
Étude des effets de trois amendements organiques innovants sur la production de légumes ainsi que sur la fertilité du sol au sein des parcelles de SPIN farming des jardins TERRA-Terre de la plateforme WASABI (Gembloux Agro-Bio Tech)

Auteur : Denis, Emilie

Promoteur(s) : De Clerck, Caroline

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : sciences agronomiques, à finalité spécialisée

Année académique : 2023-2024

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/21445>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**Étude des effets de trois amendements
organiques innovants sur la production
de légumes ainsi que sur la fertilité du sol
au sein des parcelles de SPIN farming des
jardins TERRA-Terre de la plateforme
WASABI (Gembloux Agro-Bio Tech)**

ÉMILIE DENIS

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2023-2024

PROMOTRICE : DR. CAROLINE DE CLERCK

"Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech".

"Le présent document n'engage que son auteur".

**Étude des effets de trois amendements
organiques innovants sur la production
de légumes ainsi que sur la fertilité du sol
au sein des parcelles de SPIN farming des
jardins TERRA-Terre de la plateforme
WASABI (Gembloux Agro-Bio Tech)**

ÉMILIE DENIS

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2023-2024

PROMOTRICE : DR. CAROLINE DE CLERCK

Résumé

Depuis le XX^{ème} siècle, la connexion entre les villes et l'agriculture s'est considérablement affaiblie dans les pays industrialisés, augmentant leur dépendance à l'importation de denrées et les exposant à des risques de pénurie. Parallèlement, les sols, qui sont essentiels à la production alimentaire, ont été dégradés par des pratiques agricoles intensives, réduisant leur fertilité et leur capacité à soutenir une production durable. Aujourd'hui, les villes sont confrontées au double défi de sécuriser leur approvisionnement alimentaire tout en protégeant des sols de plus en plus menacés.

Les différentes formes de maraîchage urbain et péri-urbain qui émergent pourraient offrir une solution à ce défi en rapprochant l'agriculture des centres urbains. Cependant, ce type d'agriculture est souvent intensif et menace la fertilité des sols utilisés. Des pratiques adaptées, telles que l'ajout de matière organique, peuvent atténuer ces effets négatifs et améliorer la durabilité des pratiques agricoles. Cette étude se concentre sur les effets de l'application de quatre amendements organiques sur la fertilité chimique et biologique, comparés à un témoin non amendé dans le système agricole urbain du SPIN farming. Les amendements choisis sont des drêches de brasserie, des boues aquaponiques, du jus de bokashi produit à partir de drêches de brasserie, et un compost commercial, tous disponibles à proximité du cadre d'étude.

Ces amendements ont été testés sur une parcelle gérée selon les principes du SPIN farming, particulièrement sur des cultures d'épinards et de laitues. Les analyses se sont concentrées sur la quantification de la biomasse produite ainsi que sur l'étude de paramètres biologiques et chimiques de la fertilité du sol. Les résultats montrent que les laitues et les épinards ont été significativement plus productives lorsqu'elles étaient amendées avec des drêches de brasserie. Les autres amendements, à savoir les boues aquaponiques, le jus de bokashi, et le compost commercial, n'ont pas permis de productions supérieures à celles du témoin non amendé. Sur le plan chimique, une différence significative en termes de pourcentage d'azote total a été observée pour la modalité drêches. Enfin, l'analyse des indicateurs de la fertilité biologique a révélé une activité enzymatique supérieure pour la modalité drêches, un taux de respiration microbienne inférieur pour le compost commercial, et une domination de la population microbienne sur la population fongique dans toutes les modalités.

Mots-clés : SPIN farming, fertilité du sol, amendements, microbiologie du sol, matière organique, agriculture durable

Abstract

Since the 20th century, the connection between cities and agriculture has significantly weakened in industrialized countries, increasing their reliance on imported goods and exposing them to risks of shortages. At the same time, soils, which are essential for food production, have been degraded by intensive agricultural practices, reducing their fertility and capacity to support sustainable production. Today, cities face the dual challenge of securing their food supply while protecting increasingly threatened soils.

The various forms of urban and peri-urban farming that are emerging could offer a solution to this challenge by bringing agriculture closer to urban centers. However, this type of farming is often intensive and poses a threat to the fertility of the soils used. Adapted practices, such as the addition of organic matter, can mitigate these negative effects and improve the sustainability of agricultural practices. This study focuses on the effects of applying four organic amendments on chemical and biological fertility, compared to an untreated control in the urban farming system of SPIN farming. The chosen amendments are brewery spent grain, aquaponic sludge, bokashi juice produced from brewery spent grain, and a commercial compost, all sourced locally within the study area.

These amendments were tested on a plot managed according to SPIN farming principles, particularly on spinach and lettuce crops. The analyses focused on quantifying the biomass produced as well as studying the biological and chemical fertility parameters of the soil. The results show that lettuce and spinach were significantly more productive when amended with brewery spent grain. The other amendments, namely aquaponic sludge, bokashi juice, and commercial compost, did not result in higher yields than the untreated control. Chemically, a significant difference in total nitrogen percentage was observed for the spent grain treatment. Finally, the analysis of biological fertility indicators revealed higher enzymatic activity for the spent grain treatment, lower microbial respiration for the commercial compost, and a dominance of microbial over fungal populations in all treatments.

Keywords : SPIN farming, soil fertility, amendments, soil microbiology, organic matter, sustainable agriculture

Remerciements

La réalisation de ce travail de fin d'étude n'aurait pas été possible sans le soutien et l'aide de nombreuses personnes, que je souhaite sincèrement remercier. Tout d'abord, merci à ma promotrice Caroline De Clerck pour sa disponibilité, son encadrement, ses conseils avisés et sa bienveillance permanente tout au long de ce mémoire. Je désire également remercier Marie Dincher qui n'a jamais hésité à prendre de son temps pour m'épauler et apporter des éclaircissements nécessaires à mon travail. Un grand merci également à Hadrien le maraicher de la parcelle des jardins TERRA-terre pour son implication dans le projet, son soutien et son aide apportée dans toutes les tâches techniques. Mes remerciements s'étendent également à l'ensemble des membres du département Plant Sciences pour le partage de leur expertise, l'encadrement en laboratoire et le temps pris pour répondre à mes nombreuses questions à tout moment. Enfin, merci à Sébastien Franceschini pour les conseils avisés dans le cadre du traitement statistique de mes données.

À tous les membres de l'open space, Valentine, Florent, Simon, Shannah, Anne-Sophie, Mathieu et Astrid, merci pour les pauses agréables, les nombreux cafés bus ensemble et les repas partagés. La bonne ambiance du bureau et l'entraide permanente m'ont permis de conserver ma motivation durant les moments plus compliqués.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers les membres de ma famille qui m'ont soutenue et encouragée lors des périodes de doute et de travail intense. Merci à mes parents de m'avoir permis de réaliser ces études en étant toujours épaulée. Je remercie également l'ensemble de ma famille gembloutoise, mes amis qui ont partagé tous les moments de joie et de difficulté des cinq dernières années. Mes études n'auraient pas eu la même saveur sans vous à mes côtés. Votre présence a été essentielle à ma réussite tout au long de ce parcours académique, j'ai déjà hâte de voir ce qu'on va pouvoir faire de ce diplôme ! Enfin, merci Leo pour ta présence qui a été une source inestimable d'amour, de réconfort et de motivation durant ces longues journées de travail partagées.

Table des matières

Table des figures	iv
Liste des tableaux	v
Nomenclature	vi
1 Introduction	1
1.1 L'agriculture urbaine dans les pays du Nord	1
1.2 Des sols menacés	2
1.3 Le cas particulier du maraichage urbain et péri-urbain	4
2 Objectifs	6
3 État de l'art	7
3.1 Le SPIN farming	7
3.2 Qualité, santé et fertilité du sol	9
3.2.1 Définitions des concepts	9
3.2.2 L'importance de la matière organique pour la fertilité du sol	10
3.2.3 L'évaluation de la fertilité du sol	12
3.3 Le bokashi	13
3.3.1 Origine et principes de base	13
3.3.2 Focus sur les microorganismes efficaces (EM)	14
3.3.3 Comparaison avec le compostage traditionnel	15
3.3.4 Limites	16
3.4 Les drêches de brasserie	16
3.5 Les boues aquaponiques	17
4 Matériel et méthode	19
4.1 Localisation	19
4.2 Conditions climatiques	19
4.3 Dispositif expérimental	19
4.4 Production du jus de bokashi	21
4.5 Analyses chimiques des amendements	22
4.6 Mise en place des cultures	22
4.7 Récoltes et quantification des biomasses aériennes fraîches et sèches	23
4.7.1 Épinards	23
4.7.2 Laitues	23
4.7.3 Tableau récapitulatif	23

4.8	Analyses de sol	24
4.8.1	Échantillonnage	24
4.8.2	Analyses chimiques	25
4.8.3	Analyses des paramètres biologiques du sol	25
4.9	Analyses statistiques	29
5	Résultats	30
5.1	Analyses chimiques des amendements organiques	30
5.1.1	Drêches et amendement commercial	30
5.1.2	Jus de bokashi	31
5.2	Quantification de la biomasse aérienne fraîche et sèche	32
5.2.1	Récolte partielle des épinards (8 mai 2024)	32
5.2.2	Récoltes totales des épinards (10 mai et 23 mai 2024)	33
5.2.3	Récolte des laitues feuilles de chêne (23 mai 2024)	35
5.2.4	Récoltes des laitues pommées (5 et 18 juin 2024)	36
5.3	Analyses chimiques du sol	39
5.4	Analyse des paramètres biologiques du sol	40
5.4.1	MicroResp	40
5.4.2	FDA	41
5.4.3	qPCR	42
6	Discussion et conclusion	44
7	Conclusion et perspectives	55
	Bibliographie	58
8	Annexes	69
8.1	Annexe 1 : Protocole MicroResp	69
8.2	Annexe 2 : Extraits du manuel du kit MicroResp – Méthode de calcul du taux de CO2 émis	74
8.3	Annexe 3 : Protocole de dosage enzymatique (FDA)	76
8.4	Annexe 4 : Protocole de la qPCR	78
8.5	Annexe 5 : Notice d'utilisation du seau bokashi	79
8.6	Annexe 6 : Protocole DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN)	81
8.7	Annexe 7 : Données météo des mois d'avril, mai et juin	83
8.8	Annexe 8 : Protocoles d'analyse du jus de bokashi par le photomètre HANNA instrument®	84
8.9	Annexe 9 : Valeurs moyennes des analyses chimiques pré expérimentation	91

8.10 Annexe 10 : Rendements de référence des cultures légumières (données du Centre Interprofessionnel Maraîcher (CIM)	92
--	----

Table des figures

1	Schéma conceptuel positionnant le sol comme un capital naturel générant des services écosystémiques en réponse à des besoins humains (Bispo et al., 2015).	3
2	Effets de la matière organique sur la fertilité du sol (Krull et al., 2004).	11
3	Processus aboutissant à la production de drêches (Mussatto et al., 2006).	17
4	La parcelle des Jardins TERRA-terre.	19
5	Dispositif expérimental.	20
6	Photo d'une planche de culture subdivisée en trois lignes.	20
7	Remplissage du seau de bokashi.	21
8	Illustration de l'échantillonnage des 15 premiers cm du sol.	24
9	Illustration des points de prélèvement entre les lignes de légumes.	25
10	Illustration des trois éléments principaux du kit MicroResp	26
11	Schéma d'un puits profond contenant l'échantillon et d'un puits de la micro-plaque de détection reliés par le tapis de scellement en caoutchouc.	27
12	Procédé d'extraction et de purification de l'ADN (source : QUIAGEN®).	28
13	Analyse chimique des drêches de brasserie	30
14	Coefficients d'efficacité de l'azote en fonction du rapport C/N en pourcentage (Frechette et al., 2007).	31
15	Biomasse fraîche (g) de 10 plants d'épinards récoltés le 08/05/24.	32
16	Biomasse sèche (g) de 10 plants d'épinards récoltés le 08/05/24.	33
17	Biomasse fraîche (g) totale des épinards récoltés le 10/08/24 et le 23/08/24.	34
18	Biomasse sèche (g) de 10 plants d'épinards récoltés le 23/05/24.	35
19	Biomasse fraîche (g/plant) des laitues feuilles de chêne récoltées le 23/05/24.	36
20	Biomasse fraîche (g) de 2 laitues pommées récoltées le 05/06/24.	37
21	Biomasse sèche (g) de 2 laitues pommées récoltées le 05/06/24.	37
22	Photo comparative de la taille des laitues pommées récoltées le 05/06/24.	38
23	Biomasse fraîche finale (g/plant) des laitues pommées récoltées le 05/06/24 et le 18/06/24.	38
24	N total (%) des sols amendés.	40
25	Taux de respiration microbienne mesuré grâce au kit MicroResp (ug/g/h).	41
26	Activité enzymatique par type d'amendement.	42
27	Succession écologique dans le sol et ratio champignons/bactéries à viser pour le système de culture. (source : Centre de développement de l'agroécologie).	47
28	Composition d'un fertilisant liquide adapté à un usage en agriculture biologique (source : FRAYSSINET).	52

Liste des tableaux

1	Provenance et mode d'application des différentes modalités.	21
2	Calendrier de repiquage.	22
3	Calendrier de récolte.	24
4	Informations relatives à l'amendement organique commercial.	30
5	Analyse chimique du jus de bokashi.	31
6	Résultats de l'ANOVA de la biomasse fraîche et sèche des 10 plants d'épinards récoltés le 08/05/24.	32
7	Résultat de l'ANOVA de la biomasse fraîche totale des épinards récoltés le 10/08/24 et le 23/08/24.	33
8	Résultat de l'ANOVA de la biomasse fraîche sèche des 10 plants d'épinards récoltés le 23/05/24.	34
9	Résultat de l'ANOVA de la biomasse fraîche par laitue feuille de chêne récoltée le 23/05/24.	35
10	Résultats des ANOVA de la biomasse fraîche et sèche des 2 laitues pommées récoltées le 05/06/24.	36
11	Résultat du test de l'ANOVA de la biomasse fraîche des laitues pommées récoltées le 06/05 et le 18/06/24.	38
12	Valeurs moyennes des éléments minéraux disponibles et du pH KCl.	39
13	Valeurs moyennes du carbone organique total, du pourcentage d'humus, du pourcentage d'azote total et du rapport C/N pour chaque type d'amendement organique.	40
14	Résultats de l'ANOVA sur les résultats du kit MicroResp.	41
15	Résultats de l'ANOVA sur les valeurs de la FDA.	41
16	Résultats des ANOVA de la quantité de gènes 16S et 18S.	42
17	Valeurs moyennes et écarts-types des quantités de gènes 16S et 18S par modalité et ratio 18S :16S.	43
18	Comparaison des données météorologiques du printemps 2024 avec les normales (1991-2020).	44

Nomenclature

A Modalité boues aquaponiques

ANOVA Analyse de variance

AU Agriculture urbaine

C/N Rapport entre le carbone total et l'azote total

CIM Centre interprofessionnel maraîcher

COT Carbone organique total

D Modalité drêches de brasserie

Df Degrees of freedom

F : B Rapport gènes fongiques (18S) sur gènes microbiens (16S)

FDA Fluorescéine Diacétate

GRAB Groupe de Recherche en Agriculture Biologique

I Modalité jus de bokashi

MO(s) Matière(s) organique(s)

qPCR Réaction de polymérisation en chaîne quantitative

SPIN Small Plot INTensive

T+ Modalité témoin positif

T Modalité témoin négatif

WASABI Plateforme Wallonne des Systèmes innovants en Agriculture et Biodiversité urbaine

1 Introduction

1.1 L'agriculture urbaine dans les pays du Nord

Depuis les débuts de l'urbanisation, l'Histoire a témoigné d'une étroite relation entre agriculture et ville, une forme de collaboration féconde qui a été un moteur du développement humain partout dans le monde. Ce fonctionnement a cependant été fortement altéré dans les pays industrialisés d'Amérique du Nord et d'Europe au cours du XX^{ème} siècle. L'agriculture s'est progressivement éloignée des villes, cédant du terrain à l'étalement urbain ou à l'industrie, tout en se tournant vers un fonctionnement intensif et orienté vers l'exportation (Scheromm et al., 2014). Cette déconnexion a été poussée à l'extrême au fur et à mesure des années, et elle peut être illustrée par le cas des villes françaises dont l'autonomie alimentaire moyenne est estimée à 2,1% alors que 97% de la production agricole de ces aires urbaines est directement exportée (Laville et al., 2017). Il est important de noter que la plupart des pays du Sud ont eux conservé une production urbaine de fruits, légumes et petit élevage significative. Par exemple, La Havane produit environ 70% de sa consommation en fruits et légumes (Balembois et al., 2022). Cette dépendance envers l'importation des villes des pays du Nord engendre une forte vulnérabilité et les expose à des risques de pénurie, avec une réserve de denrées estimée à trois jours pour la ville de Paris par exemple (de Biasi, 2020).

Alors que 55% de la population mondiale vit désormais en ville et qu'il est prévu que cette valeur atteigne 70% en 2050, il semble essentiel de se pencher sur la sécurité et la souveraineté alimentaire des aires citadines (FAO, 2022). La mise en lumière des dysfonctionnements du mode d'approvisionnement urbain, couplée à une meilleure compréhension des enjeux de développement durable et des différents impacts de notre alimentation sur l'environnement a ravivé l'intérêt pour le sujet de l'agriculture au sein des villes. Cette tendance a encore été renforcée lors de la crise de la Covid-19, qui a souligné les défis liés à l'accès aux denrées alimentaires durant les périodes de restrictions du commerce international ainsi que les faiblesses de la chaîne d'approvisionnement actuelle. En lien avec ces préoccupations, une nouvelle diversité de formes d'agriculture urbaines et péri-urbaines réémerge en Amérique du Nord et en Europe (Balembois et al., 2022). Les études menées sur le sujet ont déterminé que le potentiel d'autonomie agricole des principales villes de France tournait autour de 55%. Cette valeur reste théorique tant le chemin pour reconnecter les villes à leurs sources d'alimentation semble long, mais elle permet d'imaginer de belles améliorations et ouvre les portes de l'innovation en agriculture urbaine (Laville et al., 2017).

Outre sa vocation nourricière, le développement de cette nouvelle façon de pratiquer l'agriculture peut étendre son influence aux sphères sociales et environnementales de la vie ci-

tadine. L'agriculture urbaine (AU) a le potentiel d'agir sur la santé et la qualité de vie des habitants, en leur permettant de reprendre du contrôle sur leur alimentation et en remplissant plusieurs types de services tels que la réduction du ruissellement ou des îlots de chaleur. De plus, en remplaçant les espaces nus et artificialisés par des cultures variées sources d'habitats et de nourriture pour les organismes, l'AU permet la création de milieux favorables à l'établissement d'une biodiversité plus importante (Chapelle & Jolly, 2013; Clucas et al., 2018). Elle peut également impacter l'éducation en recréant du lien avec la terre et les organismes vivants, et en permettant aux petits et aux grands de mieux comprendre d'où proviennent les denrées qu'ils consomment. Au-delà de l'éducation, l'AU a une vocation récréative en offrant de nouvelles sources de divertissement et d'intérêt pour les citoyens (ateliers de jardinage, création de jardins botaniques, espaces de détente, . . .) (Scherr et al., 2014). Elle a de plus le potentiel de devenir une nouvelle source d'emploi, et même de servir d'outil de réinsertion professionnelle pour les personnes éloignées du marché de l'emploi. Enfin, elle permet de réduire les émissions de gaz à effet de serre associées au transport des denrées, mais aussi les différents désagréments liés à ces transports (embouteillages, accidents, . . .) (Laville et al., 2017).

Notre système alimentaire est actuellement confronté à des enjeux d'ampleur tels que la croissance démographique, le changement climatique, la dépendance aux énergies fossiles et les différents scandales sanitaires ayant fragilisé la confiance des consommateurs (Verdonck et al., 2012). Pour relever les défis de l'alimentation de demain, il semble que le développement d'une AU prospère dans les villes d'Europe et d'Amérique du Nord soit l'une des clés permettant d'avancer vers une meilleure sécurité alimentaire. Dès lors, le monde scientifique a tout intérêt à se pencher sur ce sujet et à se mettre à la recherche de solutions durables pour sécuriser l'alimentation des citoyens, et c'est dans ce cadre que s'inscrit le présent travail de fin d'études.

1.2 Des sols menacés

Il n'est aujourd'hui plus à prouver que les sols sont essentiels à toute forme de vie sur Terre (Kopittke et al., 2024). Les sociétés humaines, dont la pérennité repose sur la pratique de l'agriculture, sont largement dépendantes de ceux-ci car les sols sont les supports de la production végétale ainsi que les réservoirs naturels de la plupart des éléments nutritifs nécessaires à la vie (Genot et al., 2009). Ils représentent un capital naturel primordial caractérisé par les différents stocks de biodiversité, de MO et d'éléments divers mais aussi par tous les flux générés en leur sein. Ce capital est à la base d'un grand nombre de services écosystémiques qui répondent à nos besoins humains (Bispo et al., 2015). La régulation du climat et du cycle de l'eau, la production de biomasse ou encore la présence d'habitat pour les humains

et la biodiversité sont autant de services essentiels rendus par les sols. Ces sols sont également considérés comme une ressource non renouvelable, car leurs processus de régénération et de formation sont très lents en comparaison à la durée de la vie humaine (FAO, 2015; Commission européenne, 2006). Les liens entre sol, services écosystémiques et besoins humains sont illustrés en Figure 1.

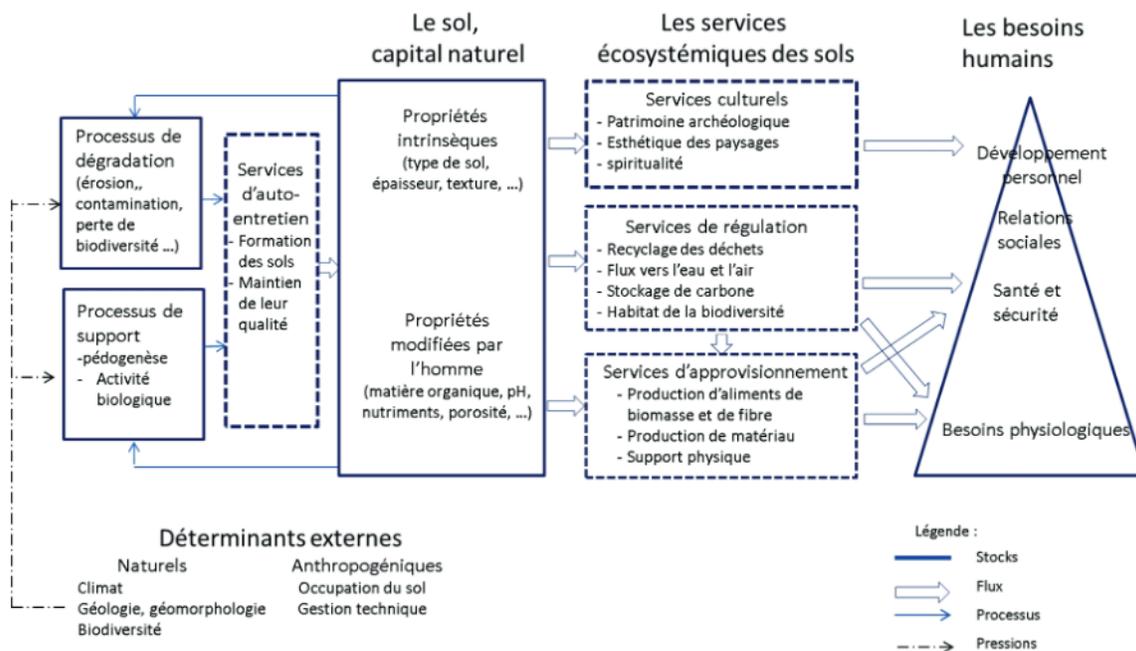


FIGURE 1 – Schéma conceptuel positionnant le sol comme un capital naturel générant des services écosystémiques en réponse à des besoins humains (Bispo et al., 2015).

Cependant, les pressions humaines exercées sur les sols sont massives et une dégradation des ressources est constatée partout dans le monde, plus particulièrement sur les sols cultivés (Richelle, 2020). Il est estimé que 30% des sols mondiaux et 70% des sols européens sont aujourd'hui dans un état dégradé (Richelle & Brauman, 2023). Il est possible d'identifier deux grands facteurs globaux à l'origine des pressions s'exerçant sur les sols : la croissance démographique et la croissance économique. Depuis le XX^{ème} siècle, ces croissances ont eu comme conséquence un changement profond des pratiques agricoles (ITPS (Intergovernmental Technical Panel of Soils), 2016). Cette période a vu naître le modèle agro-industriel que nous connaissons, basé sur l'usage d'engrais de synthèse et de produits phytosanitaires associés à une mécanisation intense et à des variétés sélectionnées pour leur productivité. Si ces pratiques ont été accompagnées de hausses de rendements, elles ont également provoqué une homogénéisation des pratiques agricoles ainsi qu'une altération des sols cultivés (Richelle, 2020). Les conséquences de ces dégradations impactent directement notre qualité de vie en influençant la production alimentaire, la qualité de l'eau et de l'air, la biodiversité ou encore

la régulation du climat ([Commission européenne, 2006](#)). Il semble donc d'une importance majeure de se pencher sur cette thématique et de chercher des pratiques innovantes et plus respectueuses de ces ressources en sol.

1.3 Le cas particulier du maraîchage urbain et péri-urbain

Le maraîchage urbain ou péri-urbain désigne un système agricole basé sur la production de légumes variés dont une caractéristique importante est son « *intégration au sein du système économique et écologique urbain* » (traduction de ([Mougeot, 2000](#))). Au-delà de la proximité spatiale entre ville et production agricole, ce type d'agriculture présente avec le milieu urbain des interdépendances matérielles et organisationnelles qui la distinguent de l'agriculture conventionnelle rurale ([Plateau et al., 2019](#)). De par cette particularité et de par son fonctionnement intensif en ressources naturelles dont le sol et en travail humain, le maraîchage urbain et péri-urbain se retrouve au carrefour entre les deux problématiques précédemment exposées. Il soulève de nombreux défis, entre autonomie alimentaire des villes et protection du patrimoine en sol exploité.

La pratique du maraîchage exploite les ressources du sol de manière intensive car la production est récoltée sur des surfaces restreintes et avec des temps de repos très courts. Les cycles de production sont généralement courts, les successions culturales nombreuses et les exportations de nutriments massives ([Thibault & Lecompte, 2018](#)). Les itinéraires techniques conventionnels, pour atteindre ce niveau de productivité, reposent sur des apports importants d'intrants de synthèse ([Navarrete et al., 2012](#)). Les productions biologiques, elles, comptent sur un grand nombre d'interventions mécaniques afin d'améliorer les conditions de croissance des plantes et de lutter contre les adventices ([Peigné et al., 2009](#)). À terme, les deux systèmes culturels risquent de causer une réduction de la fertilité des parcelles en les exposant à l'érosion, à la perte de MO et à la compaction ([Jamar & Sallets, 2016](#)). De plus, les deux méthodes provoquent une perte de biodiversité associée à la perturbation du milieu par le travail du sol ou à l'utilisation de produits phytosanitaires. Cela ajoute encore un risque, car les microorganismes du sol jouent un rôle primordial dans le développement des plantes et dans la mise à disposition des éléments nutritifs essentiels à leur croissance ([Araya et al., 2021](#); [Willekens et al., 2014](#)).

Cependant, ces dégradations ne sont pas une fatalité et il est possible de lutter contre en adaptant la gestion des parcelles. Ainsi, il est documenté que des apports réguliers de MO permettent de compenser les exportations massives de nutriments, de restructurer le sol et de favoriser la vie microbienne ([Vincent et al., 2019](#); [Sierra et al., 2017](#)). Ces apports ont donc le potentiel de solutionner certains problèmes associés à la pratique du maraîchage,

qu'il soit biologique ou conventionnel. Dans le contexte de la flambée des prix des engrais de synthèse et amendements commerciaux (SPW, 2023) ainsi que dans une logique de développement de systèmes économiques et alimentaires plus circulaires et durables, il est intéressant de se pencher sur les MOs disponibles localement. C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude, qui sera basée sur trois types d'amendements organiques disponibles dans un périmètre proche de la faculté. Ces MOs sont les drêches de brasserie, co-produits de la production de bière locale (Gembloux.beer), les mêmes drêches traitées selon la méthode bokashi et les boues résiduelles des systèmes aquaponiques de la plateforme Wallonne de Systèmes innovants en Agriculture et Biodiversité urbaine (WASABI) de la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech.

2 Objectifs

Ce travail de fin d'étude s'inscrit dans le cadre des recherches menées au sein de la plateforme WASABI, spécialisée dans l'étude de différentes formes innovantes d'agriculture urbaine. Les recherches ont été plus précisément menées sur la parcelle de maraichage urbain gérée en SPIN farming. L'objectif général de ce travail est la comparaison de trois amendements organiques innovants et locaux. Cet objectif global peut être divisé en deux pendants. Le premier consiste à évaluer les effets des trois amendements organiques sur la fertilité du sol de la parcelle grâce à l'étude de différents paramètres chimiques et microbiologiques. Le second est lié à la productivité végétale de la parcelle, qui sera évaluée en comparant les masses fraîches et sèches des laitues et épinards au terme de leur période de croissance.

