

---

## **Caractérisation de l'effet des systèmes de culture innovants en maraîchage biologique de la plateforme SYCMA sur la qualité des sols.**

**Auteur :** Falco, Léa

**Promoteur(s) :** De Clerck, Caroline; 17789

**Faculté :** Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

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

**Année académique :** 2024-2025

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/24216>

---

### *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.*

---

# CARACTÉRISATION DE L'EFFET DE SYSTÈMES DE CULTURE INNOVANTS EN MARAÎCHAGE BIOLOGIQUE DE LA PLATEFORME SYCMA SUR LA QUALITÉ DES SOLS

Léa Falco

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

Année académique 2024-2025

CO-PROMOTEURS: Caroline De Clerck & Brieuc Hardy



©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.

# CARACTÉRISATION DE L'EFFET DE SYSTÈMES DE CULTURE INNOVANTS EN MARAÎCHAGE BIOLOGIQUE DE LA PLATEFORME SYCMA SUR LA QUALITÉ DES SOLS

Léa Falco

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

Année académique 2024-2025

CO-PROMOTEURS: Caroline De Clerck & Brieuc Hardy

## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mes deux promoteurs, Caroline De Clerck et Brieuc Hardy, sans qui ce travail n'aurait pas été possible. Merci pour vos conseils avisés, votre disponibilité et votre soutien constant tout au long de ce mémoire, ainsi que pour tous les apprentissages que j'ai pu acquérir grâce à vous.

Je souhaite également remercier toute l'équipe de la plateforme SYCMA ainsi que le CRA-W, qui m'a permis de réaliser les prélèvements sur leurs parcelles et m'a apporté une aide précieuse lors des campagnes de terrain, notamment pour les vers de terre. Merci à Antoine pour son aide pendant les prélèvements et les laboratoires, ainsi qu'à Macha pour tous ses conseils et son aide. Merci également à Jimmy et Sok Lay pour leur assistance technique, et à Frederick Vanwindekens pour son aide dans la réalisation des tests Quantislake et le traitement des données associées. Merci également à Anne pour ses corrections.

Un grand merci à Julie pour son soutien tout au long de cette année, aussi bien au laboratoire que sur le terrain. Tu as été une très belle rencontre et ces six mois n'auraient pas été les mêmes sans toi.

Je tiens aussi à remercier ma colocataire Manon pour sa présence et son soutien tout au long de ces années et tous ses fous rires ensembles. Merci également à la « team Afterwork », Thibault, Martin, Alice et Manon, pour les moments de détente qui ont permis de relâcher la pression pendant ce mémoire. Enfin, je remercie mon kot, le Daoust dans son ensemble pour toutes les rencontres enrichissantes faites au fil des années, ainsi que l'AG pour ces soirées mémorables qui ont marqué mon parcours.

Je n'oublie pas mes parents, qui ont toujours su me soutenir dans les moments difficiles, et mon copain François qui m'a toujours soutenu et cru en moi tout au long de ce travail.

## Résumé

Ce travail de fin d'étude a pour objectif d'évaluer l'effet de systèmes de culture innovants en maraîchage biologique sur la qualité des sols, à travers l'analyse de la plateforme expérimentale SYCMA implantée au CRA-W. Quatre systèmes contrastés ont été comparés : deux en maraîchage de plein champs (SdC1 et SdC2) et deux en maraîchage intensif (SdC3 et SdC4), différent notamment, par le type d'amendements organiques (BRF, fumier, luzerne, engrais du commerce) et le travail du sol (labour ou non-labour).

L'évaluation de la qualité du sol repose sur une approche multi-indicateurs incluant des paramètres chimiques (teneurs en carbone organique, azote total, nutriments disponibles, pH), physiques (densité apparente, stabilité structurale, granulométrie), et biologiques (abondance, biomasse et diversité des vers de terre, activité enzymatique microbienne, respiration microbienne, abondance bactérienne par qPCR).

Les résultats mettent en évidence des différences significatives entre systèmes. Les systèmes sans labour intégrant des apports organiques produits sur site, tels que le SdC1 (polyculture sans élevage avec BRF (bois raméal fragmenté de saule) et le SdC3 (maraîchage de conservation avec BRF + luzerne), se distinguent par une teneur plus élevée en carbone organique et en azote total, une meilleure stabilité structurale, une activité microbienne plus importante, ainsi qu'une plus grande abondance de vers de terre. À l'inverse, les systèmes SdC2 et SdC4, tous deux soumis au labour et recevant moins d'apports organiques exogènes, affichent des résultats globalement moins favorables en termes de stockage du carbone, de structure du sol et d'activité biologique.

Ces résultats soulignent l'intérêt de systèmes maraîchers diversifiés, peu perturbants, autonomes en fertilité, et basés sur des pratiques agroécologiques favorables à la vie du sol. Une analyse économique permettrait d'évaluer la viabilité de tels systèmes de culture.

## Mots clés

Maraîchage biologique, Système de culture innovant, Qualité des sols, Amendements organiques, Travail du sol

## Abstract

This master's thesis aims to assess the effect of innovative organic market gardening systems on soil quality, through the analysis of the SYCMA experimental platform established at CRA-W. Four contrasting systems were compared: two in open-field market gardening (SdC1 and SdC2) and two in intensive market gardening (SdC3 and SdC4), differing in particular in the type of organic amendments used (ramial chipped wood, manure, alfalfa, commercial fertilizers) and soil tillage practices (ploughing or no-till).

