in high altitudes and attack of pests and diseases. In this study, we aimed to identify rice cultivars adapted to rainfed conditions that offer a better trade-off between their agronomic “AP” (related to yield in the presence of mineral fertilization) and ecological “EP” (related to response of plant functional traits to earthworm presence) performances. In a microcosm assay, we tested the effects of earthworms (*Pontoscolex corethrurus*, Rhinodrilidae) on the EP of six rice cultivars used by farmers (B22, F161, F172, F182, N4 and WAB). The EP was characterized as the responsiveness of rice cultivars to eight key variables strongly affected by earthworms (leaf area, PRI, NDVI, shoot biomass, total biomass, shoot-P, plant-P and shoot-N). After eight weeks of growth, our result showed that EP of rice differed between cultivars. It was higher on NERICA 4, FOFIFA 172 and FOFIFA 161, intermediate on B22 and FOFIFA 182 and lowest on WAB 880. According to AP and EP of rice cultivars, W880 and FOFIFA 182 were classified as rice cultivars with high AP while FOFIFA 161 was categorized as rice cultivar with high EP. NERICA 4, B22, and FOFIFA 172 were identified as rice cultivars offering a trade-off between AP and EP. Our finding suggest that using rice cultivars showing a better trade-off of AP and EP coupled with a biofertilization based on inoculation of earthworms may constitute a suitable agroecological practices to meet the constraints of low input conditions of smallholder farmers in the highlands of Madagascar.

Keywords: Plant growth, Plant nutrition, Leaf traits, Ferralsol, *Pontoscolex corethrurus*, Cultivar selection

1 Introduction

Rice is the most important crop in Madagascar in terms of production and consumption. However, the demand for rice continues to outstrip production. In the Highlands of Madagascar, rainfed upland rice is developed on the hills or “tanety” due to increasing pressure on irrigated lowland rice fields. Nevertheless, the fertility of tanety soils is very low due to the presence of nutrient-poor, P-fixing Ferralsols (Randriamanantsoa et al., 2013). Moreover, upland rice is typically cultivated for subsistence by smallholder farmers that have low access of chemical inputs. In this context, productivity in tanety soils is very low and unsustainable (Rabeharisoa, 2004). Agroecological practices, based on the intensification of ecological processes, are recognized to sustain productivity in such low agricultural input systems (Altieri, 2002). Generally, agroecological practices optimize functional biodiversity aboveground, whereas belowground (soil) biodiversity and functions are rarely managed. However, soil organisms provide four basic soil ecological functions at the basis of ecosystem services: the maintenance of soil structure, the recycling of soil nutrients, the decomposition of organic materials, and the regulation of pests and pathogens (Kibblewhite et al. 2008). These soil ecological functions directly or indirectly affect plant functions (De Deyn et al., 2004) and then crop productivity. Earthworms are one of the most important groups of soil engineers (Lavelle, 1997; Lavelle et al., 2006; Jouquet et al., 2006, 2008). They are known to generally increase plant growth via five main mechanisms: (i) an increased mineralization of soil organic matter; (ii) the production of plant growth substances via the stimulation of microbial activity; (iii) the control of pests and parasites; (iv) the stimulation of symbionts and (v) the modifications of soil porosity and aggregation (Brown et al. 2004; Scheu 2003). The management of earthworms is thus of great agricultural interest in ecological engineering. However, it is of great importance to select the right cultivars in order to amplify the benefit of earthworm-based practices as rice response to earthworms depends on rice cultivars (Noguera et al. 2010). To our knowledge, there is no study regarding the ability of rice cultivars to interact with earthworms in Madagascar. The main focus of rice research in breeding and crop management was the development of high yielding varieties suitable for cultivation at high altitudes and tolerant or resistant to rice blast disease (Raboin et al., 2013, 2014) without much consideration of ecological performance of rice cultivars. The objective of this study is to identify rice cultivars adapted to rainfed conditions responding to the presence of earthworms, i.e. cultivars that increase their biomass and nutrient uptake in the presence of earthworms. The aim is to identify cultivars that offer a better trade-off between their agronomic (« AP », related to yield in the presence of mineral fertilization) and ecological (« EP », related to their response to earthworm presence) performances.

2 Materials and methods

2.1 Soil sampling

The topsoil (0-10 cm) of a Ferralsol (FAO classification) under a natural savanna was collected from the experimental station of the “Laboratoire des Radio-Isotopes” in Lazaina (18°46’55 59° S, 47°32’46 3°N, 1274 m altitude, Madagascar) in October 2016. The soil had a sandy-clay texture, a pH of 5.5, total organic C content of 20.8 g kg⁻¹, total N content of 1.3 g kg⁻¹, a C:N ratio of 16, a total P content of 380 mg kg⁻¹, Olsen P content of 7.12 mg kg⁻¹, exchangeable K, Ca and Mg contents of 30.7, 120.7 and 28.3 mg kg⁻¹, respectively. The CEC (cationic exchange capacity) was 1.34 cmol⁺ kg⁻¹ and the water-holding capacity (WHC) 0.49 g g⁻¹ dry soil. The soil was air-dried for 7 days, thoroughly mixed, and sieved at 2 mm. Most of the roots and vegetation debris were removed.

2.2 Experimental design

The experiment was a microcosm assay conducted with 5 replicates. Two earthworm treatments were considered: (i) the control without earthworms (-EW) and (2) the earthworm treatment with *Pontoscolex corethrurus* (+EW). Six upland rice cultivars (*Oryza sativa* L.) used by farmers in the Highlands were selected: B22, FOFIFA 161, FOFIFA 172, FOFIFA 182, NERICA 4 and WAB 880-1-32-1 (Table 15).

Table 15 : Agronomic criteria used in the selection of the six upland rice cultivars in the Highlands of Madagascar

Rice cultivars	Selection criteria	Optimal altitude for cropping (m)	Grain yields (Mg ha ⁻¹)	
			Mean	Maximum
B22	Cultivar susceptible to root parasites, Striga (<i>Striga asiatica</i>)	700 - 1200	4.2	5.0
FOFIFA 161 (F161)	Cultivar resistant to lodging and tolerant to blast rice disease	1200 - 1650	3.1	3.4
FOFIFA 172 (F172)	Cultivar resistant to blast rice disease	1200 - 1650	4.3	5.8
FOFIFA 182 (F182)	Cultivar tolerant to blast rice disease	700 - 1200	6.0	8.5
NERICA 4 (N4)	Cultivar tolerant to root parasites, Striga (<i>Striga asiatica</i>)	700 - 1200	5.2	7.9
WAB 880-1-32-1-P2-HB-1 (W880)	Cultivar tolerant to blast rice disease	700 - 1200	5.3	6.5

2.1 Microcosm set-up

The microcosms consisted of 1L plastic pots that were previously pierced (2 holes) at the bottom to avoid water accumulation. Each hole was filled with a cotton mesh to facilitate the water flow. To prevent earthworms from escaping, a mosquito net was placed at the bottom of the microcosms. A total of 60 microcosms (2 earthworm treatment x 6 rice cultivars x 5 replicates) were filled with 1 kg of sieved dry soil. At the beginning of the experiment, microcosms were watered with 350 ml of rain water to mimic field conditions. Three seeds of each rice cultivar were sown in adequate treatment. *Pontoscolex corethrurus* (Rhinodrilidae) were collected near the experimental station in Lazaina. Three adults of *P. corethrurus* with a well-developed clitellum and similar size were introduced in each microcosm. During the experiment, microcosms were placed outside under natural weather conditions in the Laboratoire des Radio-Isotopes (Antananarivo, Madagascar) (Photo 4). Soil moisture content was maintained at 80% water holding capacity, this was checked through regular weighing of some pots. Microcosm position was randomized every 2 weeks.



Photo 4 : Microcosm set up

2.1 Measurements

2.1.1 Leaf traits

The photochemical reflectance index (PRI) and the normalized difference vegetation index (NDVI) were measured every week by PlantPen PRI 200 & NDVI 300. The PRI correlates with the epoxidation state of xanthophyll cycle pigments and photosystem efficiency. PRI is sensitive to changes in carotenoid pigments that are indicative of photosynthetic light use efficiency, the rate of carbon dioxide uptake, or as a reliable water-stress index (Gamon et al., 1992). The NDVI is an important indicator of chlorophyll content in plants. NDVI is directly related to the photosynthetic capacity and hence energy absorption of plant canopies (Sellers, 1985). In the

present study, the maximum value of PRI and NDVI measured during all the experiment were considered. At the end of experiment (week 8), the leaf area (LA) was estimated by using scan measurements. Other leaf traits such as leaf dry matter content (LDMC, the ratio of leaf dry mass to saturated fresh mass = 1 – leaf water content) and specific leaf area (SLA, the ratio of leaf area to leaf dry mass) were also measured.

2.1.2 Plant and soil analyses

After 8 weeks of growth, the plant height was measured and aerial parts were harvested by cutting shoots close to the soil surface. The soil was gently removed from microcosms to check for earthworm presence. Earthworms (adults, juveniles, cocoons) were collected and weighted. Roots were separated from the soil by carefully washing the root system to remove soil particles. Shoot and root biomasses were dried at 60°C for 72 h. Dried shoot and root biomasses were weighted. The total biomass was calculated as the sum of dried shoot and root biomasses. Total P content in shoot (shoot-P) and in root (root-P) were determined after digestion of plant tissues with nitric acid 65%. P concentration was assessed in the digest solutions by colorimetry with the vanado-molybdate method. The absorbance was measured at 450 nm. Total P content in plant (plant-P) was calculated as the sum of shoot-P and root-P. Phosphorus uptake efficiency (PUE) was calculated as the ratio of shoot-P to root biomass. Total N content in shoot (shoot-N) was measured by CHNS/O elemental analyser (Flash 2000 Series, CHNS/O 122 Analysers Thermo Scientific, IRCOF, France).

2.1.3 Agronomic performance of rice cultivars

In the present study, the average yield displayed for each variety was described as agronomic performance (AP). The values represent an average over 6 years of cropping under high chemical (150 kg ha⁻¹ of N₁₁P₂₂K₁₆ and 80 kg ha⁻¹ of urea) and organic fertilization (5 Mg ha⁻¹ of manure). They were provided by Madagascar's National Centre for Applied Research on Rural Development (FOFIFA) and French Agricultural Research for Development (CIRAD) in the official catalogue of rainfed rice varieties in Madagascar (Table 15) (Raboin et al. 2013).

2.1.4 Ecological performance of rice cultivars

The ecological performance (EP) of rice cultivars was determined on the basis of their response to earthworm presence. In the present study, we performed two analyses in order to select variables representing EP. A two-way analysis of variance (ANOVA) was conducted with the R software (2016) to test the main effects of earthworms and rice cultivars and their interaction on plant parameters. Significance was determined when P-value < 0.05. The normality of the data was checked using the Wilk-Shapiro test. Data were transformed with the box-cox transformation when required. Numerous significant effect of earthworms and rice cultivars were found on plant

parameters (Table 16). In order to compare the contributions of main effects (earthworms, rice cultivars), interactions and residuals in the ANOVA model, we calculated η^2 in terms of the proportion of the total sum of square (SS) explained by each effect (Tabachnick & Fidell, 2001; Thompson, 2006). This comparison allowed us to identify variables that were more affected by earthworms than by other source of variation. Additionally, we performed a principal component analysis (PCA) on plant parameters to analyze the dispersal of earthworm treatments and to select variables that were more consistent with the response of rice cultivars to earthworms. PCA was performed with the R software by using ade4 package (function dudi.pca). Variables highly affected by earthworms (high η^2 and p-value < 0.001) and selected from PCA were chosen to represent the ecological performance of rice cultivars. For each rice cultivar, the percentage changes induced by earthworms (PCE) (Eq. 1) for all selected variables were calculated. Afterward, a radar graph grouping the PCE was used to display in a more synthetic way the responsiveness of each cultivar to earthworm presence. The area of the radar graph corresponds to the EP. In order to have similar metric of the ecological and agronomic performances, both the PCE and the average yield of each rice cultivar were scaled between 0.1 and 1 by using homothetic transformation (Velasquez et al. 2007) (Eq. 2a, 2b). Then, an orthonormal representation of AP and EP of the six rice cultivars was performed to determine which cultivars offered a better trade-off between their agronomic and ecological performances.

$$\text{(Eq. 1) PCE (\%)} = 100 * ((M_{(+EW)} - M_{(-EW)}) / M_{(-EW)})$$

where $M_{(+EW)}$ is the mean of each variable for the "+EW" treatment and $M_{(-EW)}$ is the mean of each variable for "-EW" treatment.

$$\text{(Eq. 2a) PCE (scaled)} = 0.1 + ((PCE_i - PCE_{(min)}) / (PCE_{(max)} - PCE_{(min)})) * 0.9$$

where PCE_i is the mean of PCE of the rice cultivar, $PCE_{(min)}$ and $PCE_{(max)}$ are respectively the minimum and the maximum of PCE of the six rice cultivars.

$$\text{(Eq. 2b) AP (scaled)} = 0.1 + ((AP_i - AP_{(min)}) / (AP_{(max)} - AP_{(min)})) * 0.9$$

where AP_i is the average yield of the rice cultivar, $AP_{(min)}$ and $AP_{(max)}$ are respectively the minimum and the maximum of yields of the six rice cultivars.

3 Results

3.1 Earthworm survival rate

At the end of the experiment, the earthworm survival rate ranged on average from 93% to 100% in all rice cultivars (Figure 54). The production of cocoons (1 to 4 cocoons per microcosm) and surface casts in the microcosms indicated that the conditions were favorable for the development of earthworms during the experiment.

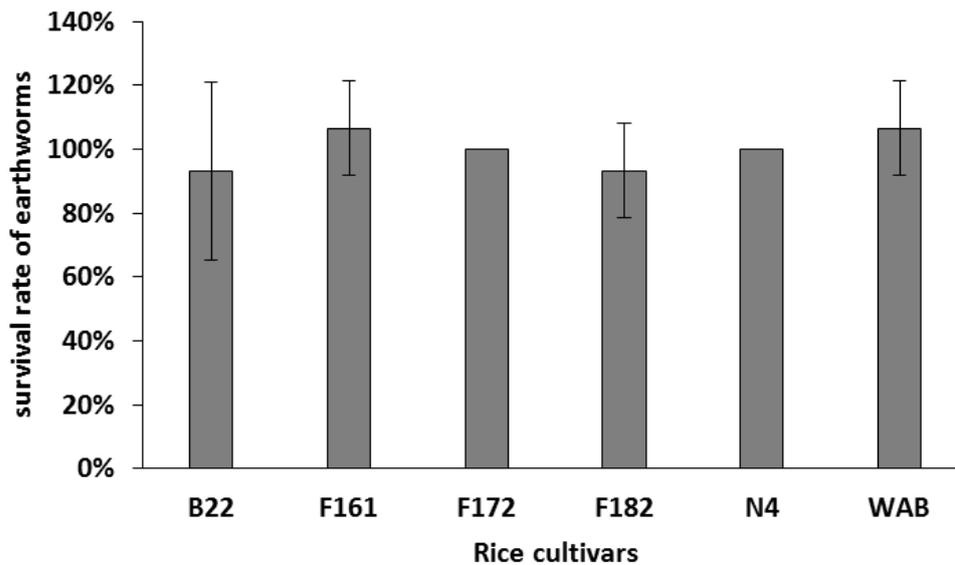


Figure 54 : Earthworm survival rate at the end of the experiment

3.2 Effect of treatments on plant parameters

The statistical analysis showed numerous significant effects of rice cultivars and earthworms on plant parameters (Table 16). Rice cultivars affected significantly all the leaf traits, except NDVI. In overall rice cultivars, F161 had the highest leaf area, LDMC and SLA, irrespective of earthworms. A significant of rice cultivars was also found on height, shoot biomass, shoot-P and shoot-N. The highest values of these plant parameters were recorded on B22, regardless of earthworm treatments. Concerning the factor “earthworms”, a strong significant effect was noted in overall data, except on LDMC, SLA, shoot: root ratio and PUE. On average, rice had a higher leaf area (+77%), PRI (+57%), NDVI (+34%), shoot biomass (+99%), root biomass (+93%), total biomass (+96%), shoot-P (+87%), root-P (82%), plant-P (+84%) and shoot-N (+267%) in the presence of earthworms than in their absence (Table 17). A significant interactive effect of earthworms and rice cultivars was found on leaf area, root biomass, shoot: root ratio, root-P and PUE. Apart from shoot:root ratio and PUE, these plant variables were enhanced in the presence of earthworms but the magnitude of the increase differed between cultivars. For instance, in the presence earthworms, the leaf area was increased by 146% on B22 whereas it increased only by 28% on W880. Similarly, the increase of shoot biomass induced by earthworms ranged from 100% to 129% for all rice cultivars except on W880 which displayed an increase of 40%. Likewise, the increase of shoot-P in the presence of earthworms ranged from 37% to 145%. In the same way, root-P was enhanced by 226% on N4 while it was poorly increased by 9% on B22. Concerning the amounts of total N in shoot biomass, its increase in the presence of earthworms varied between 116% and 355%. For shoot:root ratio, effects of earthworms can be positive (B22, F161, F182), neutral (F172) or negative (N4 and W880). Likewise, the response of rice cultivars to earthworms in terms of PUE can be positive (B22, F161, F172) or negative (F182, N4, W880). Considering the η^2 of the different source of variation (rice cultivars, earthworms, interaction of earthworms and rice cultivars, residuals) in the ANOVA model, we found that earthworms

showed higher value in the majority of variables affected by treatments (Table 16). Variables in which earthworms had the highest value of η^2 indicated that earthworms were the most important factor explaining the majority of the variation on the ANOVA. Accordingly, our results identified eight variables mostly affected by earthworms: leaf area, PRI, NDVI, shoot biomass, total biomass, shoot-P, plant-P and shoot-N. The η^2 of earthworms for these variables ranged from 49% to 68% (Table 16).

The PCA performed on plant variables revealed a strong effect of earthworms on the first axis explaining 58.6% of total inertia. Along the first axis, plants that grew in the presence of earthworms (negative coordinates) were clearly separated from plants growing without earthworms (positive coordinates) (Figure 55). The first axis was negatively correlated with leaf area, NDVI, height, shoot biomass, total biomass, shoot-P, root-P, plant-P and shoot-N. The second axis, explaining 20.7% of the total inertia, opposed the shoot: root ratio and PUE (positive coordinates) to the root biomass (negative coordinates). The third axis, accounting 7.3% of the total inertia, contrasted LDMC with PRI.

Table 16 : ANOVA table of η^2 and p-value showing the main effects of earthworm and rice cultivars and their interaction on plant properties

	Cultivars		Earthworms		Interaction		Residuals
	Eta ²	p-value	Eta ²	p-value	Eta ²	p-value	Eta ²
Leaf area	23%	***	50%	***	11%	***	17%
LDMC	34%	***	1%	ns	4%	ns	61%
SLA	20%	*	1%	ns	9%	ns	71%
PRI	7%	*	64%	***	3%	ns	25%
NDVI	4%	ns	68%	***	5%	ns	23%
Root biomass	3%	ns	40%	***	12%	*	44%
Shoot biomass	18%	***	59%	***	3%	ns	20%
Shoot:root ratio	8%	ns	2%	ns	26%	**	64%
Total biomass	7%	ns	59%	***	3%	ns	31%
Height	36%	**	31%	***	5%	ns	28%
Shoot P amount	13%	**	52%	***	6%	ns	30%
Root P amount	7%	ns	39%	***	13%	*	41%
Total P amount	8%	ns	49%	***	4%	ns	39%
Shoot N amount	7%	***	79%	***	2%	ns	12%
PUE	8%	ns	0%	ns	29%	**	63%

*** (p-value < 0.001); ** (p-value < 0.01), * (p-value < 0.05), ns (not significant)

Table 17 : Mean (SD) for variables measured after 8 weeks of growth in absence/presence of earthworms (-EW; +EW). Variables are abbreviated as following: LDMC: leaf dry matter content; SLA: specific leaf area; PRI: photochemical reflectance index; NDVI: normalized difference vegetation index; PUE: phosphorus uptake efficiency. Results on plant biomasses and nutrient contents are given per pot (i.e. for 3 rice plants)

Variables	Unit	Rice cultivars											
		B22				F161				F172			
		- EW		+ EW		- EW		+ EW		- EW		+ EW	
Leaf area	mm ²	219	(48)	346	(63)	178	(37)	439	(42)	131	(39)	295	(24)
LDMC		2.4	(0.7)	2.8	(0.5)	2.7	(0.3)	2.9	(0.5)	2.1	(0.5)	2.4	(0.3)
SLA	mm ² .mg ⁻¹	11.9	(1.4)	10.7	(1.9)	14.3	(1.7)	17.9	(8.9)	12.0	(2.2)	12.7	(2.7)
PRI		0.025	(0.009)	0.039	(0.003)	0.029	(0.006)	0.039	(0.004)	0.029	(0.009)	0.043	(0.005)
NDVI		0.55	(0.10)	0.76	(0.02)	0.57	(0.04)	0.70	(0.08)	0.49	(0.04)	0.70	(0.04)
Root biomass	mg pot ⁻¹	83.9	(29.2)	99.6	(9.8)	54.4	(3.4)	90.6	(35.8)	48.3	(18.5)	94.1	(18.5)
Shoot biomass	mg pot ⁻¹	59.4	(4.7)	136.0	(29.2)	46.7	(10.5)	102.1	(40)	44.6	(10.8)	89.1	(15.7)
Shoot:root ratio		0.78	(0.25)	1.37	(0.3)	0.85	(0.15)	1.16	(0.22)	0.98	(0.2)	0.98	(0.27)
Total biomass	mg pot ⁻¹	143.3	(28.5)	235.6	(32.7)	101.1	(13.5)	192.7	(73)	92.9	(28.9)	183.2	(25.8)
Height	cm	29.4	(3.3)	34.2	(2.6)	23.9	(5.4)	34.0	(5)	23.0	(3.5)	31.8	(3.5)
Shoot P amount	µg pot ⁻¹	46.7	(4.5)	95.8	(31.1)	35.2	(9.4)	86.1	(34)	30.0	(7.9)	66.7	(23.3)
Root P amount	µg pot ⁻¹	48.2	(10.0)	52.4	(14)	31.1	(4.2)	52.3	(22)	20.3	(10.3)	57.6	(17.5)
Total P amount	µg pot ⁻¹	94.9	(10.1)	148.2	(44)	66.2	(11.6)	138.4	(55)	50.3	(16.3)	124.3	(38.6)
Shoot N amount	mg pot ⁻¹	0.65	(0.06)	2.94	(0.88)	0.58	(0.19)	2.39	(0.88)	0.48	(0.16)	1.88	(0.52)
PUE		615	(230)	968	(327)	641	(131)	974	(153)	665	(179)	726	(255)

Table 17: continued

Variables	Unit	Rice cultivars											
		F182				N4				WAB			
		- EW		+ EW		- EW		+ EW		- EW		+ EW	
Leaf area	mm ²	165	(14)	273	(20)	142	(18)	237	(16)	228	(74)	291	(64)
LDMC		2.1	(0.6)	2.0	(0.5)	2.3	(0.4)	2.1	(0.3)	2.0	(0.5)	2.2	(0.3)
SLA	mm ² .mg ⁻¹	14.2	(1.6)	12.3	(1.4)	14.0	(2.5)	10.4	(1.6)	14.7	(3.9)	13.9	(3.0)
PRI		0.030	(0.007)	0.049	(0.005)	0.028	(0.006)	0.051	(0.002)	0.030	(0.005)	0.047	(0.005)
NDVI		0.51	(0.08)	0.71	(0.04)	0.50	(0.05)	0.75	(0.03)	0.61	(0.08)	0.70	(0.07)
Root biomass	mg pot ⁻¹	48.3	(4.4)	107.0	(44.7)	33.9	(2.7)	143.2	(73.7)	66.7	(18.5)	113.8	(30.3)
Shoot biomass	mg pot ⁻¹	38.7	(5.9)	81.9	(11.0)	35.0	(9.5)	73.7	(5.6)	61.9	(16.1)	86.7	(8.0)
Shoot:root ratio		0.81	(0.18)	0.90	(0.40)	1.03	(0.26)	0.68	(0.41)	0.96	(0.22)	0.81	(0.24)
Total biomass	mg pot ⁻¹	87.0	(3.7)	188.8	(50.2)	68.8	(10.7)	216.9	(75.4)	128.5	(32.0)	200.4	(29.6)
Height	cm	20.2	(1.5)	24.5	(0.7)	20.3	(2.8)	26.5	(2.1)	26.1	(3.2)	29.1	(2.8)
Shoot P amount	µg pot ⁻¹	39.3	(9.3)	56.0	(8.2)	31.2	(3.0)	58.6	(11.7)	42.8	(8.4)	58.4	(11.4)
Root P amount	µg pot ⁻¹	32.6	(3.4)	55.0	(17.8)	20.4	(4.6)	66.5	(37.9)	35.7	(8.4)	58.2	(9.0)
Total P amount	µg pot ⁻¹	71.9	(7.6)	111.1	(24.9)	51.6	(6.0)	125.1	(44.5)	78.5	(13.4)	116.6	(15.5)
Shoot N amount	mg pot ⁻¹	0.45	(0.06)	1.72	(0.37)	0.40	(0.15)	1.68	(0.11)	0.82	(0.31)	1.78	(0.29)
PUE		830	(268)	603	(244)	922	(37)	540	(346)	667	(145)	547	(185)