3 État de l'art

3.1 Le SPIN farming

Le SPIN (Small Plot INTensive) farming est un modèle de maraichage urbain bio-intensif sur petites surfaces développé et théorisé par le canadien Wally Satzewich il y a une vingtaine d'années. Son idée principale était de concevoir un système agricole urbain capable de valoriser les espaces disponibles en les transformant en surfaces productives et nourricières, tout en assurant la viabilité économique de cette activité (Maughan et al., 2021). Les caractéristiques fondamentales de ce modèle sont (Brown, 2008) :

- Un système de culture « en relais » avec de nombreuses spéculations se succédant rapidement au cours de la saison ;
- Un équilibre entre des cultures spécifiques à haute valeur ajoutée et des cultures saisonnières populaires ;
- Un système de commercialisation directe ou via des circuits courts pour capter un maximum de la valeur ajoutée en contournant les intermédiaires ;
- Une utilisation du travail manuel et une faible mécanisation ;
- Des objectifs de revenu définis pour chaque planche de culture (zones de culture de taille standardisée répétées sur toute l'exploitation) et un business plan orienté vers les exigences du marché ;
- Des investissements initiaux et des frais généraux d'exploitation minimums.

Ainsi, dans la théorie, le SPIN farming se distingue en proposant un business model économiquement viable et écologiquement responsable établi sur les surfaces inoccupées des villes. Cette manière de pratiquer l'agriculture se présente aussi comme une porte d'entrée dans la profession agricole pour les néo-agriculteurs désireux de se lancer dans ce milieu souvent inaccessible.

Du point de vue économique, le créateur du SPIN assure qu'il est possible de tirer 48 586\$ (45 182,55 €) de revenu au cours d'une saison culturale s'étalant sur 20 à 30 semaines et sur une surface de 1858 m² (soient 20 000 square feet) (CoDyre et al., 2015). Pour atteindre ce résultat, le SPIN mise sur une efficacité maximale de la gestion de l'espace et du temps de travail. Il repose sur la mise en place de successions rapides sur des planches de culture de taille standardisée facilitant la planification culturale, le calcul des intrants ainsi que la prévision des rendements (Maughan et al., 2021). Ce type d'agriculture se distingue aussi de l'agriculture traditionnelle par la faiblesse des investissements nécessaires au lancement. En effet, les terres sont généralement louées à des particuliers selon des accords formels mais aussi informels (par exemple, location en échange de légumes gratuits ou de services ren-

du) ou encore achetées sans nécessiter un investissement prohibitif compte tenu des tailles réduites (inférieures à un hectare). Les infrastructures requises sont minimales, selon W. Sattzewich il est uniquement nécessaire d'investir dans une station de nettoyage post-récolte, un abri de stockage du matériel et un moyen de réfrigération des récoltes ([Christensen, 2007](#)).

Du point de vue environnemental, les exploitations sont principalement gérées selon des méthodes biologiques, et les pratiquants tendent vers des systèmes autonomes en produisant la plupart de leurs amendements de manière circulaire, tout en minimisant la production de déchets. Le système repose également sur une connaissance fine du terrain utilisé, rendue possible par la petite taille de celui-ci. Ainsi, le maraîcher peut étudier avec précision sa parcelle et trouver les combinaisons les plus efficaces en tenant compte des micro-variations du sol. Le grand nombre de productions cultivées sur un espace réduit représente aussi une belle diversité de ressources alimentaires pour la biodiversité locale. De plus, la multiplication de ces espaces de culture participe à la recréation d'un maillage écologique au sein de nos villes souvent excessivement artificialisées ([Christensen, 2007](#)).

Le SPIN farming est donc un système intéressant, qui a déjà fait ses preuves aux États-Unis et au Canada mais qui n'est qu'aux prémices de son développement en Europe. Les contextes socio-économiques et urbains n'étant pas les mêmes en Amérique du Nord, il est important que le SPIN farming soit l'objet de réflexions et recherches afin de s'adapter à nos villes ([Chapelle & Jolly, 2013](#)). Par exemple, des études ont soulevé les différences de gestion de l'urbanisme qui impactent fortement la recherche de terres à cultiver. D'un côté, les centres urbains américains sont souvent entourés de banlieues homogènes et aérées où sont présentes des maisons quatre façades entourées de jardins. De l'autre, les vieilles villes européennes sont bien plus denses et hétérogènes, avec des accès complexes aux parcelles cultivables. Les canaux de vente sont également différents, avec une vente axée sur les touristes et habitants locaux en Amérique tandis que les pratiquants européens du SPIN farming se tournent plutôt vers les restaurants locaux pour valoriser leur production ([Spincoop, 2018](#)). Des projets de fermes associées à la recherche scientifique voient cependant le jour (CycleFarm à Bruxelles par exemple) et permettent d'envisager le SPIN farming d'une manière adaptée à nos contextes particuliers.

Ces systèmes sont donc confrontés à de multiples défis socio-économiques mais ils rencontrent aussi des obstacles environnementaux. L'un de ces défis est lié aux besoins importants en MOs destinées à devenir des amendements. En effet, ces systèmes situés au cœur du tissu urbain sont soumis à des réglementations limitant leur accès aux intrants chimiques. Ils sont de plus, comme dit précédemment, porteurs de valeurs écologiques et innovantes fortes qui appellent à des changements de pratiques ([Brown et al., 2023](#)). La recherche de MOs

produites localement, soutenant efficacement la production, sans risque sanitaire et permettant une plus grande circularité du système alimentaire est dès lors primordiale pour le bon développement des systèmes d'AU tels que le SPIN farming (Alvarenga et al., 2015).

3.2 Qualité, santé et fertilité du sol

3.2.1 Définitions des concepts

Depuis les années 1970 un changement dans la perception globale des sols est observé, passant progressivement d'un simple support de production à une réelle prise en compte des interactions entre le sol, les humains et l'environnement (Vincent et al., 2019). C'est ainsi que la notion de qualité des sols a émergé, définie dans les années 1990 comme « *la capacité continue à fonctionner comme un système vivant, au sein d'écosystèmes naturels ou gérés, dans le but de maintenir la productivité biologique, de maintenir ou d'augmenter la qualité de l'eau et de l'air et de promouvoir la santé des animaux, des végétaux et des humains* » (traduit de l'anglais Doran & Parkin (1994)) ou encore comme « *la capacité d'un type spécifique de sol à fonctionner, à l'intérieur des limites des écosystèmes naturels ou gérés, à soutenir la productivité des plantes et des animaux, à maintenir ou améliorer la qualité de l'eau et de l'air, et à soutenir la santé humaine et l'habitat* » (traduit de l'anglais Karlen et al. (1997)). Cette définition n'a pas cessé d'évoluer depuis, pour intégrer notamment la biodiversité et le concept du changement climatique plus récemment, comme dans la définition de Toth et al. (2007) qui décrit la qualité du sol comme « *une mesure de l'aptitude d'un sol à fournir des services écosystémiques et sociaux par sa capacité à maintenir ses fonctions sous des conditions changeantes* » (traduit de l'anglais).

Le terme de santé du sol se veut quant à lui plus holistique et moins anthropocentré. Sarthou (2016) en donne la définition suivante « *la santé des sols correspond à la capacité du sol à fonctionner sur le long terme comme un système vivant, i.e., capable d'assurer une productivité de biomasse végétale compatible avec le maintien à long terme des fonctionnalités écologiques de l'écosystème naturel ou cultivé, de même que les processus connexes : participation à la préservation des ressources naturelles que sont l'air, l'eau et la biodiversité dans leurs dimensions quantitatives et qualitatives, et à la santé des plantes, des animaux et de l'homme en favorisant les processus physiologiques impliqués dans leurs systèmes d'autodéfense* ». Elle assimile le sol à une forme de supra-organisme complexe et met l'accent sur les composantes et processus biologiques (Richelle & Brauman, 2023). Cependant, les différences entre la qualité et la santé des sols sont subtiles et les deux concepts sont parfois utilisés indifféremment (Bünemann et al., 2018). Vincent et al. (2019) suggèrent que la différence entre les deux tiendrait au fait que la qualité des sols prend compte l'utilisation du sol tandis que la santé des sols engloberait une forme de qualité au long terme sans prise en

compte de l'usage du sol. Dans cette étude, le terme « qualité du sol » sera utilisé, car ce travail se tourne vers l'influence des apports d'amendements organiques divers sur les caractéristiques du sol et la productivité végétale.

La fertilité du sol est également une notion complexe aux multiples définitions, mais elle se restreint à la fonction agricole et productive des sols (Vincent et al., 2019; Patzel et al., 2000). La définition utilisée dans le présent travail est celle donnée par Stockdale et al. (2002), « *la fertilité du sol est définie comme la capacité d'un sol à fournir les conditions nécessaires à la croissance des plantes. Elle est le résultat des processus physiques, chimiques et biologiques qui agissent ensemble pour fournir des nutriments, de l'eau, de l'aération et de la stabilité à la plante, ainsi que l'absence de toute substance qui pourrait inhiber sa croissance.* » (traduit de l'anglais). La fertilité du sol résulte des différentes conditions du milieu (climat, topographie, matériau parental, . . .) mais également des activités humaines et des pratiques culturales appliquées (Genot et al., 2009).

La fertilité d'un sol peut se séparer en trois composantes mutuellement dépendantes : fertilité physique, chimique et biologique. La fertilité physique fait référence à la structure, à la densité et à la porosité du sol. Celles-ci conditionneront sa capacité à supporter la croissance végétale en retenant l'eau sans excès et en offrant un milieu meuble et aéré aux plantes. La fertilité chimique a trait à la quantité, la qualité et la disponibilité des éléments nécessaires à la bonne nutrition végétale. Elle se penche sur les aspects de biodisponibilité des éléments, de carence ou encore de toxicité. Enfin, la composante biologique lie l'activité microbienne du sol au rendement des cultures établies. Elle met en relation cette activité biologique avec les phénomènes de dégradation et de minéralisation des MOs et aux différents transferts de nutriments qui sont opérés (ARVALIS, 2021; Genot et al., 2009; Jamar & Sallets, 2016). C'est sur ce concept plus restreint de fertilité des sols que les analyses seront axées tout au long de cette étude.

3.2.2 L'importance de la matière organique pour la fertilité du sol

Le terme de matière organique du sol englobe l'ensemble des molécules organiques présentes dans le sol, indépendamment de leur origine ou de leur état de décomposition (Stolt & Lindbo, 2010). Les sources majeures de MO des sols non gérés par l'Homme sont les plantes via le dépôt de tissus aérien morts, le renouvellement des organes souterrains ou encore les exsudats racinaires (Cotrufo & Lavelle, 2022). Les micro-organismes, leurs réseaux mycorhiziens et leurs résidus ainsi que les différents déchets animaux viennent également renforcer ces apports (Godbold et al., 2006). Ces apports naturels sont hautement variables et ils dépendent des conditions climatiques et écosystémiques dans lesquelles les organismes

évoluent. À l'inverse, les apports de MO dans les systèmes gérés par l'humain sont presque totalement maîtrisés. Ils varient en fonction de la sélection des cultures, des exportations de biomasse et des amendements organiques ajoutés au cours de l'itinéraire technique (Cotrufo & Lavallee, 2022). La gestion intensive des sols agricoles, basée sur un travail du sol agressif et les intrants de synthèse mène à une perte des stocks de MO. Par exemple, les sols cultivés wallons ont en moyenne perdu 16% de leur MO depuis les années 1960 en raison des pratiques culturales appliquées (SPW, 2020). Pourtant, la MO joue un rôle primordial dans le bon fonctionnement des sols, ses effets sur les trois compartiments de la fertilité sont aujourd'hui largement étudiés et sont résumés sur la Figure 2.

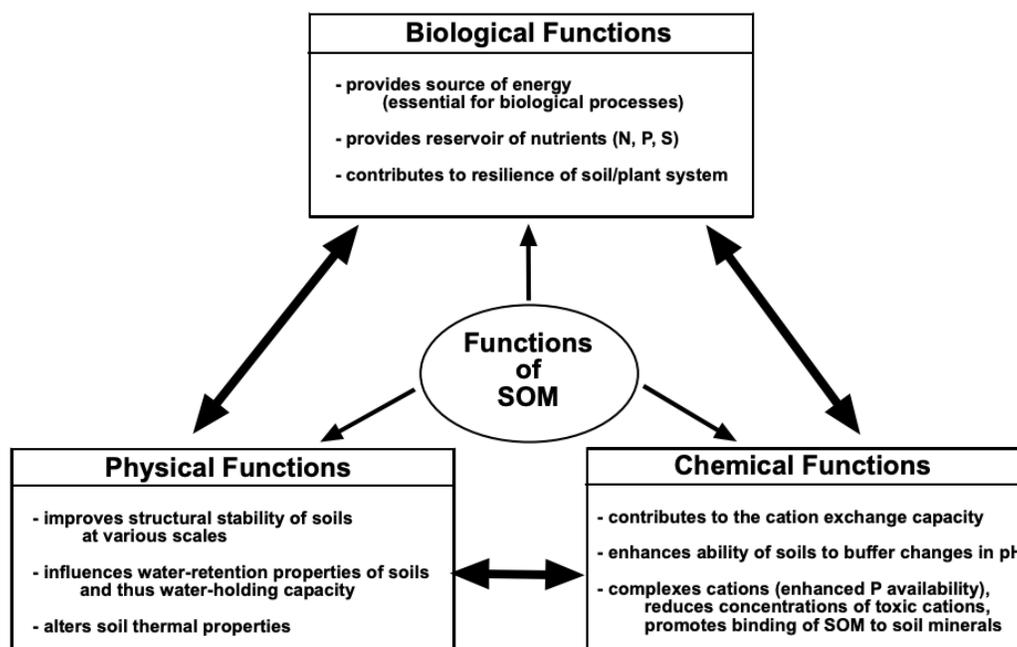


FIGURE 2 – Effets de la matière organique sur la fertilité du sol (Krull et al., 2004).

Du point de vue physique, la MO a le potentiel d'influencer la structure du sol en augmentant la stabilité des agrégats. Ceux-ci participent à la formation d'une porosité essentielle aux déplacements d'eau et d'air ainsi qu'à la bonne stabilité du sol. La MO permet une pénétration et un stockage plus optimal de l'eau, une réduction de l'hydromorphie et une réduction du risque de tassement et d'érosion (Krull et al., 2004). Tous ces effets permettent de créer un substrat favorable à l'enracinement et à la croissance des plantes.

Du côté de la composante chimique de la fertilité, la MO agit favorablement sur la capacité d'échange cationique (CEC), définie comme une mesure du nombre de sites chargés négativement qui peuvent retenir et échanger des ions chargés positivement (tels que Mg^{2+} , K^+ ou Ca^{2+}). La MO du sol permet également la rétention de certains métaux lourds potentiellement toxiques ainsi que de polluants organiques en limitant leur mobilité et en diminuant

leur présence dans la solution du sol par des phénomènes d'adsorption et de complexation. Elle représente également une réserve de nutriments utiles aux plantes rendus disponibles au fur et à mesure de sa minéralisation. Elle donne aussi au sol un plus grand pouvoir tampon, ce qui permet une stabilisation du pH qui influence directement la disponibilité des éléments nutritifs (Hoffland et al., 2020).

Au niveau biologique, la MO sert principalement à fournir un réservoir d'énergie métabolique alimentant les processus biologiques qui se déroulent dans le sol. Elle est une source de macro et de micronutriments majeure pour tous les organismes du sol et elle constitue également une réserve à long terme, les éléments étant relâchés au fur et à mesure de la minéralisation. Il est important de noter que les processus biologiques alimentés par la MO auront à leur tour un impact majeur sur les propriétés chimiques et physiques du sol (Krull et al., 2004).

3.2.3 L'évaluation de la fertilité du sol

a. Évaluation des propriétés physiques

La fertilité physique des sols est fortement influencée par les activités anthropiques, et plus particulièrement par les pratiques agricoles mises en œuvre sur les terres de culture (Sharma et al., 2010). Les indicateurs de cette fertilité ne seront pas développés dans ce travail de fin d'études mais restent très intéressants à considérer pour une compréhension complète des phénomènes observés.

b. Évaluation des propriétés chimiques

Les principaux indicateurs permettant l'étude de cette fertilité peuvent être séparés en trois catégories : le statut acido-basique, le statut organique et le statut nutritif. Le premier statut est déterminé par le pH du sol (eau ou KCl), qui influence la disponibilité des éléments nutritifs ainsi que la vie microbienne. Le second est souvent évalué grâce au rapport C/N, qui donne des informations sur l'état qualitatif de la MO du sol. Ce rapport s'obtient en mesurant la concentration totale en carbone organique ainsi que celle en azote total. Enfin, le statut nutritif est représenté par les mesures des concentrations en cations, en anions et en oligo-éléments (Genot et al., 2009).

c. Évaluation des propriétés biologiques

L'étude des indicateurs biologiques du sol permet d'estimer l'abondance, l'activité et la diversité des organismes évoluant dans le sol. Ces microorganismes jouent un rôle important dans le fonctionnement des sols et remplissent de nombreuses fonctions telles que la production de biomasse, le stockage de C, la dégradation de la MO, le maintien de l'équilibre interspécifique, les cycles biogéochimiques de nombreux éléments ou encore la dégradation

de polluants (Leyval et al., 2009). L'étude de cette activité représente donc une information importante sur la fertilité à long terme d'un sol. Les indicateurs biologiques sont également pourvoyeurs d'informations sur l'état de fertilité physico-chimique des sols puisqu'ils dépendent des itinéraires techniques, des pratiques de gestion et qu'ils sont impliqués dans la mise à disposition des nutriments via la minéralisation de la MO. En plus de cela, ces indicateurs réagissent rapidement aux perturbations du sol et permettent donc d'établir des diagnostics précoces des effets de changements de l'environnement (Vincent et al., 2019).

L'abondance des microorganismes du sol est mesurable par la biomasse microbienne du sol. Cette biomasse reprend la composante vivante de la MO du sol en excluant les macroorganismes et les racines. Pour la connaître, il est possible d'effectuer une PCR quantitative ou encore de mesurer le carbone microbien. Cette biomasse microbienne donne des indications au sujet des phénomènes de décomposition au sein du sol et des cycles de nombreux éléments (C ou N par exemple). Elle est fonction de la quantité et de la qualité des substrats organiques, mais aussi de facteurs édaphiques tels que la température, l'humidité, la porosité du sol, le pH, ... (Vincent et al., 2019). En second lieu, la respiration du sol ou la mesure de l'activité enzymatique peuvent être utilisées pour obtenir une estimation de l'activité des microorganismes en présence. Enfin, il est possible d'étudier la diversité microbienne, qui évalue les proportions des populations bactériennes et fongiques, car celles-ci présentent des fonctions écosystémiques bien particulières. Cette mesure donne une idée de la diversité des fonctions réalisées par les communautés microbiologiques, et peut être reliée à des services écosystémiques. La diversité est affectée par le mode de gestion du sol ainsi que par plusieurs facteurs tels que la texture du sol, le pH et la teneur en MO (Thibault & Lecompte, 2018).

3.3 Le bokashi

3.3.1 Origine et principes de base

Le compostage bokashi, dont le nom est issu du japonais et signifie "matière organique fermentée", est une méthode traditionnelle asiatique. Elle permet d'obtenir un engrais organique grâce à un processus de fermentation anaérobie de la MO (Inckel et al., 2005). Cette méthode désormais répandue dans le monde entier a d'abord été adoptée par les communautés agricoles d'Amérique Centrale et Latine, puis en Océanie et en Afrique et plus récemment par les pays d'Europe et d'Amérique du Nord (Olle, 2021). Aujourd'hui, le bokashi est présenté comme un amendement organique rapide à obtenir, peu cher, pouvant être produit à partir de tout type de MO et facile à réaliser pour les agriculteurs (Ginting, 2019).

Pratiquement, le bokashi est préparé en mélangeant la MO avec des microorganismes efficaces (EM) et une source de sucre servant à leur nutrition, le tout dans des conditions anaéro-

bies. La fermentation se produit en l'espace de deux ou trois semaines, sans élévation majeure de la température (maximum 40 °C) mais en provoquant une chute du pH (3,5). L'environnement acide et anaérobie, hostile aux agents pathogènes, assure une stérilisation de la MO d'origine. Cet assainissement permet l'utilisation d'une grande diversité de déchets organiques comme matière première du bokashi. De ce fait, cette technologie peut être utilisée partout dans le monde sur la biomasse localement disponible (déchets ménagers organiques, déchets de boulangerie ou de brasserie, résidus animaux divers, déchets végétaux, . . .). La fermentation résulte en la formation d'une fraction solide et d'une fraction liquide appelée « thé de bokashi » ou « jus de bokashi » (Olle, 2021).

En ce qui concerne la partie solide, les caractéristiques chimiques et biologiques sont relativement mal connues et la composition peut fortement varier en fonction des MOs utilisées. Des études relèvent tout de même certaines constantes telles qu'un ratio C/N tournant autour de 10-11, une prédominance de l'ammonium (NH_4^+) comme forme dominante d'N à un taux variant entre 1 et 3,5%, ainsi qu'un taux de phosphore disponible d'environ 1% (Christel, 2017; Yamada & Xu, 2001; Gómez-Velasco et al., 2014; Nene, 2018; Quiroz & Céspedes, 2019). Pour la partie liquide, il s'agit d'un liquide jaunâtre, acide (pH d'environ 4,5), contenant des EM ainsi que des éléments nutritifs. La composition de ce jus varie également en fonction de la matière première utilisée. Ce jus est concentré et est dès lors appliqué en étant dilué au préalable afin de ne pas endommager les plantes, les ratios de dilution varient entre 1 :50 et 1 :1000 (Ghanem et al., 2017; Olle, 2020).

Les effets observés lors de l'application sous forme liquide et/ou solide de bokashi diffèrent selon les cultures étudiées et les conditions de croissance de celles-ci. Il est également important de noter que peu d'études ont été réalisées sur le jus de bokashi, la plupart se concentrant sur la fraction solide. Plusieurs bénéfices sont généralement soulevés (Ginting, 2019; Phooi et al., 2022) :

- Augmentation du taux de germination et de survie des semences ;
- Augmentation du contenu en chlorophylle et de la capacité photosynthétique ;
- Accélération significative de la croissance des plantes ;
- Hausse significative du rendement ;
- Amélioration de la structure et de la fertilité du sol ;
- Augmentation de l'activité microbiologique du sol.

3.3.2 Focus sur les microorganismes efficaces (EM)

Les EM, popularisés par le Professeur Teruo Higa dans les années 1980, contiennent des dizaines de souches microbiennes bénéfiques pour les sols et les plantes. Les microorga-

nismes majoritairement retrouvés sont des bactéries lactiques (*Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*), des levures (*Saccharomyces spp.*) et des bactéries violettes non soufrées (*Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodobacter sphaeroides*) (Olle, 2020). En plus de ces groupes majoritaires, les EM contiennent des populations d'actinomycètes (*Streptomyces albus*, *Streptomyces griseus*) et de champignons filamenteux (*Aspergillus oryzae*, *Mucor hiemalis*), tous mutuellement compatibles et non génétiquement modifiés (Higa & F. Parr, 1994; Lind, 2014). Des mélanges commerciaux d'EM sont trouvables dans le commerce et sont utilisés pour de nombreuses applications telles que le soin aux animaux, le traitement des eaux, le recyclage des MOs, l'agriculture, le traitement des sols pollués aux métaux lourds,...

Le but de l'utilisation des EM sur les plantes est de modifier l'équilibre microbien du substrat sur lequel ils sont appliqués afin de créer un environnement microbiologique favorable à la croissance végétale. En plus de cela, les molécules produites par le métabolisme secondaire des EM peuvent posséder des vertus antioxydantes et antibiotiques bénéfiques aux plantes (Boechat et al., 2013). Les études réalisées sur les effets des EM sur les plantes et le sol ont montré des augmentations de rendement, une accélération de la croissance des plantes, une diminution de la présence des champignons telluriques pathogènes (*Verticillium*, *Thielaviopsis*, *Fusarium*) ainsi qu'une augmentation des populations de microorganismes connus pour lutter contre les pathogènes des plantes dans les sols (Higa & Wididana, 2004).

3.3.3 Comparaison avec le compostage traditionnel

Les deux procédés ont pour objectif l'obtention d'un amendement stabilisé et stérilisé à partir de MOs variées. Cependant, le compostage classiquement utilisé dans nos pays européens se base sur des mécanismes bien différents de ceux du bokashi. Le bokashi se réalise dans des conditions anaérobies et à des températures inférieures à 40°C, tandis que le compostage nécessite de l'oxygène et une élévation importante de la température. Cette température élevée remplace la baisse de pH retrouvée dans le processus du bokashi pour assurer la stérilisation des MOs (Azzopardi, 2023).

En raison de ces différences, le bokashi présente certains avantages. Tout d'abord, il n'est pas nécessaire de retourner et aérer la MO, ce qui représente un gain de temps et une réduction de la pénibilité du travail pour les agriculteurs. En second lieu, le processus de fermentation du bokashi émet moins d'odeurs putrides que le compostage traditionnel. Il est dès lors plus facile d'éviter les problématiques de pollution olfactive, mais aussi d'infestation de rongeurs et d'insectes (Ghanem et al., 2017). Troisièmement, la fermentation anaérobie semble permettre une meilleure conservation des nutriments utiles en raison de l'élévation de température modérée. Quatrièmement, le bokashi permet une réduction significative des émissions

de gaz à effet de serre tels que le CO₂, le CH₄ et le NO₂, ce qui réduit l’empreinte carbone du processus (Bosch et al., 2017). Le bokashi permet dès lors d’éviter des pertes atmosphériques de carbone et un plus grand retour de celui-ci au sol (Ghanem et al., 2017). Enfin, le temps nécessaire à la fermentation est généralement compris entre 14 et 21 jours, tandis que le compost traditionnel peut demander jusqu’à une année entière avant d’être utilisable (Thevenin et al., 2023).

3.3.4 Limites

La méthode du bokashi semble intéressante pour le recyclage des déchets organiques en amendements culturels de qualité. Cependant, la recherche à ce sujet manque encore de profondeur et certains effets de l’application du bokashi sont toujours inconnus. Par exemple, il est encore difficile de prévoir l’efficacité d’un bokashi car la composition du produit fini varie beaucoup en fonction des matières premières utilisées (Wenneck et al., 2023). De plus, les effets des EM appliqués ne font pas l’objet d’un consensus scientifique, et certaines études laissent à penser que leurs effets sur les rendements et la qualité des sols auraient pu être surestimés (Mayer et al., 2010; Priyadi et al., 2005; Van Vliet et al., 2006). Enfin, il existe des risques d’acidification néfaste des sols lorsque la production et l’application du bokashi ne sont pas gérées correctement (temps de repos trop faible, quantités trop importantes appliquées, . . .) (Houenou et al., 2021).

3.4 Les drêches de brasserie

La bière est l’une des boissons les plus consommées au monde, et le coproduit le plus important de sa production est la drêche de brasserie. Pour chaque hectolitre de bière produit, 20kg de drêches sont générés et l’Europe produit 3,4 millions de tonnes de ces drêches chaque année (Bianco et al., 2020). Les drêches sont les sous-produits du processus de brassage, l’une des premières étapes de la production de bière, comme l’illustre la Figure 3. Au cours du brassage, le malt concassé est mélangé à de l’eau chaude et mélangé de manière régulière. Cette étape permet l’extraction de l’amidon contenu dans le malt et la mise en action d’enzymes dégradant cet amidon en sucres plus simples (Mosher & Trantham, 2021). Le liquide obtenu en fin de processus est appelé le « moût », il est filtré puis soumis à d’autres opérations afin de devenir de la bière. Les résidus de la filtration, les drêches, comprennent des protéines insolubles dans l’eau ainsi que les résidus de parois cellulaires de l’enveloppe, du péricarpe et de la coque des graines (Mussatto et al., 2006).

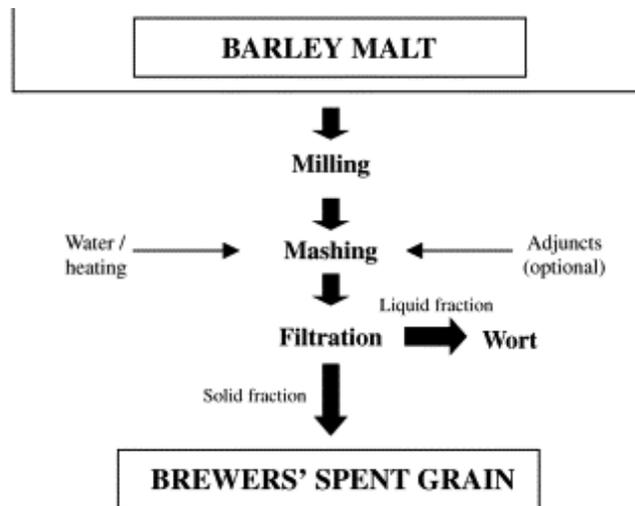


FIGURE 3 – Processus aboutissant à la production de drêches (Mussatto et al., 2006).

Les drêches de brasserie sont des matériaux lignocellulosiques contenant environ 17% de cellulose, 28% de polysaccharides non cellulosiques (principalement des arabinoxylanes) et 28% de lignine. Elles sont aussi composées d'environ 20% de protéines, principalement composées d'acides aminés essentiels. Leur pH est acide car les drêches contiennent des acides organiques (Cacace et al., 2022).