Soil quality assessment was based on a multi-indicator approach including chemical parameters (organic carbon content, total nitrogen, available nutrients, pH), physical parameters (bulk density, aggregate stability, particle size distribution), and biological parameters (earthworm abundance, biomass and diversity, microbial enzymatic activity, microbial respiration, bacterial abundance by qPCR).

The results reveal significant differences between systems. No-till systems integrating on-site produced organic inputs, such as SdC1 (mixed cropping without livestock with willow ramial chipped wood) and SdC3 (conservation market gardening with ramial chipped wood + alfalfa), stood out for their higher organic carbon and total nitrogen contents, better aggregate stability, higher microbial activity, and greater earthworm abundance. Conversely, SdC2 and SdC4, both subject to ploughing and receiving fewer external organic inputs, showed overall less favorable results in terms of carbon storage, soil structure, and biological activity.

These findings highlight the value of diversified, low-disturbance, fertility-autonomous market gardening systems based on agroecological practices that promote soil life. An economic analysis would help assess the viability of such production systems.

## Keywords

Organic market gardening, innovative cropping systems, soil quality, organic amendments, soil tillage

## Liste des abréviations

ACP : analyse en composante principale

ADNr : ADN ribosomique

ANOVA : analyse de la variance

C : carbone

Ca : calcium

CO<sub>2</sub> : dioxyde de carbone

COS : carbone organique du sol

COT : carbone organique totale

C/argile : rapport entre le carbone organique et l'argile

C/N : Rapport entre le carbone organique et l'azote totale

EV : engrais vert

FDA : diacétate de fluorescéine

K : potassium

Mg : magnésium

MO : matière organique

N : azote

Na : sodium

P : phosphore

PCR : réaction de polymérisations en chaines

PT : prairies temporaires

qPCR : PCR quantitative

SdC : Système de culture

S : Soufre

SYCMA : Systèmes de Culture en Maraîchage biologique

# Table des matières

1.	Introduction .....	1
2.	État de l'art .....	3
2.1.	Le maraîchage biologique .....	3
2.2.	Définition de la qualité et la santé des sols .....	3
2.3.	La matière organique, facteur clé de la qualité des sols.....	4
2.4.	L'impact des leviers agronomiques sur la qualité des sols.....	4
2.4.1.	Le labour .....	4
2.4.2.	Les amendements organiques.....	5
2.4.3.	La rotation.....	5
2.5.	Indicateurs de qualité des sols .....	6
2.5.1.	Les principaux indicateurs .....	6
2.5.2.	Focus indicateurs chimiques .....	6
2.5.3.	Focus indicateurs physiques.....	8
2.5.4.	Focus indicateurs biologiques .....	9
3.	Matériel et méthode .....	13
3.1.	Localisation de l'essai système SYCMA .....	13
3.2.	Conditions climatiques.....	13
3.3.	Essai système SYCMA .....	13
3.3.1.	Les rotations.....	13
3.4.	Dispositif expérimental .....	16
3.5.	Echantillonnage .....	16
3.5.1.	Echantillonnage pour les analyses chimiques .....	16
3.5.2.	Echantillonnage pour les analyses physiques.....	17
3.5.3.	Echantillonnage pour les analyses biologiques .....	18
3.6.	Analyses en laboratoire .....	19
3.6.1.	Analyses physiques .....	19
3.6.2.	Analyses chimiques .....	19
3.6.3.	Analyses biologiques .....	20
3.7.	Analyses des données .....	21
4.	Résultats .....	23
4.1.	Indicateurs physiques.....	23
4.1.1.	Densité apparente .....	23
4.1.2.	Stabilité structurale.....	23
4.2.	Indicateurs chimiques .....	24

4.2.1. Carbone et azote .....	24
4.2.2. Nutriments.....	25
4.2.3. pH .....	26
4.2.4. Rapport C/argile .....	27
4.3. Indicateurs biologiques .....	28
4.3.1. Microflore .....	28
4.3.2. Vers de terre .....	30
4.4. Analyse en composantes principales des indicateurs.....	31
5. Discussion .....	33
5.1. Les systèmes permettent-ils de stocker plus de carbone (résilience agronomique/enjeux climatiques) ? .....	33
5.2. Les systèmes permettent-ils de maintenir des niveaux de fertilité chimique suffisants ? ...	35
5.3. Les systèmes permettent-ils de limiter l'érosion ?.....	36
5.4. Les systèmes sont-ils sensibles à la compaction ? .....	37
5.5. Les systèmes sont-ils favorables à la vie du sol ?.....	38
5.5.1. Microflore .....	38
5.5.2. Macrofaune .....	39
6. Conclusion et perspectives .....	41
7. Contribution personnelle.....	42
8. Bibliographie.....	43
9. Annexes.....	51