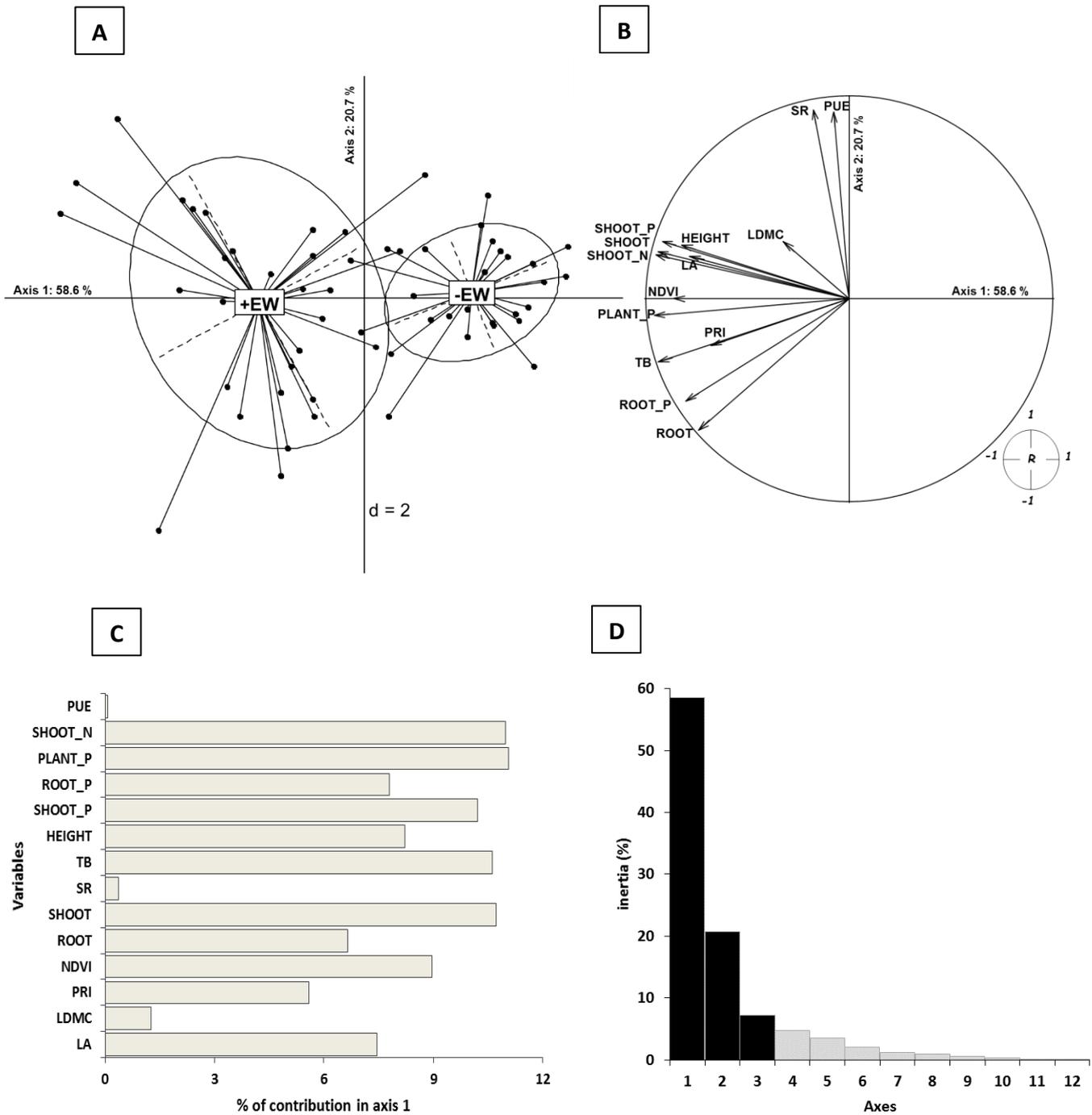


Figure 55 : Principal Component Analysis performed on plant parameters. (A) Earthworm treatment ordination on the individual (black circle) factorial map. (B) Circle of correlations on the axis 1 and 2 of the factorial plan. (C) Contribution (%) of variables in axis 1. (D) Eigenvalue diagram. LA: leaf area; LDMC: leaf dry matter content; PRI: photochemical reflectance index; NDVI: normalized difference vegetation index; SR: shoot:root ratio; TB: total biomass; SHOOT_P: total P amount in shoot, ROOT_P: total P amount in root; PLANT_P: total P amount in plant; SHOOT_N: total N amount in shoot; PUE: phosphorus uptake efficiency

3.3 Ecological performance of rice cultivars

Based on the results of ANOVA and PCA, seven variables were more consistent with the response of plants to earthworms (high η^2 , p -value < 0.001 , contribution to the first axis of PCA): leaf area, NDVI, shoot biomass, total biomass, shoot-P, plant-P and shoot-N. Therefore, they were selected to represent the ecological performance (EP) of rice cultivars. However, earthworms had a strong effect on PRI ($\eta^2 = 64\%$, p -value < 0.001) than apparent on the basis of PCA due to strong correlation between PRI and LDMC on the third axis of the PCA. As the EP of rice cultivars is defined here as the response of rice cultivars to earthworm presence, we included PRI with the seven selected variables from ANOVA and PCA. Hence, we considered eight variables including physiological variables (leaf area, PRI, NDVI), growth variables (shoot biomass, total biomass) and nutrition variables (shoot-P, shoot-N) to represent the EP of rice cultivars.

The percentage changes induced by earthworms (PCE) on these variables were scaled (between 0.1 and 1) and grouped on a radar graph to form an area corresponding to the EP of each rice cultivar (Figure 56). As shown in Figure 56, the area of the radar graph differed between cultivars. The highest area was recorded for N4 (6.57), followed by F172 (5.67) and F161 (5.10). According to the coordinates of variables on the radar graph, N4 was the cultivar which had the highest value of PRI, NDVI and total biomass. In addition, F161 exhibited a maximal value of leaf area and shoot-P while F172 had the highest coordinate of plant-P. The areas of the radar graph for B22 and F182 were intermediate, with respectively a value of 4.59 and 4.11. B22 had the highest coordinate of shoot biomass and shoot-N in overall cultivars. The area of the radar graph measured on W880 was the lowest, with a value of 1.22. For this cultivar, all the coordinates of variables were 0.1, except of PRI (0.52). Considering the mean of coordinates of physiological (leaf area, PRI, NDVI), growth (shoot biomass, total biomass) and nutrition (shoot-P, plant-P, shoot-N) variables in each cultivar, our result revealed that the responsiveness of rice cultivars to earthworms differed with plant functional traits (Figure 57). F161 and F172 had a specific response allocated to plant nutrition in the presence of earthworms. The physiology and the growth of F182 were mostly affected by earthworms. However, there were rice cultivars that had no specific response to earthworms such as B22 and N4. In these cultivars, earthworms affected in the same way the plant physiology, growth and nutrition.

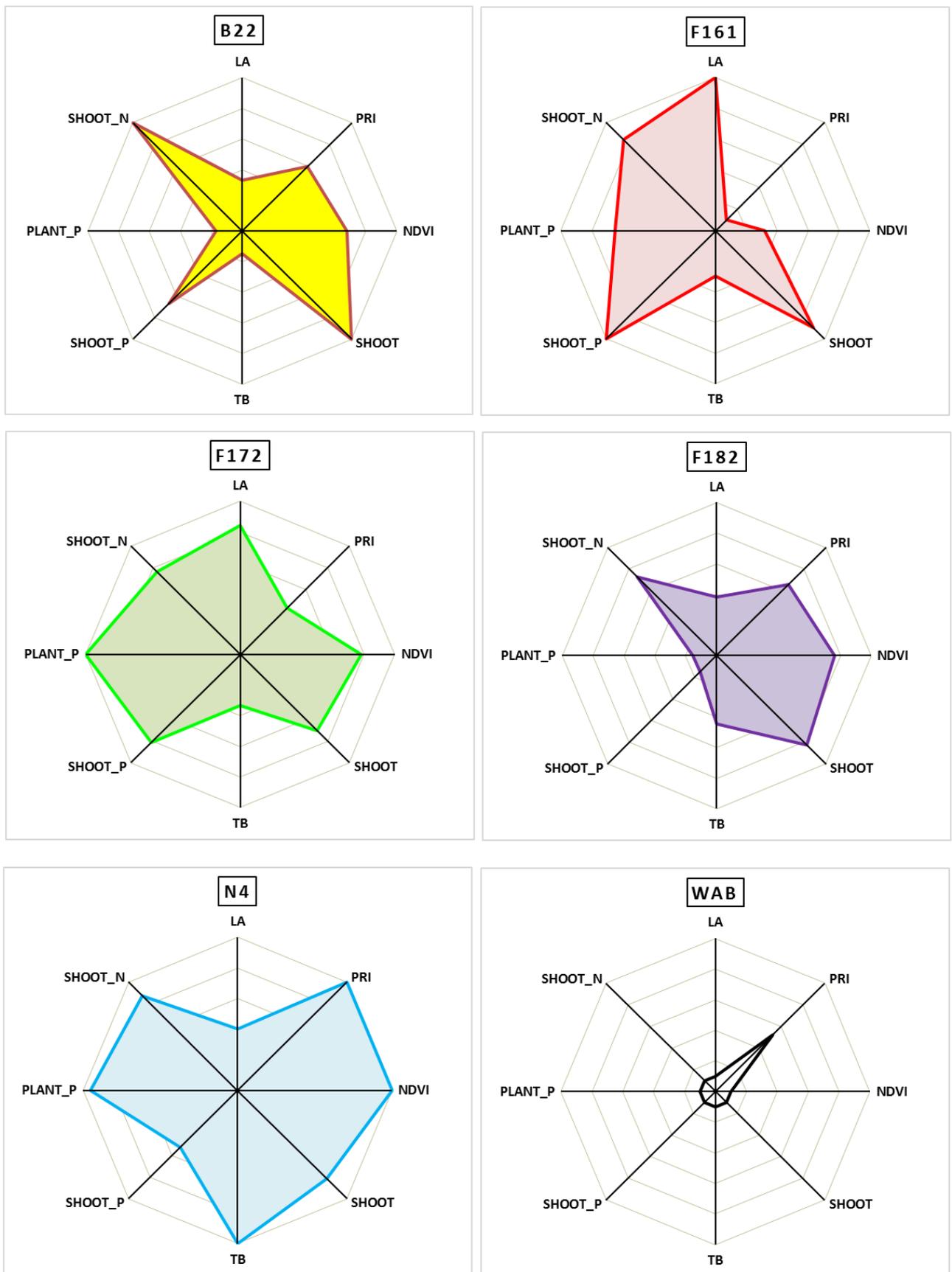


Figure 56 : Area of radar graph showing the ecological performance (i.e. the response of rice cultivars to the presence of earthworms) of each rice cultivar. Legend see Figure 55, and text for explanation

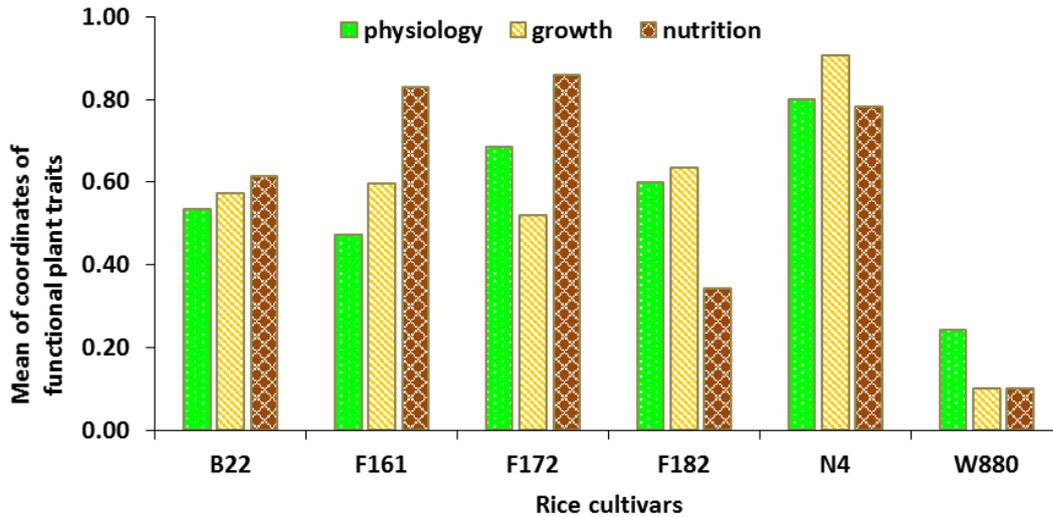


Figure 57 : Responsiveness of plant functional traits to earthworm presence. Values of ordinates corresponds to the percentage changes induced by earthworms (PCE) scaled between 0.1 (lowest value of PCE of the six rice cultivars) and 1.0 (highest value of PCE)

3.1 Trade-off between ecological and agronomic performances of rice cultivars

Our result showed an absence of correlation between ecological and agronomic performances of rice cultivars ($R^2 = 0.096$, Figure 5). This indicates that the response of rice cultivars to the presence of earthworms was not related to their specific agronomic characteristics as rice cold-tolerant or rice resistant to pests and diseases.

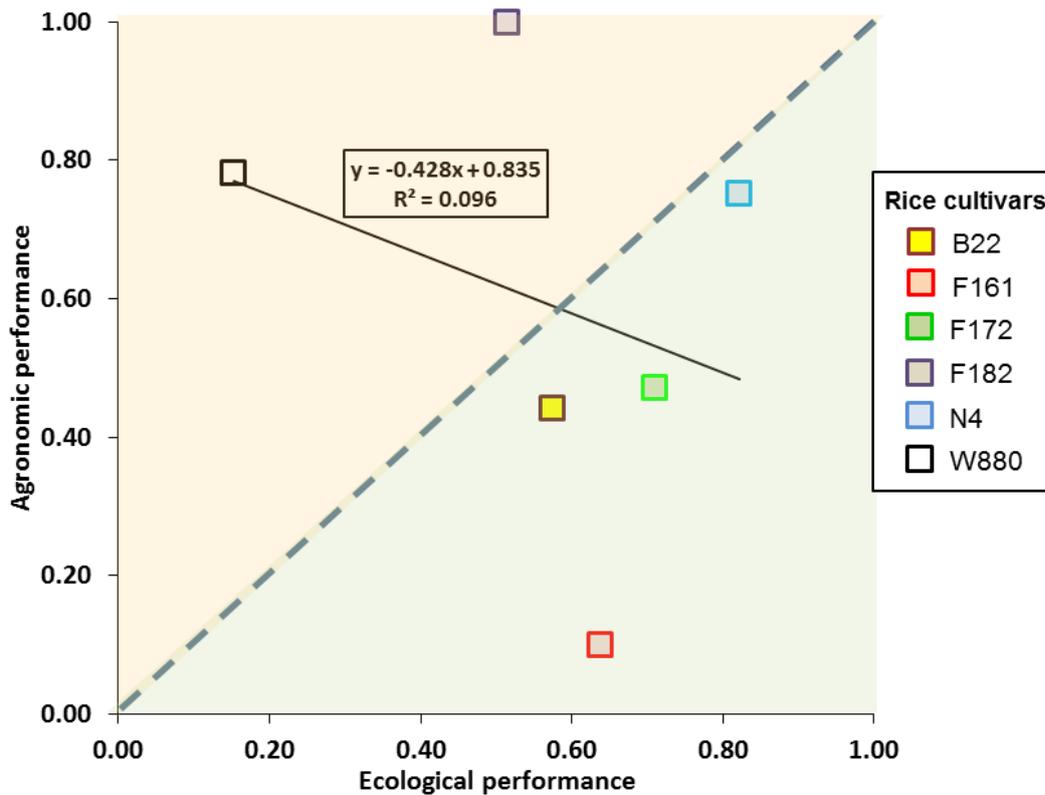


Figure 58 : Agronomic and ecological performances of rice cultivars. Dotted line represents the linear regression of the best trade-off between agronomic and ecological performances.

As shown in Figure 58, rice cultivars studied in the present experiment can be classified into three categories according to their EP and AP:

- rice cultivars with high AP ($AP > EP$). W880 and F182 were categorized as rice cultivars with high AP. Their AP were respectively five and two-fold higher than their EP
- rice cultivars with high EP ($EP > AP$). F161 exhibited a higher EP (6-fold greater than its AP) and thus, classified as rice cultivar with high EP
- rice cultivars offering a trade-off between AP and EP ($AP \approx EP$). Three rice cultivars showed a trade-off between their AP and EP: N4, B22 and F172. Among these three rice cultivars, N4 offered the best trade-off between AP and EP.

4 Discussion

4.1 Effect of earthworms

At the end of the experiment (8 weeks), we found that earthworms increased significantly both PRI (+57%) and NDVI (+34%) of rice, indicating that earthworms enhanced photosynthetic light use efficiency and chlorophyll content in plants. It was likely due to positive effects of earthworms on the leaf area (+77%) which plays a key role in plant photosynthesis. Also, our results exhibited a strong effects of earthworms on rice growth. In the presence of earthworms, rice had higher shoot biomass (+99%), root biomass (+93%) and total biomass (+96%), irrespective of rice cultivars. Positive effects of earthworms on plant growth are well-known in the literature. In tropical countries, Brown et al. (1999; 2004) reviewed 246 experiments and concluded that in 43% of studies, earthworms enhanced by more than 20% the biomass production. The same observation was noted by van Groenigen et al. (2014) in a meta- analysis of 58 studies published during a century (1910–2013). Authors found that earthworm presence significantly increased aboveground biomass by +23%, belowground biomass by +20% and total biomass by +21%. Five mechanisms, reviewed in Brown et al. (2004), were reported as drivers of the stimulation of plant growth by earthworms. Two mechanisms included earthworm-induced changes in soil physicochemical properties: (i) an increased mineralization of soil organic matter and (ii) the modifications of soil porosity and aggregation. The other three mechanisms involved interactions of earthworms with other soil organisms: (iii) the production of plant growth substances via the stimulation of microbial activity; (iv) the control of pests and parasites and (v) the stimulation of symbionts. Van Groenigen et al. (2014) pointed out that increased N mineralization was the main pathway of the positive effects of earthworms on plant growth. Likely, our finding on the strong increase of shoot N amounts (+267%) in the presence of earthworms might be linked to an increased mineralization in the soil receiving earthworm treatments. In addition, we also recorded an increase of shoot-P and plant-P amounts by respectively +87% and 84% in the presence of earthworms. This was in line with the work of Vos et al. (2014). They suggested that the increase of plant P uptake was probably induced by the increase of available P in casts of earthworms. Indeed, numerous studies outlined that casts

of earthworms contained higher available P contents than the non-ingested soil (Sharpley and Syers, 1976; Lopez-Hernandez et al. 1993; Chapuis-Lardy et al. 1998, Chapuis-Lardy et al. 2009, Kuczack et al. 2006).

4.2 Response of rice cultivars to earthworms

In our experiment, the responsiveness of rice to earthworms varied with cultivars. Similarly, impacts of earthworms on plant functional traits showed different magnitude between rice cultivars. Ours results were in agreement with the work of Noguera et al. (2010) in tropical soils in Colombia. Authors reported that the responsiveness of rice cultivars to earthworms was different and highly depended on the examined variable. Also, they highlighted that processes underlying earthworm's effects on rice cultivars were complex making difficult the prediction of the responsiveness of rice cultivars to earthworms. For instance, our results showed that the effect of earthworms on shoot:root ratio depended on rice cultivars. It was positive for B22, F161 and F182, neutral for F172 and negative for N4 and W880, indicating an important difference between the resource allocation strategy of rice cultivars. In addition, a recent study by Ranoarisoa et al. (2017) revealed that the ability of rice to interact with mutualistic bacterivorous nematodes (*Acrobeloides sp.*) was variable among cultivars. Similarly, the response of rice cultivars to protist inoculation differed between rice cultivars (Somasundaram et al., 2008). These aforementioned differences induced probably an important changes in the responsiveness of rice cultivars to earthworms. Indeed, the interaction of earthworms with microorganisms was involved into pathways through which earthworms stimulate plant growth (Brown et al. 2004). Our study noted that W880 was the rice cultivar that poorly respond to the presence of earthworms. Interestingly, Ranoarisoa et al. (2017) showed that W880 was characterized as rice cultivar repulsing bacterivorous nematodes.

The different responsiveness of rice cultivars to earthworms stresses the importance of the selection of cultivars used in ecological intensification. However, it is of great importance to take into account the trade-off between ecological performance (EP) related to response of rice cultivars to earthworms and agronomic performance (AP) related to capability of rice cultivars to benefit from mineral fertilizer in terms of grain yields. Indeed, a survey carried out by Raboin et al. (2014) in the highlands of Madagascar revealed that 88% of farmers appreciated rice cultivars mainly by their yields compared to any other characteristics. The use of rice cultivars which offered a trade-off between AP and EP such as N4, B22 and F172 coupled with an inoculation of earthworms could be a better way to reduce the use of mineral fertilizer without changing the ability of these rice cultivars to maintain higher yield. Such agroecological practices might be a suitable tool to meet the challenges of the low input conditions of smallholder farmers in the highlands of Madagascar.

5 Conclusion

The present study showed for the first time the ecological performance of upland rice cultivars used by farmers in the highlands of Madagascar. A set of key response variables to earthworms including physiological variables (PRI and NDVI), growth variables (shoot biomass and total biomass) and nutrition variables (shoot-P and plant-P) were used as descriptors of the ecological performance. Our study revealed that the responsiveness of rice to earthworms varied according to cultivars. Also, impacts of earthworms on plant functional traits showed different magnitude between rice cultivars. Processes underlying the effects of earthworms on rice cultivars remained complex. However, our results suggested that the ecological performance of rice cultivars was not related to their specific agronomic characteristics as rice cold-tolerant or rice resistant to pests and diseases. The analysis of both ecological and agronomic performances of allowed us to identify rice cultivars with high agronomic performances (W880 and F182); rice cultivar with high ecological performance (F161) and rice cultivars offering a trade-off between agronomic and ecological performances (B22, F172 and N4). Integrating this latter category of rice cultivars in agroecological practices based on the intensification of soil ecological processes through earthworm inoculation is of great importance in low input agrosystems. Such innovative practices might be a suitable way to meet the constraints of low input production systems of smallholder farmers in the highlands of Madagascar.