Ces drêches sont valorisables dans plusieurs domaines tels que l'alimentation humaine et animale, la production de biogaz, la production de substrats pour la culture de microorganismes ou pour la fermentation ou encore comme source de fibres alimentaires (Chetrariu & Dabija, 2020). Récemment, leur potentiel en tant qu'amendement organique a également été révélé, car elles représentent une MO financièrement très abordable et disponible tout au long de l'année, la production de bière étant continue (Amenkhienan & Isitekhale, 2020). Leur application permettrait d'augmenter les rendements des cultures et de maintenir une bonne fertilité des sols grâce à l'apport de MO (Cacace et al., 2022).

3.5 Les boues aquaponiques

L'aquaponie est un système intégrant la production hydroponique de plantes et l'aquaculture, il est basé sur la recirculation de l'eau entre les deux compartiments. Ainsi, les déchets du compartiment de production de poissons servent de nutriments au compartiment de production de plantes. L'aquaponie permet une économie d'eau grâce à la filtration biologique et à la recirculation, mais aussi un recyclage des éléments nutritifs en présence (Diver, 2006). Les systèmes aquaponiques produisent néanmoins des coproduits qui sont les boues aquaponiques. Celles-ci contiennent les restes de l'alimentation des poissons ainsi que leurs excréments et sont récupérées après leur accumulation par sédimentation dans le fond des

réservoirs. Elles doivent être évacuées afin d'éviter des colmatages des filtres biologiques et des systèmes racinaires qui pourraient compromettre la bonne absorption des nutriments ou les échanges gazeux racinaires (Lenz et al., 2021). L'évacuation de ces boues permet également de conserver une bonne qualité de l'eau et une santé optimale des poissons.

Ces boues sont considérées comme sûres pour une application directe sur le sol sans traitement préalable, car elles ne contiennent pas de pathogènes tels que *E. Coli* et *Salmonella sp.* (Lenz et al., 2021). Leur composition chimique peut fortement varier en fonction de l'alimentation des poissons, mais des études en ont démontré les effets positifs sur le rendement des cultures et la fertilité du sol. Fruscella et al. (2023) et Abdelraouf (2019) indiquent que l'application de boues aquaponiques sur la culture permet une augmentation de la hauteur, du diamètre de la tige, du contenu en N et en vitamines des tissus, de la qualité gustative et du rendement final de la plante. Concernant le microbiote du sol, il semble aussi que l'application des boues provoque une augmentation de la diversité des microorganismes en présence (Fruscella et al., 2023). L'application de boues aquaponiques peut apporter des bactéries nitrifiantes permettant la transformation de l'ammoniac en nitrates. Des bactéries promotrices de la croissance des plantes aidant dans la lutte contre les agents pathogènes sont également retrouvées (Eck et al., 2019).

4 Matériel et méthode

4.1 Localisation

L'essai est mené au sein de la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech (50°33'48,2" nord, 4°41'58,3" est) plus particulièrement sur la plateforme WASABI. L'expérimentation se déroule sur la parcelle des Jardins TERRA-terre qui est dédiée au maraîchage urbain dans la zone axée sur le SPIN farming illustrée en Figure 4. Celle-ci a une surface de 472,5 m² cultivée sans pesticides depuis 2021.



FIGURE 4 – La parcelle des Jardins TERRA-terre.

4.2 Conditions climatiques

Les précipitations moyennes sont de 793,4 mm par an et la température moyenne est de 10,2°C dans la commune de Gembloux (données de l'IRM).

4.3 Dispositif expérimental

La parcelle de SPIN farming est divisée en 12 blocs distincts et numérotés contenant chacun 7 planches de culture de 80 cm de large et de 7 m de long. L'étude porte sur une planche de culture par bloc. Chacune des planches étudiées est subdivisée en 3 lignes de culture, 2 lignes d'épinards sur l'extérieur et 1 ligne de laitue au milieu (voir Figure 6). Quatre amendements sont appliqués sur cette surface : drêches (D), jus de bokashi (I), boues aquaponiques (A) et compost commercial (T+). Un témoin non amendé (T) est également présent. Les trois premières modalités sont chacune répétée sur 3 blocs complets tandis que les modalités T+ et T sont chacune répétées sur 3 demi parcelles. Ce plan expérimental est schématisé en Figure 5.

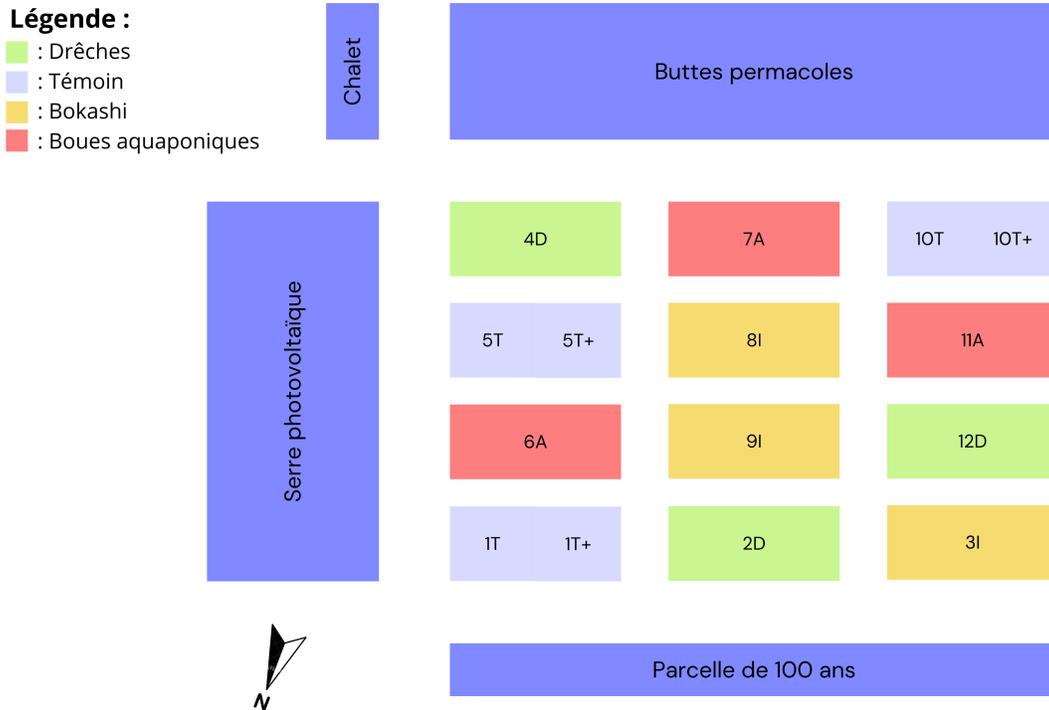


FIGURE 5 – Dispositif expérimental.



FIGURE 6 – Photo d'une planche de culture subdivisée en trois lignes.

Les parcelles sont amendées de cette façon pour la deuxième année consécutive, seule la modalité « bokashi » a été modifiée en 2024. Les blocs 8I, 9I et 3I étaient précédemment amendés à l'aide de résidus d'entomoculture en containers, également réalisée au sein de la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech. Ces résidus étaient cependant complexes à manipuler, source de nuisances olfactives et disponibles de manière irrégulière, ce qui a motivé le changement vers le jus de bokashi. Les amendements ont des modes d'application et des provenances différentes, reprises dans le Tableau 1.

TABLE 1 – Provenance et mode d’application des différentes modalités.

Amendement	Provenance	Application
Drêches	Brasserie Gembloux.beer	Application unique le jour du repiquage (40 kg/planche)
Bokashi	Production en laboratoire	Application bihebdomadaire (10L/ligne, dilution 1 :1000)
Boues aquaponiques	Plateforme WASABI	Application hebdomadaire (10L/planche, dilution 1 :10)
Témoin positif	Les serres de Sauvenière	Application unique le jour du repiquage (10.4 kg/planche)
Témoin négatif	/	/

4.4 Production du jus de bokashi

Le jus de bokashi a été produit dans des seaux commerciaux de la marque Hozelock Pure. Quatre seaux ont été utilisés pour essayer d’atteindre une production continue de jus. Chaque seau est rempli en empilant des couches d’herbe, de drêche et d’activateur (voir Figure 7) en suivant les recommandations commerciales retrouvables en Annexe 5. Une fois le seau refermé hermétiquement, il est stocké dans un environnement aux conditions de température et d’humidité stables. Le jus de bokashi est purgé deux fois par semaine grâce au robinet prévu à cet effet.



FIGURE 7 – Remplissage du seau de bokashi.

4.5 Analyses chimiques des amendements

Les drêches de brasserie ont été congelées le 21 mars 2024, puis décongelées le 4 juin 2024 afin d'être envoyées au laboratoire d'analyses agricoles du Centre provincial de l'agriculture et de la ruralité à La Hulpe. Une analyse d'amendement organique y a été réalisée. Les protocoles utilisés par le laboratoire sont certifiés et retrouvables sur le site du Brabant Wallon. Le jus de bokashi a été analysé à l'aide d'un photomètre HANNA® instruments afin de connaître les quantités d'azote, de phosphore et de potassium en présence. Les différents protocoles utilisés sont repris en Annexe 8.

4.6 Mise en place des cultures

Deux espèces de légumes ont été choisies pour cette expérimentation, la laitue et les épinards. Ce choix est justifié par leur précocité d'implantation ainsi que par la rapidité de leur croissance. Les légumes ont tous été repiqués et les plants proviennent de l'Archenterre ou de la pépinière De Koster. Les légumes ont été implantés le 22 mars 2024, une planche de chaque bloc de la parcelle a été remplie avec une ligne de laitues entourée de deux lignes d'épinards. Les distances entre chaque plant ont été fixées au préalable afin que les conditions de croissance des légumes soient optimales. Les écarts entre les épinards sont de 20 cm tandis que ceux entre les laitues mesurent 30 cm. Chaque ligne d'épinards compte 34 plants tandis que chaque ligne de laitues en compte 20. Suite à des attaques de limaces et à une météo peu clémente (pluie et grêle), deux journées de repiquage ont été réalisées afin de remplacer les plants morts. Les différentes dates de repiquage sont reprises dans le Tableau 2. Les premières laitues repiquées étaient des laitues de variété feuilles de chêne tandis que les secondes étaient de variété pommées.

TABLE 2 – Calendrier de repiquage.

Date	Opération	Provenance des plants
22 mars 2024	Premier repiquage des épinards + repiquage des laitues feuilles de chêne	L'Archenterre
10 avril 2024	Second repiquage des épinards	L'Archenterre
23 avril 2024	Repiquage des laitues pommées	Pépinière De Koster

4.7 Récoltes et quantification des biomasses aériennes fraîches et sèches

4.7.1 Épinards

Des différences d'état d'avancement importantes entre les épinards de la modalité « drêches » et les autres ayant été remarquées, les récoltes ont dû être échelonnées dans le but de se rapprocher d'un mode de gestion commercial et d'éviter la montée en fleur des légumes. Pour pouvoir comparer les différentes modalités au moment de la récolte des plants de la modalité « drêches », un échantillon représentatif de 10 plants a été récolté dans les autres modalités. La biomasse fraîche a été relevée et les échantillons ont été placés à l'étuve (60 °C pendant 3 jours) pour obtenir la biomasse sèche. Les épinards restants ainsi que les repousses des épinards de la modalité « drêches » ont été récoltés plus tardivement. À la récolte finale, le nombre de plants est comptabilisé et la biomasse fraîche totale est relevée pour chaque bloc.

4.7.2 Laitues

Il a également été nécessaire d'échelonner les récoltes en raison des différences de date d'implantation, de variétés et d'état d'avancement. Cet échelonnement répond à nouveau à une volonté de se rapprocher d'une gestion commerciale de parcelle maraîchère. Les récoltes ont été réalisées en trois étapes :

- Récolte complète des laitues feuilles de chêne ;
- Récolte des laitues pommées dans la modalité « drêches » et d'un échantillon de deux laitues sur les autres modalités ;
- Récolte des laitues pommées restantes.

Les laitues de la première et de la dernière récolte n'ont pas pu fournir d'échantillon à placer à l'étuve car elles n'étaient pas assez nombreuses. Un échantillon de deux laitues pommées par modalité a pu être placé à l'étuve pour une étude de la biomasse sèche lors de la seconde récolte (60°C pendant 3 jours). À chaque récolte finale, le nombre de plants est comptabilisé et la biomasse fraîche totale est relevée pour chaque bloc.

4.7.3 Tableau récapitulatif

Toutes les récoltes réalisées sont reprises dans le Tableau 3.

TABLE 3 – Calendrier de récolte.

Date	Légume récolté
8 mai 2024	10 plants d'épinards par modalité
10 mai 2024	Tous les épinards de la modalité « drêches »
23 mai 2024	Épinards restants et repousses des épinards de la modalité « drêches », toutes les laitues feuilles de chêne
5 juin 2024	2 laitues pommées par modalité et toutes les laitues pommées de la modalité « drêches »
18 juin 2024	Laitues pommées restantes

4.8 Analyses de sol

4.8.1 Échantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé le 10 mai 2024 à l'aide d'une tarière manuelle de 25 cm de long et 2,5 cm de diamètre. Les échantillons ont été pris sur une profondeur de 15 cm, correspondant à la couche dans laquelle la vie microbienne est la plus active. Au total, 15 échantillons composites ont été récoltés, soient 3 échantillons composites par modalité. Chaque échantillon composite est la somme de 10 prélèvements centralisés dans un même récipient et homogénéisés, comme illustré en Figure 8 et 9. Les 15 échantillons récoltés ont ensuite été entreposés dans des sachets et identifiés. Ils ont été tamisés (2 mm) puis conservés à 4°C afin que les propriétés biologiques soient conservées au mieux durant la période d'analyses. Pour chaque modalité, un tube de 2 mL de sol a été congelé à l'azote liquide puis placé à -80°C pour les analyses d'ADN.



FIGURE 8 – Illustration de l'échantillonnage des 15 premiers cm du sol.

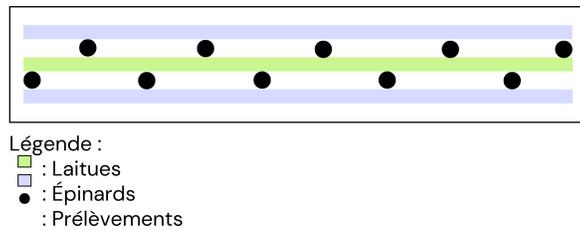


FIGURE 9 – Illustration des points de prélèvement entre les lignes de légumes.

4.8.2 Analyses chimiques

Les différentes analyses chimiques ont été réalisées au laboratoire d'analyses agricoles du Centre provincial de l'agriculture et de la ruralité à La Hulpe. Ce laboratoire est certifié et les méthodes employées pour les différentes mesures sont consultables sur le site du Brabant Wallon. Pour chaque échantillon, plusieurs mesures ont été prises : le pH KCl, les quantités en éléments nutritifs (P, K, Mg, Ca), le taux d'humus, l'azote total, le carbone organique total ainsi que le rapport C/N.

4.8.3 Analyses des paramètres biologiques du sol

a. Mesure de l'activité enzymatique par émission de fluorescence

[Schnürer & Rosswall \(1982\)](#) ont démontré que l'hydrolyse de la fluorescéine diacétate (FDA) est une méthode fiable pour mesurer l'activité microbienne totale dans les sols. Il s'agit d'un bon indicateur global car l'hydrolyse de la FDA est réalisée par de nombreuses enzymes aussi bien bactériennes que fongiques ([Asensio et al., 2010](#)). La FDA, incolore à l'origine, est mise en contact avec l'échantillon de sol contenant des microorganismes et est hydrolysée par les enzymes libres et liés à la membrane de ceux-ci. Le résultat de cette hydrolyse est la production de fluorescéine colorée dont la quantité peut être mesurée par spectrophotométrie ([Adam & Duncan, 2001](#)).

L'étude de l'activité enzymatique a été réalisée sur les 15 échantillons composites prélevés. Pour le dosage enzymatique, une solution standard, une solution de substrat et une solution tampon ont été préparées en amont. Ensuite, le sol a été pesé et mis en solution dans le tampon (tampon phosphate de potassium, pH = 7,6). Il a été placé dans un agitateur incubateur (10 min à 335 RPM), dans un sonicateur afin de solubiliser les enzymes fixées plus solidement au complexe argilo-humique et à la fraction minérale du sol (2 min) puis à nouveau dans l'agitateur incubateur (5 min). Une fois le sol en suspension, les microplaques sont préparées pour la mesure. Chaque puits est rempli avec la solution de sol (25 µL), la solution de substrat (30 µL) et la solution tampon (195 µL) pour un total de 250 µL par puits. Chaque colonne de la plaque représente un échantillon, ce qui permet 8 répétitions techniques de la mesure.

Une fois toutes les mesures réalisées, une plaque destinée à la réalisation d'une droite de calibration est également remplie. Cette mesure s'effectue avec la solution standard contenant de la fluorescéine, en remplissant les puits avec des quantités croissantes de cette solution. Pour chaque plaque, une colonne témoin ne contenant pas de sol est ajoutée afin d'évaluer la fluorescence non-induite par la présence du sol. Une fois les microplaques correctement remplies, la mesure doit être réalisée le plus rapidement possible à l'aide du spectrophotomètre (TECAN Spark). La fluorescence est mesurée par cinétique toutes les 5 minutes et ce durant 2 heures. Le protocole détaillé de cette manipulation se trouve en Annexe 3.

b. Quantification du CO₂ émis grâce au kit MicroResp

Le kit MicroResp se base sur une méthode colorimétrique qui permet de mesurer les émissions de CO₂ sur de courtes périodes (4-6 h). Ce système se compose de trois éléments principaux illustrés en Figure 10 : une plaque à 96 puits profonds réceptacle de l'échantillon testé, une microplaque à 96 puits contenant le gel de détection et un tapis de scellement en caoutchouc reliant les deux plaques (The James Hutton Institute, 2019a).



FIGURE 10 – Illustration des trois éléments principaux du kit MicroResp

Le gel de détection contient un indicateur coloré, le rouge de crésol, qui change de couleur avec la baisse du pH provoquée par la réaction entre le CO₂ dégagé par la respiration microbienne et le bicarbonate également présent dans le gel (voir Figure 21). Cette baisse de pH suit l'équation suivante (The James Hutton Institute, 2019b) :



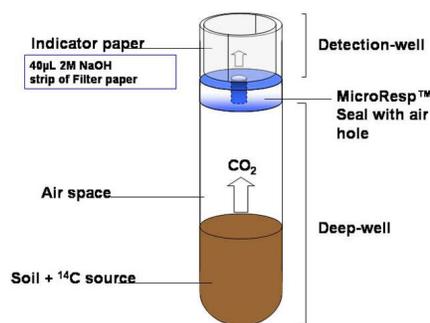


FIGURE 11 – Schéma d'un puits profond contenant l'échantillon et d'un puits de la microplaque de détection reliés par le tapis de scellement en caoutchouc.

La mesure de l'absorbance du gel de détection par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 570nm permet ensuite de quantifier le taux d'émission de CO₂ de chaque échantillon de sol et donc d'étudier la respiration microbienne de ces échantillons (Renault et al., 2013).

Pratiquement, l'étude de la respiration microbienne a été réalisée sur les 15 échantillons composites récoltés. Pour que la mesure soit valide, la teneur en humidité des échantillons a dû être ajustée à 30% de leur capacité maximale de rétention d'eau en amont. Une fois cette teneur en humidité atteinte, chaque plaque à puits profonds a été remplie puis placée dans une boîte étanche durant 60h afin d'atteindre une plus grande homogénéité. Après ce laps de temps, la dernière colonne de la plaque a été remplie d'eau distillée afin de servir de témoin négatif. Les trois éléments du kit MicroResp ont été assemblés puis scellés pour une durée de 6h. Ensuite, l'absorbance de la microplaque contenant le gel de détection a été lue à 570nm à l'aide d'un spectrophotomètre (TECAN Spark). Le protocole détaillé se trouve en Annexe 1 et Annexe 2.

c. Mesure de la biomasse microbienne par quantification des populations bactériennes et fongiques grâce à la qPCR

Pour pouvoir réaliser la qPCR, il faut tout d'abord extraire et purifier l'ADN génomique total présent dans les échantillons de sol à l'aide du kit DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QUIAGEN®). Pour commencer, environ 250 mg de sol sont placés dans un tube contenant des billes pour effectuer la lyse mécanique des cellules à l'aide d'un vortex, d'une centrifugeuse et d'un bead beater. Cette lyse mécanique est ensuite complétée par une lyse chimique à l'aide de tampons d'extraction. Une fois les cellules entièrement lysées, l'ADN génomique total est fixé à une membrane de silice sur une colonne de spin pour y être purifié. Une fois l'ADN lavé de ses impuretés, il est élué de la membrane et récolté dans un tube Eppendorf. Toutes ces étapes sont illustrées en Figure 12. La pureté et la concentration de l'ADN sont ensuite évaluées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (NanoDrop™) qui permet l'analyse de micro-volumes d'acides nucléiques (2 µL). Ensuite, la concentration de l'ADN extrait est

ajustée à 10 ng/μL pour la qPCR. Le protocole détaillé de l'extraction est repris en Annexe 6.

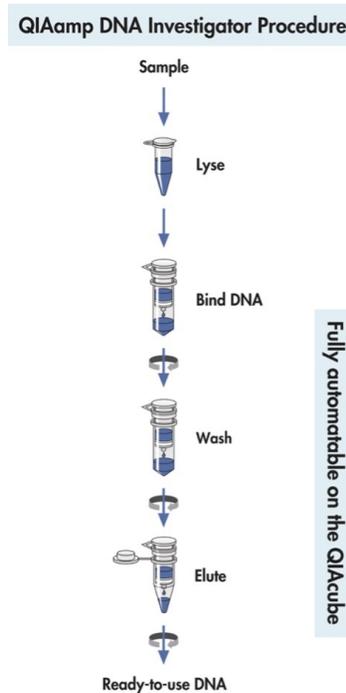


FIGURE 12 – Procédé d'extraction et de purification de l'ADN (source : QUIAGEN®).

La PCR en temps réel (qPCR) est une technique de biologie moléculaire qui permet de sélectionner et d'amplifier une séquence ADN d'intérêt, puis de quantifier le produit de la réaction de polymérisation. Elle se base sur « *la détection et la quantification d'un reporter fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction PCR* » (Poitras & Houde, 2003). La qPCR nécessite six acteurs pour sa réalisation :

- L'ADN de l'échantillon à analyser, extrait, purifié et porté à une concentration connue (10 ng/μL) ;
- Les deux amorces, qui sont des fragments d'une vingtaine de nucléotides capables d'encadrer spécifiquement la séquence d'ADN à amplifier ;
- L'enzyme Taq polymérase qui synthétise un nouveau brin d'ADN après s'être fixée à une amorce ;
- Les DésoxyriboNucléotides-Tri-Phosphates (dNTPs) qui sont les molécules de bases utilisées par la polymérase pour synthétiser les nouveaux brins d'ADN ;
- Le reporter fluorescent (SYBR Green) qui se fixe dans les molécules d'ADN double brin nouvellement formées ;
- Le milieu réactionnel qui comporte un tampon ainsi que des ions magnésiums afin d'assurer un pH et une concentration saline optimaux pour le fonctionnement de la Taq polymérase.

La qPCR (de même que la PCR classique) se déroule en trois grandes étapes : dénaturation, hybridation et élongation. La première se déroule à une température de 95°C qui permet de rompre les liaisons hydrogène et donc de séparer les deux brins d'ADN. La seconde est réalisée à une température variant entre 50 et 72°C et permet aux amorces de se fixer aux brins d'ADN. La troisième étape se déroule à une température de 72°C, idéale pour la polymérase qui assemble le brin complémentaire de la séquence d'ADN. Ces trois étapes sont répétées de cycles en cycles et elles permettent de doubler la quantité d'ADN en présence à chaque fois. Un thermocycleur permet d'automatiser cet enchaînement de réactions, en général un nombre de 35 à 50 cycles est suffisant pour une bonne amplification (Artika et al., 2022).

Dans le cadre de ce travail, deux fragments de gènes d'intérêt ont été amplifiés. Le gène 16S permettant d'estimer la quantité de bactéries dans l'échantillon et le gène 18S qui lui cible les populations fongiques. Pour ce faire, des amorces spécifiques sont sélectionnées et la mesure est réalisée à l'aide du thermocycleur QuanStudio 3 dans des plaques de 96 puits. Chaque puits contient un volume total de 10 µL composé d'1 µL d'échantillon d'ADN, de 2 µL d'eau sans nucléases, d'1 µL de chacune des deux amorces et de 5 µL de KAPA SYBR® FAST qPCR Master Mix. En plus de cela, des dilutions en séries de copies du gène ciblé contenus dans des plasmides sont réalisées afin de pouvoir dessiner une droite d'étalonnage (de 10⁸ à 10³). Le protocole détaillé de la manipulation est consultable en Annexe 4.

4.9 Analyses statistiques

Le logiciel RStudio® a été utilisé pour la totalité des analyses statistiques. Pour détecter les potentielles différences significatives entre les données récoltées, des analyses de la variance (ANOVA) à un facteur fixe « amendement » ont été réalisées. À chaque fois, le test d'homogénéité des variances a été réalisé grâce au test de Bartlett (p valeur > 0,05). Le test de Shapiro-Wilk concernant la normalité de la population n'a pas pu être réalisé, car le nombre d'observation par modalité n'était pas assez important ($n = 3$), l'analyse de la variance a donc dû être complétée par une étude des résidus de l'ANOVA à posteriori. Un test post-hoc de Tukey a également été réalisé après l'ANOVA. Celui-ci permet d'effectuer des comparaisons par paires entre les groupes. Dans le cas où les conditions d'application de l'ANOVA n'étaient pas respectées, un test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été réalisé. Dans le cas où ce test présentait un résultat significatif, un test post-hoc de Dunn avec correction de Bonferroni a été réalisé. Celui-ci permet d'effectuer des comparaisons multiples par paires pour des données quantitatives de façon non-paramétrique.

5 Résultats

5.1 Analyses chimiques des amendements organiques

5.1.1 Drêches et amendement commercial

Les résultats de l'analyse chimique des drêches de brasserie sont repris dans la Figure 13. Les données relatives à la composition de l'amendement commercial sont reprises dans le Tableau 4.

Déterminations		sur matière fraîche	sur matière sèche
Matière sèche		25,5 %	
Cendres totales		1,06 %	4,17 %
Cendres insolubles		0,42 %	1,64 %
Chlorure		0,00 %	0,00 %
Matière organique totale		244 kg/T	95,83 %
Azote ammoniacal	N-NH4+	< à 0,001%	%
Azote total	N	10,23 kg/T	4,01 %
Phosphore	P2O5	3,48 kg/T	1,37 %
Potassium	K2O	0,50 kg/T	0,20 %
Calcium	CaO	0,88 kg/T	0,35 %
Magnésium	MgO	0,92 kg/T	0,36 %
Sodium	Na2O	0,39 kg/T	0,15 %
Fer	Fe	41 mg/kg	159 mg/kg
Manganèse	Mn	12 mg/kg	46 mg/kg
Cuivre	Cu		< 5 mg/kg
Zinc	Zn	26 mg/kg	102 mg/kg
pH		4,3	
Rapport C/N *		13,9	

FIGURE 13 – Analyse chimique des drêches de brasserie

TABLE 4 – Informations relatives à l'amendement organique commercial.

Élément	Quantité
Matière sèche	40%
MO	25%
Azote total	0.4%
C/N	31

Composition : tourbe brune, compost d'écorces d'arbres résineux, tourteau de pépin de raisin, fumier séché de poules, fumier séché de cheval et fumier séché de vaches

L'observation des valeurs indique que l'amendement commercial contient une quantité de matière sèche plus grande que les drêches de brasserie. La valeur de l'azote total est supérieure pour les drêches et le rapport C/N est inférieur. Il est possible de compléter cette comparaison en calculant le N disponible, qui est fonction de la valeur de N total, de la dose appliquée et du coefficient d'efficacité de l'azote repris dans la Figure 14 qui est lui-même dépendant du C/N.

Rapport C/N	Coefficient d'efficacité de l'azote
30-35	10
25-30	20
20-25	30
15-20	40
10-15	50
5-10	60
< 5	70

FIGURE 14 – Coefficients d'efficacité de l'azote en fonction du rapport C/N en pourcentage (Frechette et al., 2007).

L'application de cette formule donne des valeurs de N disponible bien distinctes :

- Drêches : $10,23 \text{ kg/T} \times 0,04 \text{ T} \times 0,5 = 0,2046 \text{ kg de N disponible/planche}$
- Amendement commercial : $4 \text{ kg/T} \times 0,0104 \times 0,1 = 0,0041 \text{ kg de N disponible/planche}$

5.1.2 Jus de bokashi

Les valeurs reprises dans le Tableau 5 sont tirées de l'analyse du jus de bokashi. Elles indiquent que celui-ci contient de très faibles quantités de phosphates et de nitrates, et une quantité plus importante d'oxyde de potassium.

TABLE 5 – Analyse chimique du jus de bokashi.

Élément nutritif	Quantité
NO_3^-	1 g/L
PO_4^{3-}	1,6 mg/L
K_2O	14 g/L

5.2 Quantification de la biomasse aérienne fraîche et sèche

5.2.1 Récolte partielle des épinards (8 mai 2024)

L'analyse statistique de la biomasse fraîche et sèche des épinards de la récolte partielle reprise dans le Tableau 6 et illustrée en Figure 15 et Figure 16 montre une différence significative entre la modalité « drêches » et les quatre autres. La biomasse des épinards de la modalité D est significativement supérieure à celle des autres modalités. Aucune différence significative n'a été identifiée entre les modalités I, A, T+ et T.