## Table des figures

Figure 1. Les 3 catégories de vers de terre (Vigot et al., 2014).....	11
Figure 2. Les rotations culturales dans les quatre systèmes de culture.....	14
Figure 3. Dispositif expérimental de la plateforme SYCMA.....	16
Figure 4. Prélèvements pour les analyses chimiques.....	17
Figure 5. Prélèvement pour le Quantislake test.....	17
Figure 6. Démoulage des kopecky pour le Quantislake test .....	17
Figure 7. Prélèvement de vers de terre .....	18
Figure 8. Lavement de vers de terre .....	18
Figure 9. Le quantislake test (Vanwindekens et al., 2023) .....	19
Figure 10. Méthode colorimétrique Micorresp de mesure du CO <sub>2</sub> libéré d'un échantillon de sol (protocole microrep).....	21
Figure 11. Teneur en carbone organique ou azote toale en (g kg <sup>-1</sup> ) en fonction de la masse de sol équivalente (t ha <sup>-1</sup> ).....	25
Figure 12. Teneur en phosphore et en potassium en (g kg <sup>-1</sup> ) en fonction de la masse de sol équivalente (t ha <sup>-1</sup> ). .....	26
Figure 13. Rapport C/argile des systèmes de culture en fonction des 2 horizons à 0-10 et 10-25cm. .	27
Figure 14. pH H <sub>2</sub> O des systèmes de culture selon les 3 horizons 0-10, 10-25 et 25-50cm.....	27
Figure 15. Densité apparente en g cm <sup>-3</sup> des systèmes de culture selon les 3 horizons 0-10, 10-25 et 25-50cm. ....	23
Figure 16. Stabilité structurale du sol (Wend) en fonction des systèmes de culture.....	24
Figure 17. Nombre de copies du gène 16s des bactéries selon les systèmes de culture par log du nombre par g de sol sec. ....	28
Figure 18. Activité enzymatique des microorganismes en production de fluoroscine en ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ sol sec h <sup>-1</sup> ) selon les différents systèmes.....	29
Figure 19. La production de CO <sub>2</sub> par les microorganismes en ( $\mu\text{gCO}_2\text{-C g}^{-1}$ sol h <sup>-1</sup> ) selon les différents systèmes.....	29
Figure 20. Nombre d'individus de vers de terre par m <sup>2</sup> et biomasse de vers de terre par gm <sup>2</sup> selon les différents systèmes. ....	30
Figure 21. Diversité des vers de terre en fonction des différents systèmes de culture et des blocs.....	31

## Table des tableaux

Tableau 1. Résumé des indicateurs de la qualité des sols utilisés .....	6
Tableau 2. Leviers agronomiques au sein des différents systèmes de culture de la plateforme SYCMA. (Figure élaborée à partir de diverses ressources fournies par L. Jamar)......	14
Tableau 3. Classements des sols en fonction du carbone organique totale (COT) en g/100g (Requasud, 2019).....	33
Tableau 4. Classement des types de sols en fonction des seuils de COT/argile (SPW, 2025) .....	35

## Table des annexes

Annexe 1. Composition de la préparation (50 L) destinée à l'extraction des vers de terre. ....	51
Annexe 2. Les différents indicateurs de la courbe dérivé du Quantislake test (Vanwindekens et al., 2023) .....	51
Annexe 3. Normes utilisées par les laboratoires pour les analyses chimiques.....	52
Annexe 4. Protocole de l'activité enzymatique microbienne FDA .....	53
Annexe 5. Protocole MicroResp pour l'étude de la respiration microbienne dans le sol .....	58
Annexe 6: Calcul pour le protocole microresp.....	64
Annexe 7 : Protocole d'extraction ADN (QIAGEN, 2019).....	66
Annexe 8: Quantification de l'ADN extrait par fluorescence .....	68
Annexe 9. Protocole de qPCR.....	69
Annexe 10 : Granulométrie en fonction des systèmes de culture.....	72
Annexe 11. Stock de carbone et d'azote non cumulé et cumulé en fonction de la masse de sol équivalente .....	73
Annexe 12 : Rapport C/N en fonction de la masse de sol équivalente .....	74
Annexe 13: Teneurs des différents éléments chimiques en fonction de la masse de sol équivalente...	75
Annexe 14: pH KCl des systèmes de culture en fonction des différents horizons .....	76
Annexe 15. Indice de shannon pour les vers de terre .....	76
Annexe 16. Matrice de corrélation entre les différents indicateurs .....	77
Annexe 17. Nombre de copie du gène 16s des bactéries par unité de carbone .....	77
Annexe 18: Activité enzymatique des microorganismes par la production de fluorescéine par unité de carbone .....	78
Annexe 19. Emission de CO <sub>2</sub> des microorganismes par unité de carbone .....	78

## 1. Introduction

Les sols sont des écosystèmes complexes essentiels, dont dépend 95% de la production alimentaire mondiale (ONU, 2022 ; Krause et al., 2025). Ils subissent une pression accrue due à la surexploitation des ressources naturelles, à la croissance démographique et aux pratiques agricoles non durables (ONU, 2022) dont l'intensification a entraîné une utilisation accrue des pesticides et des engrains de synthèse et une demande croissante des terres au cours des dernières décennies. Cette pression entraîne des impacts environnementaux néfastes, comme la perte de biodiversité, l'eutrophisation des écosystèmes naturels, des émissions de gaz à effet de serre importantes et enfin la dégradation de la qualité des sols (Krause et al., 2025).

La perte de biodiversité et la dégradation des terres sont deux des problèmes majeurs impactant les écosystèmes terrestres (Muñoz-Rojas, 2018). Déjà, un tiers des sols sont détériorés à l'échelle globale. Leur érosion pourrait réduire la production agricole de 10 % d'ici 2050 et faire disparaître 75 milliards de tonnes de sols (ONU, 2022). Chaque année, cinq à dix millions d'hectares de terre supplémentaires sont affectés par la dégradation (Muñoz-Rojas, 2018). La dégradation des sols a déjà libéré 78 gigatonnes de carbone dans l'atmosphère, alors que les sols, selon la carte mondiale du carbone organique, pourraient capturer jusqu'à 2,05 pétagrammes de CO<sub>2</sub> par an, compensant ainsi jusqu'à 34 % des émissions des terres agricoles (ONU, 2022).

En plus d'abriter plus ou moins 25% de la biodiversité mondiale, les sols sont le deuxième plus grand réservoir de carbone sur terre. Par conséquent, ils jouent un rôle important dans l'atténuation des effets du réchauffement climatique (ONU, 2022). Réduire la dégradation des sols et restaurer les terres détériorées est essentiel pour préserver la productivité des écosystèmes, atténuer le changement climatique, protéger la biodiversité et garantir la sécurité alimentaire ainsi que l'approvisionnement en ressources (Muñoz-Rojas, 2018).