6 Synthèse du chapitre 3.3

Ce travail a permis de mettre en évidence que la réponse du riz à la présence des vers de terre (performance écologique) dépend des variétés. Les vers de terre affectent positivement plusieurs variables mais l'amplitude de l'effet diffère selon les variétés. Par exemple, l'augmentation de la biomasse aérienne induite par les vers de terre peut varier de 40% à 129% selon la variété. En outre, cette variation est de 37% à 145% pour la quantité de P total accumulée dans la biomasse aérienne du riz tandis qu'elle est de 116% à 355% pour la quantité de N total. Pour la surface foliaire, les vers de terre augmentent de 146% la surface foliaire de B22 tandis que cette augmentation est de 28% pour le W880. Pour le rapport entre la biomasse aérienne et la biomasse racinaire, les vers de terre peuvent avoir un effet positif (B22, F161, F182), neutre (F172) ou négatif (F182, N4, W880). Notre étude suggère que l'amplitude de l'effet des vers de terre diffère selon les traits fonctionnels de chaque variété. Pour les variétés F161 et F172, la nutrition du riz est plus poussée en présence des vers de terre. Au contraire, l'effet des vers de terre sur la variété F182 est plus marqué pour la physiologie et la croissance de la plante que pour l'acquisition de nutriments. En revanche, les variétés B22 et N4 n'ont pas de réponse spécifique à la présence des vers de terre sur leurs traits fonctionnels.

En comparant les performances agronomiques (rendement en présence de fertilisation) et les performances écologiques (réponse à la présence des vers de terre) de chaque variété, notre étude a permis de classer les variétés de riz en 3 catégories :

- variété à haute performance écologique : F161
- variétés à haute performance agronomique : W880 et F182
- variétés offrant un meilleur compromis entre les performances écologiques et agronomiques : B22, F172 et N4

Nous suggérons que l'utilisation des variétés offrant un compromis entre performances écologiques et agronomiques couplé à une inoculation de vers de terre pourrait être un meilleur moyen de réduire l'utilisation de fertilisants chimiques sans modifier la capacité de ces variétés à offrir un bon rendement.

Chapitre 3.4 : Effet des vers de terre sur la résistance du riz à la pyriculariose

Résumé

À Madagascar, le riz occupe une place majeure dans la consommation locale. Cependant, la production rizicole est confrontée à de nombreuses contraintes, y compris les maladies. La pyriculariose, causée par le champignon *Magnaporthe oryzae*, est la principale maladie du riz responsable de pertes importantes en production rizicole. Divers moyens ont été déjà menés pour lutter contre cette maladie, mais rares sont les travaux concernant les relations entre le sol et la plante. Dans la présente étude, l'objectif est de tester si l'apport de vers de terre et de silice, seuls ou ensemble, dans une démarche agro-écologique, vont impacter positivement la croissance du riz et sa résistance à la pyriculariose. L'expérience a eu lieu en mars-avril 2017 pour une durée de 8 semaines. Trois facteurs ont été étudiés dans cette expérience dont l'apport de N₁₁P₂₂K₁₆ (NPK-, NPK+), de silice (Si-, Si+) et des vers de terre (V-, V+). La dose de NPK utilisée a été de 150 mg kg⁻¹ sol tandis que la dose de silice a été de 785 mg kg⁻¹ sol. Les vers de terre utilisés sont de l'espèce endogée *Pontoscolex corethrurus* (3 individus par pot). Le sol est un Ferralsol prélevé à Lazaina (1 kg de sol par pot). Les paramètres mesurés ont été la croissance du riz et la sévérité de la maladie. Nos résultats montrent que la fertilisation a fortement augmenté la croissance du riz, mais renforce également le développement de la pyriculariose. Les vers de terre ont permis d'augmenter de 27% la biomasse aérienne du riz, affectant ainsi le rapport entre la biomasse aérienne et la biomasse racinaire de la plante. Par contre, la silice n'a pas d'influence significative sur la croissance du riz. Concernant la maladie, l'apport de vers de terre et de la silice a réduit la sévérité globale de la pyriculariose sur les feuilles de riz, que ce soit en présence ou en absence de la fertilisation. L'interaction entre les vers de terre et la silice offre le meilleur compromis entre le gain de biomasse et le gain de la maladie, surtout dans les traitements sans fertilisation. Ceci confirme l'intérêt des vers de terre et de la silice pour le biocontrôle de la pyriculariose permettant ainsi de constituer une stratégie alternative potentielle pour lutter contre cette maladie.

Mots-clés : *Pontoscolex corethrurus*, fertilisation, azote, phosphore, croissance végétale, sévérité

1 Introduction

Le riz est l'une des principales cultures dans le Monde, avec le blé et le maïs. Le riz est consommé par la moitié de la population mondiale, spécialement dans les pays en développement. A Madagascar, la production de riz est importante pour la consommation locale et a atteint 470 millions de tonnes en 2010. Pourtant, sur les Hautes Terres, en dépit d'un développement de variétés de riz résistantes au climat froid (Raboin et al., 2014), la production de riz fait face à de nombreuses contraintes agronomiques : exploitations à faibles revenus, sols pauvres en nutriments, faible disponibilité des engrais pour les agriculteurs et présence de maladies et bioagresseurs du riz. Parmi ceux-ci, la pyriculariose causée par le champignon ascomycète *Magnaporthe oryzae* B.C. Couch, est présente dans la plupart des zones de production rizicole (Raboin et al., 2012). La pyriculariose est responsable de 30% de pertes dans la production mondiale de riz (Nalley et al., 2017) entraînant les plus importantes dépenses en fongicides pour les maladies fongiques (Illana et al., 2013). *M. oryzae* peut coloniser tous les organes aériens des plantes entraînant une atteinte des panicules et/ou des feuilles avec des pertes directes ou indirectes, respectivement, sur les rendements.

A Madagascar, des dégâts fréquents de la pyriculariose ont été signalés dans différentes régions rizicoles des Hautes-Terres, du Lac Alaotra et du Sud. Des suivis dans la région de Vakinankaratra ont montré que le quart des rizières cultivées étaient touchés par la pyriculariose dont la moitié sévèrement endommagée avec une perte estimée à 300 tonnes de paddy (Andriantsimalona, 2004). En outre, une étude sur l'incidence et le contrôle de la pyriculariose du riz pluvial dans la même région a évoqué que 51% de la superficie totale visitée ont été atteints par la pyriculariose (Ratsimba, 2005). A côté des contrôles chimiques, différentes options ont été développées par les scientifiques pour réduire la sévérité de la maladie (Savary et al., 2012). La principale option agroécologique est de développer des cultivars résistants ou tolérants à *M. oryzae* (Raboin et al., 2012) ; ceci inclut également la possibilité de mélanger différentes variétés de riz (Raboin et al., 2012) avec des résultats intéressants sur les maladies fongiques (Vidal et al., 2017). Une autre option est de diminuer les taux d'application d'azote (Long et al., 2000) ou de modifier les pratiques agricoles traditionnelles pour réduire la pression de l'inoculum et de modifier l'utilisation des nutriments par la plante (Sester et al., 2008; 2010; Dusserre et al., 2017). L'azote est en effet connu pour accroître fortement le développement de la pyriculariose, ce qui est connu sous le terme de « sensibilité induite par l'azote » (nitrogen-induced susceptibility NIS) (Ballini et al., 2013) ; il a été montré que la maladie attaque d'abord les jeunes feuilles riches en azote (Roumen, 1992). Par ailleurs, les travaux de Filippi et Prabhu (1998) ont mis en évidence une corrélation positive entre la sévérité de la maladie et les teneurs en azote, phosphore et magnésium dans les tissus de la plante, avec une corrélation opposée pour le potassium et le calcium. Parmi les nutriments, la silice est également connue pour protéger les plantes, surtout le riz, contre les pathogènes (van Bockhaven et al., 2013). La silice est prélevée par les racines

sous la forme d'acide orthosilicique (Savant et al., 1997), malheureusement déficient dans les sols fortement désaturés comme les Ferralsols des Hautes Terres de Madagascar. Dans des sols si pauvres, les apports en silice apparaissent donc comme une approche prometteuse pour le contrôle de la pyriculariose (Datnoff et al., 1997 ; Voleti et al., 2008). Les mécanismes du rôle prophylactique de la silice sont bien décrits par van Bockhaven et al. (2013).

Une autre option, moins testée pour lutter contre la pyriculariose, est d'utiliser des agents de contrôle biologique, comme des bactéries antagonistes du champignon (Tokpah et al., 2016) ou des produits naturels et des extraits botaniques (Abed-Ashtiani et al., 2018).

Enfin, il semble prometteur également d'intensifier les relations entre le sol (compartiment souterrain) et la plante (compartiment aérien) et les fonctions de la biodiversité naturelle de l'agrosystème pour améliorer la fourniture de services écosystémiques et réduire la sévérité des maladies (Scheu, 2003 ; Lavelle et al., 2004 ; Bezemer & van Dam, 2005 ; Wurst, 2010 ; Mariotte et al., 2018). Les compartiments souterrains et aériens s'influencent mutuellement. L'utilisation de la biodiversité souterraine comme alternative « naturelle » au contrôle des maladies de plantes a été plusieurs fois testée (Lavelle et al., 2004 ; Puga-Freitas & Blouin, 2015). Parmi les organismes du sol, les vers de terre représentent une alternative potentielle au contrôle de ces maladies (Doube et al., 1994). Les études scientifiques ont montré que les vers de terre réduisaient la sévérité de plusieurs maladies causées par des agents souterrains ou aériens : le piétin-verse du blé causé par le champignon *Oculimacula yallundae* (Bertrand et al., 2015), le piétin-échaudage causé par le champignon *Gaeumannomyces graminis* (Stephens et al., 1994), les maladies causées par *Fusarium oxysporum* et *F. proliferatum* sur l'asperge, par *Verticillium dahliae* sur l'aubergine, et par *F. oxysporum* sur la tomate (Elmer, 2009), la hernie des crucifères causée par le protiste *Plasmodiophora brassicae* (Friberg et al., 2008), l'infection des racines de bananiers par le nématode phytoparasite *Radopholus similis* (Lafont et al., 2007), ou encore les attaques causées par *Rhizoctonia solani* sur le blé (Stephens et al., 1993). D'autres études ont observé une absence d'effets des vers de terre sur les maladies de plantes (Ayuke et al., 2017). Il a aussi été montré que les vers de terre peuvent être des vecteurs de pathogènes, comme dans le cas des mycobactéries (Fisher et al., 2003). Différents mécanismes pouvant expliquer le rôle positif des vers de terre sur la croissance des plantes et les interactions plantes-herbivores ont été proposés. Les principaux mécanismes sont : (i) une modification de la structure du sol modifiant le développement racinaire et la rétention en eau, (ii) la minéralisation de la matière organique du sol rendant les nutriments disponibles pour les plantes ; cette augmentation dans la disponibilité des nutriments peut expliquer les changements dans les composés défensifs de la plante comme les phytostéroles et les glycosides iridoïdes (Bezemer & van Dam, 2005 ; Wurst, 2010), (iii) la production de molécules « signal » impliquées dans la communication entre organismes du sol et plantes, par exemple les molécules bioactives diffusives interagissant avec la production d'IAA (acide indol-acétique, précurseur d'hormones végétales de croissance)

(Puga-Freitas & Blouin, 2015); ceci est un effet direct des vers de terre sur les réponses de défense de la plante (Bezemer & van Dam, 2005), (iv) un effet direct sur les nuisibles, comme la prédation, la destruction des habitats, la compétition pour la matière organique, la production de fongicides et bactéricides (Brown et al., 2004), (v) la stimulation de microorganismes bénéfiques comme les PGPR (Plant Growth Promoting Bacteria) (van Wees et al., 2008), (vi) la modulation de l'expression de gènes de plantes connus pour répondre à des stress (Jana et al., 2010), (vii) l'acquisition de silice par la plante (Bityutskii et al., 2016).

A Madagascar où les agriculteurs n'ont pas les ressources financières suffisantes pour acheter des fertilisants, la mise en œuvre de pratiques agricoles intensifiant l'activité des vers de terre est prometteuse. Notre étude a pour objectif d'analyser l'effet des vers de terre et de la silice sur la croissance du riz pluvial et sa résistance à la pyriculariose. On a encore peu de connaissances scientifiques sur les liens entre vers de terre et réponses du riz. Nous faisons l'hypothèse que les vers de terre et la silice, seuls ou ensemble, vont impacter positivement la croissance du riz et sa résistance à la pyriculariose.

2 Matériels et Méthodes

Cette étude a eu lieu en mars-avril 2017. L'expérience a été conduite dans deux laboratoires à Madagascar : au LRI (Antananarivo) pour la préparation des microcosmes et dans la serre du FOFIFA (Antsirabe) pour le suivi de la croissance des plantes et du test de résistance/sensibilité à la maladie.

2.1 Traitements étudiés

Trois facteurs ont été testés lors de cette expérience dont (i) l'apport d'engrais ($N_{11}P_{22}K_{16}$) avec deux modalités (avec NPK+ ou sans NPK-); (ii) l'apport de silice avec deux modalités (avec silice Si+ ou sans silice Si-) et (iii) l'apport de vers de terre avec deux modalités (avec V+ ou sans V-). En somme, huit traitements issus de la combinaison de ces trois facteurs ont été régulièrement suivis. Dans cette étude, nous avons utilisé des pots de 10 cm de diamètre pouvant contenir 1 kg de sol afin de faire durer l'expérience jusqu'à 8 semaines. L'engrais NPK a été utilisé à une dose de 150 mg kg^{-1} sol (soit 190 kg ha^{-1}). Le critère de choix de cette quantité repose sur les résultats de nos mesures lors d'une étude préliminaire destinée à tester la faisabilité de la méthode et à affiner les teneurs en engrais à apporter. D'après nos mesures, cette quantité étant sensée s'approcher de la quantité de nutriments rendus disponibles par les vers de terre et prélevés par les plantes. En ce qui concerne la silice, la dose apportée a été de 1 Mg ha^{-1} , soit 785 mg kg^{-1} sol. Enfin, nous avons utilisé la variété de riz B22, très utilisée par les agriculteurs des Hautes Terres, mais également sensible à la pyriculariose.

2.2 Description de l'essai

Le sol utilisé lors de cette expérience a été prélevé dans un horizon de 0-10 cm, sous savane naturelle (Bozaka) à Lazaina (18°46'5559 S, 47°32'463 N, 1274 m d'altitude) près d'Antananarivo. Le sol est un Ferralsol (classification FAO), caractérisé par une texture sablo-argileuse, un pH acide de 5,5, un rapport C/N égal à 16, et une faible teneur en P inorganique Olsen de 4,7 mg kg⁻¹. Le sol a été séché à l'air avant d'être tamisé à 2 mm. Le fond des pots a été percé de trous de 5 mm de diamètre pour faciliter l'écoulement de l'eau ; ces trous ont toutefois été recouverts d'une toile moustiquaire pour empêcher les vers de terre de s'échapper. Les granules de NPK et de silice ont été mélangées au sol et l'humidité du sol a été ramenée à la capacité au champ. Trois vers de terre adultes de l'espèce *Pontoscolex corethrurus* ont été ajoutés dans les pots appropriés. Enfin, trois graines de riz ont été semées dans chaque pot.

Après la mise en place des différents traitements au LRI, les pots ont été emmenés au laboratoire du FOFIFA pour le suivi de la croissance du riz et pour l'inoculation du champignon sur les feuilles du riz. Un test phénotypique a ensuite été réalisé afin de suivre la sévérité de la maladie sur chaque traitement.

2.3 Inoculation du champignon

2.3.1 Préparation de l'inoculum

La souche de *Magnaporthe oryzae* utilisée dans cette expérience a été isolée de la variété B22. Par la suite, *M. oryzae* a été cultivé sur un milieu farine de riz (farine de riz : 20 g, extrait de levure : 2 g, agar-agar : 15 g, eau distillée : 1000 ml). Ce milieu gélosé a été préalablement stérilisé en autoclave à 120°C pendant 20 min. Après refroidissement, 1 ml de solution d'antibiotique Penicilline G avec une concentration de 500 000 unités ml⁻¹ a été ajoutée avant que le milieu soit écoulé dans des boîtes de Pétri. La culture de *M. oryzae* a été incubée pendant 10 jours sous une lumière blanche de 12 heures par jour. Après l'incubation, la surface de culture contenant le mycélium a été grattée à l'aide d'un racloir, puis mis en suspension dans l'eau distillée. Après agitation, la suspension est filtrée avec des linges fins pour récupérer les conidies sans fragments mycéliens. La concentration de l'inoculum est ajustée à 50 000 spores par ml et additionnée avec 1% de gélatine pour faciliter la fixation de spores sur les feuilles.

2.3.2 Inoculation

L'inoculation proprement dite des plantes par le champignon a été effectuée 21 jours après le semis. Pour les cinq pots d'un même traitement, une suspension conidienne de 15 ml avec une concentration de 50 000 spores ml⁻¹ a été pulvérisée sur les feuilles du riz. Après la pulvérisation, les plantes ont été laissées dans une salle d'incubation pendant 18 heures.

2.3.3 Notation de la maladie

La notation des symptômes a été effectuée 7 jours après l'inoculation du champignon. Le principe de notation a été basé sur la sévérité globale de la maladie. Celle-ci indique le pourcentage de surface foliaire attaqué par le champignon sur une plante. Dans notre étude, chaque pot contient trois plantes. Ainsi, la sévérité globale de la maladie par pot a été évaluée en faisant la moyenne des sévérités globales mesurées sur les trois plantes.

2.4 Autres mesures

A la fin de l'expérience (8 semaines), différents paramètres ont été également mesurés sur le sol et la plante tels que la présence de vers de terre, les biomasses aérienne et racinaire du riz, le rapport entre la biomasse aérienne et la biomasse racinaire (SR pour Shoot-Root ratio), les teneurs en N et P dans les parties aériennes des plantes. Les paramètres des plantes ont été évalués par pot, soit l'ensemble des trois plantes. Les teneurs en N ont été mesurées en utilisant un microanalyseur CHNS/O (Flash 2000 Series, CHNS/O 122 Analysers Thermo Scientific, IRCOF, France). Pour les teneurs en P, l'analyse a été effectuée suivant la méthode de minéralisation au four micro-onde en utilisant le réactif acide nitrique à 65%. Ensuite, le dosage par colorimétrie se fait avec la méthode au vert de malachite (Ohno and Zibilske 1991). Les quantités accumulées en N et P dans les tissus des plantes ont été calculées suivant la formule

2.5 Statistiques

L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel R (version 3.3.1). Afin de tester les effets des apports d'engrais (NPK-, NPK+), de silice (Si-, Si+) et des vers de terre (V-, V+), une analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs a été effectuée sur tous les paramètres concernant les biomasses de la plante et l'accumulation des nutriments dans la plante. Par la suite, les résidus de l'ANOVA ont été soumis à une analyse de la normalité en utilisant le test de Shapiro. L'ANOVA est significative lorsque le niveau de probabilité est inférieur au niveau de la probabilité théorique au risque $\alpha = 5\%$. En ce qui concerne la sévérité de la maladie, une régression linéaire a été réalisée en utilisant la fonction glm. La famille quasipoisson a été utilisée dans le modèle vu que les données étaient issues d'un comptage.

3 Résultats

3.1 Survie des vers de terre

A la fin de l'expérience, tous les vers de terre introduits ont survécu quel que soit le traitement. Généralement, leur nombre a presque doublé, passant initialement de 3 à 5,6 en moyenne par pot. Cette forte reproduction des vers de terre marque leur bon développement et leur activité au cours de l'expérience.

3.2 Biomasses du riz

Les biomasses de riz mesurées en fin d'expérience, qu'il s'agisse des biomasses aériennes, racinaires, totales et du rapport SR, montrent des différences fortes entre les traitements (Table 18). L'apport de NPK a augmenté, de façon très significative, les biomasses aériennes, racinaires et totales (Table 19) ; les valeurs ayant pratiquement doublé entre les traitements avec NPK et sans NPK (pour la biomasse aérienne : 237 mg contre 92 mg ; pour la biomasse racinaire : 141 mg contre 82 mg; pour la biomasse totale : 378 mg contre 174 mg).

L'apport de silice n'a eu aucun effet significatif sur les biomasses du riz (p-value = 0,994 pour la biomasse aérienne, p-value = 0,629 pour la biomasse racinaire, p-value = 0,783 pour la biomasse totale). Toutefois, il a été remarqué que l'apport de silice a augmenté la biomasse aérienne des plantes dans les traitements sans fertilisation en NPK (Table 19).

Concernant les vers de terre, leur présence a permis une augmentation significative de 27% (p-value=0,018) de la biomasse aérienne par rapport au contrôle sans vers, mais sans effet significatif sur la biomasse racinaire (p-value = 0,883) ainsi que la biomasse totale (p-value = 0,112). En conséquence, le rapport SR est également, statistiquement (p-value=0,023), plus élevé en présence (1,66) qu'en absence (1,28) de vers de terre, indépendamment de la fertilisation en NPK. Les biomasses aérienne, racinaire et totale les plus importantes ont été observées dans le traitement avec NPK et vers de terre, mais sans silice tandis que les valeurs les plus faibles ont été enregistrées dans le traitement témoin (sans NPK, sans vers de terre, sans silice) (Table 19). Enfin, il est également intéressant de noter l'effet significatif des vers de terre sur le rapport SR, lié à l'augmentation de la biomasse aérienne sans changement significatif de la biomasse racinaire.

Table 18 : P-value du résultat d'ANOVA montrant les effets principaux de la fertilisation (NPK), de l'apport de silice (Si) et de l'introduction des vers de terre (V) ainsi que leurs interactions sur les biomasses du riz

Facteurs	BA	BR	SR	BT
NPK	< 0,001	< 0,001	0,193	< 0,001
Si	0,994	0,629	0,699	0,783
V	0,018	0,883	0,023	0,112
NPK:Si	0,504	0,086	0,354	0,211
NPK:V	0,239	0,659	0,182	0,576
Si:V	0,078	0,669	0,261	0,194
NPK:Si:V	0,239	0,667	0,093	0,573

Les valeurs en gras sont significatives à $\alpha = 0.05$

Table 19 : Biomasses du riz (3 plantes) exprimées en mg. pot⁻¹ à la fin de l'expérience. Moyennes et écart-types de la biomasse aérienne (BA), de la biomasse racinaire (BR), du rapport entre biomasse aérienne et biomasse racinaire (SR) et de la biomasse totale (BT).

NPK	Silice	Vers de terre	BA	BR	SR	BT
-NPK	Si-	V-	61,5±16,6	56,3±22,6	1,15±0,17	117,8±39,1
		V+	91,8±19,0	76,2±14,2	1,26±0,48	167,9±21,5
	Si+	V-	97,0±24,2	107,8±21,8	0,91±0,18	204,8±39,1
		V+	122,3±20,7	89,6±41,6	1,50±0,41	211,9±21,5
+NPK	Si-	V-	214,6±43,2	149,3±36,4	1,48±0,39	363,9±68,2
		V+	308,4±55,9	153,1±38,5	2,08±0,45	461,5±85,2
	Si+	V-	214,3±120,7	136,9±65,3	1,58±0,54	351,2±169,9
		V+	211,7±77,5	125,1±55,5	1,77±0,39	336,9±129,3

3.3 Azote et phosphore accumulés dans les tissus du riz

L'accumulation des nutriments dans les parties aériennes et racinaires des plantes a été modifiée, principalement sous l'effet de la fertilisation en NPK (Table 20). La fertilisation en NPK a entraîné en effet des augmentations importantes des quantités de N accumulées dans les tissus de la plante (parties aériennes, racinaires et biomasse totale), jusqu'à 4 fois plus qu'en absence de fertilisation minérale NPK pour les quantités accumulées dans les parties aériennes (8,73 mg N contre 2,09 mg N, Table 21). Par contre, une absence d'effet significatif de l'apport de la silice a été observée sur la nutrition du riz. Toutefois, une augmentation de la quantité de N accumulée dans les tissus du riz a été notée en absence de fertilisation en NPK alors qu'une baisse de cette variable a été remarquée en présence de fertilisation en NPK (Table 21).

Concernant les vers de terre, leur présence a augmenté respectivement de 1,6 fois et 1,5 fois les quantités de N accumulées dans les biomasses aériennes (6,81 mg N contre 4,24 mg N) (p-value < 0,001) et dans les biomasses totales (8,02 mg N contre 5,49 mg N) (p-value = 0,003). En outre, un effet significatif de l'interaction entre la fertilisation et l'apport de vers de terre a été noté sur les quantités de N accumulées dans les biomasses aériennes (p-value = 0,044). L'effet positif des vers de terre était plus prononcé dans les traitements sans fertilisation NPK avec une augmentation de 81%. Dans les traitements avec fertilisation NPK, cette augmentation a été de 50%.