TABLE 6 – Résultats de l'ANOVA de la biomasse fraîche et sèche des 10 plants d'épinards récoltés le 08/05/24. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test statistique, Df signifie « degrees of freedom », degrés de liberté en français.

ANOVA	Biomasse fraîche		Biomasse sèche	
	Df	p-valeur	Df	p-valeur
amendement	4	1.33e-05***	4	1.9e-04***
résidus	10		10	

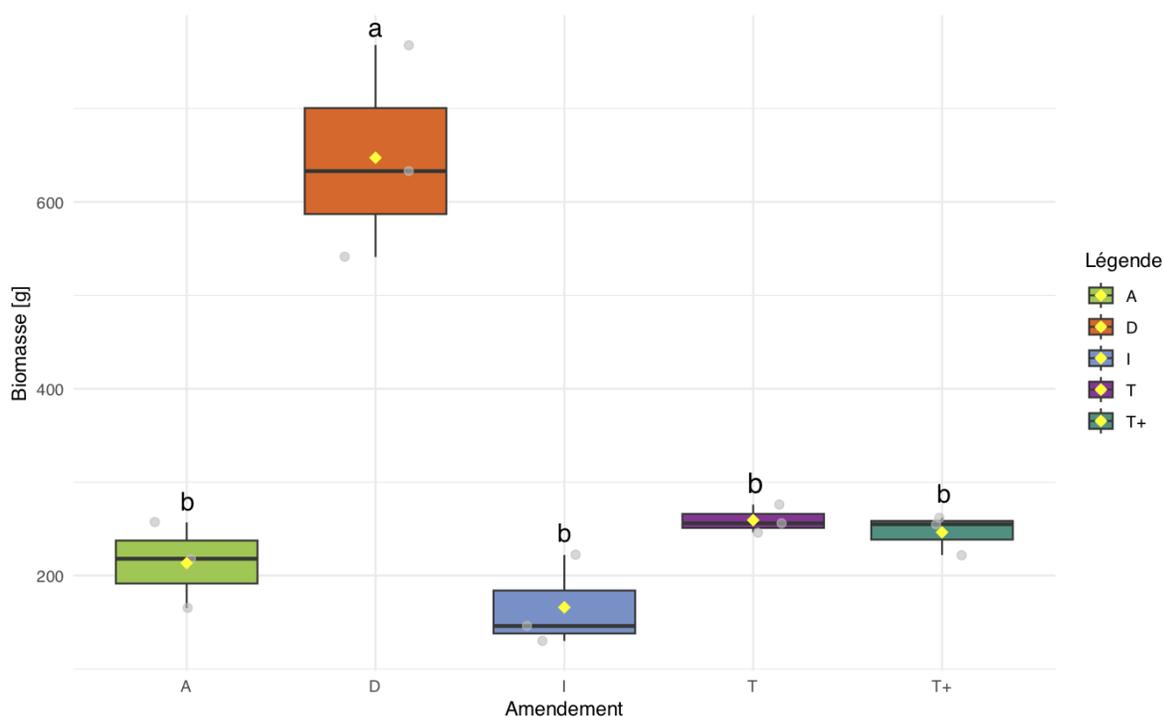


FIGURE 15 – Biomasse fraîche (g) de 10 plants d'épinards récoltés le 08/05/24. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes de la biomasse des plants. Les lettres de la légende représentent le type d'amendement : A (boes aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

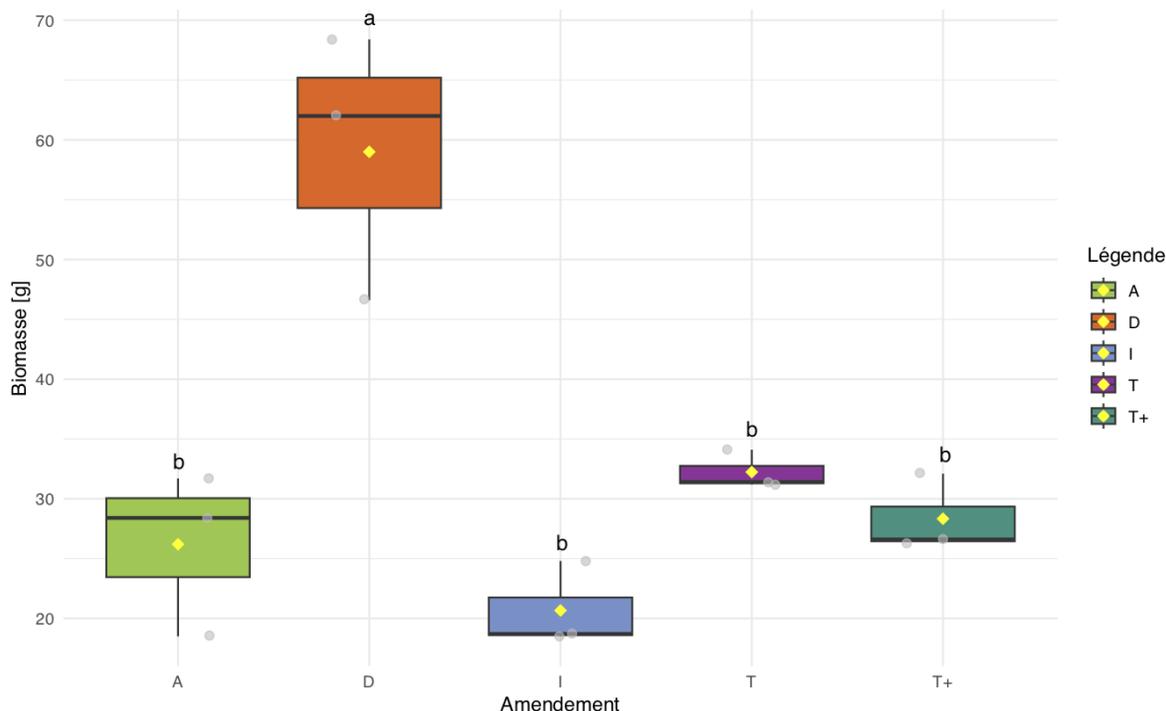


FIGURE 16 – Biomasse sèche (g) de 10 plants d'épinards récoltés le 08/05/24. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes de la biomasse des plants. Les lettres de la légende représentent le type d'amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

5.2.2 Récoltes totales des épinards (10 mai et 23 mai 2024)

L'analyse statistique de la biomasse totale fraîche reprise dans le Tableau 7 et illustrée en Figure 17 montre une différence significative entre la modalité « drêches » et les quatre autres modalités. La biomasse des épinards de la modalité D est significativement supérieure à celle des autres modalités. Aucune différence significative n'a été identifiée entre les modalités I, A, T+ et T. Cette biomasse totale a été récoltée en deux fois pour la modalité « drêches » qui était en avance sur les autres et a eu le temps de repousser, une seule fois pour les autres modalités qui présentaient un retard de croissance.

TABLE 7 – Résultat de l'ANOVA de la biomasse fraîche totale des épinards récoltés le 10/08/24 et le 23/08/24. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test statistique.

ANOVA	Df	p-valeur
amendement	4	1.51e-3**
résidus	10	

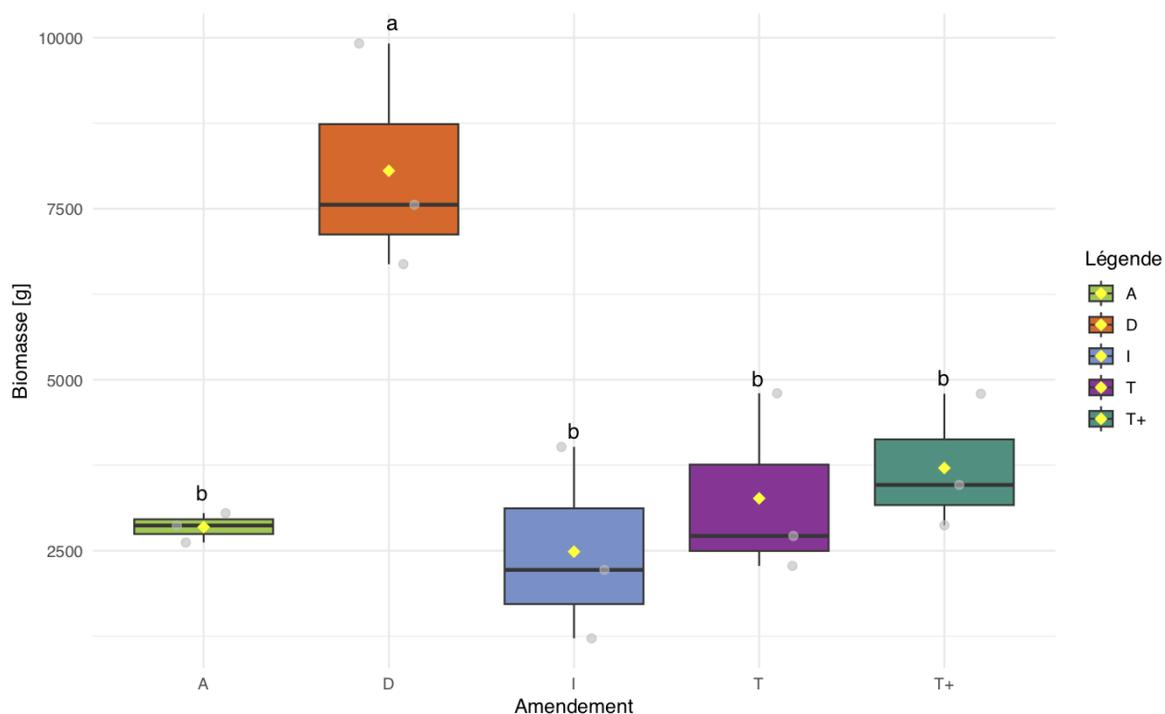


FIGURE 17 – Biomasse fraîche (g) totale des épinards récoltés le 10/08/24 et le 23/08/24. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes de la biomasse. Les lettres de la légende représentent le type d'amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

De plus, l'analyse statistique de l'échantillon représentatif de la biomasse sèche récolté le 23 mai reprise dans le Tableau 8 et illustrée en Figure 18 ne dévoile aucune différence significative entre les légumes. Cela signifie que les repousses des épinards de la modalité « drêches » ont atteint une biomasse non significativement différente des autres modalités qui n'ont été récoltées qu'une seule fois.

TABLE 8 – Résultat de l'ANOVA de la biomasse fraîche sèche des 10 plants d'épinards récoltés le 23/05/24. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test statistique.

ANOVA	Df	p-valeur
amendement	4	0,431
résidus	10	

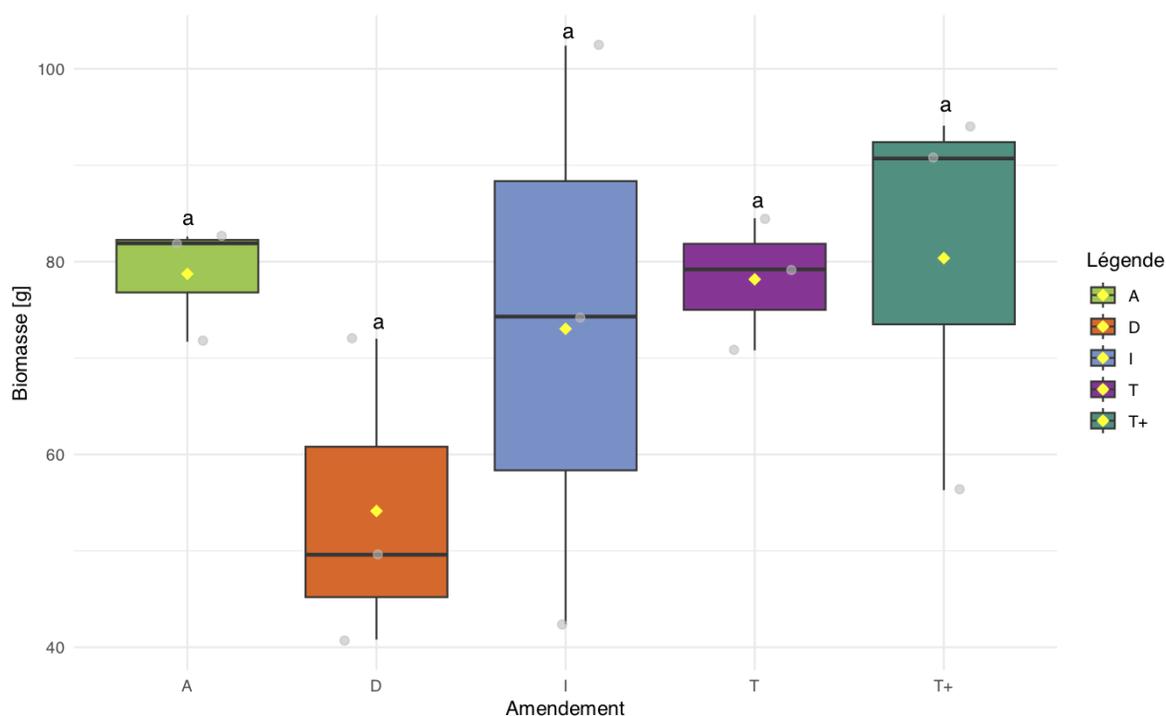


FIGURE 18 – Biomasse sèche (g) de 10 plants d'épinards récoltés le 23/05/24. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes de la biomasse des plants. Les lettres de la légende représentent le type d'amendement : A (boues aquaponiques), D (drèches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

5.2.3 Récolte des laitues feuilles de chêne (23 mai 2024)

Le Tableau 9 donne les p-valeurs de l'analyse statistique de la biomasse fraîche totale des laitues lors de la première récolte a été réalisée en utilisant le poids moyen d'un plant au vu des fortes différences de nombres de laitues récoltées par bloc. Cette analyse révèle une augmentation significative de la biomasse des laitues de la modalité « drèches » par rapport aux autres, comme illustré en Figure 19.

TABLE 9 – Résultat de l'ANOVA de la biomasse fraîche par laitue feuille de chêne récoltée le 23/05/24. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test statistique.

ANOVA	Df	p-valeur
amendement	4	1.08e-3**
résidus	10	

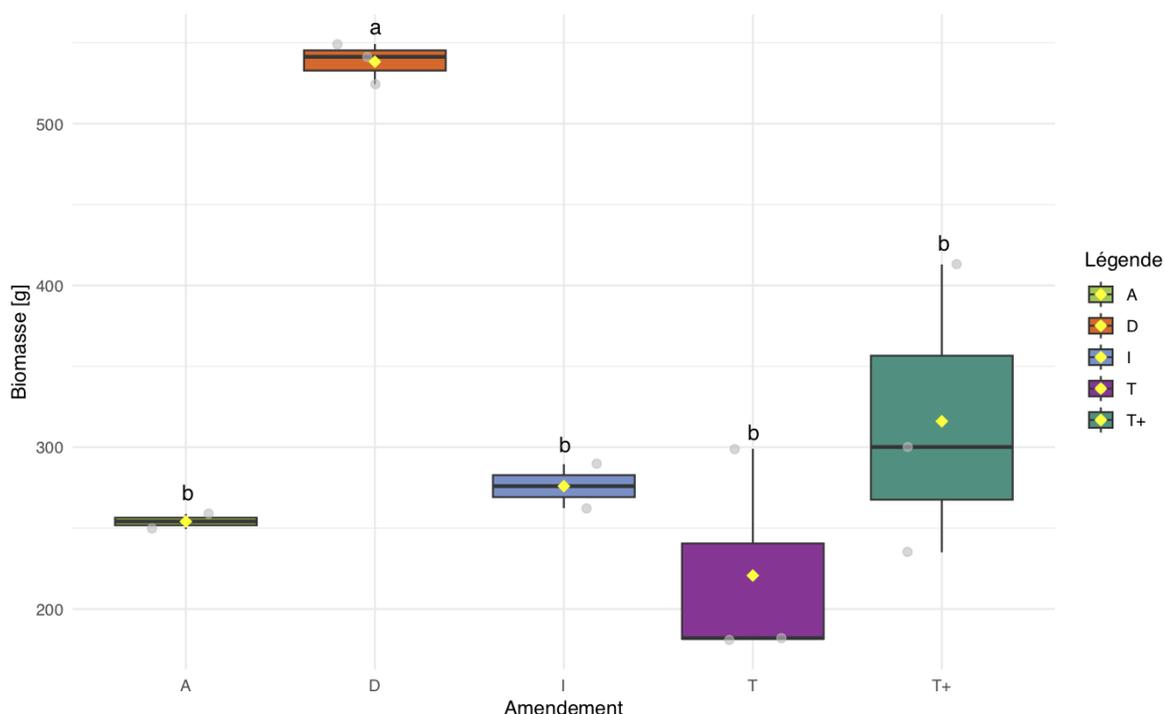


FIGURE 19 – Biomasse fraîche (g/plant) des laitues feuilles de chêne récoltées le 23/05/24. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes de la biomasse. Les lettres de la légende représentent le type d'amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

5.2.4 Récoltes des laitues pommées (5 et 18 juin 2024)

Le Tableau 10 donne les p-valeurs de l'analyse statistique de la biomasse fraîche et sèche des laitues lors de la récolte du 5 juin qui a visé toutes les laitues de la modalité « drêches » et 2 laitues par bloc pour les autres modalités. Ces analyses révèlent une biomasse significativement plus importante des laitues de la modalité « drêches » par rapport aux autres, comme illustré en Figure 20 et Figure 21.

TABLE 10 – Résultats des ANOVA de la biomasse fraîche et sèche des 2 laitues pommées récoltées le 05/06/24. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test statistique.

ANOVA	Biomasse fraîche		Biomasse sèche	
	Df	p-valeur	Df	p-valeur
amendement	4	1,73e-06***	4	0,5e-06***
résidus	10		10	

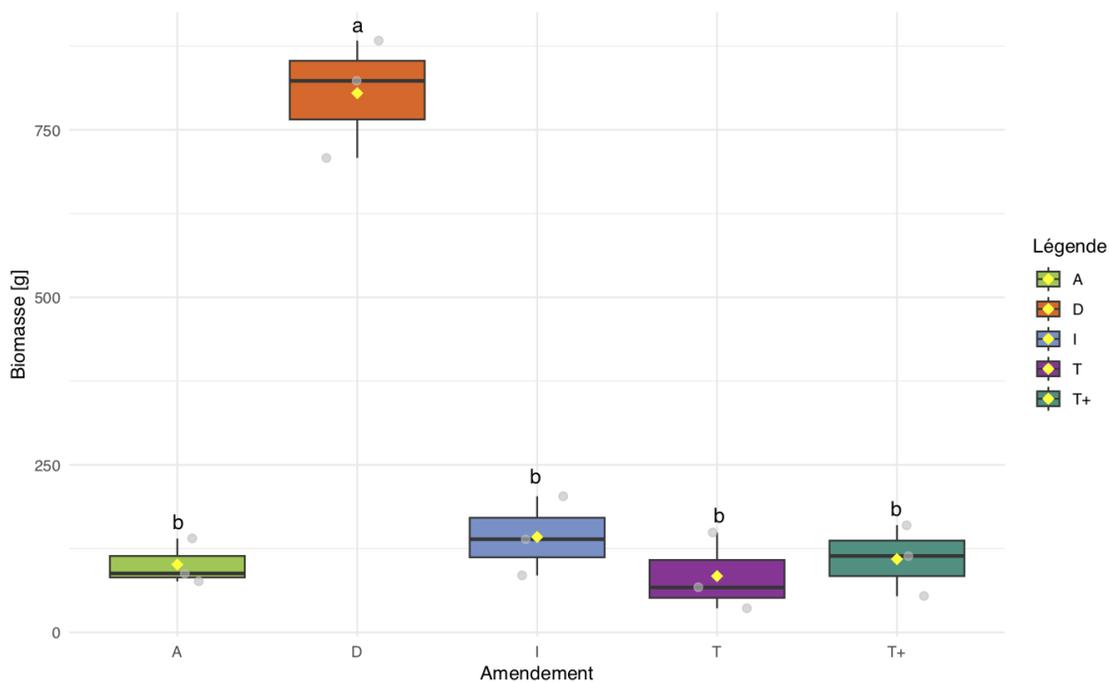


FIGURE 20 – Biomasse fraîche (g) de 2 laitues pommées récoltées le 05/06/24. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes de la biomasse. Les lettres de la légende représentent le type d’amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

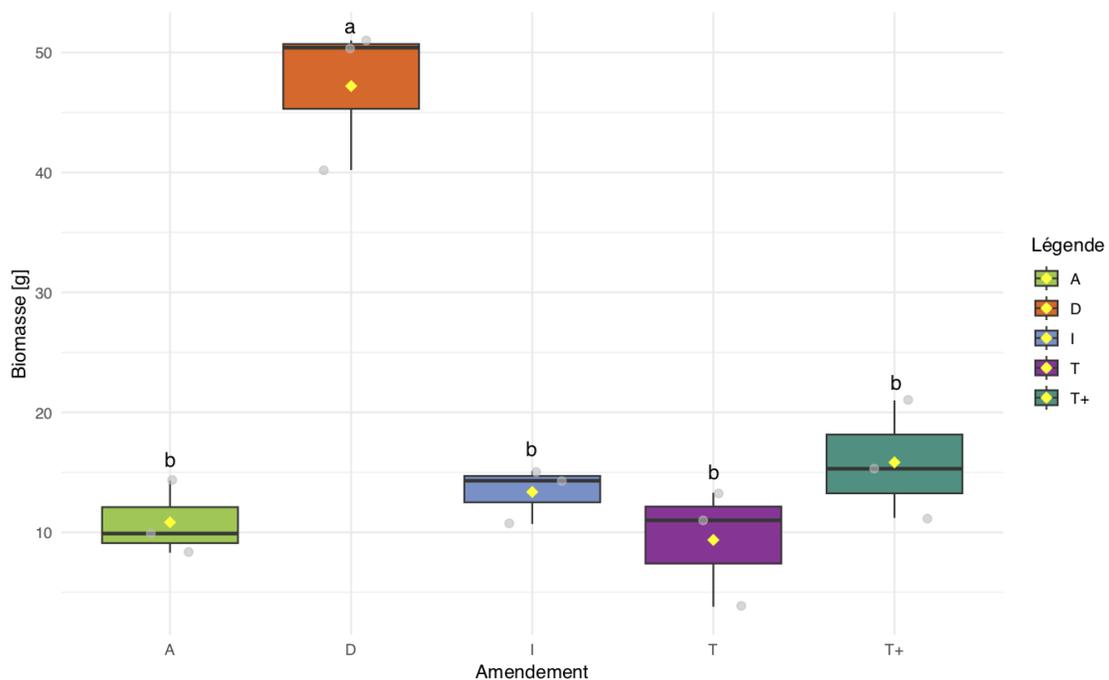


FIGURE 21 – Biomasse sèche (g) de 2 laitues pommées récoltées le 05/06/24. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes de la biomasse d’un plant. Les lettres de la légende représentent le type d’amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

Cette analyse statistique est confirmée par une observation visuelle de la taille des laitues récoltées, comme illustré sur la Figure 22.



FIGURE 22 – Photo comparative de la taille des laitues pommées récoltées le 05/06/24.

Dans le Tableau 11, l’analyse statistique de la biomasse fraîche finale des laitues pommées récoltées le 05/06/24 pour la modalité « drêches » et le 18/06/24 pour les autres modalités a été réalisée par plant au vu du nombre de laitues très variable entre les différents blocs. Cette analyse révèle une biomasse significativement plus haute des laitues de la modalité « drêches » par rapport aux autres, comme illustré en Figure 23.

TABLE 11 – Résultat du test de l’ANOVA de la biomasse fraîche des laitues pommées récoltées le 06/05 et le 18/06/24. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test.

ANOVA	Df	p-valeur
amendement	4	3.66e-4***
résidus	10	

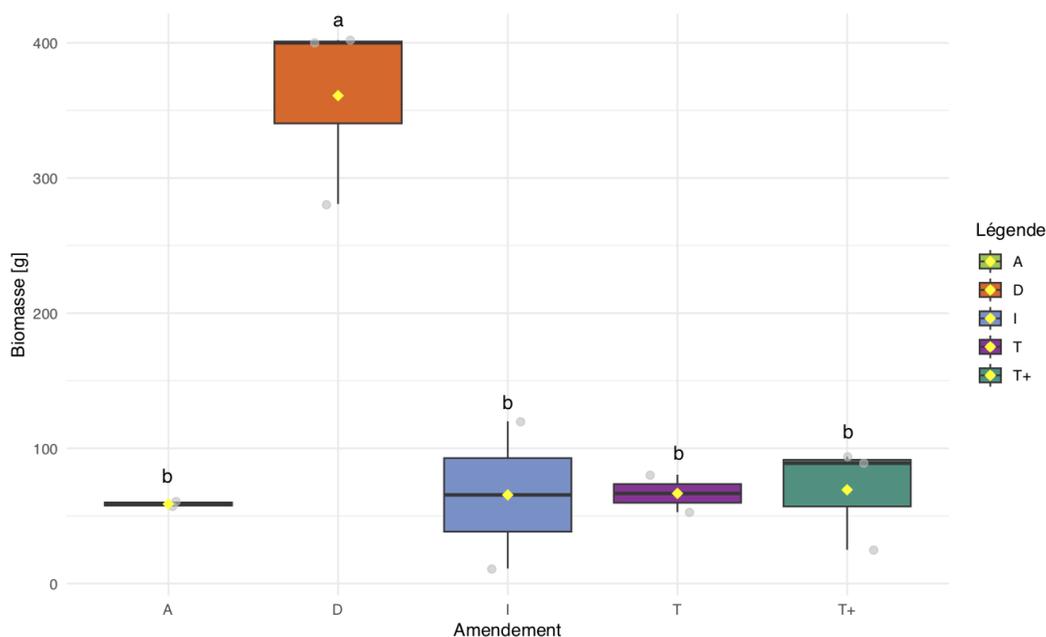


FIGURE 23 – Biomasse fraîche finale (g/plant) des laitues pommées récoltées le 05/06/24 et le 18/06/24. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes de la biomasse par plant. Les lettres de la légende représentent le type d’amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoïn négatif), T+ (compost commercial).

5.3 Analyses chimiques du sol

Les résultats des analyses chimiques concernant les teneurs en éléments minéraux disponibles et le pH sont repris dans le Tableau 12. Les valeurs sont comparées aux valeurs moyennes avant l'amendement et la culture. En ce qui concerne les éléments minéraux disponibles, l'analyse statistique indique que le témoin négatif sans amendement possède des valeurs de quantité de Mg significativement inférieures aux quantités de Mg de la modalité « drêches ». Aucune différence significative ne peut être mise en avant pour P, K et Ca cependant une tendance montre que le témoin négatif possède des quantités inférieures de ces éléments. La comparaison avec les valeurs avant le début de l'expérimentation permet d'observer une tendance à la diminution des quantités en éléments dans le sol non amendé (T). En ce qui concerne le pH KCl, la valeur la plus haute correspond au traitement « bokashi » tandis que la valeur la plus basse correspond au témoin négatif mais l'analyse statistique ne met aucune différence significative en lumière.

TABLE 12 – Valeurs moyennes des éléments minéraux disponibles et du pH KCl.

Modalité	P	K	Mg	Ca	pH_{KCL}
Unité	mg/100g	mg/100g	mg/100g	mg/100g	/
Avant expéri- mentation	15.1 ± 3.9	22.9 ± 2.9	11.9 ± 1.5	189.2 ± 32.6	5.42 ± 0.35
T+	12.60 ± 3.90	22.06 ± 4.22	12.13 ± 0.30	181.82 ± 18.31	5.18 ± 0.13
T	10.37 ± 1.84	20.07 ± 2.69	10.68 ± 0.63	162.91 ± 12.29	5.16 ± 0.03
D	14.79 ± 3.98	22.12 ± 4.36	14.39* ± 1.82	198.37 ± 56.34	5.17 ± 0.74
I	13.84 ± 1.47	25.84 ± 3.00	11.92 ± 0.82	199.42 ± 14.49	5.47 ± 0.31
A	12.37 ± 1.77	20.93 ± 0.81	11.55 ± 1.56	178.16 ± 33.14	5.24 ± 0.33

Les valeurs moyennes de COT, de pourcentage d'humus, de N total et de C/N sont reprises dans le Tableau 13. Au sujet du carbone total (COT) et du pourcentage d'humus l'analyse statistique ne met aucune différence significative en lumière, mais il existe tout de même une tendance qui montre une diminution de ces valeurs pour le témoin non amendé. L'azote total est par contre significativement plus élevé pour la modalité « drêches », comme l'illustre la Figure 24. Le rapport C/N est non significativement différent entre les modalités, mais une tendance montre que le rapport de la modalité « drêches » est plus faible que les autres. La comparaison avec les valeurs précédentes de l'étude montre que les parcelles amendées semblent maintenir leurs niveaux de COT, d'humus et de N total tandis que le témoin non amendé voit ces valeurs diminuer.

TABLE 13 – Valeurs moyennes du carbone organique total, du pourcentage d’humus, du pourcentage d’azote total et du rapport C/N pour chaque type d’amendement organique.