La production de légumes en Wallonie est en plein essor (Jamar, 2022). Le maraîchage biologique diversifié, bien qu'il n'utilise pas d'engrais de synthèse, entraîne un travail répété du sol, une utilisation de fertilisants organiques et une couverture minimale du sol, ce qui conduit à une diminution de la fertilité, à une perte d'indépendance et à une détérioration de la qualité de l'eau (Langard et al., 2024). En effet, les cultures de légumes, bien qu'elles soient à haute valeur ajoutée, sont des cultures déstructurantes pour le sol et avec des besoins en intrants élevés. Un enjeu pour l'agriculture biologique est donc le maintien de la fertilité et du taux de matière organique du sol dans ce type de systèmes de culture (Jamar, 2022).

Ce mémoire a été réalisée à la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech en collaboration avec le CRA-W, le Centre de Recherche Agronomique de Wallonie. Le CRA-W possède plusieurs essais systèmes de longue durée sur son domaine agricole. Les essais systèmes se distinguent des essais factoriels par les objectifs poursuivis. Les essais factoriels permettent d'analyser l'effet de certains facteurs et de leurs interactions sur une ou plusieurs variables, en isolant les autres influences tandis que les essais systèmes permettent d'évaluer la capacité d'un système de culture ou d'un itinéraire technique à atteindre ses objectifs, en prenant en compte sa complexité (Havard et al., 2017). Une expérimentation système permet d'étudier l'impact à long terme des pratiques culturales sur un système de culture (Jamar, 2022).

La plateforme SYCMA (Systèmes de Culture en Maraîchage biologique) est une plateforme de maraîchage biologique du domaine agricole du CRA-W. Elle inclut quatre systèmes de culture innovants dont deux en maraîchage biologique intensif et deux en maraîchage biologique extensif. Chaque système de culture est répété dans trois blocs et suit une rotation spécifique de six ans.

L'objectif principal de ce mémoire est d'évaluer l'effet de systèmes de culture innovants, au sein d'un essai système en maraîchage biologique (plateforme SYCMA), sur la qualité biologique, physique et chimique du sol.

## 2. État de l'art

### 2.1. Le maraîchage biologique

La production de légumes en agriculture biologique implique la gestion de multiples facteurs complexes. Souvent pratiquée à petite échelle, elle se caractérise par une grande diversité de cultures, nécessitant des compétences et un savoir-faire approfondi pour assurer la gestion efficace de divers types de plantations (Larkin, 2020). Afin d'avoir une production légumière durable, il est essentiel d'adopter des stratégies efficaces de gestion des sols et des cultures comme l'élaboration d'une rotation, l'utilisation de cultures de couverture et l'amendement du sol (Larkin et al. 2024).

Tous les systèmes de culture de légumes biologiques doivent faire l'objet d'une certification officielle (Davies, 2012). Toutefois, plusieurs facteurs sont limitants dans la filière biologique. La réglementation européenne en matière d'intrants est très stricte : un produit n'est autorisé en agriculture biologique que s'il est issu de matières premières naturelles, exempt d'OGM, respectueux des écosystèmes, sans danger pour la santé des sols et biodégradable (CERTISYS, 2024). Le contrôle des adventices devient donc un vrai challenge car bien qu'il existe des alternatives pour les insecticides et les fongicides, il n'en existe pas pour les herbicides (Langard et al., 2024).

Par ailleurs, satisfaire les besoins des cultures en phosphore reste un défi, surtout dans les systèmes de culture biologique qui reposent sur des sources organiques de phosphore et sur sa solubilisation par l'activité microbienne dans les sols (Krause et al., 2025).

Les pratiques culturales influencent le sol en modifiant sa structure et en apportant des modifications chimiques, ainsi qu'en impactant les habitats des microorganismes et leur diversité. En absence de fertilisants minéraux, la capacité des microorganismes à minéraliser l'azote organique est essentielle pour assurer la nutrition des plantes (Krause et al., 2025).

La gestion de la matière organique et de la fertilité du sol, qui consiste à équilibrer les pratiques permettant d'améliorer la qualité du sol et de garantir sa durabilité tout en répondant aux besoins nutritionnels des cultures de légumes actuelles, représente un défi majeur pour les producteurs de légumes biologiques. Le timing, les quantités et les types d'amendements organiques utilisés peuvent influencer de manière significative les propriétés du sol et sa fertilité, tant pour l'année en cours que pour les années futures (Larkin, 2020).

### 2.2. Définition de la qualité et la santé des sols

Le concept de qualité des sols, approfondi à travers la notion de santé des sols, est encore en développement, et seules quelques nations ont jusqu'à présent mis en place des législations en la matière (Laishram et al., 2012 ; Muñoz-Rojas, 2018).

La qualité d'un sol peut se définir comme étant « son aptitude à fonctionner selon ses capacités et dans les limites des écosystèmes naturels ou gérés, afin de soutenir la productivité des plantes et des animaux, de maintenir ou d'améliorer la qualité de l'eau et de l'air, et de soutenir la santé humaine et l'habitat » (Karlen et al., 1997, Muñoz-Rojas, 2018). La qualité des sols est une mesure de la capacité d'un sol à réaliser des fonctions écologiques particulières, comme supporter la croissance des plantes, réguler l'approvisionnement en eau, recycler les matières premières, générer un habitat pour les microorganismes du sol, permettre de soutenir pour les travaux d'ingénierie et modifier la composition de l'atmosphère. Elle dépend des propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols (Weil et al., 2017).