Les quantités en P accumulées dans les parties aériennes ont également été très significativement, augmentées de 3,4 fois par la fertilisation minérale NPK (p-value < 0,001). Pour les parties racinaires, un effet significatif de la fertilisation minérale NPK (p-value < 0,001) et de la silice (p-value = 0,025) a été observé. L'interaction entre ces deux facteurs a significativement affecté les quantités en P accumulées dans les parties racinaires (p-value = 0,030). Dans les traitements

sans apport de NPK. , la présence de silice a augmenté de 55% (85,7 mg P contre 55,1 mg P) la quantité de P accumulée dans la biomasse racinaire. En revanche, une baisse de 22% a été notée dans les traitements avec fertilisation NPK + Si. Pour la biomasse totale, seule la fertilisation minérale NPK a eu une influence significative sur les quantités de P accumulées (p-value < 0,001). Les plantes ayant reçu une fertilisation minérale NPK ont pu accumuler une quantité de P plus élevée de 3,7 fois comparées à celles sans apport de NPK.

Table 20 : P-value du résultat d'ANOVA montrant les effets principaux de la fertilisation (NPK), de l'apport de silice (Si) et de l'introduction des vers de terre (V) ainsi que leurs interactions sur les quantités de N total et P total dans les tissus du riz

Facteurs	N_BA	N_BR	N_BT	P_BA	P_BR	P_BT
NPK	< 0,001					
Si	0,324	0,467	0,321	0,936	0,025	0,806
V	< 0,001	0,481	0,003	0,606	0,100	0,737
NPK:Si	0,290	0,108	0,225	0,204	0,030	0,139
NPK:V	0,044	0,352	0,106	0,316	0,169	0,268
Si:V	0,117	0,734	0,187	0,526	0,378	0,593
NPK:Si:V	0,225	0,448	0,353	0,995	0,346	0,899

Les en gras sont significatives à $\alpha = 0.05$

Table 21 : Azote (N) et phosphore (P) accumulés dans les tissus du riz à la fin de l'expérience. Moyennes et écart-types de N accumulés (mg N. pot⁻¹) dans la biomasse aérienne (N_BA), dans la biomasse racinaire (N_BR), dans la biomasse totale (N_BT) (mg N) et de P accumulés (mg P. pot⁻¹) dans la biomasse aérienne (P_BA), dans la biomasse racinaire (P_BR), dans la biomasse totale (P_BT).

NPK	Silice	Vers de terre	N_BA	N_BR	N_BT	P_BA	P_BR	P_BT
-NPK	Si-	V-	1,18±0,35	0,54±0,26	1,71±0,61	0,47±0,16	0,05±0,02	0,52±0,18
		V+	2,30±0,55	0,70±0,1	3,01±0,53	0,75±0,14	0,06±0,02	0,82±0,16
	Si+	V-	1,85±0,69	0,97±0,23	2,82±0,83	0,76±0,36	0,10±0,03	0,85±0,38
		V+	3,28±0,65	0,84±0,32	4,12±0,97	0,94±0,14	0,07±0,03	1,02±0,14
+NPK	Si-	V-	7,63±1,66	1,84±0,23	9,46±1,57	2,29±0,35	0,48±0,12	2,77±0,29
		V+	12,62±2,62	1,65±0,51	14,27±2,92	2,79±1,1	0,39±0,10	3,18±1,19
	Si+	V-	6,32±3,57	1,64±0,72	7,96±4,14	2,81±1,74	0,35±0,14	3,17±1,82
		V+	8,34±3,05	1,58±0,60	9,92±3,60	2,07±0,66	0,33±0,12	2,4±0,69

3.4 Sévérité de la maladie

L'analyse statistique montre que la sévérité de la maladie, exprimée en pourcentage de surface foliaire atteint de la maladie, a été également affectée fortement par les trois facteurs étudiés : fertilisation NPK (p-value < 0,001), silice (p-value < 0,001) et vers de terre (p-value = 0,014). La fertilisation en NPK accroît de façon très significative la sévérité (de 0,23% à 1,84%) tandis que l'apport de silice et l'introduction des vers de terre diminuent significativement cette sévérité. L'interaction entre silice et vers de terre a eu également un effet sur le développement de cette maladie, la significativité étant de 0,074. Ainsi la fertilisation NPK a augmenté fortement le développement de la maladie tandis que la silice et les vers de terre l'ont diminué (Figure 60).

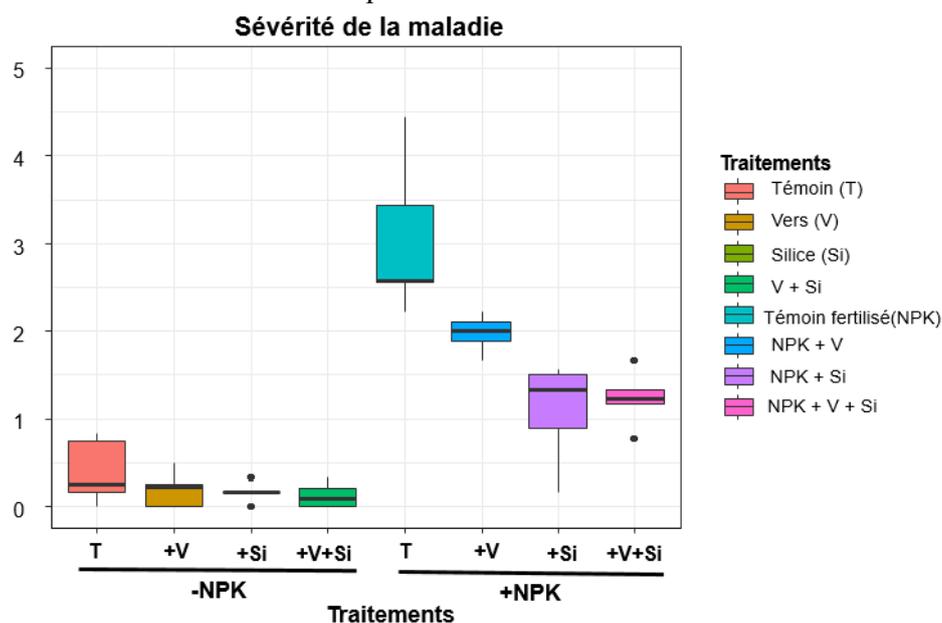


Figure 59 : Sévérité globale de la pyriculariose à la fin de l'expérience

3.5 Compromis entre le gain de biomasse et la sévérité de la maladie

Sur la Figure 61, nous avons représenté l'augmentation ou la diminution des valeurs de la biomasse aérienne et de la sévérité globale de la maladie par rapport à la valeur du témoin sans aucune fertilisation, ni silice, ni vers de terre. Le témoin présente alors des valeurs relatives égales à 1. En comparaison, on voit que la biomasse aérienne a augmenté dans tous les traitements (apport de vers de terre seul, apport de silice seul et apport combiné de vers et de silice), principalement dans les traitements avec NPK (augmentation des valeurs de 3,5 à 5 fois) mais également dans les traitements sans NPK (augmentation de 1,5 à 2 fois). En outre, la sévérité de la maladie dépend de la fertilisation. Lorsqu'on apporte du NPK, la sévérité de la maladie est plus importante (augmentation de 2,7 à 7,6 fois) tandis qu'elle est réduite en absence de NPK (diminution de 0,3 à 0,5 fois). Par ailleurs, l'apport seul de vers de terre ou de silice, ou la combinaison de ces deux facteurs permet une diminution de la sévérité de la maladie que ce soit en présence ou en absence de fertilisation, avec un effet de la silice légèrement supérieur à celui des vers de terre. En considérant le calcul du gain agronomique (gain de biomasse / sévérité de maladie), un effet très positif de l'ajout des vers de terre et de la silice est mis en évidence,

notamment en absence de fertilisation (Figure 61). Ce sont ces traitements, en absence de NPK, qui présente la meilleure augmentation de biomasse associée à la plus forte diminution de la maladie. La valeur de ce rapport est plus élevée pour le traitement combiné de vers de terre et de silice. Cela suggère un meilleur compromis entre le gain de la biomasse aérienne et la réduction de la maladie induits par ces deux facteurs. A l'inverse, le traitement NPK est celui qui fournit le plus faible gain agronomique, i.e., un fort gain de biomasse renforcé par un très fort développement de la maladie. Toutefois, dans ces traitements fertilisés en NPK, la présence de vers de terre et/ou de silice améliore le gain agronomique.

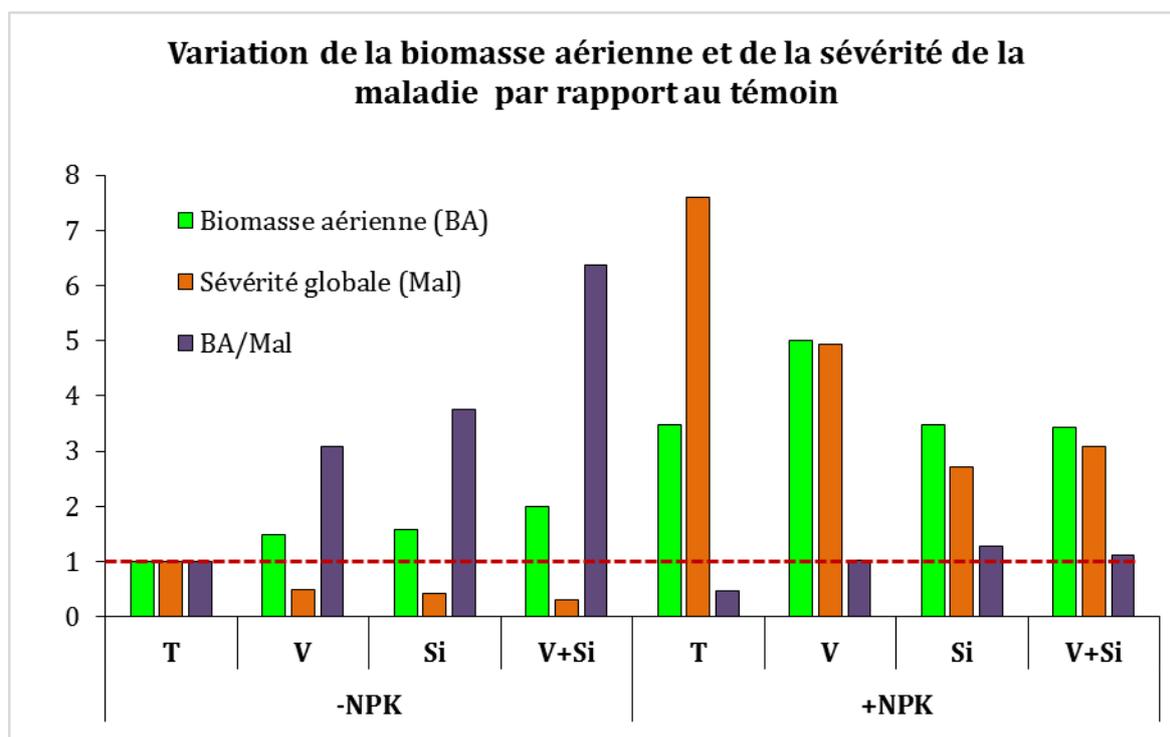


Figure 60 : Variation de la biomasse aérienne (vert) et de la sévérité de la maladie (orange) par rapport au témoin (valeur dans un traitement / valeur du témoin). Calcul du gain agronomique = gain de biomasse / gain de sévérité de la maladie (en violet).

4 Discussion

4.1 Effet de la fertilisation en NPK

Dans la présente étude, il ressort que la fertilisation en NPK a doublé la croissance du riz mais renforce également le développement de la pyriculariose sur les feuilles. Notre résultat est conforme aux différentes études de la littérature démontrant l'effet de la fertilisation minérale, notamment en azote, sur le développement de la pyriculariose (Ballini et al., 2013 ; Long et al. 2000 ; Ou, 1985). En effet, l'azote contenu dans les feuilles des plantes hôtes est utilisé par le champignon pour assurer son développement. Ainsi, l'apport d'azote minéral conduit à la sensibilité de la plante vis-à-vis de la pyriculariose via une augmentation de la concentration de l'azote dans les tissus foliaires. Toutefois, il est important de noter que cette sensibilité induite

par l'azote dépend de la disponibilité de l'azote pour la plante, en particulier, lorsque l'azote est plus disponible que les autres éléments et que cette disponibilité s'avère plus importante que la capacité des plantes à l'utiliser efficacement (Huber et Thompson, 2007). L'excès d'azote a pour conséquence un changement de métabolisme de la plante hôte, agissant plus spécifiquement sur la réduction de l'activité enzymatique responsable de la biosynthèse de phénol et de lignine dans la paroi cellulaire (Hoffland, 1999 ; Roger, 1990). Cependant, ces derniers contribuent d'une manière considérable au mécanisme de défense des cellules végétales contre les pathogènes. Dans notre expérience, la dose de NPK utilisée (150 mg kg⁻¹ sol soit 190 kg ha⁻¹) a eu un impact sur l'augmentation de la disponibilité de l'azote ce qui pourrait probablement conduire à l'affaiblissement du mécanisme de résistance de la plante et donc au développement de la pyriculariose. L'effet du NPK sur l'augmentation de la disponibilité d'azote s'observe notamment sur la quantité d'azote accumulée dans la biomasse aérienne qui se trouve 4 fois supérieure dans les traitements avec NPK que celle dans les traitements sans NPK. Par ailleurs, Filippi et Prabhu (1998) ont montré que les teneurs en azote et en phosphore dans les tissus de la plante sont corrélées positivement à la sévérité de la maladie. Or, nous avons trouvé que la quantité de phosphore accumulée dans la biomasse aérienne est 3 fois plus élevée en présence de fertilisation, ce qui pourrait appuyer également l'augmentation de la sévérité de la maladie dans les traitements avec NPK.

4.2 Effet de la silice

4.2.1 Effet de la silice sur la croissance des plantes

L'apport de silice (seul ou associé à l'engrais NPK) n'a pas d'impact significatif sur la croissance des plantes dans notre expérience. Une étude menée par Velly (1975) sur la fertilisation en silice dans les rizicultures en bas-fond et pluviaux à Madagascar ont montré que l'apport de la silice a significativement augmenté le rendement du riz via l'augmentation du poids des 1000 grains. La courte durée de notre étude (56 jours) n'a pas pu mettre en évidence cet effet positif de la silice sur le rendement du riz. Cependant, nous avons constaté que l'apport de la silice a affecté la quantité de P accumulé par la biomasse racinaire. Dans les traitements avec NPK, un effet positif de la silice sur l'accumulation de P dans la biomasse racinaire a été observé tandis qu'un effet négatif a été noté dans les traitements sans NPK. Notre résultat rejoint les observations de nombreux auteurs dans la littérature (Velly, 1975; Okuda et Takahashi, 1964 ; Takahashi, 1968) qui ont trouvé que lorsque la teneur en P dans le sol se trouve à un niveau optimum ou en excès par rapport aux besoins de la plante, la silice diminue la quantité de P adsorbée par la plante. Par contre, en cas de carence en P, notamment dans les sols à fort pouvoir fixateur de P tels que les Ferralsols des Hautes Terres de Madagascar, la silice réduit la fixation de P et augmente ainsi la disponibilité du P assimilable par la plante. En effet, l'augmentation de la disponibilité de P induite par la silice en cas de carence en P relève de plusieurs mécanismes. D'une part, la silice

a la capacité de réguler l'expression des gènes impliqués dans le transport de P inorganique (Pi), notamment les symports H⁺:Pi (famille Pht1) (Kostic et al. 2017). Seuls, ces transporteurs assurent le prélèvement de Pi par les racines et certains de ces transporteurs dits à haute affinité sont spécifiquement induits par la carence en Pi dans la plante (Plassard et al., 2015). D'autre part, l'apport de silice permet d'augmenter le pH du sol (Owino-Gerroh and Gascho 2004), entraînant ainsi une augmentation de la solubilité des phosphates de fer et d'aluminium (Plassard et al., 2015) qui sont présents en quantité importante dans les sols ferrallitiques. Par ailleurs, la silice stimule l'exsudation des carboxylates, plus spécifiquement le malate et le citrate (Korstic et al. 2017) qui sont capables de concurrencer les anions phosphates au niveau des sites d'adsorption à l'interface sol – solution et de favoriser la complexation d'ions métalliques (Ca, Al ou Fe) impliqués dans l'immobilisation du P (Jones, 1998).

4.2.2 Effet de la silice sur la sévérité de la maladie

Il ressort des résultats de la présente étude que l'application de la silice a permis de réduire la sévérité de la pyriculariose sur les feuilles de riz, que ce soit en présence ou en absence de fertilisation minérale NPK. Notre résultat est conforme aux différents travaux de recherche qui ont mis en évidence l'effet positif de la silice sur la réduction de la sévérité de la pyriculariose. Seebold et al. (2000) ont testé l'application de silice (SiO₂) sur des variétés partiellement résistantes à la pyriculariose ; ils ont trouvé que la réduction de la sévérité de la maladie induite par la silice sur ces variétés a été similaire à celle observée sur des variétés totalement résistantes. En outre, une corrélation négative entre le nombre de lésions de pyriculariose sur les feuilles de riz et la teneur en silice des feuilles a été évoquée par Volk et al. (1958). En effet, le mécanisme de résistance induit par la silice a été attribué à la couche de silice présente sur la cuticule des feuilles qui joue un rôle de barrière physique à la pénétration des pathogènes dans les cellules épidermiques (Roger, 1990 ; Yoshida, 1975; Ou, 1985; Takahashi, 1995).). En outre, la présence de silice facilite le mécanisme de défense de la plante à travers la déposition rapide des composés phénoliques ou de lignines sur les sites d'infection du pathogène (Datnoff et al. 1997). Par ailleurs, nos observations révèlent que l'apport de silice dans les traitements avec NPK a permis de réduire la quantité de N accumulée dans les tissus des plants de riz, ce qui peut probablement réduire la sévérité de la maladie même en présence de fertilisation NPK, un résultat en adéquation avec les diverses études montrant une relation antagoniste entre la silice et l'azote en termes d'accumulation en ces nutriments dans les feuilles de riz (Velly, 1975 ; Wu et al., 2017).

4.3 Effet des vers de terre

4.3.1 Effet des vers de terre sur la croissance du riz

Dans ce travail, la présence des vers de terre a augmenté de 27% la biomasse aérienne du riz, mais sans effet significatif sur la biomasse racinaire ni sur la biomasse totale. Cela se traduit par une augmentation significative du rapport SR (biomasse aérienne/biomasse racinaire) dans les traitements avec vers de terre. Ce constat a déjà été démontré plusieurs fois dans de nombreuses études sur le riz ou d'autres céréales (Kreuzer et al. 2004 ; Partsch et al., 2006 ; Laossi et al, 2010 ; Coulis et al., 2014). Le changement d'allocation de biomasse induit par les vers de terre peut s'expliquer par la théorie de « l'équilibre fonctionnelle » (Brouwer 1962, 1963). En effet, les plantes peuvent coordonner la croissance de ces organes étant donné leur capacité à établir une balance entre la biomasse investie dans la partie aérienne et celle investie dans la partie racinaire. Poorter et Nagel (2000) ont montré que les plantes investissent les ressources dans les organes qui sont responsables de l'acquisition de la ressource limitante (lumière, eau ou nutriments). De ce fait, l'augmentation de l'allocation de la biomasse aux parties aériennes en présence de vers de terre pourrait indiquer que la ressource en nutriments dans le sol n'est pas limitante. Autrement dit, la présence de vers de terre a augmenté la disponibilité des nutriments du sol qui se trouvent, par la suite, prélevés par la plante pour améliorer sa croissance. Cela est confirmé principalement par l'effet des vers de terre dans l'augmentation des quantités de N accumulées dans les biomasses aérienne et totale. Néanmoins, cette augmentation est plus prononcée dans les sols sans apport de fertilisation NPK que dans les sols avec NPK. En effet, de nombreuses études ont montré que l'effet positif des vers de terre dans la croissance des plantes est beaucoup plus marqué dans les sols pauvres que dans les sols riches (Brown et al., 2004 ; Doube et al., 1997). En outre, Noguera et al. (2010) ont mis en évidence que la biomasse totale des plants du riz a été augmentée en présence des vers de terre dans des sols pauvres tandis que cet effet positif disparaît lorsqu'un apport de fertilisation a été effectué sur ces sols pauvres. L'explication relative à ces observations relève surtout de l'effet des vers de terre dans l'augmentation de la minéralisation des matières organiques du sol. Par conséquent, lorsque le sol est riche en nutriments, soit d'une manière naturelle, soit par l'apport de fertilisation, l'effet des vers de terre se trouve dilué et disparaît (Blouin et al. 2006).

4.3.2 Effet des vers de terre sur la sévérité de la maladie

Les vers de terre ont permis de réduire la sévérité de la maladie en présence ou en absence de fertilisation, ceci en comparaison avec les traitements témoins. Pourtant, nos résultats ont montré que les vers de terre ont contribué à l'augmentation de la disponibilité de l'azote pour la plante, qui est un facteur aggravant de la pyriculariose. Ce paradoxe peut être expliqué par le fait que les vers de terre ont également la capacité d'augmenter la mobilité et la biodisponibilité de la silice

(Bityutskii et al., 2016), un élément essentiel dans la lutte contre cette maladie et dans divers stress biotiques et abiotiques de la plante (Ma, 2004; Hattori et al., 2005; Liang et al., 2007). Selon les études de Bityutskii et al. (2016), la teneur en silice extractible à l'eau dans les turricules d'*Aporrectodea caliginosa* (espèce endogée) et *Lumbricus terrestris* (espèce anécique) est 2 fois à 12 fois plus élevée comparée à celle mesurée dans les sols non ingérés. Pour l'acide monosilicique ($\text{Si}(\text{OH})_4$), sa teneur est de 1,3 à 3,5 fois plus élevée dans les turricules. Considérant le rôle prophylactique joué par la silice dans la lutte contre la pyriculariose (4.2.2), il est d'autant plus clair que les vers de terre ont pu réduire la sévérité de la maladie dans notre expérience. En outre, les vers de terre sont responsables de l'induction de nombreux gènes impliqués dans les mécanismes de défense de la plante, notamment l'induction de résistance systémique (ISR) de la plante contre des agents pathogènes (Puga-Freitas, 2012).

4.4 Effet de l'interaction entre silice et vers de terre

L'interaction entre l'apport de silice et des vers de terre est surtout perçue dans la diminution de la sévérité globale de la pyriculariose sur les feuilles de riz. Toutefois, dans les traitements sans apport de fertilisation NPK, on constate nettement une augmentation de la biomasse aérienne due à l'interaction de ces deux facteurs. Par ailleurs, ce traitement offre le meilleur compromis entre le gain de biomasse et le gain de la maladie parmi tous les traitements étudiés. Cela peut s'expliquer par le fait que l'effet de la silice et des vers de terre, seuls, est plus prononcé dans les sols pauvres. En conséquence, leur interaction dans l'augmentation de la croissance du riz et la réduction de la sévérité de la maladie est plus importante dans les traitements sans apport de fertilisation. A Madagascar où l'utilisation de NPK reste très faible ($<10 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$) (Feller, 2007), l'apport de vers de terre et de silice constitue ainsi une stratégie dans l'amélioration de la croissance des plantes, mais également une alternative potentielle dans la lutte contre la pyriculariose. De plus, cette stratégie semble prometteuse étant donné la délicatesse de la lutte génétique (basée sur l'approche variétale) qui se trouve limitée par la rapide adaptation de la population de *M. oryzae* aux variétés diffusées (Raboin et al., 2011).