Modalité Unité	COT g/kg	Humus %	N total %	C/N /
Avant expérimentation	58.2 ± 14.5	11.7 ± 2.9	0.20 ± 0.02	29.3 ± 4.9
T+	57.25 ± 4.31	11.45 ± 0.86	0.19 ± 0.02	29.93 ± 2.47
T	44.54 ± 5.75	8.91 ± 1.15	0.17 ± 0.01	26.23 ± 2.53
D	55.83 ± 4.70	11.17 ± 0.94	0.24* ± 0.00	22.84 ± 2.00
I	56.30 ± 17.10	11.26 ± 3.42	0.20 ± 0.02	28.46 ± 5.52
A	60.37 ± 11.16	12.07 ± 2.23	0.19 ± 0.01	31.26 ± 3.56

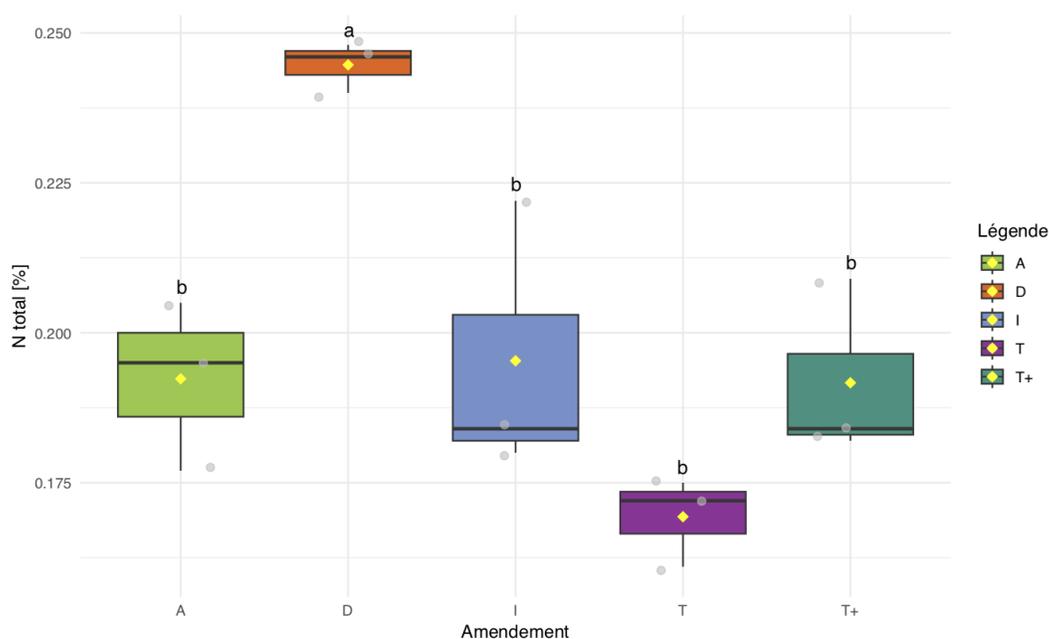


FIGURE 24 – N total (%) des sols amendés. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes du N total (%). Les lettres de la légende représentent le type d’amendement : A (boes aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

5.4 Analyse des paramètres biologiques du sol

5.4.1 MicroResp

L’analyse statistique du taux d’émission de CO₂ selon le type d’amendement a été réalisée grâce à une ANOVA, son résultat est indiqué dans le Tableau 14 et illustré en Figure 25. Celui-ci met en évidence une différence significative, la p-valeur étant inférieure au seuil de significativité (0,05). Le test de Tukey indique une différence de moyenne entre la modalité T+ et les autres. Le taux d’émission est significativement moins élevé dans les blocs amendés avec du compost commercial.

TABLE 14 – Résultats de l'ANOVA sur les résultats du kit MicroResp. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test statistique.

ANOVA	Df	p-valeur
amendement	4	2.99e-4***
résidus	10	

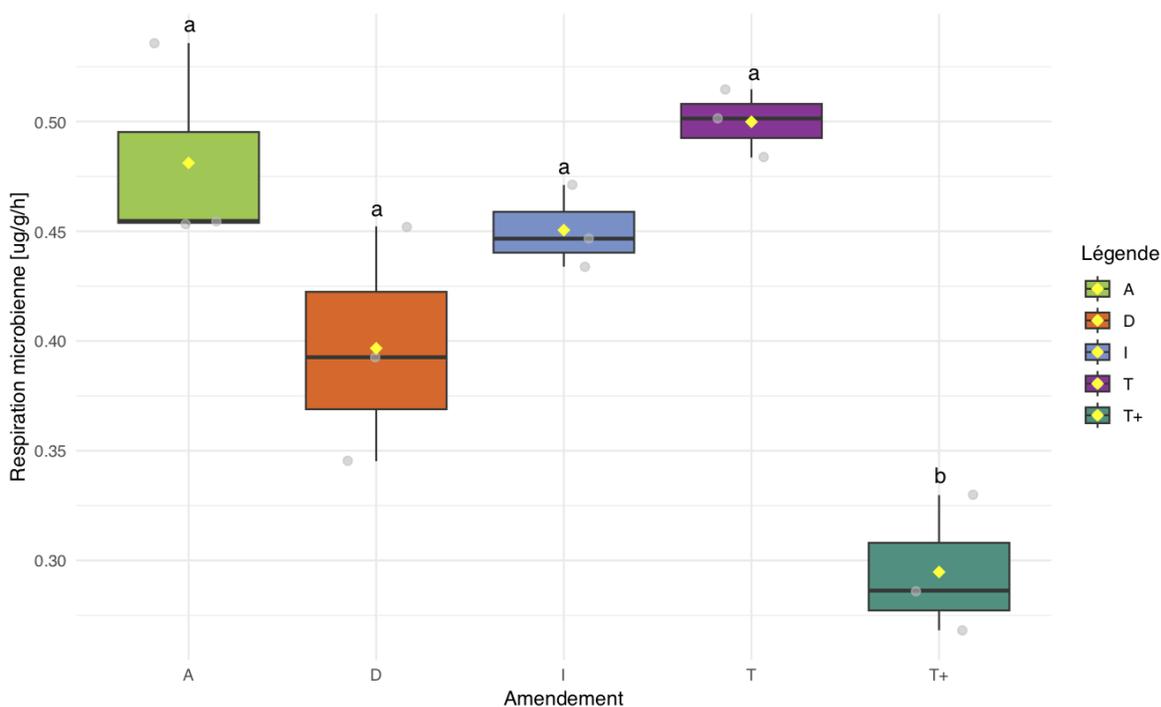


FIGURE 25 – Taux de respiration microbienne mesuré grâce au kit MicroResp (ug/g/h). Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes indiquent les moyennes du taux de respiration microbienne. Les lettres de la légende représentent le type d'amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

5.4.2 FDA

L'analyse statistique de l'activité enzymatique reprise dans le Tableau 15 révèle une différence significative entre la modalité « drêches » et les quatre autres modalités, comme illustré en Figure 26. L'activité enzymatique est significativement plus importante dans les parcelles ayant été amendées avec les drêches.

TABLE 15 – Résultats de l'ANOVA sur les valeurs de la FDA. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test statistique.

ANOVA	Df	p-valeur
amendement	4	6.69e-3**
résidus	10	

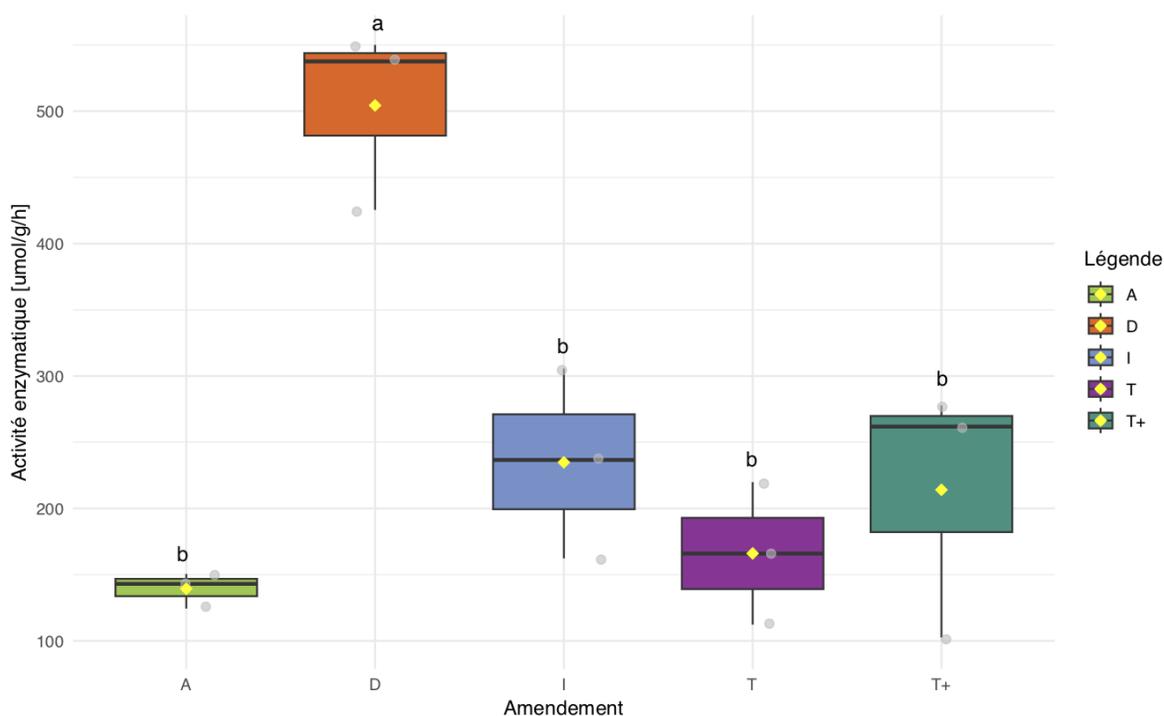


FIGURE 26 – Activité enzymatique par type d’amendement. Les lettres a et b représentent le résultat du test de Tukey et les losanges jaunes les moyennes de l’activité enzymatique. Les lettres de la légende représentent le type d’amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

5.4.3 qPCR

L’analyse statistique réalisée sur les données concernant les quantités de gènes 16S et 18S et reprise dans le Tableau 16 n’a révélé aucune différence significative entre les différentes modalités de l’étude. Il n’y a donc pas de différence significative entre les quantités moyennes de bactéries et de champignons en fonction du type d’amendement organique.

TABLE 16 – Résultats des ANOVA de la quantité de gènes 16S et 18S.. Les "*" indiquent le niveau de significativité du test statistique.

ANOVA	ANOVA 16S		Kruskal-Wallis 18S	
	Df	p-valeur	Df	p-valeur
amendement	4	0,813	4	0,08566
résidus	10		10	

Les moyennes et écarts types des quantités de gènes bactériens (16S) et fongiques (18S) sont reprises dans le Tableau 17. Un rapport 18S :16S (champignons :bactéries) a également été calculé car ce ratio peut servir d’indicateur pertinent de l’état de fonctionnement microbologique du sol. Un rapport supérieur à 1 indique une dominance de la population fongique, et vice-versa dans le cas d’un rapport inférieur à 1. Les résultats indiquent que les moda-

lités « témoin positif », « témoin négatif » et « bokashi » présentent une forte domination de la population bactérienne. Seules les modalités « drêches » et « boues aquaponiques » se rapprochent d'un équilibre bactéries-champignon.

TABLE 17 – Valeurs moyennes et écarts-types des quantités de gènes 16S et 18S par modalité et ratio 18S :16S. Les lettres de la légende représentent le type d'amendement : A (boues aquaponiques), D (drêches), I (jus de bokashi), T (témoin négatif), T+ (compost commercial).

Quantité de gènes (nb.g⁻¹)	T+	T	D	A	I
16S	7.79×10^6 $\pm 4.58 \times 10^6$	1.16×10^7 $\pm 2.17 \times 10^6$	1.14×10^7 $\pm 4.25 \times 10^6$	1.13×10^7 $\pm 6.17 \times 10^6$	1.04×10^7 $\pm 3.62 \times 10^6$
18S	2.968×10^6 $\pm 1.08 \times 10^6$	3.055×10^6 $\pm 1.05 \times 10^6$	1.034×10^7 $\pm 5.82 \times 10^6$	8.567×10^6 $\pm 7.98 \times 10^6$	3.244×10^6 $\pm 1.41 \times 10^6$
18S :16S	0.38	0.26	0.90	0.76	0.31

6 Discussion et conclusion

L'objectif de ce travail est d'évaluer la productivité et la fertilité d'un sol cultivé selon les principes du SPIN farming, en appliquant quatre amendements innovants comparés à un témoin non amendé. Cette évaluation a porté sur la mise en lien de la quantification de la biomasse aérienne des légumes cultivés avec certaines caractéristiques chimiques et biologiques du sol. En entamant cette discussion, il est important de noter le caractère climatique exceptionnel de ce printemps 2024 marqué par des températures anormalement douces, une insolation déficitaire et des précipitations excessives au cours des mois d'avril, mai et juin (données complètes disponibles en Annexe 7). Le Tableau 18 montre le caractère atypique de ce printemps 2024 en comparaison avec les normales saisonnières. Ces conditions météorologiques ont provoqué des retards de croissance ainsi que des invasions de bioagresseurs tels que les limaces favorisés par l'humidité intense et les températures douces. Les résultats observés doivent donc être interprétés en prenant en compte cette météo anormale.

TABLE 18 – Comparaison des données météorologiques du printemps 2024 avec les normales (1991-2020) (source : Météo Belgique).

Saison	Printemps 2024	Normales (1991 - 2020)
Température	11.6°C	10.5°C
Insolation	367.9 h	495.3 h
Précipitations	285.2 mm	165.9 mm
Jours Précip.	63 j.	43.6 j.

En premier lieu, l'analyse des éléments disponibles (P, K, Mg, Ca) permet d'établir certaines tendances. Les valeurs mesurées semblent indiquer un maintien des quantités de ces éléments par rapport aux mesures d'avant expérimentation dans tous les cas de figure sauf pour le témoin non amendé. Cela pourrait signifier qu'aucun des amendements testés n'a engendré de déficit ou de surplus en éléments nutritifs. Le fait que les teneurs en éléments aient peu évolué en comparaison avec les analyses chimiques précédentes peut être expliqué par la richesse initiale en éléments du sol étudié mais aussi par sa texture limoneuse et sa richesse en MO qui lui confèrent une CEC (capacité d'échange cationique) élevée (Yunan et al., 2018). Cependant, une tendance à l'appauvrissement peut être progressivement observée dans le témoin non amendé, signe que les amendements organiques apportés permettent un meilleur maintien de la fertilité chimique du sol. Les données moyennes complètes de l'année précédente sont retrouvables en Annexe 9. Ce résultat est cohérent avec les recherches menées sur les effets des amendements organiques sur la fertilité chimique du sol. En effet, il a été démontré que l'apport fréquent de MO enrichissait le sol en nutriments essentiels au long terme en formant un pool de matière disponible pour la minéralisation (Ramzan et al., 2021; Chen et al., 2018).

La comparaison entre le COT mesuré dans le sol de la parcelle et le COT moyen (11.9 gC/kg) retrouvé dans les sols cultivés de la région limoneuse indique des niveaux de C plus élevés sur la parcelle WASABI (Genot et al., 2011). Cette valeur de COT peut être considérée comme ayant une grande influence sur la qualité du sol étudié. Elle est également importante car les sols wallons sont actuellement menacés par la perte de leur C organique, comme l'indique le projet CARBIOSOL mené par le SPW, l'Uliège et l'UCL (Chartin et al., 2015). Cette valeur haute peut en partie être expliquée par l'historique de la parcelle. Celle-ci a en effet été occupée par un verger conservatoire pendant de nombreuses années avant d'être reconvertie en parcelle maraîchère. Cette association entre arbres et prairie permanente a sans doute permis l'accumulation de C organique dans le sol (Mahajan et al., 2019). De plus, lors de la conversion de la parcelle, les racines des arbres abattus sont restées enterrées, devenant une source de C très stable. Les résultats de l'analyse chimique du sol concernant le COT indiquent une différence entre les parcelles amendées et le témoin négatif, avec une tendance à l'appauvrissement pour les blocs non amendés. Concernant la modalité « drêches », ces résultats corroborent ceux disponibles dans la littérature Cacace et al. (2022) et Aboukila et al. (2018) ont déjà montré que l'épandage de drêches permettrait un maintien voire une augmentation du contenu en C organique. Pour le jus de bokashi, Voltr et al. (2021) indiquent que l'application de lixiviats issus de processus de fermentation de MO, pouvant être comparés à du jus de bokashi, a un impact neutre ou faiblement positif sur ce COT en raison de la faible quantité de matière sèche contenue dans ce type de produits. Enfin, il a aussi été montré que l'application de boues aquaponiques à long terme permettait une augmentation du contenu en C organique (Abdelraouf, 2019).

Cette quantité importante de C organique peut être mise en lien avec le rapport C/N observé sur la parcelle. Comme expliqué dans le paragraphe précédent, les valeurs de COT ne sont pas significativement différentes entre les modalités amendées de notre étude, mais Ostrowska & Porębska (2015) indiquent que le ratio se modifie généralement en fonction des quantités d'N en présence car cette valeur peut fluctuer de manière bien plus importante que le COT. L'analyse statistique ayant révélé une quantité d'N significativement plus élevée pour la modalité « drêches » peut expliquer la tendance à la diminution du rapport C/N de cette modalité. Cette information permet également d'émettre une hypothèse expliquant le déficit de croissance des légumes des modalités T+, T, I et A qui auraient manqué d'azote au cours de leur développement.

Ce potentiel déficit en N sur les modalités T+, T, I et A peut tout d'abord s'expliquer par les conditions d'applications des amendements. Les modalités liquides A et I ont été appliquées dans des conditions très pluvieuses favorables au lessivage et à la lixiviation des éléments

apportés (Jabloun et al., 2015). De plus, les deux traitements n'ont pas pu être appliqués comme prévu dans le plan expérimental. Dans le cas du bokashi, la production de jus était trop irrégulière et trop faible, ce qui ne permettait pas d'atteindre l'objectif de deux traitements par semaine. Pour les boues aquaponiques, celles-ci n'ont plus pu être fournies après la cinquième semaine de traitement en raison de problèmes sanitaires dans l'unité de production aquaponique. Ces difficultés peuvent expliquer pourquoi les légumes implantés sur ces modalités ont eu des rendements semblables à ceux implantés sur les parcelles non amendées (témoin négatif). Les différences de biomasse retrouvées entre le témoin positif et la modalité « drêches » pourraient elles être à leur tour expliquées par les différences de contenu initial en azote et de rapport C/N des amendements. Ces différences de composition ont pu mener à un avantage pour les légumes de la modalité « drêches », car ceux-ci ont eu accès à de plus grandes quantités d'N rapidement. En effet, la quantité d'azote disponible est l'un des principaux facteurs limitant la croissance et la productivité des végétaux et un déficit de cet élément mène à d'importantes diminution de la biomasse produite (Ramezanifar et al., 2022). De plus, l'étude de Eriksen et al. (1999) sur les effets de plusieurs doses de compost sur la croissance du maïs a mis en évidence la nécessité de compléter l'amendement avec une fertilisation azotée, car le rapport C/N élevé du compost peut créer des phénomènes d'immobilisation du N. En addition, Giannakis et al. (2014) observent des diminutions de rendement de laitues et de tomates produites en pot dès l'ajout de 50 T/ha de compost. Ils émettent la même hypothèse d'immobilisation de l'N pour expliquer cette diminution.

La valeur du pH KCl montre que le sol est plutôt acide, avec des valeurs inférieures à l'optimum de 6,5 (Genot et al., 2011). Le statut acido-basique influence de nombreux paramètres d'importance tels que la structuration du sol, l'activité microbienne et la disponibilité des éléments nutritifs (Neina, 2019). L'acidité du sol est liée à des problèmes de toxicité de certains éléments tels que l'aluminium ou le manganèse, de même qu'elle est en lien avec des carences en calcium et en phosphore. Cette acidification peut parfois aussi être responsable d'une diminution de la croissance du système racinaire, qui mène à des plantes à la croissance lente et au rendement bas (Tang et al., 2013). Une autre piste explicative de la différence de rendement observée entre la modalité « drêches » et les autres est que les légumes de cette modalité ont été moins influencés par l'acidité du sol que les autres. Cela pourrait être expliqué par le fait que l'ajout de MOs solides telles que les drêches peut parfois augmenter le pH du sol pendant un ou deux mois avant que celui-ci ne retombe à son niveau initial (Haynes & Mokolobate, 2001). Cependant, selon Walker et al. (2004) qui a réalisé une étude en pot sur l'effet du compost sur des sols acides ensemencés avec du chénopode blanc (*Chenopodium album* L.), le compost commercial du témoin positif aurait dû produire un effet semblable et donc pareillement favoriser les légumes, ce qui n'a pas été observé. Il est également important de noter que le pH n'a pas évolué depuis le début de la mise en culture de cette parcelle,

et que les rendements précédents n'avaient pas semblé être affectés par cette acidité.

Le pH du sol influence aussi la vie microbiologique de manière conséquente en modifiant la composition des communautés microbiennes ainsi que leur activité (Aciego Pietri & Brookes, 2008). Cette mesure du pH peut être reliée aux mesure de biomasse microbienne réalisées par qPCR. Si l'analyse statistique des quantités de gènes 16S et 18S n'indique aucune différence significative entre les différentes modalités de l'étude, le rapport 18S :16S lui indique une dominance bactérienne pour toutes les modalités. La littérature indique qu'un pH du sol acide est généralement relié à une dominance de la population fongique (Strickland & Rousk, 2010), de même qu'un rapport C/N élevé est généralement lié à d'importantes populations fongiques, ce qui diffère avec les résultats obtenus dans ce travail. Cependant, d'autres études affirment que les modifications de pH peuvent avoir un effet très variable sur les populations fongiques car d'autres facteurs tels que le travail du sol ou la présence d'arbres (phénomène d'ectomycorhize) semblent les influencer plus encore (Högberg et al., 2006; Wan et al., 2015; Djemiel et al., 2023). D'autres études indiquent que les communautés fongiques ont une gamme de tolérance de pH trop large que pour expliquer le développement ou non de cette communauté fongique (Strickland & Rousk, 2010; Wheeler et al., 1991). Selon Wang et al. (2019), les écosystèmes bactériens ont tendance à être caractérisés par une forte disponibilité en nutriments et une présence de MO facilement dégradable tandis que les écosystèmes à dominance fongique ont les caractéristiques inverses. L'hypothèse est que les bactéries préfèrent les niches écologiques leur proposant des substrats nutritif aisément décomposables tandis que les champignons favorisent les MO plus complexes. Cette explication donne une piste de compréhension de la dominance bactérienne retrouvée au sein de la parcelle de SPIN farming, et peut être mise en lien avec la Figure 27 qui lie le stade écologique du sol étudié, le rapport F :B et le type d'agriculture pratiquée.

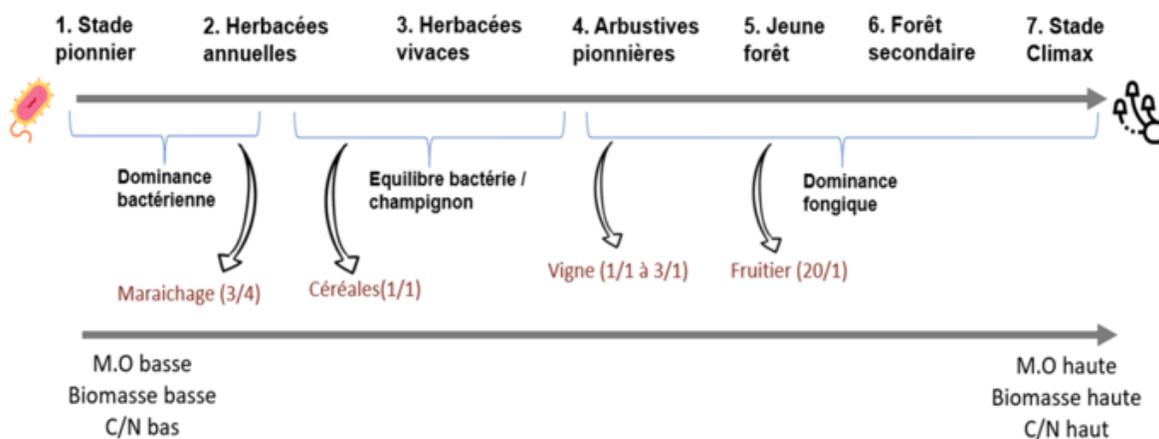


FIGURE 27 – Succession écologique dans le sol et ratio champignons/bactéries à viser pour le système de culture. (source : Centre de développement de l'agroécologie).

Les valeurs du ratio F :B calculées lors de ce travail varient entre 0,26 et 0,9. Il semble que les modalités « témoin positif », « témoin négatif » et « bokashi » présentent de gros déséquilibres entre les communautés bactériennes et fongiques. La modalité « drêches » est la plus équilibrée tandis que la modalité « boues aquaponiques » est intermédiaire. L'étude de la composition des populations microbiennes par qPCR de [Djemiel et al. \(2023\)](#), qui a été réalisée sur plus de 2000 échantillons récoltés sur la plus grande diversité possible de sols à travers toute la France a révélé des ratios F :B variant entre 0,2 et 12,15. Cette étude confirme que les sols anthropisés et cultivés intensivement présentent généralement les ratios les plus faibles, et que l'abondance des population fongique est fonction du niveau de travail et d'utilisation du sol. Dans un système de SPIN farming aux rotations très rapides et pratiquant un travail du sol, il peut donc être logique de retrouver une forte dominance bactérienne. [de Vries et al. \(2006\)](#) indiquent également que le travail du sol brise les réseaux mycéliens, défavorisant le développement des communautés fongiques. Cependant, certaines valeurs calculées sont étonnamment basses et se rapprochent même des valeurs calculées pour les sols désertiques (0,2) dans l'étude de [Fierer et al. \(2005\)](#). Ces différences peuvent dans un premier temps s'expliquer par les différences de protocoles. [Djemiel et al. \(2023\)](#) soulignent le risque de biais important dus à la difficulté d'extraire l'ADN d'une matrice aussi solide que le sol ainsi qu'à la variabilité entre les kits commerciaux d'extraction. Elles mettent également en évidence le biais lié à la variation du nombre de copies du gène, en particulier pour les champignons qui possèdent des cellules multinucléées. Une autre piste d'explication est liée aux conditions météorologiques de cet essai qui ont été, comme dit précédemment, très humides par rapport aux normales saisonnières. L'étude de [Bragazza et al. \(2015\)](#), qui a recensé la composition des communautés microbiologiques le long d'un gradient d'altitude en Suisse, a exprimé le fait que les communautés bactériennes ont tendance à prendre le dessus sur les communautés fongiques lorsque les conditions du sol sont plus anoxiques, par exemple lorsque celui-ci est saturé en eau. En addition à cela, il est important de noter qu'il s'agit d'une mesure ponctuelle qui donne une information a un instant précis et qui doit être complétée par des analyses complémentaires.

Concernant l'analyse de la respiration microbienne réalisée avec le kit MicroResp, les valeurs obtenues dans ce travail oscillent entre 0,26 et 0,53 $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g/h}$ et ne présentent pas de différence significative à l'exception de la modalité T+ qui tend à être inférieure. Ces résultats assez homogènes peuvent en partie s'expliquer par l'homogénéité globale des sols étudiés. En effet, la variation de la texture, du pH, du COT et du type d'utilisation du sol influencent fortement la respiration microbienne ([van Diepeningen et al., 2006](#); [Creamer et al., 2016](#)). Dans le cas de cette étude, ces paramètres varient peu entre les différents blocs. Les résultats peuvent aussi être mis en lien avec les valeurs rapportées par [Vincent et al. \(2019\)](#). Leur étude de la respiration microbienne sur les sols wallons a révélé des valeurs oscillant entre 0,15 et

0,3 en agriculture conventionnelle et entre 0,2 et 0,5 en agriculture biologique. Les valeurs obtenues dans ce travail sont donc cohérentes avec celles des sols agricoles wallons cultivés en bio. Il est cependant étrange que les valeurs du témoin positif soient inférieures aux autres. [García-Orenes et al. \(2010\)](#) et [Carpenter-Boggs et al. \(2000\)](#) affirment que l'apport de compost au sol augmente la respiration microbienne en augmentant la quantité de MO et de nutriments disponibles, ce qui engendrerait une stimulation de l'activité microbienne. Une hypothèse est que le compost apporté représenterait une MO plus stable et plus difficilement biodégradable que celles composant les autres amendements ([Annabi et al., 2009](#); [Vincent et al., 2019](#)). Il faut également faire attention au fait que cette mesure a été réalisée de manière ponctuelle, la respiration microbienne étant influencée par des facteurs tels que la variabilité saisonnière et la disponibilité de l'eau ([Vincent et al., 2019](#); [Schnecker et al., 2023](#)).