Certains préfèrent le terme « santé des sols » car il met en avant l'idée que le sol est un système vivant et dynamique, dont les fonctions dépendent d'une diversité d'organismes nécessitant une gestion et une conservation adaptée (Doran et al., 2000). La santé du sol est « la capacité continue à fonctionner comme un système vivant essentiel, dans les limites des écosystèmes et de l'utilisation des terres, afin de soutenir la productivité biologique, de maintenir ou d'améliorer la qualité de l'air et de l'eau, et de promouvoir la santé des plantes, des animaux et des humains » (Doran et al., 2000 ; Laishram et al., 2012). Ce terme met en avant le fait que le sol est une ressource vivante, dynamique, limitée et non renouvelable (Muñoz-Rojas, 2018).

Les termes qualité des sols et santé des sols sont parfois utilisés comme des synonymes (Doran et al., 2000).

### 2.3. La matière organique, facteur clé de la qualité des sols

Parmi les facteurs influençant la qualité des sols, la matière organique joue un rôle central en maraîchage biologique. Cette dernière, issue de la transformation de débris végétaux et animaux, est une composante essentielle du sol bien qu'elle soit minoritaire en masse en comparaison avec la fraction minérale du sol. Elle joue un rôle considérable dans la croissance des plantes en participant directement ou indirectement à leur nutrition minérale et hydrique ce qui la rend fondamentale en agriculture (Duchaufour et al., 2024). De plus, elle joue un rôle important dans les propriétés biologiques, chimiques et physiques du sol (Larkin, 2020 ; Duchaufour et al., 2024). Elle contribue à nourrir le biote, à stabiliser la structure, à favoriser la rétention et la circulation de l'eau, à accroître la fertilité et à limiter l'érosion du sol (Blanco-Canqui et al., 2004 ; Larkin, 2020). La matière organique comprend deux composantes fondamentalement différentes. Elle comprend des constituants organiques vivants (pédofaune, racines de plantes vivantes et microorganismes) et elle comprend des constituants organiques morts qui sont soit non transformés (particulaires) ou soit transformés physiquement et biochimiquement (Duchaufour et al., 2024).

La matière organique fraîche est la fraction organique d'origine animale ou végétale qui est encore peu transformée. L'humus ou les substances humiques au sens large sont la matière organique transformée chimiquement et/ou physiquement. L'humus possède des liens plus ou moins étroits avec les composants minéraux réactifs, argiles et oxyhydroxydes libres. La matière organique fraîche permet donc l'élaboration de l'humus (Duchaufour et al., 2024).

Plusieurs recherches ont permis de constater une diminution de la quantité de matière organique dans les sols lorsque l'intensité des pratiques réalisées sur le sol augmentait (Blanco-Canqui et al., 2004 ; Laishram et al., 2012). Cela est dû au changement qui se produit dans la structure du sol en raison de plusieurs causes tel que le labour, l'accroissement de la minéralisation et de l'enlèvement de la biomasse des sols et l'exposition des sols à la décomposition (Laishram et al., 2012). De plus, la communauté microbienne du sol a un impact considérable sur la dynamique de la matière organique fraîche du sol (Zuber et al., 2016).

### 2.4. L'impact des leviers agronomiques sur la qualité des sols

#### 2.4.1. Le labour

L'objectif principal du labour est d'augmenter la productivité des cultures en contrôlant les adventices et en préparant le lit de semences. Les systèmes de travail du sol sont définis en fonction du pourcentage de résidus restant à la surface du sol après le labour et du degré d'inversion du sol. Les effets néfastes du travail du sol sont l'érosion, la dégradation de la structure du sol, la diminution des macroorganismes du sol, la perte de nutriments et de la matière organique dans le sol (Zuber et al., 2016). De plus, cela

engendre une couche du sol compactée empêchant ainsi la croissance des plantes, l'infiltration de l'eau et rendant le sol plus sensible à l'érosion (Da Silva et al, 2024).

Le travail intensif du sol conduit à une diminution des micro-agrégats stables. Les sols qui sont fortement perturbés sont exposés à une dégradation physique, ce qui diminue la réaggrégation du sol autour du carbone organique. Lorsque le système est perturbé par le travail du sol, l'interaction entre le carbone organique du sol et la structure du sol s'arrête. Cela conduit à la formation de micro-agrégats appauvris en C (Blanco-Canqui et al., 2004 ; Basile-Doelsch et al., 2020). Les micro-agrégats demeurent souvent plus intacts que les macro-agrégats lors du labour, car ils sont maintenus par des agents de liaison (Blanco-Canqui et al., 2004). De plus, le labour entraîne une oxydation de la matière organique (Da Silva, 2024). Le non labour conserve donc la matière organique, stabilise les agrégats et augmente la séquestration du carbone. Cependant, une biomasse microbienne abondante, incluant les bactéries, les champignons et surtout les champignons mycorhiziens, est un facteur qui doit être pris en considération pour l'agrégation du sol dans les systèmes sans labour (Basile-Doelsch et al., 2020). Le fait d'avoir une abondance microbienne très importante en non labour permettrait aux plantes de pouvoir assurer une fertilité chimique sans apport. Les couvertures de surface seraient rapidement dégradées par les microorganismes permettant de fournir les besoins nécessaires aux plantes. Cela permettrait aux plantes de ne pas subir la faim d'azote (Langard et al, 2024).