5 Conclusion

Dans la présente étude, notre objectif était de voir quelles pratiques non testées jusqu'ici pouvaient diminuer la pyriculariose, sans diminuer la biomasse, dans une démarche agroécologique, et donc de tester si l'apport de silice et de vers de terre, seuls ou ensemble, pouvaient impacter positivement la croissance du riz et sa résistance à la pyriculariose. Notre expérience a permis de mettre en évidence que les vers de terre ont augmenté significativement de 27% la biomasse aérienne des plants de riz tandis qu'aucun effet significatif de la silice n'a été observé sur la croissance des plantes. Cependant, la silice et les vers de terre, seuls ou

ensemble, ont permis de réduire la sévérité de la maladie sur les feuilles du riz, que ce soit en présence ou en absence de fertilisation, mais principalement en absence de fertilisation. L'interaction vers de terre – silice dans les traitements sans NPK, offre en effet le meilleur compromis entre le gain de biomasse et le gain de la maladie parmi tous les traitements étudiés. Ceci dénote l'intérêt des vers de terre et de la silice pour le biocontrôle de la pyriculariose permettant ainsi de constituer une stratégie alternative potentielle pour lutter contre cette maladie. En perspectives, des essais complémentaires devraient être réalisés afin de mieux appréhender la résistance induite par les vers de terre et la silice sur le rendement du riz. Cela permet d'évaluer l'effet des traitements sur la pyriculariose paniculaire qui est responsable de la plus grande perte de production rizicole en système pluvial à Madagascar. Ces essais seraient plus intéressants dans des conditions en situation paysanne, et en utilisant diverses variétés de riz tolérantes ou résistantes à la pyriculariose afin de rendre la lutte plus efficace. Dans cette optique, des pratiques agricoles telles que l'agriculture de conservation ou l'apport de matière organique seront mises en œuvre pour stimuler la communauté des vers de terre.

Discussion générale et perspectives

L'objectif principal de cette thèse consistait d'une part à améliorer la compréhension du rôle des vers de terre dans les 4 grandes fonctions écologiques du sol (recyclage des nutriments, transformation du C, maintien de la structure du sol, régulation des bioagresseurs) à l'origine des services écosystémiques et d'autre part, à évaluer les impacts des fonctions des vers de terre dans la mise en place des services écosystémiques dans des conditions réelles au champ. Plus spécifiquement, nous nous sommes intéressés aux services de support, d'approvisionnement et de régulation relatifs aux services agrosystémiques dans des systèmes rizicoles pluviaux.

La thèse a été structurée en 3 chapitres suivant l'échelle expérimentale : approche expérimentale au champ, en situation paysanne (chapitre 1), en mésocosmes (chapitre 2) et en microcosmes (chapitre 3). Cette structure a permis de mieux appréhender les rôles des vers de terre vis-à-vis des 4 grandes fonctions écologiques du sol et d'éviter la redondance des expériences dans la compréhension des mécanismes impliqués.

- Dans le premier chapitre, une étude au champ nous a permis d'évaluer les impacts à moyen termes (4 années de culture) des fonctions des vers de terre sur différents services agrosystémiques dans des systèmes rizicoles pluviaux des Hautes Terres de Madagascar. Nous avons étudié notamment les effets des vers de terre sur la production primaire (croissance et rendement du riz), le recyclage des nutriments, la séquestration de C et l'amélioration de la structure du sol.
- Le deuxième et le troisième chapitre, portant respectivement sur des études en mésocosmes et en microcosmes à court-termes (28 jours à 5 mois), nous ont permis à la fois d'améliorer les connaissances sur le rôle des vers de terre dans les différents processus écologiques du sol. Nos travaux de recherche se sont focalisés sur les effets des vers de terre sur (i) les flux de nutriments, l'acquisition de nutriments par le riz et la croissance du riz, (iii) la résilience des agrosystèmes face au changement climatique et (iv) la régulation des bioagresseurs.

1 Synthèse et discussion des résultats

Dans la présente discussion, nous allons synthétiser en première partie les résultats des essais en microcosmes et en mésocosmes traitant les implications des vers de terre dans certaines grandes fonctions écologiques du sol à la base des services agrosystémiques. Les analyses qui en sont issues contribueront par la suite à la discussion des résultats du chapitre dédié à l'application des fonctions des vers de terre dans des systèmes rizicoles pluviaux en situation paysanne.

1.1 Implications des vers de terre dans les grandes fonctions écologiques du sol à l'origine des services agrosystémiques: essais en microcosmes et en mésocosmes

1.1.1 Effet des vers de terre sur les flux de nutriments, l'acquisition des nutriments et la croissance des plantes

Nous avons mené trois études complémentaires pour évaluer le rôle des vers de terre dans le recyclage des nutriments et plus particulièrement le recyclage du P : (i) une étude de la dynamique de P inorganique (P_i) facilement disponible dans les turricules des vers de terre (chapitre 3.1) ; (ii) une étude sur l'effet de la dolomie et des vers de terre sur les flux de P à l'interface sol-plante par marquage isotopique (chapitre 3.2) ; et (iii) une étude de la réponse des différentes variétés du riz à la présence des vers de terre (chapitre 3.3).

Nos résultats ont montré que les turricules des vers de terre présentaient des teneurs élevées (1,8 fois à 1.3 fois) en P_i biodisponible par rapport au sol non ingéré. Cependant, cet enrichissement en P_i diminuait avec l'âge des turricules, ce qui est probablement lié à l'adsorption de P_i libéré par les oxyhydroxydes de fer et d'aluminium et à l'immobilisation par les microorganismes. Précisons, toutefois, que la teneur en P_i était toujours supérieure dans les turricules des vers de terre que dans le sol contrôle jusqu'à la fin de notre expérience (soit 23 jours). Cela suggère que les racines des plantes peuvent avoir accès à un pool de P_i biodisponible, relativement plus important, dans les turricules au moins pendant cette durée. Cette supposition a été confirmée par les résultats du chapitre 3.2. Nous avons mis en évidence que même si les vers de terre disparaissaient à environ 13 jours de la fin de l'expérience, leurs activités d'ingénieurs (production de turricules et de galeries) ont pu améliorer significativement l'acquisition de P par le riz (variété B22) pendant tout le reste de l'expérience. En présence de vers de terre, la quantité de P total de la biomasse aérienne de riz a été respectivement augmentée de 100% et 65% en présence et en absence de dolomie. En outre, une forte augmentation de la valeur L (P prélevé par la plante) a été également observée dans les traitements avec vers que ce soit en présence (268%) ou en absence (109%) de dolomie. Néanmoins, cette forte augmentation ne peut être attribuée à la seule minéralisation microbienne du P organique (P_o). Nous avons vu dans le chapitre 3.1 que les activités enzymatiques phosphatasiques capables de dégrader le P_o en P_i ont été réduites au cours du vieillissement des turricules, ce qui serait probablement le cas pendant les 13 jours d'inactivité des vers de terre. Étant donné la sensibilité de la « valeur L » à l'augmentation de source de P non marqué dans le sol, il est probable que le turnover des vers de terre soit impliqué dans l'augmentation de cette valeur. Compte tenu de ces observations, nous avons estimé la contribution respective du turnover des vers de terre et des activités d'ingénieurs à la valeur L. Nos estimations ont montré une contribution maximale du turnover des vers à une proportion de 38%. En revanche, la contribution des activités d'ingénieurs a été au minimum de 62%. Par conséquent, la contribution du turnover des vers de terre à la valeur L est plus faible que celle des activités d'ingénieurs, suggérant que la majorité de l'effet positif des vers de terre sur l'augmentation du P prélevé par la plante provenait de leurs activités d'ingénieurs : ingestion

Discussion générale et perspectives

de sol, modification des communautés et des activités microbiennes, rejet de turricules enrichis dans le sol. Le résultat du chapitre 3.3 appuie cette supposition. Avec un taux de survie de 100%, les vers de terre ont permis une augmentation de 37% à 145% de la quantité de P total dans les biomasses aériennes des différentes variétés de riz.

A part la nutrition en P, les vers de terre améliorent également la nutrition en N. Pour la variété B22, l'augmentation de la quantité de N total dans la biomasse aérienne de la plante a été de 11% dans l'expérience où tous les vers ont complètement disparu (chapitre 3.2) tandis qu'elle a été de 355% dans l'expérience où le taux de survie des vers a été de 93% (chapitre 3.3). Probablement, le taux de survie des vers a eu une répercussion sur l'amplitude de l'effet positif des vers de terre sur l'acquisition de N par le riz. Pour les autres nutriments (K, Ca, Mg), nous avons noté une augmentation de leurs quantités dans la biomasse aérienne du riz en présence de vers de terre. L'effet est surtout remarqué lorsque l'on apporte de la dolomie.

En somme, les vers de terre jouent un rôle primordial dans la nutrition du riz, ce qui conduit à une meilleure croissance de la plante. Cela nous amène à synthétiser les effets des vers de terre sur la croissance du riz.

Dans la plupart de nos études en microcosmes, y compris l'essai testant l'effet des vers de terre sur la résistance du riz à la pyriculariose (chapitre 3.4), nous avons remarqué que les vers de terre affectent toujours, positivement, la croissance du riz. Cela est principalement lié à l'amélioration de la nutrition du riz (acquisition de nutriments) induite par les vers de terre que nous avons vu précédemment. Parmi les variables de croissance étudiées (biomasse aérienne, biomasse racinaire, rapport entre biomasse aérienne et biomasse racinaire, biomasse totale), l'effet positif des vers est surtout notoire sur la biomasse aérienne. Nos résultats en microcosmes montrent que, en moyenne, une augmentation de 27% (chapitre 3.4) à 99% (chapitre 3.3) des biomasses aériennes a été mesurée sous l'effet de la présence des vers de terre. Cela rejoint les résultats des revues de la littérature évaluant les impacts des vers de terre sur la production végétale (Brown et al. 1999 ; Scheu, 2003 ; van Groenigen et al. 2014). Toutefois, il est important de souligner que la réponse du riz à la présence des vers de terre (performance écologique) dépend des caractéristiques génétiques de la plante (chapitre 3.3). Notre étude a fait ressortir que l'effet des vers sur le rapport entre la biomasse aérienne et racinaire du riz pouvait être négatif (N4, W880), neutre (F172) ou positif (B22, F161, F182) selon les variétés du riz. Cela suppose que chaque variété a sa propre stratégie d'allocation des ressources. En outre, les réponses des variétés à la présence des vers de terre dépendent également des traits fonctionnels de la plante. Pour les variétés F161 et F172, la nutrition du riz est plus poussée en présence des vers de terre. L'effet des vers de terre sur la variété F182 est plus marqué pour la physiologie et la croissance de la plante que pour l'acquisition de nutriments. En revanche, les variétés B22 et N4 n'ont pas de réponse spécifique à la présence des vers de terre sur leurs traits fonctionnels. Mentionnons en outre que la fertilité du sol joue également un rôle important dans l'impact des vers de terre sur

la croissance des plantes. L'amplitude de l'effet positif des vers est beaucoup plus importante dans les sols pauvres (non fertilisés) que dans les sols riches (fertilisés) (chapitre 3.4).

Dans notre étude en mésocosmes où nous avons testé l'effet interactif des groupes fonctionnels de vers de terre et différents types de résidus localisés en surface ou enfouis, nous n'avons pas validé les effets positifs des vers de terre sur la croissance du riz observés en microcosmes. C'est l'effet « résidus » qui a principalement déterminé les variations observées sur les propriétés agronomiques et pédologiques. L'absence d'effet significatif des vers de terre est essentiellement liée au faible taux de survie des vers de terre à la fin de l'expérience dû aux conditions climatiques (déficit hydrique) défavorables au développement des vers. Nous avons vu précédemment que l'acquisition de N par le riz est réduite lorsque le taux de survie est faible. Cela est confirmé par la teneur en nitrate du sol qui était plus faible en présence des vers que lorsqu'ils étaient absents. Cependant, l'augmentation de la minéralisation de l'azote est le principal mécanisme par lequel les vers de terre affectent la croissance des plantes (Van Groenigen et al. 2014). Néanmoins, il est intéressant de noter que l'effet des vers de terre sur la croissance du riz diffère selon les espèces. L'espèce *P. corethrurus* induit une augmentation de la biomasse totale du riz (+8%) tandis que le cas contraire s'observe pour le *D. saliens* (-7%), supposant une meilleure adaptation de *P. corethrurus* dans des conditions de déficit hydrique. Cette capacité d'adaptation de *P. corethrurus* est cruciale pour les agrosystèmes malgaches qui sont très vulnérables au changement climatique.

1.1.2 Effet des vers de terre sur la résilience des agrosystèmes au changement climatique

Dans le contexte actuel de changement climatique, en particulier le réchauffement de la planète (IPCC, 2014), il est crucial d'identifier des pratiques agricoles résilientes à l'augmentation de la température. Dans l'optique de l'intensification des processus écologiques du sol, nous avons étudié si les sols ayant reçu des résidus à différentes localisations (enfouis et en surface) et précédemment travaillés par les vers de terre, sont capables de limiter les émissions de CO₂ (respiration microbienne du sol) lorsque la température augmente de 10°C, en comparaison de sol n'ayant pas été travaillé par des vers de terre.

Dans ce travail, notre résultat a indiqué que la présence antérieure des vers de terre dans les sols n'a pas d'impact significatif sur l'émission de CO₂. Par contre, la localisation des résidus s'est avéré un facteur déterminant de la respiration du sol. Celle-ci a été plus élevée dans les sols où les résidus étaient enfouis que lorsqu'ils étaient localisés en surface, indépendamment de la température. Pourtant, il importe de noter que l'indice de la sensibilité du sol à la température (Q10) ne varie pas significativement en fonction de la localisation des résidus, suggérant une adaptation du sol à l'augmentation de la température.

1.1.3 Effet des vers de terre sur la résistance du riz à la pyriculariose

Outre les contraintes des agrosystèmes malgaches en termes de changement climatique, l'attaque des pathogènes est également un facteur bloquant le développement des systèmes rizicoles pluviaux. Étant donné que la régulation de la population des bioagresseurs figure parmi les 4 grandes fonctions écologiques du sol, nous avons étudié l'implication des vers de terre dans la résistance du riz à la pyriculariose, la principale maladie fongique du riz à Madagascar.

Nos résultats montrent que l'apport de vers de terre seul ou de silice seul a permis de réduire la sévérité globale de la maladie, que ce soit en présence ou en absence de fertilisation NPK. De plus, l'apport combiné de silice et de vers de terre et de la silice offre le meilleur compromis entre le gain de biomasse et le gain de la maladie, surtout dans les traitements sans fertilisation NPK. Ce travail nous a permis de mettre en évidence que le biocontrôle de la pyriculariose basé sur l'apport de vers de terre et de silice peut être une stratégie alternative potentielle pour lutter contre cette maladie.

1.2 Impacts des fonctions des vers de terre sur les services agrosystémiques dans les systèmes rizicoles pluviaux en situation paysanne

1.2.1 Faisabilité de l'introduction des vers de terre au champ

Dans notre étude, la question sur la survie des vers de terre a été toujours au centre d'une discussion importante dans les essais à court terme en microcosmes et en mésocosmes, menant à la réflexion particulière sur la faisabilité de l'introduction des vers de terre au champ. Cependant, l'observation du taux de survie élevé des vers de terre dans la présente expérience d'introduction au champ confirme que les vers introduits ont la capacité de survivre et de s'adapter au champ, au moins pendant la saison des pluies. En effet, dans des situations au champ, les vers de terre disposent d'une stratégie d'adaptation à des conditions climatiques défavorables. En cas de sécheresse, ils peuvent se déplacer dans des horizons plus profonds (Fragoso, 1985, Lavelle et al., 1987), ou entrer en forme de résistance ou quiescence par enroulement en logette individuelle. Leur activité reprend lorsque le sol est réhumecté (Bachelier, 1963 ; Bouché, 1984 ; Pelosi, 2008). Dans ce travail, nous avons apporté des résidus (soit par restitution, soit par la pratique d'agriculture de conservations (AC)) pour servir de nourriture aux vers de terre et pour favoriser leur habitat en vue d'optimiser leurs fonctions. La gestion des parcelles à travers l'apport de résidus a principalement favorisé leur installation. Dans la pratique d'AC, leur densité a presque doublé par rapport à celle mesurée dans les pratiques conventionnelles de labour. Toutefois, nous n'avons pas observé des effets significatifs de l'interaction entre le mode de gestion du sol et l'apport de vers de terre sur les services agrosystémiques. C'est l'effet « vers de terre » qui a donné les résultats les plus marqués sur l'ensemble des services étudiés.

1.2.2 Impacts des vers de terre sur le recyclage des nutriments, la croissance et le rendement du riz au champ

Nos résultats montrent que les vers de terre ont la capacité d'améliorer la fertilité du sol via le recyclage des nutriments. Malgré le fait que les vers de terre ont été installés dans des parcelles initialement pauvres en éléments nutritifs (N et P) comparé aux parcelles témoins, leur introduction a permis de réhausser les teneurs et les stocks en ces éléments. Cela s'est traduit par une absence de différence significative entre les caractéristiques chimiques des sols avec vers et sans vers de terre à la fin de la troisième saison culturale. En outre, nous avons enregistré une plus forte quantité de N (+44%) et P total (+14%) accumulés dans la biomasse aérienne du riz en présence de vers de terre. Cela suggère que les vers de terre ont augmenté la biodisponibilité de ces nutriments dans le sol. Cependant, notre résultat dans le chapitre 3.2 évoque que le turnover des vers de terre peut contribuer jusqu'à 38% à l'augmentation du P prélevé par la plante. Il est alors important de se questionner si le turnover des vers de terre est impliqué dans l'augmentation de la biodisponibilité de ces éléments. Mentionnons toutefois que notre résultat sur la contribution du turnover des vers de terre à l'augmentation du prélèvement de P par le riz dans les essais en microcosmes a été surestimé. La principale raison réside dans le fait que contrairement au champ, les vers de terre n'ont pas la possibilité de s'adapter aux conditions défavorables à leur développement dans les pots. En outre, l'effet du turnover des vers dans les pots pourrait être très localisé dû à la faible quantité de sol utilisé (500 g) et le nombre élevé de plantes par pot (8 plantes par pot) induisant une plus forte colonisation du sol par les racines. Néanmoins, le calcul de la dose équivalente de P apportée par les tissus des vers de terre s'avère intéressante pour évaluer la contribution du turnover des vers de terre dans l'augmentation de la biodisponibilité en P au champ. En considérant la teneur en P des tissus des vers de terre mesurée dans le chapitre 3.2 (5,3 mgP kg⁻¹ vers de terre, masse sèche), l'apport annuel de 75 ind m⁻² de vers de terre correspondrait à une source de P estimée à 0,039 kgP ha⁻¹ an⁻¹. Cette quantité reste faible (7,9%) si on la compare à l'augmentation annuelle du stock en P induite par les vers de terre (+0,310 kgP ha⁻¹ an⁻¹) pendant les trois années de culture. En outre, les sols des Hautes Terres de Madagascar sont caractérisés par leur forte capacité de rétention en P, ce qui suppose que la faible quantité de P apportée par les tissus des vers de terre s'ils étaient tous morts et décomposés, serait rapidement adsorbée par le sol. Ces observations suggèrent que l'augmentation de la biodisponibilité du P est due essentiellement aux activités d'ingénieurs des vers de terre. De plus, le taux de survie des vers de terre élevé à la fin de la 4^{ème} année d'expérimentation indique que les vers de terre ont été actifs et s'adaptent bien aux conditions de champ et qu'ils ne sont probablement pas tous morts. Cela est par ailleurs confirmé par l'effet positif (+44%) des vers de terre sur la quantité de N total dans la biomasse aérienne du riz, étant donné que le taux de survie des vers a une influence sur l'acquisition de N par la plante. En outre, ces améliorations de la nutrition du riz confirment nos résultats dans le chapitre 3.3 où l'on a montré que la réponse de la variété F161 à la présence des vers de terre est principalement allouée

à sa nutrition. Ces effets positifs des vers de terre sur la nutrition des plantes ont probablement participé à l'augmentation significative (+45%) du rendement en grains de riz en présence de vers de terre dans notre expérience d'inoculation au champ. A part cela, la variété F161 a été classifiée comme étant la variété la plus répondeuse à la présence des vers de terre (variété à haute performance écologique) (chapitre 3.3). Il est donc probable que d'autres mécanismes tels que la production d'hormones de croissance (Puga-Freitas et al. 2012) induite par les vers de terre ont contribué à la réponse positive de la production primaire (croissance et rendement) de cette variété à la présence des vers de terre.

1.2.1 Impacts des vers de terre sur la séquestration de C et l'amélioration de la structure du sol au champ

L'étude de l'évolution du stock de C au cours des trois années de culture a révélé que la présence des vers de terre a permis un surplus d'augmentation annuelle du stock de C de $0,61 \text{ MgC ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$. Ceci peut être lié à l'effet positif des vers (+11%) sur la production de macroagrégats (diamètre > 2 mm). Ces structures biogéniques sont caractérisées par leur capacité à protéger le C de la minéralisation. Certes, nous avons précédemment vu que la présence des vers de terre a augmenté la biodisponibilité de N et de P, supposant une plus forte minéralisation. Cependant, les vers de terre jouent un double rôle dans la dynamique de C selon l'échelle temporelle. A court terme, ils favorisent la minéralisation du C en stimulant les activités des microorganismes dans leur tube digestif et dans les turricules frais (Lavelle et al., 1999; Brown et al., 2000; Chaoui et al., 2003). A long terme, ils augmentent la séquestration du C via la production d'agrégats stables (turricules âgés) assurant une protection physique de la matière organique (Lavelle & Martin, 1992; Bossuyt et al. 2006; Coq et al. 2007, Lubbers et al. 2017). Concernant la densité apparente, aucun effet significatif des vers de terre n'a été constaté malgré le fait que *P. corethrurus* est classifié dans la catégorie des espèces endogées à effet compactants (Blanchart et al., 2004). La densité des vers de terre utilisée dans cette étude permet donc de maintenir la structure du sol.

2 Aspect pratique de ce travail et perspectives

2.1 Biofertilisation à base de vers de terre : une proposition d'innovation agricole

L'un des facteurs bloquant l'application des effets positifs des vers de terre observés dans les essais en laboratoire vers des échelles supérieures réside dans la validation des résultats obtenus, notamment au champ où plusieurs facteurs environnementaux ne sont pas contrôlés. Le point central et novateur de cette thèse repose essentiellement dans l'aspect appliqué des rôles des vers de terre dans des conditions réelles en situation paysanne. La présente étude a permis une avancée importante dans la compréhension des processus écologiques par lesquels les vers de terre affectent les principales fonctions écologiques du sol et les services agrosystémiques associés. En outre, ce travail a permis d'évaluer les effets de l'introduction des vers de terre sur plusieurs

Discussion générale et perspectives

services agrosystémiques dans des systèmes rizicoles pluviaux à faible intrants (Figure 62). Notre résultat a montré que les vers de terre ont des effets positifs sur le recyclage des nutriments et la production végétale. Ils ont la capacité d'améliorer la fertilité du sol via une augmentation de la biodisponibilité de N et de P. Nous avons trouvé une hausse respective de 44,1% et de 13,9% des quantités de N total et de P total dans la biomasse aérienne du riz. Cette stimulation de la nutrition de la plante a contribué à l'augmentation du rendement en grains du riz de l'ordre de 44,6%. Par ailleurs, les vers de terre jouent un rôle important dans la résistance du riz à la pyriculariose. Combiné à la silice, ils permettent d'offrir un meilleur compromis entre le gain de biomasse et la sévérité de la maladie. Grâce à ces effets bénéfiques, la biofertilisation à base de vers de terre constitue un levier d'action important dans le cadre d'une intensification écologique de l'agriculture. Les retombées peuvent être considérables pour les agrosystèmes à bas intrants que ce soit à Madagascar ou dans d'autres zones tropicales. Étant donné que les vers de terre ont la capacité de réduire l'utilisation des intrants tout en augmentant la production agricole, ils peuvent être d'excellents partenaires potentiels pour les petits agriculteurs. A l'heure actuelle où la promotion de l'agriculture familiale constitue une voie considérable pour le développement de l'agriculture et la réduction de l'insécurité alimentaire à Madagascar, la pratique innovante basée sur la manipulation des vers de terre pourrait être une solution capitale à proposer aux agriculteurs. L'avantage de cette pratique agro-écologique réside dans la facilité de sa mise en œuvre et dans le faible coût alloué à l'introduction des vers de terre. En effet, l'espèce *Pontoscolex corethrurus* utilisée dans ce travail est facile à collecter et se trouve dans presque toutes les régions de Madagascar.