L'analyse de l'activité enzymatique microbiologique par l'hydrolyse de la FDA a révélé une activité enzymatique plus importante de la modalité « drêches » par rapport aux autres. [Kostecki & Greinert \(2024\)](#) a également observé que l'application de coproduits de l'activité brassicole résultait en une augmentation de l'activité enzymatique au sein des sols, même si ce résultat variait en fonction de la texture du sol étudié. Une activité enzymatique supérieure suggère une augmentation de la vitesse de minéralisation de la MO et donc des quantités de nutriments disponibles plus importantes ([Gajda et al., 2016](#); [Hernández et al., 2020](#)). Les résultats de l'analyse de l'activité enzymatique peuvent être mis en lien avec le fonctionnement des cycles biogéochimiques du sol, en différenciant le fonctionnement du cycle de l'azote et du carbone. La différence entre les valeurs de la FDA sur la modalité « drêches » et sur les autres modalités pourrait provenir du cycle du N qui serait plus efficace. Cette activité enzymatique pourrait donc être expliquée par une minéralisation des MO riches en N plus intense sur les blocs amendés avec des drêches ([Kumar et al., 2024](#)). Cependant, l'hydrolyse de la FDA ciblant de nombreuses enzymes microbiennes de manière indifférenciée, il n'est pas possible de confirmer cette hypothèse sans analyses supplémentaires. Un lien peut également être fait avec le rapport C/N bas de la modalité « drêches » ainsi qu'avec le rapport F :B plus équilibré, qui sont en accord avec une minéralisation plus rapide et une activité enzymatique plus intense que dans les autres modalités.

Pour aller plus loin dans cette discussion, il est intéressant de comparer la productivité végétale des différents blocs de la parcelle avec les résultats et modalités des essais déjà réalisés sur les trois amendements innovants. Au sujet des drêches de brasserie, le premier essai conduit à ce sujet par [Mbagwu & Ekwealor \(1990\)](#) sur des sols tropicaux avait déjà rapporté des effets positifs sur la production de maïs. Les auteurs expliquent ce gain de productivité d'une part par l'amélioration de propriétés physiques de ces sols (stabilité des agrégats et la capacité de rétention d'eau) et d'autre part par les apports en N, P, K, Ca et Mg de la drêche.

De plus, la récente étude de [Cacace et al. \(2022\)](#), portant sur les effets de l'application de drêches fermentées ou non, indique que les légumes amendés présentent des rendements supérieurs en comparaison avec des témoins non amendés sur les sols alcalins méditerranéens. Ces résultats sont expliqués d'après les auteurs par l'apport de MO qui constitue une réserve de nutriments et l'augmentation de l'azote total contenu dans le sol, ce qui est cohérent avec les résultats du présent travail ([Cacace et al., 2022](#)).

[Aboukila et al. \(2018\)](#) a réalisé une comparaison entre l'application de compost commercial et de drêche de brasserie dans des cultures de courges en pot, sur des sols collectés en milieu méditerranéen. Celle-ci présente des résultats qui s'accordent avec ceux de ce travail de fin d'étude. En effet, il semble que l'application de drêches soit plus efficace que celle de compost pour augmenter le rendement. L'étude souligne aussi l'intérêt économique de l'utilisation de la drêche qui n'engendre presque aucun frais à la place du compost dont le processus de maturation est long et coûteux. Il est cependant complexe de transposer ces résultats directement à notre étude car les quantités appliquées dans les pots sont des ratios précisément calculés en fonction de la masse de terre en présence, ce qui est complexe à réaliser dans le cas d'une culture en pleine terre.

L'étude de [Kostecki & Greinert \(2024\)](#) confirme aussi que l'incorporation de drêches de brasserie permet d'enrichir le sol en MO et en nutriments essentiels au développement des plantes. Elle indique également une influence sur les communautés microbiologiques du sol, celle-ci étant très variable en fonction de la texture du sol et des quantités appliquées. Elle met également en garde contre un risque d'application excessive des drêches, notamment aux doses supérieures à 5T/ha, à cause des excès d'N pouvant polluer les eaux et mener à des phénomènes d'eutrophisation. En addition à cela, [Amenkhienan & Isitekhale \(2020\)](#) soulignent que l'effet de l'application des drêches sur le rendement est dose-dépendant et que les plus hautes doses appliquées ne mènent pas aux rendements les plus importants dans la culture du sorgho. L'étude préconise des doses de 6T/ha pour un rendement optimal, ce qui est cohérent avec la dose appliquée dans ce travail de fin d'étude. En comparaison, la dose de 8T/ha également testée sur le sorgho n'apporte pas de gain de rendement supplémentaire, et les plantes traitées avec 6T/ha ont même une hauteur et une surface foliaire significativement supérieures à celles du traitement de 8T/ha. [Mbagwu & Ekwealor \(1990\)](#) avaient également observé les rendements du maïs cultivé en pot en appliquant des taux de drêches de 0, 25, 50 et 100%. Ils ont relevé une diminution du rendement une fois le taux optimal de 25% de drêches pour 75% de sol dépassé. Il faut cependant souligner que le type de sol, la culture en place, le climat et la richesse en éléments nutritifs initiale sont les facteurs les plus importants à prendre en compte pour déterminer la dose à appliquer. En effet, des différences de quantités importantes ont pu être retrouvées dans la bibliographie, avec notamment [Cacace et al.](#)

(2022) qui appliquent une dose équivalent à 25 T/ha dans leur essai en pot qui se focalise sur la culture de pommes de terre sur des calcisols très pauvres en MO et en N. Il est donc nécessaire d'étudier les caractéristiques particulières du sol et d'adapter la dose aux besoins des cultures en place. Un travail de fin d'études étudiant les effets de différentes doses de drêches sur la culture de laitues est actuellement en cours au sein de la faculté Gembloux Agro-Bio Tech et devrait apporter des éclairages au sujet de la dose optimale à appliquer.

Les résultats de biomasse aérienne obtenus pour les traitements aux boues aquaponiques présentent des différences avec ceux retrouvés dans la littérature. Des travaux ont comparé des légumes produits en aquaponie et en pleine terre, amendés grâce aux boues aquaponiques. Ils indiquent que les boues aquaponiques directement appliquées sur le sol ont le potentiel d'apporter des nutriments essentiels aux plantes, d'augmenter les taux de MO du sol et de constituer un apport de bactéries saines qui renforcent le réseau trophique du sol. Ces améliorations peuvent mener à des augmentations de la croissance végétale et du rendement final des légumes. Les études montrent cependant aussi la pauvreté en K des boues aquaponiques, qui peut constituer un frein pour la croissance végétale (Lenz et al., 2021; Fruscella et al., 2023). Les boues aquaponiques ont également été utilisée directement comme remplacement à l'eau d'irrigation dans l'étude d'Abdelraouf (2019) et ont eu une influence positive sur la productivité végétale ainsi que sur plusieurs paramètres de la fertilité chimique et biologique du sol. En addition, Brod et al. (2023) indiquent que les boues peuvent représenter une bonne source de N pour les cultures, mais que la qualité et la quantité d'N varie très fortement en fonction du type d'aquaculture réalisée et qu'il est nécessaire d'avoir une connaissance fine de la composition de ces résidus pour les utiliser efficacement. De plus, cette étude a également démontré que les boues aquaponiques présentaient des déséquilibres de composition, avec un contenu en K généralement trop faible et un rapport N/P bas. Cela porte à croire que les boues aquaponiques seules ne permettent pas de répondre à tous les besoins nutritifs des plantes, ce qui représente une première piste d'explication des rendements faibles obtenus pour cette modalité. La thèse de Delaide (2017) a étudié la composition chimique des boues récupérées dans un système de production aquaponique à la Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech. Elle confirme la faiblesse du contenu en K des boues aquaponiques et leur grande richesse en P. En addition à cela, une explication tangible pour expliquer les rendements faibles mesurés au cours de ce travail est liée aux conditions météorologiques particulièrement pluvieuses qui ont pu mener à une lixiviation des éléments nutritifs apportés. Cette explication peut être complétée en considérant le mode d'application des boues aquaponiques, diluées dans de l'eau selon un ratio 1 :10. Dans les études considérée ci-dessus, les boues sont placées à décanter afin de dissocier au maximum l'eau des MO puis récupérées et appliquées sans dilution.

Au sujet de l'application du jus de bokashi, les résultats de rendement sont aussi différents de ceux attendus après revue de la littérature. Les études menées sur les effets de l'application de thé de bokashi rapportent des effets positifs avec notamment une meilleure croissance racinaire, une capacité photosynthétique augmentée et une amélioration du rendement (Lind, 2014; Buang, 2019; Xu et al., 2001; Lin et al., 2021). De plus, les EM contenus dans le jus de bokashi sont présentés comme ayant un effet bénéfique sur la croissance des plantes cultivées en permettant une balance microbienne favorable (Avila et al., 2021). Ils sont également capables de produire des substances bioactives telles que des enzymes et des hormones qui exercent un contrôle sur les agents pathogènes du sol et qui accélèrent la décomposition de la MO, rendant des éléments nutritifs disponibles pour la croissance (Javaid, 2010). Ces essais sont cependant généralement menés en pot et/ou dans des conditions bien plus contrôlées que celles de ce travail de fin d'étude (serre, hydroponie, ...). La différence avec les effets attendus peut donc être en partie expliquée par les conditions d'application pluvieuses provoquant le lessivage des éléments et microorganismes. De plus, les analyses chimiques du jus de bokashi produit durant cette expérimentation ont révélé des quantités faibles en éléments nutritifs. Une comparaison avec la composition d'engrais commerciaux liquides utilisables en agriculture biologique montre que le jus contient des quantités bien inférieures en NPK comme l'indique la Figure 28.

Composition:
 Fabriqué par:
 FRAYSSINET, 81240 ROUAIROUX,
 N° 1 Français de la fertilisation organique professionnelle.
Azote (N) Total 3% (40g/l)
 Dont Azote organique 2,5% (33g/l)
 Azote amoniacal 0,5% (7g/l)
Anhydride phosphorique (P2O5) 2% (30g/l)
Oxyde de potassium (K2O) 5% (60g/l)
 + Stimulateur de croissance racinaire OSYR 123g/l)
 AMM: N° 1030003
 Exempt de tout classement toxicologique.
 40% de matière active OSYR
 50 % de matière sèche
 8 % d'anhydride sulfurique (SO3)
 PH: 3,7 (+ ou - 0,7) base de lignosulfates.
Utilisable en agriculture biologique (Règlement CE 834/2007)

FIGURE 28 – Composition d'un fertilisant liquide adapté à un usage en agriculture biologique (source : FRAYSSINET).

De plus, la dose appliquée (dilution 1 :1000) est la plus petite parmi celles retrouvées dans la littérature en raison de l'impossibilité technique de produire de grands volumes de jus de bokashi. L'essai de Buang (2019) conseille plutôt une dilution de 30 :1000, appliquée de manière hebdomadaire pour un résultat optimal. Il est donc probable que la dose choisie ait été trop faible que pour produire des effets significatifs.

Complétons ces considérations en comparant les rendements obtenus au cours de cette étude avec les rendements de référence attendus. Concernant la production d'épinards, le Centre In-

terprofessionnel Maraîcher estime que les rendements moyens se situent entre 12 et 25 T/ha (valeurs consultables en Annexe 10). Ces valeurs sont cohérentes avec les résultats obtenus pour les épinards de la modalité « drêches », qui atteignent un rendement d'environ 14 T/ha. Par contre, les 4 autres modalités de l'étude ont des rendements oscillant entre 4,5 et 6 T/ha ce qui est largement en dessous des normes attendues en Wallonie. Au sujet de la production de laitues, le CIM donne uniquement des valeurs de référence en nombre de laitues par hectare. Dans le cas de notre étude, la comparaison avec ces valeurs n'apporte pas d'information pertinente puisque la densité de plantation était différente des normes de la production industrielle. Il est cependant possible de se référer aux valeurs du Groupe de Recherche en Agriculture Biologique (GRAB), qui indiquent que le poids moyen attendu pour une laitue feuille de chêne oscille entre 300 et 600g. Dans le cas de notre étude, le poids moyen d'une laitue feuille de chêne de la modalité « drêches » est de 570g, tandis que le poids moyen d'une laitue des 4 autres modalités varie entre 170 et 300g. Elles sont donc à nouveau inférieures à la moyenne normale. Il est également important de souligner que les légumes de la modalité D ont à chaque fois atteint leur stade mature plus rapidement que les autres. D'un point de vue commercial et productif, il semble donc que les drêches représentent le meilleur moyen d'amender le sol. Celles-ci ont en effet été les seuls capables de maintenir un niveau de production suffisant dans les conditions climatiques de ce printemps 2024. Cela représente un avantage non négligeable dans le cas du SPIN farming qui nécessite des successions rapides et précisément programmées.

Enfin, une autre comparaison entre les trois amendements peut se baser sur leur facilité d'acquisition, de production et d'utilisation. En premier lieu, les drêches sont un coproduit du processus de brassage qui peuvent facilement être acquises de manière gratuite grâce à des arrangements informels avec des brasseries locales. Avec 417 brasseries répertoriées sur le territoire belge et plus de 23 millions d'hectolitres brassés chaque année selon l'ASBL des Brasseurs Belges, il semble que l'approvisionnement en drêches soit assuré pour les maraîchers. La récupération et le stockage de celles-ci est simple puisqu'il suffit de les entreposer en tas avant utilisation. Il faut cependant veiller à ce que les drêches ne restent pas trop longtemps à l'air libre avant d'être utilisées car celles-ci pourrissent assez rapidement, provoquant des nuisances olfactives. L'utilisation des drêches est également assez aisée puisqu'il suffit de les appliquer sur la surface et d'homogénéiser celle-ci à l'aide d'un motoculteur. Elle est également raisonnablement chronophage puisqu'il suffit d'une application unique avant le début de la culture. En second lieu, la production du jus de bokashi nécessite également des drêches, toujours aisément accessibles et de l'herbe coupée qui peut être rapidement tondu. Elle demande cependant plus de temps et de matériel. Il est nécessaire d'investir dans plusieurs seaux commerciaux (4 dans cette étude) de production pouvant coûter jusqu'à 45 €/seau ou d'en confectionner soi-même, ce qui représente une perte de temps. De plus, le remplissage

représente une étape supplémentaire après réception des drêches de brasserie qui doit de plus être répétée toutes les 3 semaines pour une production en continu. L'application doit être réalisée au minimum une fois par semaine, ce qui est également un surplus de travail. Enfin, les boues aquaponiques peuvent également être accessibles gratuitement, mais elles sont plus difficiles d'accès. Un recensement repris sur le site du Parlement de Wallonie et datant de 2020 a comptabilisé 13 structures aquaponiques en Belgique. Une fois récupérées, elles sont aisément applicables à l'aide d'un arrosoir. Cependant, le traitement doit être réalisé de manière hebdomadaire, ce qui augmente aussi l'aspect chronophage de cette pratique.

7 Conclusion et perspectives

Le présent travail de fin d'étude est le premier réalisé sur les composantes chimiques et biologiques de la fertilité en fonction du type d'amendement organique appliqué sur la parcelle de SPIN farming. Une conclusion principale en ressort : l'utilisation de drêches de brasserie comme amendement organique est l'option la plus prometteuse des modalités testées. Elle semble être la plus facile d'accès et la moins chronophage, et son utilisation a permis d'obtenir des rendements en épinards et en laitues nettement supérieurs aux autres modalités. Les drêches ont également permis de maintenir un niveau de production conforme normes wallonnes malgré les conditions météorologiques difficiles. Les pistes d'explication de ce résultat sont l'apport en N supplémentaire et la stimulation de l'activité microbologique du sol. De nombreuses hypothèses ont également pu être émises, elles appellent à la poursuite du travail entamé afin de pouvoir tirer de nouvelles conclusions plus significatives. Cela permettra de suivre au mieux l'évolution de la fertilité du sol au long terme dans les conditions particulières de la parcelle de SPIN farming. La poursuite de ces analyses permettra aussi de mettre en lumière les effets des amendements organiques testés dans des conditions climatiques différentes de celles de cette année 2024. Les résultats de rendement faibles obtenus pour les modalités « boues aquaponiques », « bokashi » et « témoin positif » sont en partie expliqués par le phénomène de lessivage des éléments aggravé par la météo pluvieuse et par des quantités appliquées trop faibles. Il sera donc important de réfléchir à la manière dont la parcelle sera amendée pour la poursuite de l'essai.

Les doses appliquées ont été choisies de manière arbitraire après une revue de la bibliographie existante à ce sujet et en fonction des possibilités techniques sur le terrain. Concernant le jus de bokashi, les résultats portent à croire que les quantités appliquées étaient insuffisantes. Cependant, la production régulière et en grande quantité de ce jus a posé problème tout au long de ce travail. Celle-ci était trop hétérogène malgré une très bonne répétabilité du protocole de remplissage des seaux et il était complexe de réaliser le traitement comme prévu. Une solution intéressante serait de conserver le procédé du bokashi mais d'utiliser sa fraction solide. Plusieurs études démontrent déjà la possibilité d'utiliser cette fraction solide comme un amendement organique (Quiroz & Céspedes, 2019; Ginting, 2019; Olle, 2021), et un essai de bokashi solide réalisé au départ de drêches de brasserie ayant donné des résultats encourageants à même déjà eu lieu (Biller, 2018). Il serait dès lors possible de réaliser ce procédé à partir de tas de drêches ensemencés puis couverts hermétiquement par des bâches. Ainsi la quantité produite serait plus aisément prévisible, et cela diminuerait le temps de travail lié à la production du jus. De plus, la fermentation des drêches de brasserie assure une meilleure durée de conservation de celles-ci pour une utilisation à long terme (Cacace et al., 2022). Au sujet de la modalité « drêches », il serait intéressant de réaliser une étude plus approfondie de

la dose optimale à utiliser en fonction des caractéristiques particulière du sol et des cultures ciblées. La dose actuelle semble permettre une bonne croissance des légumes, mais il serait intéressant de vérifier qu'elle n'est pas excessive et ne mène pas à des excès d'azote. Enfin au sujet des boues aquaponiques, la dose appliquée peut également être reconsidérée puisque certaines études ayant eu des résultats encourageants ne diluent pas les boues avant de les appliquer. Finalement, il convient de rester prudent lors de la comparaison des différents types d'amendements, les quantités appliquées n'étant pas nécessairement équivalentes en terme de quantité, de forme et de biodisponibilités des éléments nutritifs essentiels pour les plantes (notamment C et N).

D'autres pistes pourraient également être explorées pour mieux comprendre les mécanismes à l'œuvre. En particulier, l'analyse de la fertilité physique du sol sous l'influence de différents amendements semblerait pertinente. Il est en effet possible que l'ajout des drêches ait eu un effet sur la structure du sol, notamment sur la stabilité des agrégats, sur la densité du sol ou encore sur la capacité de rétention d'eau et de drainage de celui-ci ([Raj Pandey et al., 2023](#)). La stabilité des agrégat tout particulièrement pourrait être un sujet d'étude intéressant au vu de son importance sur la vie microbienne du sol ([Brunel, 2006](#)). L'installation de sondes mesurant la température et l'humidité du sol permettrait aussi d'enrichir les analyses en apportant des informations supplémentaires, par exemple au sujet de l'influence de la pente sur le rendement et la fertilité.

Il pourrait également être intéressant de compléter les analyses biologiques par un séquençage génétique afin de connaître plus précisément les communautés microbiennes en présence et de pouvoir avoir une meilleure idée de leur domaine d'action. Un approfondissement de l'étude de l'activité enzymatique pourrait également être envisagé en sélectionnant d'autres enzymes telle de la β -glucosidase. Cette enzyme est impliquée dans le cycle du carbone car elle dégrade la cellobiose, produit de dégradation de la cellulose, en glucose qui est une source importante d'énergie pour les microorganismes du sol. L'activité de la β -glucosidase est de plus influencée par les pratiques agricoles mises en place. Son étude permet d'obtenir de plus amples informations sur le cycle du C au sein de la parcelle ([Adetunji et al., 2017](#)). De même, il pourrait être intéressant d'évaluer l'activité enzymatique des protéases très importantes dans le cycle du N. Celles-ci sont actives au début du cycle car elles rompent les liaisons peptidiques entre les différents acides aminés ([Sardans et al., 2008](#)). L'étude de ces enzymes particulières pourrait nous permettre de valider ou non certaines hypothèses émises à propos du cycle du C et du cycle du N dans le sol.

Il est également important de noter que le présent travail de fin d'études s'est uniquement focalisé sur deux légumes feuilles à l'itinéraire technique semblable, pendant leur période de

croissance au sein d'un système de SPIN farming reposant sur la diversité de ses spéculations et sur des successions s'étalant sur 10 mois. Si dans ce cas, l'application de drêches semble être une option avantageuse il faut tout de même élargir le champ de recherche afin de vérifier que le système entier est performant avec cet amendement organique. Les considérations à propos de la logistique, du coût et du temps de travail sont également basées sur cette période réduite et sur l'espace restreint utilisé. Il semble cependant que ce système permette de prévoir aisément les quantités d'amendement nécessaires ainsi que les heures de travail nécessaires, grâce à l'utilisation de planches de culture de taille standardisée et à une planification culturale précise. Il sera donc également intéressant d'évaluer ces facteurs à l'échelle de la parcelle entière. afin de déterminer l'efficacité du système de SPIN et de savoir si une activité commerciale basée sur ces principes et sur l'utilisation des amendements locaux est viable.

Bibliographie

- Abdelraouf R.E., 2019. Reuse of fish farm drainage water in irrigation. In A.M. Negm, editor, *Unconventional Water Resources and Agriculture in Egypt*, Springer International Publishing. 393–410. doi :10.1007/698_2017_92.
- Aboukila E.F. et al., 2018. Reclamation of calcareous soil and improvement of squash growth using brewers' spent grain and compost. 17(4) :390–397. doi :10.1016/j.jssas.2016.09.005.
- Aciego Pietri J. & Brookes P., 2008. Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. 40(7) :1856–1861. doi :10.1016/j.soilbio.2008.03.020.
- Adam G. & Duncan H., 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. 33(7) :943–951. doi :10.1016/S0038-0717(00)00244-3.
- Adetunji A., Lewu F., Mulidzi R. & Ncube B., 2017. The biological activities of *b*-glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators : a review. 17(3) :794–807. doi :10.4067/S0718-95162017000300018.
- Alvarenga P. et al., 2015. Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments : Benefits versus limiting factors. 40 :44–52. doi :10.1016/j.wasman.2015.01.027.
- Amenkhienan B.E. & Isitekhale H.H., 2020. Effect of brewery spent grain on the growth and yield of sorghum (*sorghum bicolor*(L.) moench). 8(1). doi :10.7770/safer-V0N0-art1791.
- Annabi M., Bahri H. & Latiri K., 2009. Statut organique et respiration microbienne des sols du nord de la tunisie. (13) :401–408.
- Araya T. et al., 2021. Influence of 9 years of permanent raised beds and contour furrowing on soil health in conservation agriculture based systems in tigray region, ethiopia. 32(3) :1525–1539. doi :10.1002/ldr.3816.
- Artika I.M. et al., 2022. Real-time polymerase chain reaction : Current techniques, applications, and role in COVID-19 diagnosis. 13(12) :2387. doi :10.3390/genes13122387.
- ARVALIS, 2021. Gestion durable des sols - une fertilité chimique mieux maîtrisée que les aspects physiques et biologiques.
- Asensio R., Minatchi S., Achard R. & Fernandes P., 2010. L'activité enzymatique, un indicateur simple et fiable pour prévoir l'impact des pratiques culturales sur la qualité des sols.

- Avila G.M.d.A., Gabardo G., Clock D.C. & Junior O.S.d.L., 2021. Use of efficient microorganisms in agriculture. 10(8) :e40610817515–e40610817515. doi :10.33448/rsd-v10i8.17515. Number : 8.
- Azzopardi J., 2023. A Critical Investigation of Composting Methods and Implementation in Schools. doi :10.58445/rars.161.
- Balembois E., Sirven L. & Chafii N., 2022. Les villes peuvent-elles devenir autonomes sur le plan alimentaire ? le cas de paris. 147(1) :21–36. doi :10.3917/geco1.147.0021.
- Bianco A. et al., 2020. The role of microorganisms on biotransformation of brewers' spent grain. 104(20) :8661–8678. doi :10.1007/s00253-020-10843-1.
- Biller A., 2018. Building soil fertility with spent brewers grains - SARE grant management system.
- Bispo A. et al., 2015. Les services écosystémiques des sols : du concept à sa valorisation. 15.
- Boechat C.L., Santos J.A.G. & Accioly A.M.D.A., 2013. Net mineralization nitrogen and soil chemical changes with application of organic wastes with 'fermented bokashi compost'. 35(2) :257–264. doi :10.4025/actasciagron.v35i2.15133.
- Bosch M., Hitman A. & Hoekstra J., 2017. Fermentation (bokashi) versus composting of organic waste materials : Consequences for nutrient losses and CO 2-footprint.
- Bragazza L., Bardgett R.D., Mitchell E.A.D. & Buttler A., 2015. Linking soil microbial communities to vascular plant abundance along a climate gradient. 205(3) :1175–1182. doi : 10.1111/nph.13116. _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/nph.13116>.
- Brod E., Henriksen T.M., Ørnsrud R. & Eggen T., 2023. Quality of fish sludge as fertiliser to spring cereals : Nitrogen effects and environmental pollutants. 875 :162541. doi : 10.1016/j.scitotenv.2023.162541.
- Brown S., 2008. Urban agriculture : is there now an opportunity for a viable small scale sustainable agriculture to emerge in brisbane, australia ?
- Brown S., Butman D. & Kurtz K., 2023. Steps to circularity : Impact of resource recovery and urban agriculture in seattle and tacoma, washington. 345 :118648. doi :10.1016/j.jenvman.2023.118648.
- Brunel B., 2006. Agriculture durable : faut-il repenser les systèmes de culture ? la microbiologie des sols : un champ prometteur pour l'agro-écologie. In Pour une gestion intégrée et durable de la production agricole en France, Déméter 2006. 115–131.

- Buang M.A.S., 2019. Effect of bokashi leachate application on maize (*zea mays l.*) crops. 4(1) :105–111. Number : 1.
- Bünemann E.K. et al., 2018. Soil quality – a critical review. 120 :105–125. doi :10.1016/j.soilbio.2018.01.030.
- Cacace C. et al., 2022. Potential of native and bioprocessed brewers' spent grains as organic soil amendments. 6. doi :10.3389/fsufs.2022.1010890. Publisher : Frontiers.
- Carpenter-Boggs L., Kennedy A.C. & Reganold J.P., 2000. Organic and biodynamic management effects on soil biology. 64(5) :1651–1659. doi :10.2136/sssaj2000.6451651x.
_eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2136/sssaj2000.6451651x>.
- Chapelle G. & Jolly C.E., 2013. Étude sur la viabilité des business modèles en agriculture urbaine dans les pays du nord.
- Chartin C. et al., 2015. "carbone organique, biomasse et activité microbienne des sols : vers un indicateur de la qualité des sols en wallonie" - rapport final.
- Chen Y. et al., 2018. The long-term role of organic amendments in building soil nutrient fertility : a meta-analysis and review. 111(2) :103–125. doi :10.1007/s10705-017-9903-5.
- Chetrariu A. & Dabija A., 2020. Brewer's spent grains : Possibilities of valorization, a review. 10(16) :5619. doi :10.3390/app10165619. Number : 16 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Christel D.M., 2017. The use of bokashi as a soil fertility amendment in organic spinach cultivation.
- Christensen R., 2007. SPIN-farming : advancing urban agriculture from pipe dream to populist movement. 3(2) :57–60. doi :10.1080/15487733.2007.11908006.
- Clucas B., Parker I.D. & Feldpausch-Parker A.M., 2018. A systematic review of the relationship between urban agriculture and biodiversity. 21(4) :635–643. doi :10.1007/s11252-018-0748-8.
- CoDyre M., Fraser E.D.G. & Landman K., 2015. How does your garden grow ? an empirical evaluation of the costs and potential of urban gardening. 14(1) :72–79. doi :10.1016/j.ufug.2014.11.001.
- Commission européenne ., 2006. Communication de la commission au conseil, au parlement européen, comité économique et social européen et au comité des régions - stratégie thématique en faveur de la protection des sols.

- Cotrufo M.F. & Lavelle J.M., 2022. Soil organic matter formation, persistence, and functioning : A synthesis of current understanding to inform its conservation and regeneration. In *Advances in Agronomy*, Elsevier, volume 172. 1–66. doi :10.1016/bs.agron.2021.11.002.
- Creamer R.E., Stone D., Berry P. & Kuiper I., 2016. Measuring respiration profiles of soil microbial communities across europe using MicroResp™ method. *97* :36–43. doi :10.1016/j.apsoil.2015.08.004.
- de Biasi L., 2020. Comprendre le système alimentaire pour dépasser la crise - institut paris région.
- de Vries F.T. et al., 2006. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *38(8)* :2092–2103. doi :10.1016/j.soilbio.2006.01.008.
- Delaide B., 2017. A study on the mineral elements available in aquaponics, their impact on lettuce productivity and the potential improvement of their availability.
- Diver S., 2006. Aquaponics – integration of hydroponics with aquaculture.
- Djemiel C. et al., 2023. Biogeographical patterns of the soil fungal :bacterial ratio across france. *8(5)* :e00365–23. doi :10.1128/msphere.00365-23.
- Doran J.W. & Parkin T.B., 1994. Defining and assessing soil quality. In J. Doran, D. Coleman, D. Bezdicek & B. Stewart, editors, *SSSA Special Publications*, Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. 1–21. doi :10.2136/sssaspepub35.c1.
- Eck M. et al., 2019. Exploring bacterial communities in aquaponic systems. *11(2)* :260. doi :10.3390/w11020260. Number : 2 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Eriksen G.N., Coale F.J. & Bollero G.A., 1999. Soil nitrogen dynamics and maize production in municipal solid waste amended soil. *91(6)* :1009–1016. doi :10.2134/agronj1999.9161009x.
- FAO, 2015. Les sols sont une ressource non renouvelable : leur préservation est essentielle pour garantir la sécurité alimentaire et un avenir durable.
- FAO, 2022. Urban and peri-urban agriculture sourcebook : from production to food systems. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Fierer N., Jackson J.A., Vilgalys R. & Jackson R.B., 2005. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. *71(7)* :4117–4120. doi :10.1128/AEM.71.7.4117-4120.2005.