#### 2.4.2. Les amendements organiques

L'ajout régulier de fumure organique augmente la fertilité, la productivité et la qualité des sols (Singh et al., 2024). Dans les travaux de Sharma et al. (2011), Fini et al. (2016) et Singh et al., (2024), les amendements, ainsi que les résidus de culture, ont entraîné une réduction de la densité apparente du sol et ont entraîné des augmentations significatives du carbone organique total (COT), du Kjeldahl-N, du phosphore disponible (P). De plus, dans le travail de Sharma et al. (2011), ils ont permis d'augmenter la respiration du sol, la biomasse microbienne et les activités enzymatiques (comme la protéase, l'uréase et la phosphatase alcaline), ainsi que la diversité microbienne et les rendements. Une biomasse microbienne plus importante améliore les fonctions physiologiques du sol, comme la libération plus rapide du phosphore. Les pertes de nutriments sont moins importantes car les nutriments y sont libérés plus lentement (Singh et al., 2024).

#### 2.4.3. La rotation

La rotation influence fortement la structure du sol, la matière organique et les communautés microbiennes. Traditionnellement, elle a principalement servi à interrompre les cycles de maladies et à enrichir le sol en azote atmosphérique grâce aux légumineuses, au bénéfice des cultures non-légumineuses suivantes. La rotation modifie les schémas d'utilisation des substrats, suggérant que les sols soumis à la rotation des cultures abritent une communauté bactérienne plus diversifiée que ceux en monoculture de blé (*Triticum aestivum* L.) ou en jachère estivale (Sharma et al., 2011). De plus, la rotation a donc une influence sur le type et la quantité de résidus végétaux restitués dans le sol (Zuber et al, 2016). Les propriétés du sol sont influencées par la quantité et la composition chimique des résidus de culture et des exsudats racinaires. Les différences de résidus et d'exsudats racinaires entre cultures influencent la fertilité et les propriétés du sol. Les apports souterrains peuvent contribuer davantage aux stocks de carbone stable que les résidus aériens (Congreves et al., 2015). L'intégration des légumineuses dans la rotation des cultures influence la dynamique de la macro- et micro-agrégation, favorisant le stockage du carbone organique du sol (COS). Leurs résidus, riches en fractions organiques labiles, stimulent l'agrégation du sol et augmentent la concentration en COS. Cependant, cet effet reste souvent temporaire en raison de la dégradation rapide de la fraction labile (Blanco-Canqui et al., 2004).

## 2.5. Indicateurs de qualité des sols

### 2.5.1. Les principaux indicateurs

Afin d'évaluer objectivement l'effet de ces leviers agronomiques, plusieurs indicateurs de qualité des sols sont mobilisés. Il en existe de nombreux mais ceux repris dans le Tableau 1 ont été testés dans le cadre de ce mémoire.

Tableau 1. Résumé des indicateurs de la qualité des sols utilisés

Types de classe		Indicateurs
Indicateurs chimiques		Carbone organique
		Azote totale
		Nutriments disponibles
		pH
		C/argile
Indicateurs physiques		Densité apparente
		Stabilité structurale
		Granulométrie
Indicateurs biologiques	Microflore	Abondance des bactéries
		Activité microbienne (FDA et respiro)
	Macrofaune	Abondance de vers de terre
		Biomasse de vers de terre
		Diversité de vers de terre

### 2.5.2. Focus indicateurs chimiques

#### 2.5.2.1. Le carbone organique

Une des fonctions de l'écosystème du sol est le stockage de carbone. Il constitue le principal puits de carbone des écosystèmes terrestres (Blanco-Canqui et al., 2004 ; FAO, 2015 ; Muñoz-Rojas, 2018). En effet, il retient plus de carbone que l'atmosphère et la végétation ensemble. Ces 3 réservoirs, l'atmosphère, la végétation et le sol, interagissent en permanence (FAO, 2015).

La matière organique du sol se compose d'environ 55% de carbone organique (COS) et 45% d'autres éléments essentiels (H , O, N, S, P) (Blanco-Canqui et al., 2004 ; , FAO, 2015 ; Duchaufour et al., 2024). La répartition du carbone organique du sol suit un gradient vertical marqué, avec une concentration élevée en surface qui diminue en profondeur (Basile-Doelsch et al., 2020). Ce gradient est observé en non labour tandis que le labour tend à homogénéiser le carbone dans le sol (Dimassi et al., 2013 ; Krauss et al., 2022).

Le carbone organique du sol est depuis des décennies un indicateur clé de la qualité des sols. L'ampleur du stock de carbone dépend de l'interaction entre la structure du sol et sa matière organique. Une structure du sol qui est stable permet de stocker la matière organique et de ralentir sa décomposition (Blanco-Canqui et al., 2004). La séquestration du carbone organique dans le sol dépend de l'équilibre entre les apports et les pertes de ce carbone au sein de l'écosystème. Ce processus est notamment régulé par la biomasse microbienne (Brookes et al., 2008).

Les sols agricoles ont généralement des niveaux de carbone organique faible, contrairement aux sols sous couverture végétale permanente, qui en contiennent davantage. La transformation des terres naturelles en terres agricoles a entraîné la perte de 50 à 100 Pg de carbone organique des sols à l'échelle mondiale au cours des 200 dernières années. Grâce à des pratiques de gestion améliorées, il est possible de restaurer, au moins temporairement, les stocks de carbone dans ces sols, ce qui permet d'éliminer du

$\text{CO}_2$  de l'atmosphère. Cependant, les estimations actuelles de la capacité de séquestration du carbone des sols ne représentent que 50 à 66 % de la perte cumulative historique de carbone (Fließbach et al., 2007).