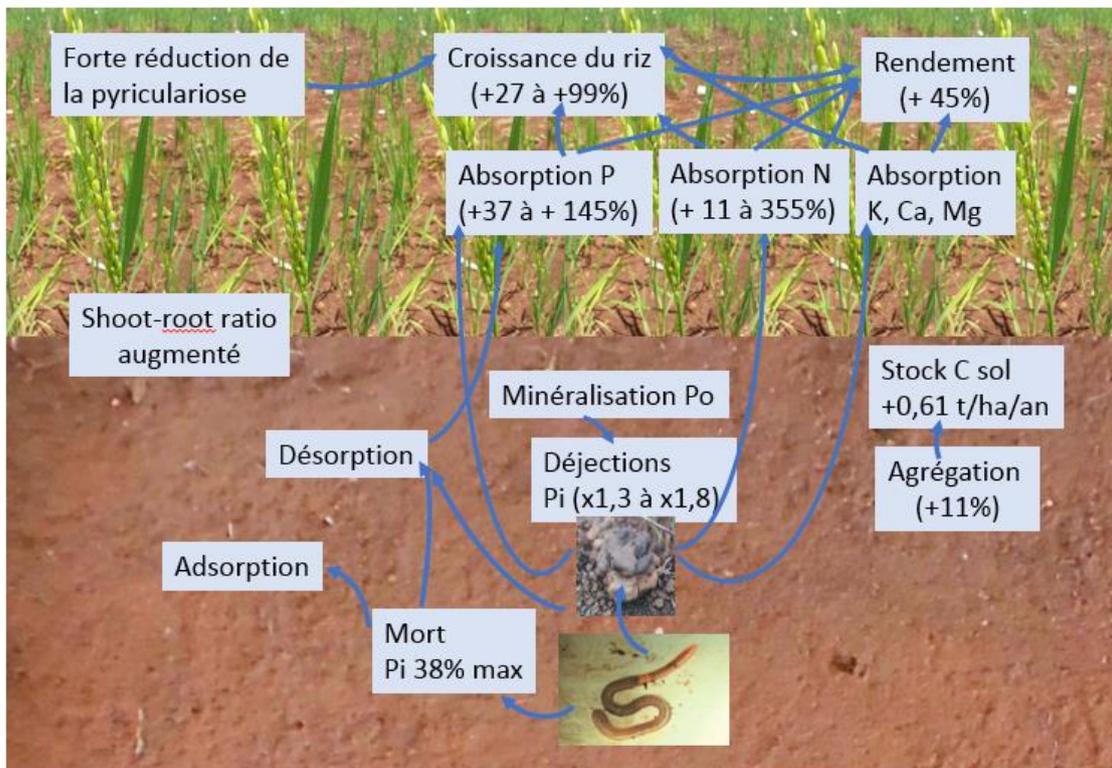


Figure 61 : Schéma récapitulant les effets des vers de terre sur le sol et la plante

2.2 Des nouvelles pistes de recherche

Les pistes de recherches proposées dans cette partie sont principalement basées sur des interventions destinées à accroître les effets bénéfiques des vers de terre dans la mise en place des services agrosystémiques au champ.

- *Utilisation au champ des variétés offrant un compromis entre performances écologique et agronomique*

Dans le chapitre 3.3, nous avons catégorisé les variétés selon leur performance écologique (réponse à la présence des vers de terre) et leur performance agronomique (rendement en présence de fertilisation minérale). Notre étude a fait ressortir 3 catégories de variétés : (i) variétés à haute performance écologique (F161), (ii) à haute performance agronomique (F182, W880), et variétés offrant un compromis entre performances écologique et agronomique (B22, F172, N4). Le principal critère des paysans dans le choix de l'utilisation des variétés repose essentiellement sur la capacité de la variété à fournir une bonne productivité (Raboin et al., 2014). Afin d'optimiser les effets des vers de terre sur les services agrosystémiques tout en gardant les variétés offrant une bonne productivité, l'utilisation des variétés offrant un compromis entre performances écologique et agronomique s'avère intéressante. Nous suggérons donc de réaliser une expérience sur l'introduction des vers de terre au champ en utilisant ces variétés. Étant donné que les variétés répondent différemment à la présence des vers de terre, l'utilisation de la variété B22 revêt une importance particulière dans le sens où l'on a déjà montré un effet positif des vers de terre et de la silice dans la réduction de l'attaque de la pyriculariose foliaire. Ainsi, parallèlement à l'évaluation de l'effet des vers de terre au champ sur la performance écologique et agronomique de B22, il serait possible d'évaluer le rôle bénéfique des vers de terre dans le contrôle de la pyriculariose foliaire et de poursuivre les mesures sur la pyriculariose paniculaire. Plus largement, il faudrait développer des recherches avec des sélectionneurs du riz pour arriver à des variétés « agroécologiques » qui répondraient positivement à l'intensification des processus écologiques du sol, dont l'activité « ingénieurs » des vers de terre.

Optimisation des fonctions des vers de terre par l'augmentation de la quantité de résidus utilisée au champ

L'étude de l'introduction des vers de terre au champ a permis de mettre en évidence que la pratique de l'agriculture de conservation a favorisé l'installation des vers de terre introduits. Néanmoins, aucune interaction significative entre le mode de gestion du sol et l'introduction des vers de terre n'a été observée. En effet, compte tenu du fait que les résidus de la culture produite sur la parcelle constituaient les résidus restitués au sol pour servir de mulch en AC, les quantités de résidus restituées pendant la durée de notre expérimentation ne permettent pas de couvrir la totalité de la parcelle jusqu'à la récolte. Cela limite les effets bénéfiques de l'AC liés aux fonctions agroécologiques du mulch (rétention en eau, meilleure infiltration de l'eau, recyclage des nutriments) (Ranaivoson, 2017). Nous suggérons d'augmenter la biomasse des résidus

restituée au sol pour amplifier les bénéfices tirés des fonctions interactives du mulch et des vers de terre. En outre, une récente revue de van Groenigen et al. (2014) a évoqué que l'effet positif des vers de terre est plus intensifié lorsque l'on apporte des quantités de résidus $\geq 6000 \text{ kg C ha}^{-1}\text{an}^{-1}$. Cet effet chute considérablement dans le cas où la quantité de résidus apportée est faible (entre 0 - 2999 $\text{kg C ha}^{-1}\text{an}^{-1}$).

Poursuivre l'expérience sur l'étude de la dynamique de Pi dans les vers de terre pour une durée plus longue

Nous avons vu dans le chapitre 3.1 que les turricules des vers de terre présentent des teneurs élevées en Pi par rapport au sol non ingéré pendant au moins 23 jours. La courte durée de notre expérience n'a pas pu vérifier la durée pendant laquelle ce pool de Pi reste une source de P pour les racines des plantes. Des expériences complémentaires devront nous permettre de mieux savoir pendant quelle durée (en semaines ou mois) ce pool reste plus important que celui du sol non ingéré par les vers de terre.

Références bibliographiques

-A-

- Abbasi M. K., Tahir M. M., Sabir N., Khurshid M., 2015. Impact of the addition of different plant residues on nitrogen mineralization–immobilization turnover and carbon content of a soil incubated under laboratory conditions. *Solid Earth* 6:197–205.
- Abed-Ashtiani F., Arzanlou M., Nasehi A., Kadir J., Vadamalai G., Azadmard-Damirchi S., 2018. Plant tonic, a plant-derived bioactive natural product, exhibits antifungal activity against rice blast disease. *Industrial Crops & Products* , 112: 105-112.
- Achat, D.L., Bakker, M.R., Morel, C., 2009. Process-based assessment of phosphorus availability in a low phosphorus sorbing forest soil using isotopic dilution methods. *Soil Science Society of America Journal* 73: 2131-2142.
- Aira, M., Monroy, F., Domínguez, J., 2005. Ageing effects on nitrogen dynamics and enzyme activities in casts of *Aporrectodea caliginosa* (Lumbricidae). *Pedobiologia* 49, 467–473.
- Aira, M., Monroy, F., Domínguez, J., 2009. Changes in bacterial numbers and microbial activity of pig slurry during gut transit of epigeic and anecic earthworms. *Journal of Hazardous Materials* 162, 1404–1407.
- Altieri M. A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74:19–31.
- Altieri M. A., 2002. Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 93, 1–24.
- Altieri M., A., Nicholls C. I., Henao A., Lana M. A., 2015. Agroecology and the design of climate-change resilient farming systems. *Agronomy for Sustainable Development* . 35: 869–890.
- Amador J. A., Görres J., 2005. Role of the anecic earthworm *Lumbricus terrestris* L. in the distribution of plant residue nitrogen in a corn (*Zea mays*)-soil system. *Applied Soil Ecology* 30:203-214.
- Andriatsimalona D., 2004. Les maladies du riz sur les Hautes Terres, FOFIFA, 4 p.
- Ayuke F.O., Lagerlöf J., Jorge G., Söderlund S., Muturi J.J., Sarosh B.R., Meijer J., 2017. Effects of biocontrol bacteria and earthworms on the severity of *Alternaria brassicae* disease and the growth of oilseed rape plants (*Brassica napus*). *Applied Soil Ecology*, 117-118: 63-69.

-B-

- Bachelier G., 1978. La faune des sols. Son écologie et son action. ORSTOM Paris. Initiations - Documentations techniques N° 38.
- Baggs E. M., Rees R. M., Smith K. A., 2000. Nitrous oxide emissions from soils after incorporating crop residues. *Soil Use Management* 16:82–87.

- Baker G., Carter P., Barrett V., 1999. Influence of earthworms, *Aporrectodea spp.* (Lumbricidae), on lime burial in pasture soils in south-eastern Australia. *Soil Research* 37, 831-847.
- Bakht J., Shafi M., Jan M. T., Shah Z., 2009. Influence of crop residue management, cropping system and N fertilizer on soil C and N dynamics and sustainable wheat (*Triticum aestivum L.*) production. *Soil Till Research* 104:233-240.
- Bakker M.R., Garbaye J., Nys C., 2000. Effect of liming on the ectomycorrhizal status of oak. *Forest Ecology and Management* 126, 121-131.
- Ballini E., Nguyen T. & Morel J., 2013. Diversity and genetics of nitrogen-induced susceptibility to the blast fungus in rice and wheat. *Rice*, 6: 1–13.
- Bardgett R.D., van der Putten W.H., 2014. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515, 505-511.
- Barois I., Lavelle P., 1986. Changes in respiration rate and some physicochemical properties of a tropical soil during transit through potoscolex-corethrus (Glossoscolecidae, Oligochaeta). *Soil Biology and Biochemistry* 18, 539-541.
- Bernard L., Chapuis-Lardy L., Razafimbelo, T., Razafindrakoto M., Pablo A.L., Legname E., Poulain J., Bruls T., O'Donohue M., Brauman A., Chotte J.L., Blanchart, E., 2012. Endogeic earthworms shape bacterial functional communities and affect organic matter mineralization in a tropical soil. *Isme Journal* 6, 213-222.
- Bertrand M., Blouin M., Barot S., Charlier A., Marchand D., Roger-Estrade J., 2015. Biocontrol of eyespot disease on two winter wheat cultivars by an anecic earthworm (*Lumbricus terrestris*). *Applied Soil Ecology*, 96: 33-41.
- Bezemer T.M. & van Dam N.M., 2005. Linking aboveground and belowground interactions via induced plant defences. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 617-624.
- Binet F., Fayolle L., Pussard M., Crawford J., Traina S., Tuovinen O., 1998. Significance of earthworms in stimulating soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils* 27, 79-84.
- Bishop H. O., Grieve I. C., Chudek J. A., 2008. Liming upland grassland: the effects on earthworm communities and the chemical characteristics of carbon in casts. *European Journal of Soil Science* 59:526–531.
- Bityutskii N., Kaidun P. & Yakkonen K., 2016. Earthworms can increase mobility and bioavailability of silicon in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 99: 47-53.
- Bityutskii N.P., Maiorov E.I., Orlova N.E., 2012. The priming effects induced by earthworm mucus on mineralization and humification of plant residues. *European Journal of Soil Biology* 50, 1-6
- Blanchart E., 1992. Role of earthworms in the restoration of the macroaggregate structure of a de-structured savanna soil under field conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 24 : 1587-1594.

- Blanchart E., Bernoux M., Sarda X., 2007. Effect of direct seeding mulch-based systems on soil carbon storage and macrofauna in Central Brazil. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72:81-87.
- Blanchart E., Lavelle P. & Spain A.V., 1990. Effects of biomass and size of *Millsonia anomala* (Oligochaeta : Acanthodrilidae) on particle aggregation in a tropical soil in the presence of *Panicum maximum* (Gramineae). *Biology and Fertility of Soils*, 10 : 113-120.
- Blanchart E., Lavelle P., Braudeau E., Le Bissonnais Y. and Valentin C., 1997. Regulation of soil structure by geophagous earthworm activities in humid savannas of Cote d'Ivoire. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 29, No. 3/4, pp. 431-439.
- Blanchart E., Villenave C., Viallatoux A., Barthès B., Girardin C., Azontonde A., Feller C., 2006. Long-term effect of a legume cover crop (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) on the communities of soil macrofauna and nematofauna, under maize cultivation, in southern Benin. *European Journal of Soil Biology* 42:136-144.
- Blanchart E., Albrecht A., Alegre J., Duboisset A., Gilot C., Pashanasi B., Lavelle P. & Brussaard L., 1999. Effects of earthworms on soil structure and physical properties. In Lavelle, P., Brussaard, L., Hendrix, P. (eds) *Earthworm management in tropical agroecosystems*. CAB International, Wallingford, pp. 149–172.
- Blanchart E., Albrecht A., Brown G., Decaens T., Duboisset A., Lavelle P., Mariani L., Roose E., 2004. Effects of tropical endogeic earthworms on soil erosion. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 104, 303–315.
- Blanchart E., Bernoux M., Sarda X., Siqueira Neto, Cerri C. C., Piccolo M., Douzet, J. M., Scopel, E. & Feller C., 2007. Effect of direct seeding mulch-based systems on soil carbon storage and macrofauna in central Brazil. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72: 81-87.
- Blanchart E., Marilleau N., Chotte J.-L., Drogoul A., Perrier E., Cambier C., 2009. SWORM: an agent-based model to simulate the effect of earthworms on soil structure. *European Journal of Soil Science* 60, 13–21.
- Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Peres G., Tondoh J.E., Cluzeau D., Brun J.-J., 2013. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services: Earthworm impact on ecosystem services. *European Journal of Soil Science* 64, 161–182.
- Blouin M., Zuily-Fodil Y., Pham-Thi A.T., Laffray D., Reversat G., Pando A., Tondoh J. & Lavelle P., 2005. Belowground organism activities affect plant aboveground phenotype, inducing plant tolerance to parasites. *Ecology Letters* , 8, 202-208.
- Bolan N., Robson A., Barrow N., Aylmore L., 1984. Specific activity of phosphorus in mycorrhizal and non-mycorrhizal plants in relation to the availability of phosphorus to plants. *Soil Biology and Biochemistry* 16, 299-304.

- Bommarco R., Kleijn D., Potts S. G., 2013. Ecological intensification : harnessing ecosystem services for food security. *Trends in Ecology and Evolution* 28: 230-238.
- Bond-Lamberty B., Thomson A., 2010. Temperature-associated increases in the global soil respiration record. *Nature*, 464, 579-582.
- Bonkowski M., Griffiths B., Scrimgeour C., 2000. Substrate heterogeneity and microfauna in soil organic 'hotspots' as determinants of nitrogen capture and growth of ryegrass. *Applied Soil Ecology* 14:37-53.
- Bossuyt H., Six J., Hendrix P.F., 2004. Rapid incorporation of fresh residue-derived carbon into newly formed microaggregates within earthworm casts. *European Journal of Soil Science* 55, 393- 399.
- Bossuyt H., Six J., Hendrix P.F., 2006. Interactive effects of functionally different earthworm species on aggregation and incorporation and decomposition of newly added residue carbon. *Geoderma* 130, 14-25.
- Bouché M. B., 1977. Stratégies Lombriciennes. In: Lohm U, Persson T (eds) *Soil organism as components of ecosystems*, Ecological Bulletins, Stockholm, pp 122-132
- Bouché M.B., 1971. *Lombriciens de France: écologie et systématique*. Institut national de la recherche agronomique.
- Bouché M.B., 1975. Action de la faune sur les états de la matière organique dans les écosystèmes. In Kilbertus, G., Reisinger, O., Mourey , A., Cancela da Fonseca, J.A. (eds) *Humification et biodégradation*. Pierron, Sarreguemines, France, pp. 157-168.
- Boyer J., Michellon, J., Reversat, G., 1998. Interactions between earthworms and plant parasitic nematodes in various crops on Reunion island. In: *Agrobiological Management of Soils and Cropping Systems*, Paris, France. Cirad colloques, pp. 323-333.
- Bradford M.A., Davies C.A., Frey S.D., Maddox T.R., Melillo J.M., Mohan J.E., Reynolds J.F., Treseder K.K., Wallenstein M.D., 2008. Thermal adaptation of soil microbial respiration to elevated temperature. *Ecology Letters* 11: 1316-1327
- Brookes P.C., 1982. Correction for seed-phosphorus effects in L-value determinations. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture* 33, 329-335.
- Brown G.G., Edwards C.A. & Brussaard L., 2004. How earthworms affect plant growth: burrowing into the mechanisms. In: Edwards C.A. (Ed.) *Earthworm Ecology*, second ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 13-49.
- Brown G.G., Barois I., Lavelle P., 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology* 36, 177-198.
- Brown G.G., Pashanasi B., Villenave C., Patron J., Senapati B.K., Giri S., Barois I., Lavelle P., Blanchart E., Blakemore R., 1999. Effects of earthworms on plant production in the tropics. *Earthworm Management in Tropical Agroecosystems* 5, 87-147.

- Brussaard L., 2012. Ecosystem services provided by the soil biota. In: Wall DH, Bardgett RD, Behan-Pelletier V, Herrick JE, Jones TH, Ritz K (eds) *Soil Ecology and Ecosystem Services*, University Press, Oxford, pp 45–58
- Brussaard L., et al., 2010. Reconciling biodiversity conservation and food security : scientific challenges for a new agriculture. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 2: 34-42.
- Bruussaard L., 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 121: 233-244.
- Bünemann E., Bartłomiej P., Elhers K., 2011. Characterization of phosphorus forms in soil microorganisms. In: Bünemann, E.K., Oberson, A., Frossard, E. (Eds.), *Phosphorus in Action, Soil Biology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 37–57
- Businelli M., Perucc P., Patumi M. & Giusquian P., 1984. Chemical composition and enzymic activity of some worm casts. *Plant and Soil*, 80, 417-422.
- Butenschoen O., Marhan S., Langel R., Scheu S., 2009. Carbon and nitrogen mobilisation by earthworms of different functional groups as affected by soil sand content. *Pedobiologia* 52:263-272
- Byers J. E., Cuddington K. , Jones C. G., Talley T. S., 2006. Using ecosystem engineers to restore ecological systems. *Trends Ecol Evol* 21:493–500

-C-

- Cenci, R.M., Jones, R.J.A., 2009. Holistic approach to biodiversity and bioindication in soil. EUR 23940 EN, Office for the Official Publications of the European Communities.
- Chakraborty D., Nagarajan S., Aggarwal P., 2008. Effect of mulching on soil and plant water status, and the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) in a semi-arid environment. *Agric Water Manag* 95:1323–1334
- Chan, K., 2003. Using earthworms to incorporate lime into subsoil to ameliorate acidity. *Communications in soil science and plant analysis* 34, 985-997.
- Chan, K., Baker, G., Conyers, M., Scott, B., Munro, K., 2004. Complementary ability of three European earthworms (Lumbricidae) to bury lime and increase pasture production in acidic soils of south-eastern Australia. *Applied Soil Ecology* 26, 257-271.
- Chan, K.Y., 2001. An overview of some tillage impacts on earthworm population and diversity-implications for functioning in soils. *Soil Till. Res.* 57, 179–191.
- Chang C-H., Szlavecz K., Buyer J. S., 2016. Species-specific effects of earthworms on microbial communities and the fate of litter-derived carbon. *Soil Biology & Biochemistry* 100, 129-139
- Chaoui, H.I., Zibilske, L.M., Ohno, T., 2003. Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 295–302.

- Chapuis-Lardy, L., Brauman, A., Bernard, L., Pablo, A.L., Toucet, J., Mano, M.J., Weber, L., Brunet, D., Razafimbelo, T., Chotte, J.L., Blanchart, E., 2010. Effect of the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* on the microbial structure and activity related to CO₂ and N₂O fluxes from a tropical soil (Madagascar). *Applied Soil Ecology* 45, 201–208.
- Chapuis-Lardy, L., Brossard, M., Lavelle, P., Schouller, E., 1998. Phosphorus transformations in a ferralsol through ingestion by *Pantoscolex corethrurus*, a geophagous earthworm. *European Journal of Soil Biology* 34, 61-67.
- Chapuis-Lardy, L., Le Bayon, R.-C., Brossard, M., López-Hernández, D., Blanchart, E., 2011. Role of Soil Macrofauna in Phosphorus Cycling, in: Bünemann, E., Oberson, A., Frossard, E. (Eds.), *Phosphorus in Action*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 199–213. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_8
- Chapuis-Lardy, L., Ramiandrisoa, R., Randriamanantsoa, L., Morel, C., Rabeharisoa, L., Blanchart, E., 2009. Modification of P availability by endogeic earthworms (*Glossoscolecidae*) in Ferralsols of the Malagasy Highlands. *Biology and Fertility of Soils* 45, 415-422.
- Chauvel A., Grimaldi M., Barros E., Blanchart E., Desjardins T., Sarrazin M., Lavelle P., 1999. An amazonian earthworm compacts more than a bulldozer. *Nature*, 398: 32-33.
- Chauvin, C., Dorel, M., Villenave, C., Roger-Estrade, J., Thuries, L., Risède, J.-M., 2015. Biochemical characteristics of cover crop litter affect the soil food web, organic matter decomposition, and regulation of plant-parasitic nematodes in a banana field soil. *Applied Soil Ecology* 96, 131–140.
- Coleman, D.C., Wall, D.H., 2015. Soil fauna: occurrence, biodiversity, and roles in ecosystem function, In: Paul, E.A. (Ed.), *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* (Fourth Edition). Academic Press, Boston, pp. 111-149.
- Collins H. P., Elliott L. F., Papendick R. I., 1990. Wheat straw decomposition and changes in decomposability during field exposure. *Soil Sci Soc Am J* 54:1013-1016
- Cook, S.M.F., Linden, D.R., 1996. Effect of food type and placement on earthworm (*Aporrectodea tuberculata*) burrowing and soil turnover. *Biology and Fertility of Soils* 21, 201-206.
- Coppens F., Garniera P., Findeling A., Merck R., Recousa S., 2007. Decomposition of mulched versus incorporated crop residues : Modelling with PASTIS clarifies interactions between residue quality and location. *Soil Biology & Biochemistry* 39, 2339–2350.
- Coppens F., Merckx R., Recous S., 2006. Impact of crop residue location on carbon and nitrogen distribution in soil and in water-stable aggregates. *Eur. J. Soil Sci.* 57: 570 - 582
39:2119-2128
- Coq, S., Barthès, B.G., Oliver, R., Rabary, B., Blanchart, E., 2007. Earthworm activity affects soil aggregation and organic matter dynamics according to the quality and localization of

- crop residues—An experimental study (Madagascar). *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2119–2128.
- Costa M. G., Gama-Rodrigues A. C., Gonçalves J. L. , Gama-Rodrigues E. F., Sales M. V. and Aleixo S., 2016. *Forests*, 7-15.
- Coulis, M., Bernard, L., Gerard, F., Hinsinger, P., Plassard, C., Villeneuve, M., Blanchart, E., 2014. Endogeic earthworms modify soil phosphorus, plant growth and interactions in a legume–cereal intercrop. *Plant and Soil* 379, 149-160.
- Cox W.J., Zobel R.W., van Es H.M., Otis D.J., 1990. Tillage effects on some physical and corn physiological characteristics. *Agron. J.* 82, 806–812.
- Curry, J.P., Schmidt, O., 2007. The feeding ecology of earthworms – A review. *Pedobiologia* 50, 463–477.
- Curtin D., Selles F., Wang H., Campbell C.A., Biederbeck V.O., 1998. Carbon dioxide emissions and transformation of soil carbon and nitrogen during wheat straw decomposition. *Soil Sci Soc Am J* 62: 1035-1041

-D-

- Darwin C., 1881. The formation of vegetable mould through the action of worms with some observations on their habits. John Murray, London, 298 pp.
- Datnoff L.E., Deren C.W. & Snyder G.H., 1997. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. *Crop Protection*, 16: 525-531.
- Davidson, E.A., Janssens, I.A.Luo, Y.Q., 2006. On the variability of respiration in terrestrial ecosystems: moving beyond Q(10). *Global Change Biology*, 12(2): 154-164.
- De Deyn G. B., Raaijmakers C. E., Van der putten W. H., 2004. Plant community development is affected by nutrients and soil biota. *Journal of ecology*
- Devliegher W., Verstraete W., 1996. *Lumbricus terrestris* in a soil core experiment: Effects of nutrientenrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP) on the availability of plant nutrients and heavy metals. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 489-496.
- Di, H., Condon, L., Frossard, E., 1997. Isotope techniques to study phosphorus cycling in agricultural and forest soils: a review. *Biology and Fertility of Soils* 24, 1-12.
- Doan Thu T., Ngo Thi P., Rumpel C., Nguyen Van B., Jouquet P., 2013. Interactions between compost, vermicompost and earthworm influence plant growth and yield. A one-year greenhouse experiment. *Sci Hortic* 160:148-154
- Dordas C., 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 28: 33-46.
- Doubé B.M., Stephens P.M., Davoren C.W., Ryder M.H., 1994. Interactions between earthworms, beneficial soil microorganisms and root pathogens. *Applied Soil Ecology* 1: 3-10.