- Fréchette I., Bontemps P.Y., Vandenberghe C. & Marcoen J., 2007. Les enseignements de la gestion de l'azote et du phosphore au québec.
- Fruscella L., Kotzen B., Paradelo M. & Milliken S., 2023. Investigating the effects of fish effluents as organic fertilisers on onion (*Allium cepa*) yield, soil nutrients, and soil microbiome. 321 :112297. doi :10.1016/j.scienta.2023.112297.
- Gajda A.M., Czyż E.A. & Dexter A.R., 2016. Effects of long-term use of different farming systems on some physical, chemical and microbiological parameters of soil quality. 30(2) :165–172. doi :10.1515/intag-2015-0081.
- García-Orenes F. et al., 2010. Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid mediterranean agroecosystem. 109(2) :110–115. doi : 10.1016/j.still.2010.05.005.
- Genot V., Colinet G., Brahy V. & Bock L., 2009. L'état de fertilité des terres agricoles et forestières en région wallonne. 13.
- Genot V. et al., 2011. Base de données sols de REQUASUD - 3ème synthèse.
- Ghanem K., El-Zabalawy K., Mustafa A. & Elbanna B., 2017. Impact of using compost bokashi resulting from recycling kitchen waste on head lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata L.) grown organically at home. 8(1) :21–27. doi :10.21608/jssae.2017.37071.
- Giannakis G.V. et al., 2014. Effects of municipal solid waste compost on soil properties and vegetables growth. 22(3) :116–131. doi :10.1080/1065657X.2014.899938.
- Ginting S., 2019. Promoting bokashi as an organic fertilizer in indonesia : A mini review. 21(4). doi :10.19080/IJESNR.2019.21.556070.
- Godbold D.L. et al., 2006. Mycorrhizal hyphal turnover as a dominant process for carbon input into soil organic matter. 281(1) :15–24. doi :10.1007/s11104-005-3701-6.
- Gómez-Velasco D.A. et al., 2014. Enzymatic activities in soil cultivated with coffee (*coffea arabica* l. cv. 'bourbon') and amended with organic material. 45(19) :2529–2538. doi : 10.1080/00103624.2014.932375.
- Haynes R. & Mokolobate M., 2001. Amelioration of Al toxicity and P deficiency in acid soils by additions of organic residues : A critical review of the phenomenon and the mechanisms involved. 59(1) :47–63. doi :10.1023/A:1009823600950.
- Hernández I.Z. et al., 2020. Biological activity in soils treated with green manures of lupinus spp. (leguminosae) using the hydrolysis of fluorescein diacetate method (FDA) in Jalisco, Mexico. 4(5) :203–206. doi :10.15406/hij.2020.04.00183.

- Higa T. & F. Parr J., 1994. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment.
- Higa T. & Wididana G., 2004. Changes in the soil microflora induced by effective microorganisms.
- Hoffland E., Kuyper T.W., Comans R.N.J. & Creamer R.E., 2020. Eco-functionality of organic matter in soils. 455(1) :1–22. doi :10.1007/s11104-020-04651-9.
- Houenou et al., 2021. Production anaérobique de bokashi à base du son et balle de riz et de la litière de volaille. doi :10.13140/RG.2.2.13692.46726.
- Högberg M.N., Högberg P. & Myrold D.D., 2006. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, c-to-n ratio, the trees, or all three ? 150(4) :590–601. doi :10.1007/s00442-006-0562-5.
- Inckel M., de Smet P., Tersmette T. & Veldkamp T., 2005. La fabrication et l'utilisation du compost. Number 8 in Série Agrodok. Fondation agromisa edition.
- ITPS (Intergovernmental Technical Panel of Soils), 2016. Etat des Ressources en Sols dans le Monde (Résumé technique).
- Jabloun M., Schelde K., Tao F. & Olesen J.E., 2015. Effect of temperature and precipitation on nitrate leaching from organic cereal cropping systems in denmark. 62 :55–64. doi : 10.1016/j.eja.2014.09.007.
- Jamar L. & Sallets P., 2016. Amélioration de la fertilité du sol en maraîchage. 28 :36–43.
- Javaid A., 2010. Beneficial microorganisms for sustainable agriculture. In E. Lichtfouse, editor, Genetic Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming, Springer Netherlands. 347–369. doi :10.1007/978-90-481-8741-6_12.
- Karlen D.L. et al., 1997. Soil quality : A concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). 61(1) :4–10. doi :10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x.
- Kopittke P.M. et al., 2024. Healthy soil for healthy humans and a healthy planet. 54(3) :210–221. doi :10.1080/10643389.2023.2228651.
- Kostecki J. & Greinert A., 2024. Possibility of brewery wastes application to soil as an organic improver of biological and chemical properties. 14(1) :17198. doi :10.1038/s41598-024-67668-5. Publisher : Nature Publishing Group.
- Krull E., Skjemstad J. & Baldock J., 2004. Functions of soil organic matter and the effect on soil properties.

- Kumar N. et al., 2024. Soil biological indicators associated with nitrogen mineralization patterns in rice soils under long-term integrated nutrient management. 40(1) :e12963. doi :10.1111/sum.12963. _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/sum.12963>.
- Laville E. et al., 2017. Autonomie alimentaire des villes : état des lieux des enjeux pour la filière agroalimentaire française.
- Lenz G.L. et al., 2021. Lettuce growth in aquaponic system and in soil fertilized with fish sludge. 52(10) :5008–5021. doi :10.1111/are.15372.
- Leyval C. et al., 2009. Impact d’amendements organiques sur la structure des communautés microbiennes des sols. 16(3) :299–312.
- Lin P.C., Azman E.A. & Ismail R., 2021. Bokashi leachate as a biopriming on basella rubra l. seed germination and root development. doi :10.21203/rs.3.rs-855828/v1.
- Lind O., 2014. Evaluation of bokashi fermentation leachate as a biofertilizer in urban horticulture – inorganic plant nutrient content in bokashi leachate and its effect as a fertilizer on pak choi.
- Mahajan N. et al., 2019. Soil quality indicators, building soil organic matter and microbial derived inputs to soil organic matter under conservation agriculture ecosystem : A review. 8. doi :10.20546/ijcmas.2019.802.218.
- Maughan N., Pipart N., Van Dyck B. & Visser M., 2021. The potential of bio-intensive market gardening models for a transformative urban agriculture : Adapting SPIN farming to brussels. doi :10.4324/9780429433566-8.
- Mayer J. et al., 2010. How effective are ‘effective microorganisms® (EM)’ ? results from a field study in temperate climate. 46(2) :230–239. doi :10.1016/j.apsoil.2010.08.007.
- Mbagwu J. & Ekwealor G., 1990. Agronomic potential of brewers’ spent grains. 34(4) :335–347. doi :10.1016/0269-7483(90)90034-P.
- Mosher M. & Trantham K., 2021. Overview of the brewing process. In M. Mosher & K. Trantham, editors, *Brewing Science : A Multidisciplinary Approach*, Springer International Publishing. 103–131. doi :10.1007/978-3-030-73419-0_4.
- Mougeot L., 2000. Urban agriculture : Definition, presence, potentials and risks.
- Mussatto S.I., Dragone G. & Roberto I.C., 2006. Brewers’ spent grain : generation, characteristics and potential applications. 43(1) :1–14. doi :10.1016/j.jcs.2005.06.001.

- Navarrete M. et al., 2012. L'écologisation des pratiques en arboriculture et maraichage. enjeux et perspectives de recherches. 62 :57–70.
- Neina D., 2019. The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. 2019(1) :5794869. doi :10.1155/2019/5794869. _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1155/2019/5794869>.
- Nene Y.L., 2018. The concept and formulation of kunapajala, the world's oldest fermented liquid organic manure. 22(1) :1–7. doi :10.18311/aah/2018/v22i1/18292.
- Olle M., 2020. The improvement of the growth of tomato transplants by bokashi tea :640.8Kb. doi :10.15159/JAS.20.10.
- Olle M., 2021. Review : Bokashi technology as a promising technology for crop production in europe. 96(2) :145–152. doi :10.1080/14620316.2020.1810140.
- Ostrowska A. & Porebska G., 2015. Assessment of the c/n ratio as an indicator of the decomposability of organic matter in forest soils. 49 :104–109. doi :10.1016/j.ecolind.2014.09.044.
- Patzel N., Sticher H. & Karlen D.L., 2000. Soil fertility — phenomenon and concept. 163(2) :129–142. doi :10.1002/(SICI)1522-2624(200004)163:2<129::AID-JPLN129>3.0.CO;2-D.
- Peigné J. et al., 2009. Techniques sans labour en agriculture biologique. 4 :23–32.
- Phooi C.L., Azman E.A. & Ismail R., 2022. Role of organic manure bokashi improving plant growth and nutrition : A review. 38(4). doi :10.17582/journal.sja/2022/38.4.1478.1484.
- Plateau L. et al., 2019. La viabilité du maraîchage urbain à l'épreuve de l'installation professionnelle. 28 :6. doi :10.1051/cagri/2019005.
- Poitras E. & Houde A., 2003. La PCR en temps réel : Principes et applications. 2 :2–11.
- Priyadi K. et al., 2005. Effect of soil type, applications of chicken manure and effective microorganisms on corn yield and microbial properties of acidic wetland soils in indonesia. Publisher : Taylor & Francis Group.
- Quiroz M. & Céspedes C., 2019. Bokashi as an amendment and source of nitrogen in sustainable agricultural systems : a review. 19(1) :237–248. doi :10.1007/s42729-019-0009-9.
- Raj Pandey S., Raj Ranjan A. & Kumari J., 2023. Assessing the effects of organic amendments on soil fertility. 2.

- Ramezanifar H. et al., 2022. Spinach growth regulation due to interactive salinity, water, and nitrogen stresses. 41(4) :1654–1671. doi :10.1007/s00344-021-10407-1.
- Ramzan S. et al., 2021. Responses of soil properties to organic amendments. In K.R. Hakeem, G.H. Dar, M.A. Mehmood & R.A. Bhat, editors, *Microbiota and Biofertilizers*, Springer International Publishing. 39–55. doi :10.1007/978-3-030-48771-3_3.
- Renault P., Ben-Sassi M. & Bérard A., 2013. Improving the MicroResp™ substrate-induced respiration method by a more complete description of CO₂ behavior in closed incubation wells. 207-208 :82–91. doi :10.1016/j.geoderma.2013.05.010.
- Richelle L., 2020. De la fertilité des sols à la santé de la terre : retour sur un processus d'apprentissage collectif visant l'évaluation de la santé des sols cultivés en agriculture paysanne.
- Richelle L. & Brauman A., 2023. La santé des sols : une approche holistique et transdisciplinaire. In *Science de la durabilité : Comprendre, co-construire, transformer*, IRD éditions, volume 2. 70–73.
- Sardans J., Peñuelas J. & Estiarte M., 2008. Changes in soil enzymes related to c and n cycle and in soil c and n content under prolonged warming and drought in a mediterranean shrubland. 39(2) :223–235. doi :10.1016/j.apsoil.2007.12.011.
- Sarthou J.P., 2016. Santé des sols : Définition. doi :10.17180/R87S-BD84.
- Scheromm P., Perrin C. & Soulard C.T., 2014. Cultiver en ville... cultiver la ville ? l'agriculture urbaine à montpellier. 158(3) :49–66. doi :10.3917/esp.158.0049.
- Schnecker J. et al., 2023. Seasonal dynamics of soil microbial growth, respiration, biomass, and carbon use efficiency in temperate soils. 440 :116693. doi :10.1016/j.geoderma.2023.116693.
- Schnürer J. & Rosswall T., 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. 43(6) :1256–1261.
- Sharma S.K. et al., 2010. Microbial community structure and diversity as indicators for evaluating soil quality. In E. Lichtfouse, editor, *Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture*, Springer Netherlands, volume 5. 317–358. doi : 10.1007/978-90-481-9513-8_11.
- Sierra J., Causeret F. & Chopin P., 2017. Impact du maraîchage sur la fertilité organique des sols de guadeloupe.

- Spincoop, 2018. SpinCoop et le SPIN farming.
- SPW, 2020. Matière organique dans les sols agricoles - État de l'environnement wallon.
- SPW, 2023. Indice des prix agricoles belges.
- Stockdale E., Shepherd M.A.*, Fortune S. & Cuttle S., 2002. Soil fertility in organic farming systems – fundamentally different? 18(3) :301–308. doi :10.1079/SUM2002143.
- Stolt M.H. & Lindbo D.L., 2010. Soil organic matter. In G. Stoops, V. Marcelino & F. Mees, editors, Interpretation of Micromorphological Features of Soils and Regoliths, Elsevier. 369–396. doi :10.1016/B978-0-444-53156-8.00017-9.
- Strickland M.S. & Rousk J., 2010. Considering fungal :bacterial dominance in soils – methods, controls, and ecosystem implications. 42(9) :1385–1395. doi :10.1016/j.soilbio.2010.05.007.
- Tang C., Weligama C. & Sale P., 2013. Subsurface soil acidification in farming systems : Its possible causes and management options. In J. Xu & D.L. Sparks, editors, Molecular Environmental Soil Science, Springer Netherlands. 389–412. doi :10.1007/978-94-007-4177-5_13.
- The James Hutton Institute ., 2019a. MicroResp™.
- The James Hutton Institute ., 2019b. Science behind MicroResp™.
- Thevenin N. et al., 2023. SYSPROX - Évaluation des différents systèmes de traitement de proximité des biodéchets.
- Thibault C. & Lecompte F., 2018. Gestion de la fertilité des sols en cultures légumières et maraîchères.
- Toth G., Stolbovoy V. & Montanarella L., 2007. Soil quality and sustainability evaluation - an integrated approach to support soil-related policies in the european union - a JRC position paper.
- van Diepeningen A.D., de Vos O.J., Korthals G.W. & van Bruggen A.H.C., 2006. Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils. 31(1) :120–135. doi :10.1016/j.apsoil.2005.03.003.
- Van Vliet P., Bloem J. & De Goede R., 2006. Microbial diversity, nitrogen loss and grass production after addition of effective micro-organisms® (EM) to slurry manure. 32(2) :188–198. doi :10.1016/j.apsoil.2005.07.001.

- Verdonck M. et al., 2012. Système d'alimentation durable – potentiel d'emplois en région bruxelloise.
- Vincent Q. et al., 2019. La qualité biologique et le carbone organique des sols agricoles en Wallonie. D/2019/11802/68. SPW, DGARNE, Jambes, Belgique.
- Voltr V. et al., 2021. The soil organic matter in connection with soil properties and soil inputs. 11(4) :779. doi :10.3390/agronomy11040779. Number : 4 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Walker D.J., Clemente R. & Bernal M.P., 2004. Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. 57(3) :215–224. doi :10.1016/j.chemosphere.2004.05.020.
- Wan X. et al., 2015. Soil C:N ratio is the major determinant of soil microbial community structure in subtropical coniferous and broadleaf forest plantations. 387(1) :103–116. doi : 10.1007/s11104-014-2277-4.
- Wang X. et al., 2019. Fungi to bacteria ratio : Historical misinterpretations and potential implications. 95 :1–11. doi :10.1016/j.actao.2018.10.003.
- Wenneck G.S. et al., 2023. Physiological responses of oregano under different water management and application of fermented bokashi compost. 45 :e60807. doi :10.4025/actasciagron.v45i1.60807.
- Wheeler K.A., Hurdman B.F. & Pitt J., 1991. Influence of pH on the growth of some toxigenic species of aspergillus, penicillium and fusarium. 12(2) :141–149. doi : 10.1016/0168-1605(91)90063-U.
- Willekens K., Vandecasteele B., Buchan D. & De Neve S., 2014. Soil quality is positively affected by reduced tillage and compost in an intensive vegetable cropping system. 82 :61–71. doi :10.1016/j.apsoil.2014.05.009.
- Xu H.L., Wang R. & Mridha M.A.U., 2001. Effects of organic fertilizers and a microbial inoculant on leaf photosynthesis and fruit yield and quality of tomato plants. 3(1) :173–182. doi :10.1300/J144v03n01_15. Publisher : Taylor & Francis _eprint : https://doi.org/10.1300/J144v03n01_15.
- Yamada K. & Xu H.L., 2001. Properties and applications of an organic fertilizer inoculated with effective microorganisms. 3(1) :255–268. doi :10.1300/J144v03n01_21.
- Yunan D., Xianliang Q. & Xiaochen W., 2018. Study on cation exchange capacity of agricultural soils. 392 :042039. doi :10.1088/1757-899X/392/4/042039.

8 Annexes

8.1 Annexe 1 : Protocole MicroResp

1. Préparation du sol pour l'expérimentation

1.1. Prélèvement et conditionnement du sol

- Échantillonnage du sol à analyser
- Tamisage du sol à l'aide d'un tamis (maille 2mm) directement après l'échantillonnage
- Stocker les échantillons au frigo (4°C) en attendant de poursuivre la manipulation

1.2. Détermination la teneur en eau de chaque échantillon

- Prélever un échantillon martyr, le peser et le placer à l'étuve (60°C pendant 3 jours)
- Peser l'échantillon après séchage
- Calculer la teneur en eau dans le sol frais

$$\% \text{ poids sec par unité de sol frais : (masse sèche / masse fraîche) * 100}$$

$$\text{Teneur en eau du sol frais (\%)} : 100 - \% \text{ poids sec}$$

1.3. Déterminer la capacité maximale de rétention d'eau de chaque échantillon

- Placer la terre sèche dans un gobelet de plastique dont le fond a été perforé à l'aide d'une aiguille
- Placer le bas du gobelet dans un berlin rempli d'eau
- Attendre que la terre soit complètement gorgée d'eau puis peser l'échantillon humidifié
- Calculer la capacité maximale de rétention d'eau de l'échantillon par unité de sol sec (%)

$$((\text{masse humide} - \text{masse sèche}) / \text{masse sèche}) * 100$$

1.4. Ajuster la teneur en humidité des échantillons de sol à 30% de la capacité maximale de rétention d'eau

- Peser un échantillon de sol frais dans une cupule en aluminium
- Calculer le pourcentage de la capacité maximale de rétention d'eau déjà présent dans l'échantillon

$$\text{teneur en eau du sol frais (\%)} / \text{capacité maximale de rétention d'eau (\%)}$$

- Calculer la masse sèche de l'échantillon

$$\% \text{ poids sec} * \text{masse fraîche de l'échantillon}$$

- Calculer la masse d'eau du sol frais de l'échantillon

teneur en eau du sol frais (%) * masse fraîche de l'échantillon

- Calculer la masse d'eau du sol à 30% de sa capacité maximale de rétention d'eau

30% * capacité maximale de rétention d'eau (%) * masse sèche

- Calculer la masse d'eau à ajouter au sol frais pour qu'il atteigne 30% de sa capacité maximale de rétention d'eau

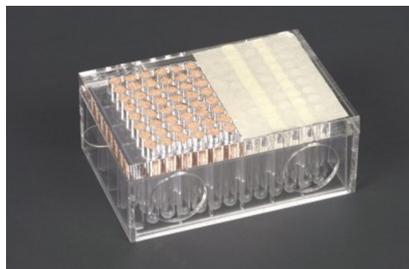
masse d'eau du sol à 30% de la capacité maximale de rétention d'eau – masse d'eau dans le sol frais

1.5. Remplissage de la plaque à puits profonds

- Placer sur la plaque à puits profonds le dispositif de remplissage et la plaque de plexi-glass coulissante fournis avec le kit MicroResp



- Couvrir les puits vides ainsi que ceux qui ont déjà été remplis de ruban adhésif afin d'éviter les mélanges de sol



- Remplir la plaque en changeant de sol à chaque colonne, afin d'avoir 8 répétitions de la mesure pour chaque échantillon
- Peser l'ensemble du dispositif entre chaque colonne afin d'obtenir la masse moyenne de sol par puits
- Laisser une colonne vide, elle servira à réaliser un blanc
- Une fois la plaque remplie, la couvrir de parafilm afin que l'eau ne s'évapore pas
- Incuber la plaque pendant 60h dans un environnement fermé et humide (boîte étanche avec un berlin d'eau) dans le but de stabiliser les sols à une humidité constante

2. Préparation de la microplaque de détection

2.1. Préparation de la solution d'agar purifié 3%

- Mesurer 100mL d'eau déminéralisée et peser 3g de poudre d'agar dans un bécher
- Placer le bécher sur un agitateur magnétique afin de dissoudre la poudre d'agar dans l'eau déminéralisée
- Faire chauffer à 100°C la solution obtenue en continuant de l'agiter
- Transvaser la solution dans une bouteille en verre et la laisser refroidir quelques minutes en l'agitant manuellement
- Placer la bouteille au bain-marie à 60°C

2.2. Préparation de la solution mère indicatrice

- Mesurer 900mL d'eau déminéralisée dans une bouteille en verre d'1L
- Placer la bouteille sur un agitateur magnétique chauffant
- Attendre qu'une température d'environ 60°C soit atteinte
- Ne pas dépasser les 65°C afin d'éviter toute dégradation du rouge de Crésol
- Ajouter 18,5mg de rouge de Crésol
- Ajouter 16,77g de chlorure de potassium
- Ajouter 0,315g de bicarbonate de sodium
- Une fois le tout dissous, ajuster le volume à 1000mL avec de l'eau déminéralisée et bien homogénéiser le tout sur l'agitateur magnétique
- Cette solution peut être stockée à 4°C et sans contact avec la lumière (entourée de papier aluminium), sa durée de conservation peut atteindre les 6 mois

2.3. Préparation de la solution de détection

- Chauffer les deux solutions puis les placer au bain-marie à 60°C
- Combiner la solution mère indicatrice ainsi que la solution d'agar selon un ration 2 : 1 (solution indicatrice : solution d'agar)

2.4. Remplissage et stockage de la microplaque de détection

- Remplir chaque puits à la micropipette avec 150 µL du mélange dès que celui-ci est sorti du bain-marie (il faut éviter de laisser la solution trop refroidir afin que l'agar de se gélifie pas, ce qui empêcherait le remplissage de la plaque)
- Placer la microplaque dans un dessiccateur fermé et à l'abri de la lumière
- Placer un erlenmeyer rempli d'eau ainsi qu'un pot de cristaux de chaux sodée dans le dessiccateur afin de conserver une atmosphère humide et pauvre en CO₂ pour une conservation optimale des microplaques
- Attendre au moins 2 jours avant la première utilisation des microplaques, afin que celles-ci aient le temps de s'équilibrer

2.5. Vérification de la conformité de la microplaque

- Lire l'absorbance à 570nm et à 20°C avec un spectrophotomètre (TECAN Spark)
- Vérifier que le pourcentage de coefficient de variance (%CoV) est bien inférieur à 5%

$$\%CoV = (\text{écart-type/moyenne}) * 100$$

3. Préparation et réalisation de la mesure 3.1. Fin du remplissage de la microplaque à puits profonds

- Après les 60h d'incubation, enlever le parafilm de la plaque contenant les échantillons de sol
- Ajouter 300µL d'eau distillée dans la dernière colonne comme témoin négatif (blanc)

3.2. Assemblage des différents éléments

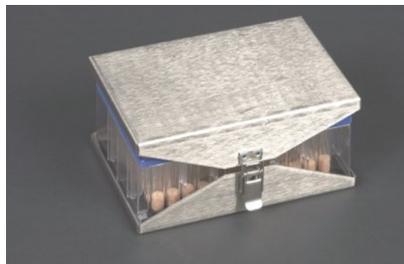
- Recouvrir la plaque à puits profonds à l'aide du tapis de fermeture en caoutchouc. Ce tapis permet d'individualiser les échanges gazeux entre chaque puits profonds et chaque puits de la microplaque de détection.



- Emboîter la microplaque de détection sur le tapis de fermeture en caoutchouc de sorte que le micropuits A1 corresponde au puits profonds A12



- Sceller le tout à l'aide de la boîte en métal du kit, afin que le dispositif soit bien étanche



- Laisser le dispositif à incuber pendant 6h

3.3. Mesure

- Sortir le dispositif de la boîte en métal
- Décrocher la microplaque de détection du tapis de fermeture
- Mesurer l'absorbance à 570nm directement à l'aide du spectrophotomètre (TECAN Spark)
- Replacer la microplaque de détection au dessiccateur, elle pourra être réutilisée tant que son %CoV restera inférieur à 5%

8.2 Annexe 2 : Extraits du manuel du kit MicroResp – Méthode de calcul du taux de CO₂ émis

— | + 60 %

H6. Data Handling

i. Data Transfer and Sorting

Export the files from the spectrophotometer programme into an Excel spreadsheet and sort the absorbance (A_{570}) data into a list format with the 0hr (A_{t0}) and 6hr (A_{t6}) data in single columns alongside each other.

A_{t0} plate

A1	A2	A3	...
B1	B2	B3	...
C1	C2	C3	...
...

A_{t6} plate

A1	A2	A3	...
B1	B2	B3	...
C1	C2	C3	...
...

A_{t0} and A_{t6} in columns

A _{t0}	A _{t6}
A1	A1
B1	B1
C1	C1
...	...
A2	A2
B2	B2
C2	C2
...	...
A3	A3
B3	B3
C3	C3
...	...

ii. Normalisation of Absorbance data

Normalise the data (A_i) for time 6 by dividing the A_{570} data by the A_{570} data at time 0 (A_{t0}) and multiply by the mean of the A_{570} reading at time 0 (A_{t0}).

To Normalise:

$$6\text{hr data: } A_i = (A_{t6} / A_{t0}) \times \text{Mean}(A_{t0})$$

iii. % CO₂ Calculations

The following formula converts the normalised 6hr data (Ai6) to %CO₂:

$$\%CO_2 = A + B / (1 + D \times Ai)$$

Where A = -0.2265, B = -1.606, D = -6.771

The formula is for a linear-to-linear (rectangular hyperbola) standard curve fit. The parameters are from a calibration using Emax Microplate reader (Molecular Devices, USA) using a wavelength of 570nm. The calibration was measured over 6h, using soils <pH7 and for pathlength (depth of agar) and concentration of reagents, in the detection plate as described.

N.B. Calibration of the spectrophotometer is recommended as measurements differ from model to model (see Pg17).

iv. CO₂ production rate

The CO₂ rate is calculated by converting the 6hr % CO₂ data to µg/g/h CO₂-C using gas constants, and constants for incubation temperature in °C (T), headspace volume (vol) in the well (µl), fresh weight (fwt) of soil per well (g), incubation time (hr) and soil sample % dry weight (dwt).

The CO₂ rate (µg CO₂-C/g/h) is calculated as follows:

$$\frac{\left(\frac{(\%CO_2/100) \times vol \times (44/22.4) \times (12/44) \times (273/(273+T))}{soil\ fwt \times (soil\ \% \ dwt/100)} \right)}{\text{incubation time}}$$

N.B. Headspace volume is normally 945µl for our standard set-up. Adjust according to manufacturers specifications for the microplate and deepwell plate.

8.3 Annexe 3 : Protocole de dosage enzymatique (FDA)

1. Préparation du tampon phosphate

- Peser 8,7g de K_2HPO_4 et 1,3g de K_2HPO_4 dans deux cupules
- Verser les cupules dans une bouteille hermétique d'1L
- Ajouter 800mL d'eau distillée dans la bouteille
- Placer la bouteille sur un agitateur magnétique
- Mesurer le pH une fois la solution homogénéisée, il doit atteindre une valeur de 7,6
- Si le pH diffère, l'ajuter à l'aide d'un acide (HCl) ou d'une base (NaOH)
- Une fois le pH stabilisé à 7,6 ajouter 200mL d'eau distillée
- Autoclaver la bouteille durant 20 minutes à 120°C
- Conserver au frigo

2. Préparation de deux solutions mères : solution standard et substrat

- Solution standard (Fluo1) : solution contenant de la Fluorescéine
 - Peser 6,7mg de fluorescéine dans un tube Falcon de 50mL
 - Ajouter 13,4mL d'acétone pur
 - Conserver au frigo et à l'abri de la lumière
- Solution substrat (FDA1) : solution contenant de la FDA
 - Peser 50mg de FDA dans un tube Falcon de 50mL
 - Ajouter 10mL d'acétone pur
 - Conserver au frigo et à l'abri de la lumière

3. Préparation des échantillons de sol

- Pour chaque échantillon, peser environ 1,250g de sol dans un tube Falcon de 50mL
- Ajouter 20mL de tampon phosphate dans chaque tube
- Placer les tubes dans un agitateur à 335 RPM pendant 10 minutes
- Placer les tubes dans le sonicateur à ultrasons durant 2 minutes
- Agiter à nouveau pendant 4 minutes

4. Dilution de la solution substrat

- Mélanger 400 μ L de la solution FDA 1 avec 4,8mL d'acétone pur et 4,8mL de tampon phosphate
- Réaliser cette opération avant chaque plaque et conserver le tube à l'abri de la lumière

5. Préparation des microplaques ELISA à 96 puits Chaque microplaque est composée de 12 colonnes et de 8 lignes, ce qui permet l'analyse de 11 sols différents en 8 réplicas. Une colonne est réservée au « blanc » et ne contient pas de sol. Afin de réaliser la mesure, chaque micropuits doit contenir 25 μ L de solution de sol, 195 μ L de tampon phosphate ainsi que 30 μ L de solution substrat. Les mesures de fluorescence sont ensuite réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre (TECAN Spark). Ces mesures sont prises toutes les 5 minutes durant 2 heures, à une température constante. Ci-dessous, un modèle de remplissage de ces microplaques.