Les systèmes de culture biologique peuvent maintenir, voire augmenter, les niveaux de carbone et d'azote dans le sol, malgré des apports réduits de 15 % en matière organique et de 45 % en azote par rapport aux systèmes conventionnels. Cette différence ne s'expliquant pas uniquement par la quantité d'apports, il est suggéré que la capacité microbienne à recycler le carbone joue un rôle clé dans l'évolution à long terme du carbone et de la matière organique du sol (Krause et al., 2025). L'augmentation des stocks de carbone organique dans les sols agricoles est une stratégie reconnue pour améliorer leur qualité, améliorer la productivité des cultures et limiter l'accumulation de  $\text{CO}_2$  dans l'atmosphère. Cela permet donc de ralentir le rythme du changement climatique (Basile-Doelsch et al., 2020, Bongiorno et al., 2019).

#### 2.5.2.2. L'azote total

L'intervention humaine sur le cycle de l'azote a quasiment doublé son apport dans les écosystèmes terrestres au cours des trois dernières décennies, intensifiant ainsi son transfert vers l'atmosphère, les rivières, les estuaires et les zones côtières (Doran et al., 2000). La perturbation du cycle global de l'azote est considérée comme le deuxième facteur le plus influent du changement environnemental à l'échelle planétaire. Cette perturbation résulte en grande partie de l'augmentation de l'utilisation des engrains chimiques (Näsholm et al., 2009).

Le rapport C/N du sol est souvent utilisé comme un indicateur de la capacité du sol à minéraliser l'azote (Ge et al., 2013). La quantité totale d'azote (N) présente dans le sol, majoritairement sous forme organique, sert à calculer le stock d'azote dans l'horizon prélevé, permettant ainsi d'estimer la minéralisation de l'azote (Lagrange et al., 2022). Les microorganismes nécessitent des composants carbonés des résidus comme source d'énergie et utilisent l'azote disponible pour former les protéines nécessaires à leur développement. L'immobilisation et la minéralisation sont deux processus continus dans le sol qui tendent généralement à s'équilibrer. En d'autres termes, la quantité d'azote libérée dans le sol par la minéralisation (décomposition de la matière organique) est généralement équivalente à celle immobilisée (absorbée par les plantes). Toutefois, cet équilibre peut être facilement perturbé par l'ajout de résidus organiques présentant un rapport carbone/azote (C/N) élevé (Hodges, 2010).

En effet, un rapport C/N élevé peut ralentir la décomposition de la matière organique et de l'azote organique en limitant l'activité microbienne en raison d'une forte teneur en carbone, tandis qu'un rapport C/N faible peut accélérer la dégradation microbienne de la matière organique et de l'azote, ce qui n'est pas favorable à la séquestration du carbone (Ge et al., 2013). La vitesse de décomposition de la matière organique et de libération de l'azote varie en fonction de la proportion de composés organiques facilement dégradables par rapport à ceux plus résistants à la décomposition (Hodges, 2010).

#### 2.5.2.3. Les nutriments disponibles

Les nutriments disponibles pour les plantes sont aussi un indicateur de la qualité des sols. Les nutriments qui vont être analysés dans le cadre de ce mémoire sont le phosphore, le potassium, le magnésium, le calcium, le sodium et le soufre.

Seize nutriments sont essentiels pour soutenir la croissance des plantes et permettre aux microorganismes du sol de vivre. Parmi les nutriments essentiels, il existe les macronutriments et les micronutriments. Les macronutriments sont les nutriments qui doivent être présents en grande quantités. Les macronutriments incluent l'azote, le phosphore, le potassium, le carbone, l'oxygène, l'hydrogène, le calcium et le soufre. Les micronutriments sont également essentiels pour le développement de la

plante mais ils doivent être présents en plus petite quantité que les macronutriments. Les nutriments sont absorbés par la plante sous leur forme ionique dans la solution du sol (FAO, 2015).

#### 2.5.2.4. Le pH

Le pH du sol mesure la concentration de l'ion hydrogène dans le sol et permet de montrer l'acidité ou l'alcalinité du sol (FAO, 2015). Il évalue l'activité des protons dans une suspension de sol préparée avec une solution, qui peut être de l'eau ou un sel neutre ( $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{BaCl}_2$ ...) (Genot et al., 2012). La disponibilité des nutriments est optimale lorsque le pH est proche de 6,5. Un pH en dessous de 5,5 va de pair avec des concentrations élevées de  $\text{H}^+$  et de  $\text{Al}^{3+}$  dans la solution du sol qui peuvent s'avérer toxiques pour la plante et vont de pair avec une oligotrophie. À l'opposé, un pH au-dessus de 7,2 pourrait avoir des conséquences sur l'immobilisation des nutriments. Des valeurs de pH au-dessus de 8,5 pourraient avoir des conséquences considérables sur le sol comme la dispersion des particules du sol et l'effondrement de sa structure. Le pH joue un rôle essentiel dans la caractérisation des menaces pesant sur les services écosystémiques du sol comme l'acidification et la sodisation (FAO, 2015). Le pH KCl est toujours plus bas que le pH eau, car la solution de KCl libère des protons  $\text{H}^+$  échangeables fixés sur les colloïdes du sol, augmentant ainsi l'acidité mesurée (Gavriloaiei, 2012).

#### 2.5.2.5. Le rapport C/argile

Il a été établi que le rapport Corg/argile est un indicateur fiable de la capacité du sol à former une structure stable après un travail du sol et il apporte une information importante quant au statut organique du sol (Johannes et al. 2017, Prout et al. 2021). Cette relation forte entre Corg/argile et structure a été observée dans le contexte agricole wallon (Vanwindekens & Hardy, 2023), ce qui en fait un indicateur pertinent pour évaluer à la fois le statut organique du sol et son potentiel à former une structure stable. De ce fait, une mesure agri-environnementale et climatique<sup>1</sup> a vu le jour en Wallonie basée sur cet indicateur, avec pour objectif de maintenir ou d'améliorer le statut organique du sol des parcelles agricoles (SPW, 2025).