- Douglas C. L., Rickman R. W., 1992. Estimating crop residue decomposition from air temperature, initial nitrogen content and residue placement. *Soil Sci Soc Am J* 56:272-278
- Dusserre J., Raveloson H., Michellon R., Gozé E., Auzoux S. & Sester M., 2017. Conservation agriculture cropping systems reduce blast disease in upland rice by affecting plant nitrogen nutrition. *Field Crops Research*, 204: 208-221.

-E-

- Edwards C.A. & Bohlen, P.J., 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*. Springer.
- Edwards C.A., 2004. *Earthworm ecology*. CRC Press.
- Efisie A. A., Umunna C. B., Orluchukwu J. A., 2014. Effects of yield of some lowland rice (*Oryza sativa* L.) in coastal region of Southern Nigeria. *J Plant Breed Crop Sci* 6:119-127
- Elmer W.H. 2009. Influence of earthworm activity on soil microbes and soilborne diseases of vegetables. *Plant Disease*, 93: 175-179.
- Eriksen-Hamel N. S., Speratti A. B., Whalen J. K., Légère A., Madramootoo C., 2009. Earthworm populations and growth rates related to long-term crop residue and tillage management. *Soil Till. Res.* 104, 311–316.

-F-

- Fageria, N., Baligar, V., 2008. Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable crop production. *Advances in agronomy* 99, 345-399.
- Fageria, N., Knupp, A., 2014. Influence of lime and gypsum on growth and yield of upland rice and changes in soil chemical properties. *Journal of Plant Nutrition* 37, 1157-1170.
- Fageria, N., Zimmermann, F., Baligar, V., 1995. Lime and phosphorus interactions on growth and nutrient uptake by upland rice, wheat, common bean, and corn in an oxisol. *Journal of Plant Nutrition* 18, 2519-2532.
- Fageria, N.K., 2001. Effect of liming on upland rice, common bean, corn, and soybean production in cerrado soil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 36, 1419-1424.
- Fairhurst, T., Lefroy, R.D.B., Mutert, E., Batjes, N., 1999. The importance, distribution and causes of phosphorus deficiency as a constraint to crop production in the tropics. *Agroforestry Forum* 9, 2-8.
- Fang, C.M., Smith, P., Moncrieff, J.B., Smith, J.U., 2005. Similar response of labile and resistant soil organic matter pools to changes in temperature, *Nature* 433: 57-59.
- FAO, 2011. *The State of Food Insecurity in the World. How does international price volatility affect domestic economies and food security?* pp 4-51.
- Feng X.J., Simpson M.J., 2009. Temperature and substrate controls on microbial phospholipid fatty acid composition during incubation of grassland soils contrasting in organic matter quality, *Soil Biology & Biochemistry* 41, 804-812.

- Filippi M.C. & Prabhu A.S., 1998. Relationship between panicle blast severity and mineral nutrient content of plant tissue in upland rice. *Journal of Plant Nutrition*, 21: 1577-1587.
- Fischer O.A., Matlova L., Bartl J., Dvorska L., Svastova P., du Maine R., Melicharek I., Bartos M., Pavlik I., 2003. Earthworms (Oligochaeta, Lumbricidae) and mycobacteria. *Veterinary Microbiology*, 91: 325-338.
- Formanek, P., Vranova, V., 2002. A contribution to the effect of liming on forest soils: review of literature. *Journal of Forest Science* 48, 182-190.
- Fragoso, C., Brown, G., Patrón, J., Blanchart, E., Lavelle, P., Pashanasi, B., Senapati, B., Kumar, T., 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of earthworms. *Applied Soil Ecology* 6, 17-35.
- Frey S.D, Drijber R., Smith H., Melillo J., 2008. Microbial biomass, functional capacity, and community structure after 12 years of soil warming. *Soil Biology & Biochemistry* 40, 2904–2907.
- Friberg H., Lagerlöf J., Hedlund K., Rämert B., 2008. Effect of earthworms and incorporation of grass on *Plasmodiophora brassicae*. *Pedobiologia*, 52: 29-39.
- Frossard E., Achat, D.L., Bernasconi S.M., Bunemann E.K., Fardeau J.C., Jansa J., Morel C., Rabeharisoa L., Randriamanantsoa L., Sinaj S., Tamburini F., Oberson A., 2011. The Use of Tracers to Investigate Phosphate Cycling in Soil-Plant Systems, In: Bunemann, E.K., Oberson, A., Frossard, E. (Eds.), *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*, pp. 59-91.
- Frossard E., Morel J., Fardeau J., Brossard M., 1994. Soil isotopically exchangeable phosphorus: a comparison between E and L values. *Soil Science Society of America Journal* 58, 846-851.
- Frossard, E., Condrón, L.M., Oberson, A., Sinaj, S., Fardeau, J.C., 2000. Processes governing phosphorus availability in temperate soils. *Journal of Environmental Quality* 29, 15-23.
- Frostegård Å., Bååth E., Tunlio A., 1993. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 723-730.

-G-

- Gérard F., 2016. Clay minerals, iron/aluminum oxides, and their contribution to phosphate sorption in soils—A myth revisited. *Geoderma* 262, 213-226.
- Ghidey and Alberts E. E., 1973. Residue type and effects on decomposition: field study and model evaluation. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 36, 1611–1617
- Glaser B., Lehmann J., Zech W., 2002. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal—a review. *Biology and Fertility of Soils* 35, 219-230.

Guggenberger G., Haumaier L., Thomas R.J., Zech W., 1996. Assessing the organic phosphorus status of an Oxisol under tropical pastures following native savanna using P-31 NMR spectroscopy.

-H-

Hallaire V., Curmi P., Duboisset A., Lavelle P., Pashanasi B., 2000. Soil structure changes induced by the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* and organic inputs in a Peruvian ultisol. *European Journal of Soil Biology* 36, 35–44.

Hamdi S., Chevallier T., Ben Aïssa N., Ben Hammouda M., Gallali T., Chotte J.L., Bernoux M., 2011. Short-term temperature dependence of heterotrophic soil respiration after one-month of pre-incubation at different temperatures. *Soil Biol Biochem* 43, 1752-1758.

Harper S. H. T., Lynch J.M., 1981. The kinetics of straw decomposition in relation to its potential to produce the phytotoxin acetic acid. *European Journal of Soil Science* 32:627-637

Hartley I.P., Ineson P., 2008. Substrate quality and the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition, *Soil Biology & Biochemistry* 40, 1567-1574.

Haynes, R.J., Naidu, R., 1998. Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 51, 123-137.

Heal O. W., Anderson J. M., Swift M. J., 1997. Plant litter quality and decomposition: An historical overview. In: Cadisch G, Giller KE (eds) *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*, CAB International, Wallingford, pp 3-30

Hinsinger P., 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* 237, 173-195.

Hobbs P. & Govaerts B., 2010. How conservation agriculture can contribute to buffering climate change. In *Climate Change and Crop Production* Reynolds M (ed.), CABI, Wallingford, Oxfordshire, UK. Chapter 10: 177-199.

Holling C. S., 1973. Resilience and Stability of Ecological Systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. 4:1-23

Huhta V., 2006. The role of soil fauna in ecosystems: A historical review. *Pedobiologia* 50, 489-495.

-I-

Illana A., Rodriguez-Romero J. & Sesma A., 2013. Major plant pathogens of the Magnaporthaceae family. In: Horwitz B.A., Mukherjee P.K., Mukherjee M. & Kubicek C.P. (Eds.), *Genomics of Soil- and Plant- Associated Fungi*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

- IPCC, 2007. Climate Change 2007: the physical scientific basis. Contribution of working Group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Geneva, CH.
- IPCC, 2014. Climate change, 2014. In: Edenhofer, O., Pichs-Madruga, R., Sokona, Y., Farahani, E., Kadner, S., Seyboth, K., Adler, A., Baum, I., Brunner, S., Eickemeier, P., Kriemann, B., Savolainen, J., Schloemer, S., Von Stechow, C., Zwickel, T., Minx, J.C. (Eds.), Mitigation of Climate Change. in: Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, p. 31.

-J-

- James S.W., 1991. Soil, nitrogen, phosphorus, and organic-matter processing by earthworms in tallgrass prairie. *Ecology*, 72, 2101-2109.
- Jana U., Barot S., Blouin M., Lavelle P., Laffray D. & Repellin A., 2010. Earthworms influence the production of above- and belowground biomass and the expression of genes involved in cell proliferation and stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *Soil Biology and Biochemistry*, 42: 244–252.
- Janković L., Radenković-Damnjanović B., Vučinić M., Šefer D., Teodorović R., Đorđević M., Radisavljević K., 2015. Effects of Fish Meal Replacement by Red Earthworm (*Lumbricus Rubellus*) Meal on Broilers' Performance and Health/Uticaj Supstitucije Ribljeg Brašna Brašnom Kalifornijske Gliste (*Lumbricus Rubellus*) Na Proizvodne Rezultate I Zdravstveno Stanje Brojlara. *Acta Veterinaria* 65, 271-286.
- Janzen H. H., Kucey R. M. N., 1988. C, N, and S mineralization of crop residues as influenced by crop species and nutrient regime. *Plant Soil* 106:35-41
- Jeffery S., Gardi C., Jones A., Montanarella L., Marmo L., Miko L., Ritz K., Peres G., Römbke J., van der Putten W. H., (eds.), 2010, Atlas européen de la biodiversité du sol. Commission européenne, Bureau des publications de l'Union européenne, Luxembourg.
- Jimenez J.J., Cepeda A., Decaens T., Oberson A., Friesen D.K., 2003. Phosphorus fractions and dynamics in surface earthworm casts under native and improved grasslands in a Colombian savanna Oxisol. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 715-727.
- Joergensen R.G., Brookes P.C., Jenkinson D.S., 1990. Survival of the Soil Microbial Biomass at Elevated-Temperatures, *Soil Biology & Biochemistry* 22, 1129-1136.
- Jones C., McConnell C., Coleman K., Cox P., Falloon P., Jenkinson D., Powlson D., 2005. Global climate change and soil carbon stocks; predictions from two contrasting models for the turnover of organic carbon in soil. *Global Change Biology*, 11, 154-166
- Jones C.G., Lawton J.H. & Shachak M. (1994) Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, 69, 373-386.

- Jouquet P., Blanchart E., Capowiez Y., 2014. Utilization of earthworms and termites for the restoration of ecosystem functioning. *Applied Soil Ecology* 73:34–40
- Jouquet P., Dauber J., Lagerlöf J., Lavelle P., Lepage M., 2006. Soil invertebrates as ecosystem engineers: Intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Applied Soil Ecology* 32, 153–164.
- Jouquet P., Hartmann C., Choosai C., Hanboonsong Y., Bruner D., Montoroi J.P., 2008. Different effects of earthworms and ants on soil properties of paddy fields in North-East Thailand. *Paddy Water Environ.* 6, 381–386.
- Jouquet P., Plumere T., Doan Thu T., Rumpel C., Tran Duc T., Orange D., 2010. The rehabilitation of tropical soils using compost and vermicompost is affected by the presence of endogeic earthworms. *Applied Soil Ecology* 46:125–133.

-K-

- Kibblewhite M.G., Ritz K., Swift M.J., 2008. Soil health in agricultural systems. *Philosophical Transactions Of The Royal Society B-Biological Sciences* 363, 685-701.
- Kirschbaum M.U.F., 2006. The temperature dependence of organic-matter decomposition-still a topic of debate. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 2510-2518.
- Knapp E. B., Elliott L. F., Campbell G. S., 1983. Carbon, nitrogen, and microbial biomass interrelationships during the decomposition of wheat straw: A mechanistic simulation model. *Soil Biol Biochem* 15:455-461
- Kreuzer K., Bonkowski M., Langel R., Scheu S., 2004. Decomposer animals (Lumbricidae, Collembola) and organic matter distribution affect the performance of *Lolium perenne* (Poaceae) and *Trifolium repens* (Fabaceae). *Soil Biol Biochem* 36:2005-2011
- Kuczak, C.N., Fernandes, E.C., Lehmann, J., Rondon, M.A., Luizao, F.J., 2006. Inorganic and organic phosphorus pools in earthworm casts (Glossoscolecidae) and a Brazilian rainforest Oxisol. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 553-560.
- Kushwah K. S., Dotaniya L. M., Upadhyay K. A., 2014. Assessing carbon and nitrogen partition in Kharif crops for their carbon sequestration potential. *National Academy Science Letters* 37:213–217

-L-

- Lafont A., Risède J.M., Loranger-Merciris G., Clermont-Dauphin C., Dorel M., Rhino B., Lavelle P., 2007. Effects of the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on banana plants infected or not with the plant-parasitic nematode *Radopholus similis*. *Pedobiologia*, 51: 311-318.
- Laossi K-R., Ginot A., Noguera D. C., Blouin M., Barot S., 2010. Earthworm effects on plant growth do not necessarily decrease with soil fertility. *Plant Soil* 328:109–118

- Larsen S., 1952. The use of P 32 in studies on the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 4, 1-10.
- Lavelle P. & A. Martin. 1992. Small scale and large-scale effects, of endogeic earthworms on soil organic matter dynamics in soils of the humid tropics, *Soil Biol. Biochem.*, 24, 1491-1498.
- Lavelle P., 1978. Les vers de terre de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire) : peuplements, populations et fonctions dans l'écosystème. Thèse de doctorat d'état, Université de Paris VI. Publication du laboratoire de Zoologie de l'ENS 12, 310pp.
- Lavelle P., 1988. Earthworm activity in the soil system. *Biol. Fertil. Soil* 6, 237–251.
- Lavelle P., 1997. Faunal activities and soil processes: adaptive strategies that determine ecosystem function. *Adv Ecol Res* 27:93–132
- Lavelle P., 2002. Functional domains in soils. *Ecological Research* 17 : 441-450.
- Lavelle P., Barois I., Cruz I., Fragoso C., Hernandez A., Pineda A., Rangel P., 1987. Adaptive strategies of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta), a peregrine geophagous earthworm of the humid tropics. *Biol Fertil Soils*. 5:188-194.
- Lavelle P., Barros E., Blanchart E., 2001. SOM management in the tropics: Why feeding the soil macrofauna? *Nutri Cycl Agroecosyst* 61:53-61
- Lavelle P., Blouin M., Boyer J., Cadet P., Laffray D., Pham-Ti A.T., Reversat G., Settle W. & Zuily Y., 2004. Plant parasite control and soil fauna diversity. *C.R. Biologies*, 327: 629-638.
- Lavelle P., Decaëns T., Aubert M., 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology* 42:3–15
- Lavelle P., Spain A. V. 2001. *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 654 pp.
- Lavelle P., Spain A., Blouin M., 2016. Ecosystem engineers in a self-organized soil: A review of concepts and future research questions. *Soil Sci* 181:91–109
- Le Bayon R.-C., Milleret R., 2009. Effects of earthworms on phosphorus dynamics—a review. *Dynamic Soil, Dynamic Plant* 3, 21-27.
- Lee K. E., 1985. *Earthworms: Their Ecology and Relationships with Soils and Land Use*. Academic Press, Sidney.
- Lee, K.E., Foster, R.C., 1991. Soil fauna and soil structure. *Australian Journal of Soil. Research* 29, 745e775.
- Li F. M., Gong J. D., Gao Q. Z., Li F. R., 1999. Effects of clear film mulch on yield of spring wheat. *Field Crops Res* 63:293–304
- Li, Y., Ghodrati, M., 1995. Transport of nitrate in soil as affected by earthworm activities. *J. Environ. Qual.* 24, 432–438.

- Liu H.S., Li L.H., Han X.G., Huang J.H., Sun J.X., Wang H.Y., 2006. Respiratory substrate availability plays a crucial role in the response of soil respiration to environmental factors, *Applied Soil Ecology* 32, 284-292.
- Long D.H., Lee F.N., TeBeest D.O., 2000. Effect of nitrogen fertilization on disease progress of rice blast on susceptible and resistant cultivars. *Plant Disease* 84, 403–9.
- Loranger-Merciris G., Cabidoche Y.-M., Deloné B., Quénéhervéc P., Ozier-Lafontaine H., 2011. How earthworm activities affect banana plant response to nematodes parasitism. *Applied Soil Ecology* 52, 1– 8
- Lourdumary, A., Uma, K., 2012. Nutritional Evaluation of Earthworm Powder (*Lampito mauritii*) *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 3 (03).
- Lubbers I. M., Pulleman M. M. , Van Groenigen J. W., 2017. Can earthworms simultaneously enhance decomposition and stabilization of plant residue carbon? *Soil Biology & Biochemistry* 105, 12-24.
- Lubbers, I.M., van Groenigen, K.J., Fonte, S.J., Six, J., Brussaard, L., van Groenigen, J.W., 2013. Greenhouse-gas emissions from soils increased by earthworms. *Nature Climate Change* 3, 187–194.
- Luna-Orea P., Wagger M. G., Gumpertz M. L., 1996. Decomposition and nutrient release dynamics of two tropical legume cover. *Agron J* 88:758-764
- Luo Y.Q., Wan S.Q., Hui D.F., Wallace L.L., 2001. Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. *Nature*, 413, 622-625.

-M-

- Mackay A.D., Springett J.A., Syers J.K. & Gregg P.E.H., 1983. Origin of the effect of earthworms on the availability of phosphorus in a phosphate rock. *Soil Biol. Biochem.*, 15, 63-73.
- Mariotte P., Mehrabi Z., Bezemer T.M., De Deyn G.B., Kulmatiski A., Drigo B., Veen G.F., van des Heijden M.G.A. & Kardol P., 2018. Plant-soil feedback: bridging natural and agricultural sciences. *Trends in Ecology and Evolution*, Vol. 33: j.tree.2017.11.005.
- MEA, Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Meghvansi M.K., Singh L., Srivastava R.B. & Varma A., 2011. Assessing the role of earthworms in biocontrol of soil-borne plant fungal diseases. In: Karaca A. (eds) *Biology of Earthworms*. *Soil Biology*, vol 24. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Mendham D. S., Kumaraswamy S., Balasundaran M., 2004. Legume cover cropping effects on early growth and soil nitrogen supply in eucalypt plantations in south-western India. *Biol Fertil Soils* 39:375-382
- Minnich J., 1977 - *The earthworm book: How to raise and use earthworms for your farm and garden*. Rodale Press, Bethlehem.

- Monebi O.C., Ugwumba A.A.A., 2016. Culture and utilization of the earthworm *Alma millsoni* in the diet of *Clarias gariepinus* fingerlings. *Zoology and Ecology* 26, 35-46.
- Morel C. 2002. Caractérisation de la phytodisponibilité du phosphore du sol par la modélisation du transfert des ions phosphates entre le sol et la solution. Considérations théoriques et analyses du cycle de P et du comportement des plantes dans les parcelles de grandes cultures. Mémoire d'HDR à l'Institut National Polytechnique de Lorraine, 80 p.
- Murphy J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica chimica acta* 27, 31-36.
- Muscolo A., Bovalo F., Gionfriddo F., Nardi S., 1999. Earthworm humic matter produces auxin-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. *Soil Biol Biochem* 31:1303–1311

-N-

- Naidu R., Syers J., Tillman R., Kirkman J., 1990. Effect of liming and added phosphate on charge characteristics of acid soils. *European Journal of Soil Science* 41, 157-164.
- Nalley L., Tack J., Durand-Morat A., Thoma G., Tsiboe F., Shew A. & Barkley, A., 2017. The production, consumption, and environmental impacts of rice hybridization in the United States. *Agronomy Journal*, 109: 193–203.
- Nath S. & Chaudhuri P. S., 2014. Growth and reproduction of *Pontoscolex corethrurus* (Muller) with different experimental diets. *Tropical Ecology* 55(3): 305-312.
- Noguera D., Laossi K.R., Lavelle P., de Carvalho M.H.C., Asakawa N., Botero C. & Barot S. (2011) Amplifying the benefits of agroecology by using the right cultivars. *Ecol. Appl.*, 21, 2349-2356.
- Noguera D., Rondón M., Laossi K.-R., Hoyos V., Lavelle P., de Carvalho M.H.C., Barot S., 2010. Contrasted effect of biochar and earthworms on rice growth and resource allocation in different soils. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1017-1027.

-O-

- Oberson A., Joner E.J., 2005. Microbial turnover of phosphorus in soil, In: Turner, B.L., Frossard, E., Baldwin, D.S. (Eds.), *Organic phosphorus in the environment*, pp. 133-164.
- Ohno T., Zibilske L.M., 1991. Determination of low concentrations of phosphorus in soil extracts using malachite green. *Soil Sci Soc Am J* 55:892–895
- Ou S. H., 1985. *Rice diseases*. Commonwealth. Mycological Institute. Kew. UK, 17p.

-P-

- Parkin T.B. & Berry E.C., 1999. Microbial nitrogen transformations in earthworm burrows. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 1765-1771.

- Parr J. F., Papendick R. I., 1978. Factors affecting the decomposition of crop residues by microorganisms. In: Oschwald WR (ed) Crop residue management systems, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, pp 101-129
- Pashanasi B., Lavelle P., Alegre J., Charpentier F., 1996. Effect of the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* on soil chemical characteristics and plant growth in a low-input tropical agroecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 801-810.
- Pelosi C., 2008. Modélisation de la dynamique d'une population de vers de terre *Lumbricus terrestris* au champ. Contribution à l'étude de l'impact de systèmes de culture sur les communautés lombriciennes.
- Powlson D. S. et al., 2016. Does conservation agriculture deliver climate change mitigation through soil carbon sequestration in tropical agro-ecosystems? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 220: 164–174.
- Pretty J. et al., 2011. Sustainable intensification in African agriculture. *International Journal of Agricultural Sustainability* 9: 5-24.
- Puga-Freitas R. & Blouin M., 2015. A review of the effects of soil organisms on plant hormone signalling pathways. *Environmental and Experimental Botany* 114: 104–116.
- Puga-Freitas R., 2012. Effet du ver de terre *Aporrectodea caliginosa* sur la croissance des plantes, leur développement et leur résistance aux pathogènes: Réponse physiologique et moléculaire de la plante à l'émission de molécules signal. Thèse de Doctorat, Université Paris Est, Créteil
- Puttaso A., Vityakon P., Saenjan P., 2011. Relationship between residue quality, decomposition patterns, and soil organic matter accumulation in a tropical sandy soil after 13 years. *Nutri Cycl Agroecosyst* 89:159–174
- Pypers P., Van Loon L., Diels J., Abaidoo R., Smolders E., Merckx R., 2006. Plant-available P for maize and cowpea in P-deficient soils from the Nigerian Northern Guinea Savanna—comparison of E-and L-values. *Plant and Soil* 283, 251-264.