Plaque 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1T-	5T-	10T-	1T+	5T+	10T+	2D	4D	12D	3I	8I	Blanc
B	1T-	5T-	10T-	1T+	5T+	10T+	2D	4D	12D	3I	8I	Blanc
C	1T-	5T-	10T-	1T+	5T+	10T+	2D	4D	12D	3I	8I	Blanc
D	1T-	5T-	10T-	1T+	5T+	10T+	2D	4D	12D	3I	8I	Blanc
E	1T-	5T-	10T-	1T+	5T+	10T+	2D	4D	12D	3I	8I	Blanc
F	1T-	5T-	10T-	1T+	5T+	10T+	2D	4D	12D	3I	8I	Blanc
G	1T-	5T-	10T-	1T+	5T+	10T+	2D	4D	12D	3I	8I	Blanc
H	1T-	5T-	10T-	1T+	5T+	10T+	2D	4D	12D	3I	8I	Blanc
Tampon	195 μ L	220 μ L										
Échantillon	25 μ L	0 μ L										
FDA	30 μ L											

6. Réalisation d'une droite de calibration

- Dilution 40x de la solution standard (Fluo1) en mélangeant 200 μ L de Fluo1 et 7800 μ L d'acétone pur pour obtenir la solution Fluo2
- Remplissage de la microplaque avec des quantités variables de Fluo2 et de solution tampon afin d'obtenir une fluorescence croissante
- Prise de mesure grâce au spectrophotomètre, dans le cas de la droite de calibration seule une mesure au temps 0 est nécessaire

Tampon (μ L)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Échantillon (μ L)												
Fluo2 (μ L)												
A rep1	225	222,5	220	215	210	205	195	185	175	165	155	145
	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	0	2,5	5	10	15	20	30	40	50	60	70	80
B rep2	225	222,5	220	215	210	205	195	185	175	165	155	145
	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	0	2,5	5	10	15	20	30	40	50	60	70	80
C rep3	225	222,5	220	215	210	205	195	185	175	165	155	145
	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	0	2,5	5	10	15	20	30	40	50	60	70	80

8.4 Annexe 4 : Protocole de la qPCR

1. Dilution des amorces

- Mesurer 11µL de solution stock contenant les amorces
 - 16S : 5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3'
 - 16S : 5'-ATT ACC GCT GCT GGC A-3'
 - 18S : 5'-A[INO] CCA TTC AAT CGG TA[INO] T-3'
 - 18S : 5'-CGA TAA CGA ACG AGA CCT-3'
- Ajouter 99µL d'H₂O (dilution à 1/10)

2. Préparation des gammes de dilution pour la courbe d'étalonnage Les gammes s'étalent de 10⁷ jusque 10³ à partir d'une solution stock concentrée à 10⁸

- 3µL de solution stock + 27µL d'eau sans nucléases = 10⁷
- 3µL de 10⁷ + 27µL d'eau sans nucléases = 10⁶
- 3µL de 10⁶ + 27µL d'eau sans nucléases = 10⁵
- 3µL de 10⁵ + 27µL d'eau sans nucléases = 10⁴
- 3µL de 10⁴ + 27µL d'eau sans nucléases = 10³

3. Préparation du mix réactionnel Quantité à prévoir par puits (toujours préparer un ou deux puits en plus en cas de problème) :

- 5µL de KAPA SYBR® Fast
- 1µL de primer Forward (16S ou 18S)
- 1µL de primer Reverse (16S ou 18S)
- 2µL d'eau sans nucléases

Attention à ne pas briser la chaîne du froid au cours des manipulations (conserver les réactifs dans la glace et à l'abri de la lumière)

4. Préparation des plaques de mesure

- Références du matériel utilisé :
 - Plaques MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate
 - Films Micro-Amp Optical Adhesive Film
- Remplissage :
 - Ajout d'un volume de 10µL par micropuits : 9µL de mix réactionnel (pipeté à la verticale dans le fond du puits) + 1µL d'échantillon d'ADN (pipeté sur le bord du puits afin d'éviter de lancer la réaction)
 - 3 répliques par échantillon d'ADN
 - Application du film adhésif
 - Centrifugation de la microplaque pour homogénéiser
- Placer la plaque au thermocycleur (QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System 96-well) pour la réalisation de la mesure
- Récupération et visualisation des résultats grâce au logiciel QuantStudio™ Design and Analysis Software

8.5 Annexe 5 : Notice d'utilisation du seau bokashi

Qu'est ce que le composteur BOKASHI ?

Le composteur Bokashi à marque Hazelock Pure est un composteur de cuisine, véritable révolution dans le monde du compostage : la solution idéale pour réduire vos ordures ménagères. Fini les vers à compost, il vous permet d'obtenir à la fois un engrais liquide (en 5 jours) et un compost riche.

L'activateur biologique Bokashi (1 kg) permet le processus de fermentation, les microorganismes efficaces (présents dans l'activateur) empêchent la putréfaction et la formation des odeurs désagréables.

Chaque boîte contient :

- 1 seau de 16L équipé d'un robinet (A), 1 sac de 1 kg, activateur Bokashi (F),
- Accessoires inclus :
 - 1 tamis (B),
 - 1 outil pour tasser (C),
 - 1 récipient pour récupérer le liquide de fermentation (D),
 - 1 cuillère graduée pour mettre l'activateur (E),
 - 1 notice d'utilisation (G).



Que pouvez vous mettre dans votre composteur Bokashi ?

On peut déposer dans le Composteur Bokashi presque tous les déchets biologiques. Il est recommandé de couper les aliments en petits morceaux, afin que la fermentation soit plus efficace, plus rapide.

Les Déchets compostables :

Fruits et légumes (crus et cuits)
Aliments préparés, Viandes cuites et crues,
Ecorces d'agrumes et des bananes,
Fromage, Yaourts
Oeufs,
Petits os,

Pain,
Marc de café,
Sachets de thé,
Fleurs fanées,
Très petite quantité de mouchoirs en papier.

Les Déchets non compostables :

Fluides : vinaigre, jus, sauces, lait, huile, l'eau.
Gros os,
Cendre,
Excréments d'animaux,

Papier, Cartons, Plastique, Verre, Métal...
Médicaments, produits chimiques
Plantes Malades

Dimensions et stockage

Volume : 16L

Il est recommandé de la déposer à température ambiante. Nous ne recommandons pas de la déposer à l'extérieur, parce que le froid peut l'endommager et le casser. L'exposition directe au soleil est déconseillée.



L'Activateur Bokashi

L'activateur Bokashi est un mélange de son de blé, mélangé de mélasse (sucre et eau) enrichi avec les microorganismes utiles (bactéries lactiques, levures, les organismes de photosynthèse, actinomycètes et champignons enzymatiquement actifs). Ce mélange permet de déclencher le processus de fermentation et d'empêcher la pourriture des déchets organiques. Après l'achèvement du processus de fermentation, les déchets conservent tous les nutriments essentiels (spécialement l'azote), qui auraient disparu dans le processus de pourriture.

La durée moyenne d'utilisation du sac de 1Kg est de 4 mois cela varie en fonction du nombre de personnes dans le foyer et du régime alimentaire de ses membres. Après ouverture, l'activateur peut-être conservé pendant 1 ans à l'abri de l'humidité.

● AVERTISSEMENT !

Le mélange activateur bokashi et le liquide de fermentation ne sont pas appropriés à la consommation !

Comment l'utiliser ?

Avant la première utilisation, vérifier que le robinet soit en position fermé : "CLOSE".



1. Avant de mettre les déchets, saupoudrer 20ml d'activateur au fond du seau à l'aide du pot gradué.



2. Avant de jeter vos déchets, couper en petits morceaux les plus grandes pièces pour accélérer la décomposition.



3. Verser vos déchets alimentaires dans le seau Bokashi.



4. A l'aide de l'outil à tasser fourni, presser les déchets pour éliminer les poches d'air.



5. Sur chaque couche de déchets, répandre uniformément 20ml d'activateur Bokashi.



6. Mettre le couvercle, s'assurer de l'étanchéité, et le laisser tout le temps fermé. Il ne faut l'ouvrir que lorsque vous voulez jeter vos déchets. C'est une fermentation anaérobie, moins il y a d'air, mieux ce sera.



7. Tous les 3 à 5 jours, récupérer le liquide de fermentation, en tournant le robinet sur « Open ». Le liquide doit être dilué à 1 / 100 (10 ml de liquide de fermentation pour 1 L d'eau) pour fertiliser vos plantes.

ATTENTION! En fonction des déchets, de l'air encore présent dans le composteur, du degré d'hydratation, etc., le «liquide» peut mettre plus de temps à être extrait. Jusqu'à 2 semaines.



8. Lorsque le seau Bokashi est plein, répandre uniformément 40ml d'activateur Bokashi.



9. Le laisser fermenter pendant 14 jours. Continuer tous les 3/5 jours à ouvrir le robinet pour récupérer le liquide de fermentation.

ATTENTION! Après 2 semaines, les déchets ne changent pas visuellement, mais le contenu est totalement transformé chimiquement, un contenu riche en nutriment, en vitamines et en minéraux. Le contenu est prêt quand vous avez une odeur aigre douce.



10.A
Enterrer la masse de déchets dans le sol. Creuser une tranchée et enterrer le contenu dans le sol.



10.B
A verser dans votre composteur extérieur, pour enrichir votre compost.

8.6 Annexe 6 : Protocole DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN)

Quick-Start Protocol

May 2019

DNeasy® PowerSoil® Pro Kit

Solution CD2 should be stored at 2–8°C upon arrival. All other reagents and kit components should be stored at room temperature (15–25°C).

Further information

- DNeasy® PowerSoil® Pro Kit Handbook: www.qiagen.com/HB-2495
- Safety Data Sheets: www.qiagen.com/safety
- Technical assistance: support.qiagen.com

Notes before starting

- Ensure that the PowerBead Pro Tubes rotate freely in the centrifuge without rubbing.
 - If Solution CD3 has precipitated, heat at 60°C until precipitate dissolves.
 - Perform all centrifugation steps at room temperature (15–25°C).
1. Spin the PowerBead Pro Tube briefly to ensure that the beads have settled at the bottom. Add up to 250 mg of soil and 800 µl of Solution CD1. Vortex briefly to mix.
 2. Secure the PowerBead Pro Tube horizontally on a Vortex Adapter for 1.5–2 ml tubes (cat. no. 13000-V1-24). Vortex at maximum speed for 10 min.
Note: If using the Vortex Adapter for more than 12 preps simultaneously, increase the vortexing time by 5–10 min.
Note: For more information about other bead beating methods, see the “Protocol: Detailed” section of *DNeasy® PowerSoil® Pro Kit Handbook*.
 3. Centrifuge the PowerBead Pro Tube at 15,000 x g for 1 min.
 4. Transfer the supernatant to a clean 2 ml Microcentrifuge Tube (provided).
Note: Expect 500–600 µl. The supernatant may still contain some soil particles.
 5. Add 200 µl of Solution CD2 and vortex for 5 s.
 6. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min at room temperature. Avoiding the pellet, transfer up to 700 µl of supernatant to a clean 2 ml Microcentrifuge Tube (provided).
Note: Expect 500–600 µl.
 7. Add 600 µl of Solution CD3 and vortex for 5 s.



Sample to Insight

-
8. Load 650 μ l of the lysate onto an MB Spin Column and centrifuge at 15,000 x g for 1 min.
 9. Discard the flow-through and repeat step 8 to ensure that all of the lysate has passed through the MB Spin Column.
 10. Carefully place the MB Spin Column into a clean 2 ml Collection Tube (provided). Avoid splashing any flow-through onto the MB Spin Column.
 11. Add 500 μ l of Solution EA to the MB Spin Column. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min.
 12. Discard the flow-through and place the MB Spin Column back into the same 2 ml Collection Tube.
 13. Add 500 μ l of Solution C5 to the MB Spin Column. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min.
 14. Discard the flow-through and place the MB Spin Column into a new 2 ml Collection Tube (provided).
 15. Centrifuge at up to 16,000 x g for 2 min. Carefully place the MB Spin Column into a new 1.5 ml Elution Tube (provided).
 16. Add 50–100 μ l of Solution C6 to the center of the white filter membrane.
 17. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min. Discard the MB Spin Column. The DNA is now ready for downstream applications.

Note: We recommend storing the DNA frozen (–30 to –15°C or –90 to –65°C) as Solution C6 does not contain EDTA. To concentrate DNA, please refer to the Troubleshooting Guide.

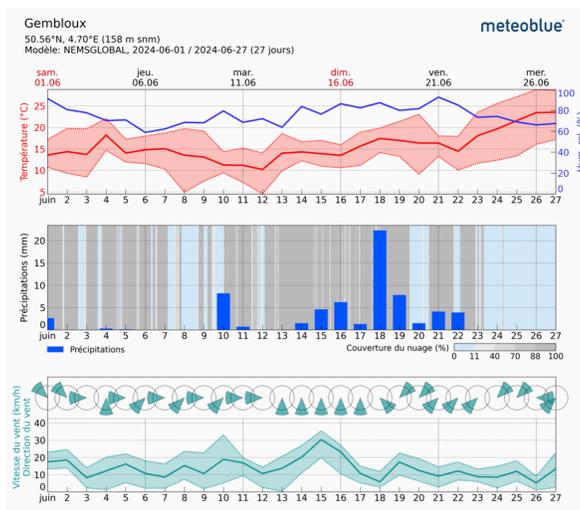
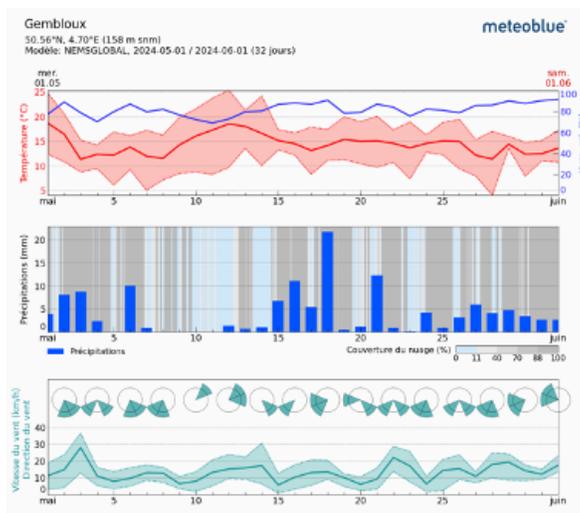
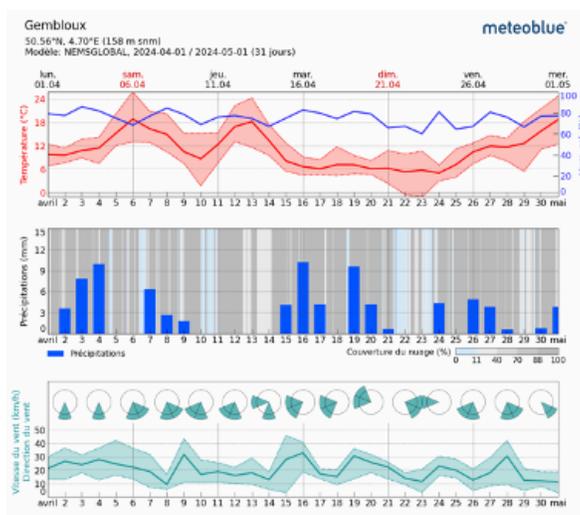


Scan QR code for handbook.

For up-to-date licensing information and product specific disclaimers, see the respective QIAGEN kit handbook or user manual.

Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight®, DNeasy®, PowerSoil® (QIAGEN Group) 1117369 05/2019 HB2494-003 © 2019 QIAGEN, all rights reserved.

8.7 Annexe 7 : Données météo des mois d'avril, mai et juin



8.8 Annexe 8 : Protocoles d'analyse du jus de bokashi par le photomètre HANNA instrument®

8.6. NITRATE

SPÉCIFICATIONS

Gamme	0,0 à 30,0 mg/L (NO ₃ ⁻ -N)
Résolution	0,1 mg/L
Précision	±0,5 mg/L ±10% de la lecture
Source lumineuse	DEL avec filtre d'interférence à bande étroite @ 525 nm
Méthode	Adaptation de la méthode réduction de cadmium.

RÉACTIFS NÉCESSAIRES

Code	Description	Quantité
HI93728-0	Réactif nitrate	1 sachet

KIT DE RÉACTIFS

HI93728-01	Réactifs pour 100 tests
HI93728-03	Réactifs pour 300 tests

Pour les autres accessoires voir page 197

PROCÉDURE DE LA MESURE

- Sélectionnez la méthode **Nitrate** en suivant la procédure décrite dans la section "sélection de la méthode" (voir page 18).

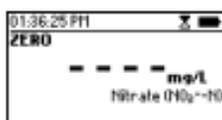
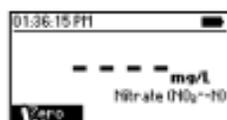
- Remplissez la cuvette avec 10 mL (jusqu'à la marque) de l'échantillon et replacez le capuchon.



- Mettez la cuvette dans le support et fermez le couvercle.



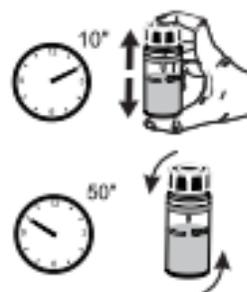
- Appuyez sur la touche **Zéro**. L'afficheur indique "-0.0-" lorsque l'instrument est étalonné et est prêt pour les mesures.



- Retirez la cuvette et ajoutez un sachet de réactif nitrate **HI93728-0**.



- Replacez le capuchon et agitez vigoureusement de haut en bas pendant exactement 10 secondes. Continuez de mélanger en inversant la cuvette délicatement pendant 50 secondes, en faisant attention de ne pas créer des bulles d'air. La poudre ne se dissoudra pas totalement. Le temps et la méthode d'agitation peuvent affecter le résultat de la mesure.



Note : La méthode est sensible à la technique. Voir la procédure "Préparation de la cuvette" page 19.

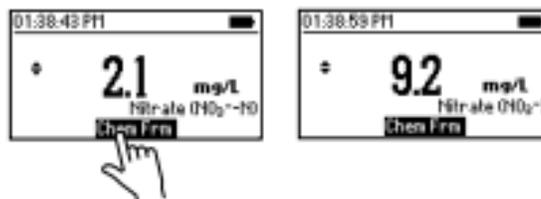
- Remettez la cuvette dans l'instrument et fermez le couvercle.



- Appuyez sur **Minuteur** et l'afficheur indiquera un compte à rebours avant de faire la mesure. Alternativement, attendez 4 minutes 30 secondes et appuyez sur la touche **Lire**. Lorsque le compte à rebours est terminé, l'instrument fait la mesure. L'instrument affiche le résultat en **mg/L d'azote nitreux (NO₂-N)**.



- Appuyez sur ▲ ou ▼ pour accéder au deuxième niveau de fonctions.
- Appuyez sur la touche **Frm Chim** pour convertir le résultat en **mg/L de nitrate (NO₃-)**.



- Appuyez sur ▲ ou ▼ pour revenir à l'écran de mesure.

8.7. PHOSPHATE, GAMME HAUTE

SPÉCIFICATIONS

Gamme	0,0 à 30,0 mg/L (PO_4^{3-})
Résolution	0,1 mg/L
Précision	$\pm 1,0 \text{ mg/L} \pm 4\%$ de la lecture
Source lumineuse	DEL avec filtre d'intensité à bande étroite @ 525 nm
Méthode	Adaptation de la méthode acide aminé.

RÉACTIFS NÉCESSAIRES

Code	Description	Quantité
HI93717A-0	Réactif A phosphate GH	10 gouttes
HI93717B-0	Réactif B phosphate GH	1 sachet

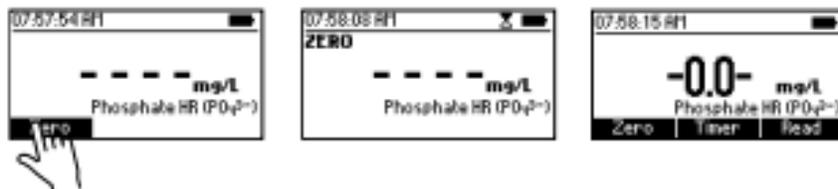
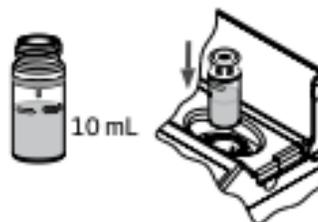
KIT DE RÉACTIFS

HI93717-01	Réactifs pour 100 tests
HI93717-03	Réactifs pour 300 tests

Pour les autres accessoires voir page 197

PROCÉDURE DE LA MESURE

- Sélectionnez la méthode **Phosphate GH** en suivant la procédure décrite dans la section "sélection de la méthode" (voir page 18).
- Rincez plusieurs fois la cuvette avec l'échantillon.
- Remplissez la cuvette avec 10 mL (jusqu'à la marque) de l'échantillon et replacez le capuchon.
- Mettez la cuvette dans le support et fermez le couvercle.
- Appuyez sur la touche **Zéro**. L'afficheur indique "-0.0-" lorsque l'instrument est étalonné et est prêt pour les mesures.



- Ajoutez 10 gouttes de réactif A phosphate GH HI93717A-0.



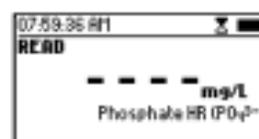
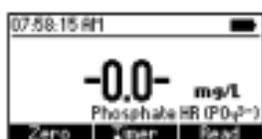
- Ajoutez un sachet de réactif B phosphate GH HI93717B-0. Remplacez le capuchon et agitez délicatement jusqu'à dissolution complète de la poudre.



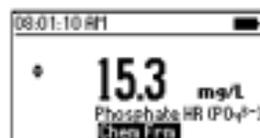
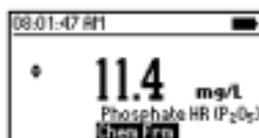
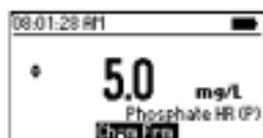
- Remettez la cuvette dans l'instrument et fermez le couvercle.



- Appuyez sur **Minuteur** et l'afficheur indiquera un compte à rebours avant de faire la mesure. Alternativement, attendez 5 minutes et appuyez sur la touche **Lire**. Lorsque le compte à rebours est terminé, l'instrument fait la mesure. L'instrument affiche la concentration en **mg/L de phosphate (PO_4^{3-})**.



- Appuyez sur **▲** ou **▼** pour accéder au deuxième niveau de fonctions.
- Appuyez sur la touche **Frm Chim** pour convertir le résultat en **mg/L de phosphore (P)** et en **pentoxyde de phosphore (P_2O_5)**.



- Appuyez sur **▲** ou **▼** pour revenir à l'écran de mesure.

8.8. POTASSIUM

SPÉCIFICATIONS

Gamme	0,0 à 20,0 mg/L (K)
Résolution	0,1 mg/L
Précision	±3,0 mg/L ± 7% de la lecture
Source lumineuse	DEL avec filtre d'interférence à bande étroite @ 466 nm
Méthode	Adaptation de la méthode turbidimétrique Tétraphénylborate.

RÉACTIFS NÉCESSAIRES

Code	Description	Quantité
HI93750A-0	Réactif A potassium	6 gouttes
HI93750B-0	Réactif B potassium	1 sachet

KIT DE RÉACTIFS

HI93750-01	Réactifs pour 100 tests
HI93750-03	Réactifs pour 300 tests

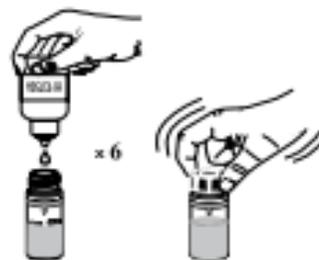
Pour les autres accessoires voir page 197

PROCÉDURE DE LA MESURE

- Sélectionnez la méthode **Potassium** en suivant la procédure décrite dans la section "sélection de la méthode" (voir page 18).
- Remplissez la cuvette avec 10 mL (jusqu'à la marque) de l'échantillon.



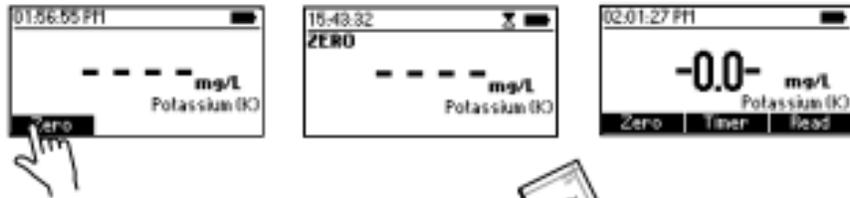
- Ajoutez 6 gouttes de réactif A potassium **HI93750A-0**. Remplacez le capuchon et mélangez la solution.



- Mettez la cuvette dans le support et fermez le couvercle.



- Appuyez sur la touche **Zéro**. L'afficheur indique "-0.0-" lorsque l'instrument est étalonné et est prêt pour les mesures.



- Ajoutez un sachet de réactif B potassium **HI93750B-0**. Remplacez le capuchon et agitez délicatement pendant 1 minute.



- Remettez la cuvette dans l'instrument et fermez le couvercle.

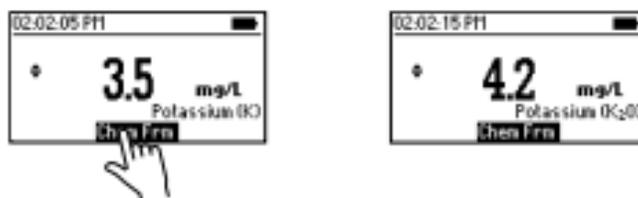


- Appuyez sur **Minuteur** et l'afficheur indiquera un compte à rebours avant de faire la mesure. Alternativement, attendez 2 minutes et appuyez sur **Lire**. Lorsque le compte à rebours est terminé, l'instrument fait la mesure. L'instrument indique le résultat en **mg/L de potassium (K)**.



- Appuyez sur **▲** ou **▼** pour accéder au deuxième niveau de fonctions.

- Appuyez sur la touche **Frm Chim** pour convertir le résultat en mg/L d'oxyde de potassium (K_2O).



- Appuyez sur ▲ ou ▼ pour revenir à l'écran de mesure.

INTERFÉRENCES

Des interférences peuvent être causées par :

Ammonium au-dessus de 10 ppm

Calcium au-dessus de 10000 ppm en $CaCO_3$

Chlorure au-dessus de 12000 ppm

Magnésium au-dessus de 8000 ppm en $CaCO_3$

Sodium au-dessus de 8000 ppm

8.9 Annexe 9 : Valeurs moyennes des analyses chimiques pré expérimentation

Variable analysée	Moyenne	Écart-type
P	15,08	3,98
Mg	11,98	1,48
Ca	189,18	32,59
K	22,97	2,88
pH	5,42	0,35
COT	58,28	14,53
Humus	11,66	2,91
N	0,20	0,03
C/N	29,34	4,97

8.10 Annexe 10 : Rendements de référence des cultures légumières (données du Centre Interprofessionnel Maraîcher (CIM))

Rendements des cultures légumières

Légume	Rendement moyen estimé
Ail	10-15 T/ha
Asperge	7 T/ha
Aubergines	60 T/ha
Basilic	2 kg/m ²
Betteraves	30-40 T/ha
Bettes	60-90 T/ha
Brocolis	12-20 T/ha
Carottes	60-90 T/ha brut (net=50-90% du brut)
Céleri branche	50 T/ha
Céleri rave	40 T/ha
Cerfeuil	1 kg/m ²
Chicon	30-35 T/ha de racines – 10 T de chicon/ha de racines
Choux blancs	50 T/ha
Chou BXL	15-20 T/ha
Chou chinois	22 T/ha
Choux de Savoie	50 T/ha
Choux fleurs	20.000 pièces/ha
Chou frisé	20-30 T/ha
Chou rave	30 T/ha
Choux rouges	40 T/ha
Concombres	20-30 fruits/m ² - 8-12 kg/m ²
Coriandre	1 – 1,5 kg/m ²
Courges	Potimarrons : 20-25 T/ha - Butternut : 30-40 T/ha
Courgettes	140.000 pièces/ha / 40 T/ha
Cresson	1 – 1.5 kg/m ²
Epinards	12-25 T/ha
Fenouils	20 T/ha
Haricots	9-12 T/ha brut – 7 T/ha net
Mâche	1 kg/m ²
Melon	30 T/ha
Navets	20-40 T/ha
Oignons	40-80 T/ha
Oignons ciboules	7 T/ha
Panais	35-45 T/ha
Patates douces	25-40 T/ha
Persil	15-20 T/ha
Poireaux	20-30 T/ha
Poivrons	60 T/ha
Pommes de terre	30-60 T/ha
Pourpier	2 kg/m ²
Radis	4-8 bottes/m ²
Rhubarbe	20-30 T/ha
Roquette	1-1,5 kg/m ² /coupe
Rutabaga	20-40 T/ha

Salades	72.000 pièces/ha
Scaroles	50.000 pièces/ha
Tomates	9 kg/m ²
Topinambour	20 T/ha