-R-

- Rabary B., 2011. Impact du semis direct sous couverture végétale sur la macrofaune et la microflore des sols ferrallitiques d'Andranomanelatra, Antsirabe, Hautes Terres malgaches. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences de la Vie ; Spécialité : Biologie Végétale. 211 pages.
- Rabeharisoa L., 2004. Gestion de la fertilité et de la fertilisation phosphatée des sols ferrallitiques des hautes terres de Madagascar, Thèse de Doctorat d'Etat ES Sciences Naturelles. Université d'Antananarivo
- Raboin L.M., Ramanantsoanirina A., Dusserre J., Razasolofonahary F., Tharreau D., Lannou C. & Sester M. (2012) Two-component cultivar mixtures reduce rice blast epidemics in an upland agrosystem. *Plant Pathology*, 61: 1103-1111.

- Raboin, L.-M., Ramanantsoanirina, A., Dzido, J.-L., Frouin, J., Radanielina, T., Tharreau, D., Dusserre, J., Ahmadi, N., 2013. Création variétale pour la riziculture pluviale d'altitude à Madagascar : bilan de 25 années de sélection. 2013 22.
- Raboin, L.-M., Randriambololona, T., Radanielina, T., Ramanantsoanirina, A., Ahmadi, N., Dusserre, J., 2014. Upland rice varieties for smallholder farming in the cold conditions in Madagascar's tropical highlands. *Field Crops Research* 169, 11-20.
- Raboin, L.-M., Razafimahafaly, A.H.D., Rabenjarisoa, M.B., Rabary, B., Dusserre, J., Becquer, T., 2016. Improving the fertility of tropical acid soils: Liming versus biochar application? A long term comparison in the highlands of Madagascar. *Field Crops Research* 199, 99-108.
- Raich J.W., Schlesinger W.H., 1992. The Global Carbon-Dioxide Flux In Soil Respiration And Its Relationship To Vegetation And Climate, *Tellus Series B-Chemical And Physical Meteorology* 44, 81-99.
- Rakotoson, T., Amery, F., Rabeharisoa, L., Smolders, E., 2014. Soil flooding and rice straw addition can increase isotopic exchangeable phosphorus in P-deficient tropical soils. *Soil Use and Management* 30, 189-197.
- Ramaroson, V.H., Becquer, T., Sá, S.O., Razafimahatratra, H., Delarivière, J.L., Blavet, D., Vendrame, P.R., Rabeharisoa, L., Rakotondrazafy, A.F., 2017. Mineralogical analysis of ferrallitic soils in Madagascar using NIR spectroscopy. *CATENA*.
- Randriamanantsoa, L., Frossard, E., Oberson, A., Bunemann, E.K., 2015. Gross organic phosphorus mineralization rates can be assessed in a Ferralsol using an isotopic dilution method. *Geoderma* 257, 86-93.
- Randriamanantsoa, L., Morel, C., Rabeharisoa, L., Douzet, J.M., Jansa, J., Frossard, E., 2013. Can the isotopic exchange kinetic method be used in soils with a very low water extractable phosphate content and a high sorbing capacity for phosphate ions? *Geoderma* 200, 120-129.
- Ranoarisoa M.P., Blanchart, E., vom Brocke, K., Ramanantsoanirina, A., Sester, M., Plassard, C., Cournac, L., Trap, J., 2017. Attractancy of bacterivorous nematodes to root adhering soils differs according to rice cultivars *Rhizosphere* 3:128-131
- Ranoarisoa, M.P., Morel, C., Andriamananjara, A., Jourdan, C., Bernard, L., Becquer, T., Rabeharisoa, L., Rahajaharilazaa, K., Plassard, C., Blanchard, E., J., T., 2018. Effects of a bacterivorous nematode on rice ³²P uptake and root architecture in a high P-sorbing ferrallitic soil. *Soil Biology and Biochemistry* 122, 39-49.
- Rastogi, M., Singh, S. & Pathak H., 2002. Emission of carbon dioxide from soil. *Curr. Sci.* 82, 510-518.
- Ratnadass A et al., 2013. Ecological interactions within the biodiversity of cultivated systems. In: Hainzelin E. (Coord.) *Cultivating biodiversity to transform agriculture*. Chapter 5. Springer. pp 141-179.

- Razafimahatratra, H. M., 2011. Sols malgaches et spectroscopie dans le moyen infrarouge: classification, caractérisation et sensibilité au climat. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, University of Antananarivo, p. 214.
- Razafimbelo T., 2005. Stockage et protection du carbone dans un sol ferrallitique sous systèmes en semis direct avec couverture végétale des Hautes Terres malgaches. Ph.D. Thesis, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 162pp.
- Razafindrakoto, M., 2012. Etude des Oligochètes de Madagascar : Taxonomies, écologies et distributions Thèse de Doctorat, Université d'Antananarivo, Faculté des Sciences, spécialité : Biologie Animale 151p
- Razafindrakoto M., Csuzdi C., Rakotofiringa S., Blanchart E., 2010. New records of earthworms (Oligochaeta) from Madagascar. *Opuscula Zoologica Budapest* 41:231-236
- Reichstein M., Rey A., Freibauer A., Tenhunen J., Valentini R., Banza J., Casals P., Cheng Y., Grünzweig J.M., Irvine J., Joffre R., Law B.E., Loustau D., Miglietta F., Oechel W., Ourcival J.-M., Pereira J.S., Peressotti A., Ponti F., Qi Y., Rambal S., Rayment M., Romanya J., Rossi F., Tedeschi V., Tirone G., Xu M., Yakir D. (2003) Modeling temporal and large-scale spatial variability of soil respiration from soil water
- Robertson G. P. & Swinton S. M., 2005. Reconciling agricultural productivity and environmental integrity: a grand challenge for agriculture. *Frontiers in Ecology and the Environment* 3: 38–46.
- Roth, C., Pavan, M., 1991. Effects of lime and gypsum on clay dispersion and infiltration in samples of a Brazilian Oxisol. *Geoderma* 48, 351-361.
- Roumen E.C., 1992. Effect of leaf age on components of partial resistance in rice to leaf blast. *Euphytica*, 63: 271–279.

-S-

- Sakala W. D., Cadisch G., Giller K. E., 2000. Interactions between residues of maize and pigeonpea and mineral N fertilizers during decomposition and N mineralization. *Soil Biol Biochem* 32:699–706
- Savant N.K., Snyder G.H. & Datnoff L.E., 1997. Silicon management and sustainable rice production. *Advances in Agronomy*, 58: 151–199.
- Savary S., Horgan F., Willocquet L. & Heong K.L., 2012. A review of principles for sustainable pest management in rice. *Crop Protection*, 32: 54–63.
- Scheu S., 2003. Effects of earthworms on plant growth: patterns and perspectives. *Pedobiologia*, 47: 846-856.
- Schimel D.S., 1995. Terrestrial Ecosystems And The Carbon-Cycle, *Global Change Biology* 1, 77-91.
- Schmidt, O., Clements, R., Donaldson, G., 2003. Why do cereal–legume intercrops support large earthworm populations? *Applied Soil Ecology* 22, 181–190.

- Senapati B., Giri S. , Pashanasi B., Alegre J. , Decaens T., Jimenez J. J. , Albrecht A. , Blanchart E., Mahieux M., Rousseaux L., Thomas R., Panigrahi P. K., Venkatachalam M., 1999. In-soil earthworm technologies for tropical agroecosystems. In Lavelle P et al. (eds) *Earthworm management in tropical agroecosystems*. CABI Publishing, pp 199-238."
- Senapati, B., Lavelle, P., Panigrahi, P., Giri, S., Brown, G., 2002. Restoring soil fertility and enhancing productivity in Indian tea plantations with earthworms and organic fertilizers, Program, Abstracts and Related Documents of the International Technical Workshop on Biological Management of Soil Ecosystems for Sustainable Agriculture, Série Documentos, pp. 172-190.
- Sester M., Raveloson H., Michellon R., Dusserre J., Tharreau D., 2010. Cropping system to limit blast disease in upland rice. In: USDA-ARS, ed. *International Rice Blast Conference 5*, 201. Washington, USA: USDA-ARS, 37.
- Sester M., Raveloson H., Tharreau D., Dusserre J., 2014. Conservation agriculture cropping system to limit blast disease in upland rainfed rice. *Plant Pathology* 63, 373–381.
- Sharpley, A.N., Syers, J.K., 1976. Potential role of earthworm casts for the phosphorus enrichment of run-off waters. *Soil Biology and Biochemistry* 8, 341–346.
- Sibbesen, E. 1978. An investigation of the anion-exchange resin method for soil phosphate extraction. *Plant and soil* 50: 305-321.
- Silveira M. L. and O'Connor G. A., 2013. Temperature Effects on Phosphorus Release from a Biosolids-Amended Soil. *Applied and Environmental Soil Science*. Volume 2013, Article ID 981715, 8 pages
- Sims, R.W., Gerard, B.M., London, L.S.o., Estuarine & Association, B.-W.S., 1985. *Earthworms: Keys and Notes for the Identification and Study of the Species*. Linnean Society of London and the Estuarine and Brackish-Water Sciences Association.
- Somasundaram, S., Bonkowski, M., Iijima, M., 2008. Functional role of mucilage border cells: a complex facilitating protozoan effects on plant growth. *Plant production science* 11:344-351
- Spain A., Lavelle P., Mariotti A., 1992. Stimulation of plant growth by tropical earthworms. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 24, No. 12, pp. 1629-1633. 1992
- Speratti, A.B., Whalen, J.K., 2008. Carbon dioxide and nitrous oxide fluxes from soil as influenced by anecic and endogeic earthworms. *Applied Soil Ecology* 38, 27–33.
- Steinweg, J.M., Plante, A.F., Conant, R.T., Paul, E.A., Tanaka, D.L., 2008. Patterns of substrate utilization during long-term incubations at different temperatures, *Soil Biology & Biochemistry* 40: 2722-2728.
- Stephens P.M., Davoren C.W., Doube B.M. & Ryder M.H., 1994. Ability of the lumbricid earthworms *Aporrectodea rosea* and *Aporrectodea trapezoides* to reduce the severity of

- take-all under greenhouse and field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 26: 1291-1297.
- Stephens P.M., Davoren C.W., Doube B.M., Ryder M.H., Bengner A.M. & Neate S.M., 1993. Reduced severity of *Rhizoctonia solani* disease on wheat seedlings associated with the presence of the earthworm *Apporectoidea trapezoides* (Lumbricidae). *Soil Biology and Biochemistry*, 25: 1477-1484.
- Stephens, P. M. and C. W. Davoren. 1995. Effect of the lumbricid earthworm *Aporrectodea trapezoides* on wheat grain yield in the field, in the presence or absence of *Rhizoctonia solani* and *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*. *Soil Biology and Biochemistry* 28:561-567.
- Stephens, P. M., C. W. Davoren, B. M. Doube, and M. H. Ryder. 1994. Ability of the lumbricid earthworms *Aporrectodea rosea* and *Aporrectodea trapezoides* to reduce the severity of take-all under greenhouse and field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 26:1291-1297.
- Sukumar P., Legué V., Vayssières A., Martin F., Tuskan G. A., Kalluri U. C., 2013. Involvement of auxin pathways in modulating root architecture during beneficial plant–microorganism interactions. *Plant Cell Environ* 36:909–919
- "Sun Q., Meyer W. S. , Koerber G. R., and Marschner P., 2015. Response of respiration and nutrient availability to drying and rewetting in soil from a semi-arid woodland depends on vegetation patch and a recent wildfire. *Biogeosciences*, 12, 5093–5101, 2015."
- Syers, J.K., Sharpley, A.N. & Keeney, D.R., 1979. Cycling of nitrogen by surface-casting earthworms in a pasture ecosystem. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 181-185.

-T-

- Tadross M., Randriamarolaza L., Rabefitia Z., Yip Z. K., 2008. Climate change in Madagascar; recent past and future. pp18.
- Tapia-Coral S., Luizão F., Barros E, Pashanasi B., Del Castillo D., 2005. Effect of *Pontoscolex corethrus* Muller, 1857 (Oligochaeta: Glossoscolecidae) inoculation on litter weight loss and soil nitrogen in mesocosms in the Peruvian Amazon. *Caribbean Journal of Science*, Vol. 42, No. 3, 410-418.
- Team, R., 2016. RStudio: Integrated Development for R [Internet].[cited 2015 Nov 20].
- Thomas R. J., Asakawa N. M., 1993. Decomposition of leaf litter from tropical forage grasses and legumes. *Soil Biol Biochem* 25:1351-1361
- Tiwari, S.C., Tiwari, B.K. & Mishra, R.R., 1989. Microbial populations, enzyme activities and nitrogen-phosphorus-potassium enrichment in earthworm casts and in the surrounding soil of a pineapple plantation. *Biol. Fertil. Soils*, 8, 178-182.

Tokpah D.P., Li H., Wang L., Liu X., Mulbah Q.S. & Liu H., 2016. An assessment system for screening effective bacteria as biological control agents against *Magnaporthe grisea* on rice. *Biological Control*, 103: 21-29.

Turner, B., Cade-Menun, B., Condron, L., Newman, S., 2005. Extraction of soil organic phosphorus. *Talanta* 66, 294–306.

-V-

Van Bockhaven J., De Vleeschauwer & D., Höfte M., 2013. Towards establishing broad-spectrum disease resistance in plants: silicon leads the way. *Journal of Experimental Botany*, 64: 1281–1293.

Van der Heijden M. G. A., Bardgett R. D., Van Straalen N., M., 2008. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol Lett* 11:296–310

Van Raij B., Cantarella H., Quaggio J.A., and Prochnow L. I., 2009. Ion Exchange Resin for Assessing Phosphorus Availability in Soils. *Better Crops*, Vol. 93, No. 1."

Van Wees S.C.M., Van der Ent S. & Pieterse C.M.J., 2008. Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Current Opinion in Plant Biology*, 11: 443–448.

Vance, C.P., Uhde-Stone, C., Allan, D.L., 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* 157, 423-447.

Varco J. J., Frye W. W., Smith M. S., MacKown C. T., 1993. Tillage Effects on Legume Decomposition and Transformation of Legume and Fertilizer Nitrogen-15.

Velasquez E., Lavelle Patrick, Andrade M., 2007. GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 39 (12), 3066-3080. ISSN 0038-0717

Velly J., 1975. La fertilisation en silice du riz à Madagascar. *Agronomie tropicale*, volume 30, 305 -324.

Vidal T., Boixel A.L., Durand B., de Vallavieille-Pope, Huber L. & Saint-Jean S., 2017. Reduction of fungal disease spread in cultivar mixtures: Impact of canopy architecture on rain-splash dispersal and on crop microclimate. *Agricultural and Forest Meteorology*, 246: 154-161.

Voleti S.R., Padmakumari A.P., Raju V.S., Babu S.M. & Ranganathan S., 2008. Effect of silicon solubilizers on silica transportation, induced pest and disease resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Crop Protection*, 27: 1398-1402.

Vos, H.M., Ros, M.B., Koopmans, G.F., van Groenigen, J.W., 2014. Do earthworms affect phosphorus availability to grass? A pot experiment. *Soil Biology and Biochemistry* 79, 34-42.

-W-

- Waithaisong, K., Robin, A., Martin, A., Clairotte, M., Villeneuve, M., Plassard, C., 2015. Quantification of organic P and low-molecular-weight organic acids in ferralsol soil extracts by ion chromatography. *Geoderma* 257–258, 94–101.
- Waldrop M.P., Firestone M.K., 2004. Altered utilization patterns of young and old soil C by microorganisms caused by temperature shifts and N additions, *Biogeochemistry* 67: 235–248.
- Wezel A et al., 2009. Agroecology as a science, a movement and a practice. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 503–515.
- Wise D. H., Schaefer M., 1994. Decomposition of leaf litter in a mull beech forest: Comparison between canopy and herbaceous species. *Pedobiologia* 38:269-288
- Wu F., Wan Judy Hon C., Wu S. & Wong M., 2012. Effects of earthworms and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on availability of nitrogen, phosphorus, and potassium in soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 175, 423-433.
- Wu Y.P., Yu, X.S., Wan H.Z., Ding N., Xu J.M., 2009. Does history matter? Temperature effects on soil microbial biomass and community structure based on the phospholipid fatty acid (PLFA) analysis, *Journal of Soils and Sediments* 10: 223-230.
- Wurst S., 2010. Effects of earthworms on above- and belowground herbivores. *Applied Soil Ecology* 45, 123–130.

-Y-

- Yoshida. S., 1975. The physiology of silicon in rice. Technical Bulletin No. 25. Food Fert. Technical Centre, Taipei. Taiwan

-Z-

- Zhang X., Chen S., Pei D., Liu M., 2005. Evapotranspiration, yield and crop coefficient of irrigated maize under straw mulch. *Pedosphere* 15:576–58
- Zhang, B.-G., Li, G.-T., Shen, T.-S., Wang, J.-K., Sun, Z., 2000. Changes in microbial biomass C, N, and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms *Metaphire guillelmi* or *Eisenia fetida*. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 2055–2062.

ANNEXES

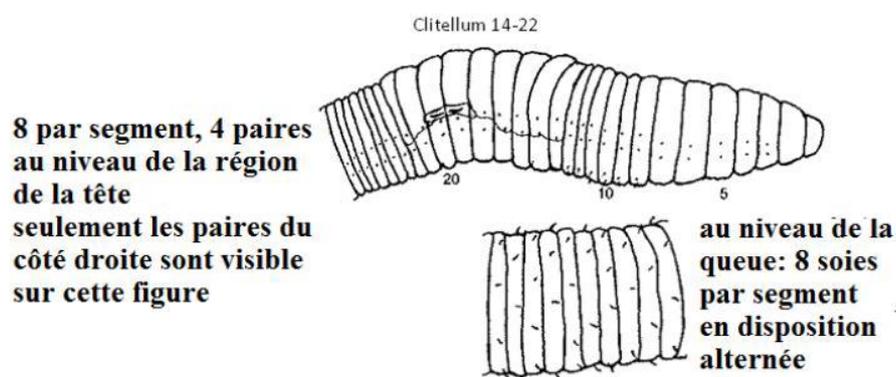
ANNEXE 1 : Description de l'espèce *Pontoscolex corethrurus*

Classification

- Phylum : Annelida
- Classe : Clitellata
- Sous-classe : Oligochaeta
- Ordre : Haplotaxida
- Sous-ordre : Lumbricina
- Superfamille : Lumbricoidea
- Famille : Rhinodrilidae
- Genre/espèce : *Pontoscolex corethrurus*

Anatomie (d'après Razafindrakoto, 2012)

- ✓ *Description* : La longueur varie de 60 mm à 80 mm, mais selon Blakemore, (2002), elle peut atteindre jusqu'à 142 mm et même 360 mm selon Stephenson (1931). Le diamètre est de 4 à 6 mm et le nombre de segments varie entre 166 et 210 et peut présenter des annulations secondaires. Sans pigmentation, les glandes calcifères sont visibles à travers le tégument car elles sont entourées de capillaires sanguins de couleur jaunâtre ou orangé. Le clitellum en forme de selle présente une coloration jaune orangé qui s'étale du segment 15 jusqu'au segment 22. Le vaisseau dorsal est très bien visible.
- ✓ *Diagnose* : Soie de type lombricienne, alternée sur la partie postérieure. Système digestif avec gésier sphérique et musculaire sur le segment 6 ; intestin débute sur le segment 16, présence de typhosole. Pore mâle sur l'inter-segment 19/20 mais selon Gates (1972) celui-ci s'observe sur 20/21. Petit pore de spermathèque sur les inter-segments 6/7, 7/8 et 8/9. Dernier cœur sur le segment 12. Néphridies holoïques. Trois paires de spermathèques sur le segment 7 - 9, clitellum en forme de selle sur le segment 15-22, 23.

Figure 1: Disposition des soies chez *Pontoscolex corethrurus*

- ✓ *Caractère interne* : Le gésier est musculaire et sphérique ; il s'observe sur le segment 6. Trois paires de glandes calcifères sur les segments 7-9 en position latérale au niveau de l'oesophage. Les dissépiments commencent sur les inter-segments 3/4 jusqu'à 8/9, ceux de 9/10 et 10/11 sont absents. Des bulbes pharyngiens s'observent entre les épais dissépiments 4/5 et 5/6 et 4/5 qui contiennent aussi une touffe de néphridies. Le gésier débute sur celui de 6/7. L'intestin commence sur le segment 16. Le testicule et le canal déférent s'observent sur le segment 11, présence de vésicule séminale en forme de sac sur le segment 12. Prostate absente. Trois paires de glandes calcifères sur les segments 7-9, en forme de disques aplatis qui s'aplatissent sur un tube transparent sans diverticule.

ANNEXE 2 : Description de l'espèce *Dichogaster saliens*

- ✓ *Diagnose*: Pore mâle pair postérieur aux pores prostatiques, dans des porophores sur le segment 17 et vers l'arrière dans les cannelures séminales sur 18. Pore femelle pair sur 14. Dernier cœur sur 12, gésier sur 5 – 6. Glandes calcifères sur segments 15- 17.
- ✓ *Description*: La longueur varie entre 30 – 60 mm avec un diamètre égal à 1,5 mm, le segment compte au totale entre 70 – 120. Il n'y a pas de pigmentation et durant une expérience faite avec cette espèce, nous l'avons appelée, petit vers rayés car à l'intérieur du corps, nous avons observé une sorte de rayure sombre et claire qui s'intercalent. Le clitellum en forme de selle sur ½ 13-20, la couleur est un peu marron orangé. Le prostomium est de type épilobique. Le premier pore dorsal se localise sur 5/6. Les soies est 8 par segment, petite et de type pair rapprochées sur la face ventrale. Le pore mâle est dans des porophores sur le segment 17 et s'étale un peu vers l'arrière dans des cannelures séminales en position équatoriale sur le segment 18. Le pore femelle est paire et médian à la ligne de soie (a) sur le segment 14. Une petite papille génitale en position médio-ventrale sur l'inter-segment 15/16. Les pores de spermathèque se localisent tout près de la ligne de soie (a) sur les inter-segments 7/8 et 8/9.
- ✓ *Caractère interne*: Gésier se localise dans les segments 5 et 6, ils sont musculaires. L'intestin s'élargit dans le segment 17. Les glandes calcifères sont digitiformes et blanchâtres dans les segments 15 – 17. Le vaisseau dorsal est simple, le dernier coeur s'observe sur le 12ème segment. Le dissépiment commence sur l'inter-segment 11/12. Les testicules et canaux déférents sur les segments 10 et 11 et des petites vésicules séminales sur le 11 et 12. Les ovaires sont petits et de couleur rose sur le segment 13, une paire de prostate tubulaire sur le segment 17, chacun est rattachée à une conduite avec une petite glande. Les spermathèques sont paires avec des ampoules sphériques et des

diverticules. Les néphridies sont méroïques et il y 4 rangées à chaque côté aux alentours du clitellum.

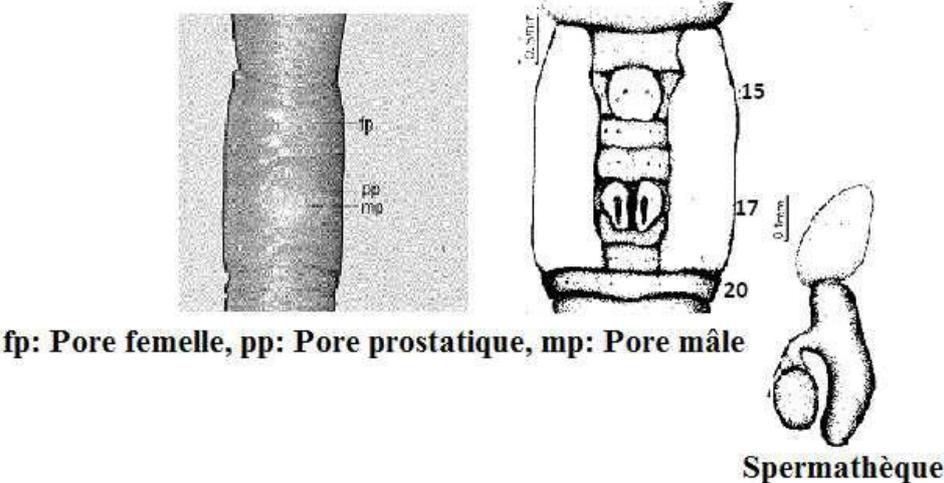


Figure 2 : Pores et spermathèque de *Dichogaster saliens*