### 2.5.3. Focus indicateurs physiques

#### 2.5.3.1. Densité apparente

La densité apparente est définie comme la masse d'un volume unitaire de sol sec. Ce volume représente donc à la fois les particules solides et les pores, n'incluant pas l'eau présente dans le sol (Weil et al., 2017).

Elle se révèle être différente, à une profondeur fixe, dans un sol non labouré que dans un sol labouré en raison du compactage du sol (Wendt et al., 2013), qui est considéré comme un problème majeur en agronomie en raison de son impact significatif sur le rendement. La densité apparente, très corrélée au compactage du sol, est perçue comme un facteur clé (Al-shammary et al., 2018).

#### 2.5.3.2. Stabilité structurale

La structure du sol est un réseau dynamique qui contrôle la circulation de l'eau et de l'air, affecte sa résistance et sa stabilité, et joue un rôle clé dans la qualité du sol pour la croissance des plantes ainsi que dans le stockage du carbone organique (Blanco-Canqui et al., 2004).

La stabilité structurale est une mesure qui pourrait permettre d'évaluer rapidement la sensibilité des sols à la battance et à l'érosion hydrique. Ces derniers résultent principalement de la désagrégation des mottes de terres et du détachement de particules sous l'action de la pluie (Bissonnais, 1995).

---

<sup>1</sup> [MAEC Sol - MR14 \(Nouveauté 2025\) - Portail de l'agriculture wallonne](#)

Quatre mécanismes de désagrégation du sol existent :

- 1) L'éclatement. Ce phénomène est observé lorsque des agrégats secs sont immergés dans l'eau ou réhumectés rapidement. L'éclatement dépend de la pression interne de l'air piégé lors de l'humectation.
- 2) La battance. C'est la désagrégation sous l'impact des gouttes de pluie (effet splash). Les gouttes de pluie peuvent détacher des particules de la surface des agrégats et fragmenter les agrégats.
- 3) La désagrégation par gonflement différentiel des argiles. Les cycles d'humectation et de dessiccation des sols argileux provoquent un gonflement-retrait, entraînant la microfissuration des agrégats. Les conséquences directes de cette désagrégation sont moins importantes que les autres mécanismes.
- 4) La dispersion physico-chimique. Ce dernier résulte de la diminution des forces d'attraction lors de l'humectation entre les particules colloïdales. Elle est influencée par la taille et la valence des cations présents, capables de créer des ponts entre les particules chargées négativement. Dans les sols, la dispersion est principalement due à la présence de sodium échangeable, un cation monovalent, tandis que l'ion calcium divalent tend à favoriser la stabilité. (Bissonnais, 1995)

Le plus souvent, la matière organique est le paramètre déterminant de la stabilité structurale des sols. Elle permet de rendre hydrophobe les surfaces de particules minérales ce qui permet de diminuer la vitesse d'humectation des agrégats et donc de diminuer l'éclatement (Bissonnais, 1995).

#### 2.5.3.3. La granulométrie

La granulométrie ou texture est la répartition des minéraux en fonction de leur taille (leur diamètre) sans prendre en compte leur nature et leur composition. La granulométrie est pratiquée sur une terre fine. Elle regroupe 4 groupes différents :

- Les graviers, pierres, blocs : tous les éléments ayant un diamètre supérieur à 2 mm. Ces éléments sont éliminés lors du processus de tamisage.
- Les sables : ils ont un diamètre allant de 2mm à 50µm (sables grossiers : 2mm à 0,2mm et sables fins de 0,2 à 50 µm)
- Les limons : ils ont un diamètre de 50 µm à 2µm (limons grossiers : 50µm à 20µm et limons fins 20µm à 2 µm)
- La fraction fine ou l'argile: elle a un diamètre de moins de 2 µm. Cette fraction ne contient pas seulement des argiles, elle contient également d'autres minéraux (Duchaufour et al., 2024).

L'arrangement du sable, du limon et de l'argile, influencé par des composés organiques et des agents cimentants inorganiques, donne naissance à des agrégats. Le niveau d'adhérence entre ces particules primaires, modulé par la matière organique et la minéralogie de l'argile, détermine la stabilité ou l'instabilité des agrégats. L'organisation de ces agrégats, ainsi que des espaces poreux qui les séparent, compose la structure du sol. Les racines et les résidus végétaux forment le principal cadre organique qui entrelace les particules du sol pour créer des agrégats (Weil et al., 2017).

#### 2.5.4. Focus indicateurs biologiques

##### 2.5.4.1. Microflore

Les deux indicateurs qui vont être utilisés pour les microorganismes sont l'abondance et l'activité des microorganismes. La microflore du sol est composée de bactéries, champignons et archées. (Weil et al, 2017). En moyenne, un milliard de bactéries sont présentes dans un gramme de sol dont un million d'espèces (Riou, 2018 ; Basile-Doelsch et al., 2020). De plus, dans ce même gramme de sol, des

dizaines de mètres de filaments mycéliens issus de 1000 espèces fongiques sont présents (Basile-Doelsch et al., 2020). La biomasse microbienne représente en général quelques centaines de grammes de matière sèche par mètre carré de sol, mais une partie importante des microorganismes sont en état de dormance ou faiblement actifs (Basile-Doelsch et al., 2020). Les bactéries et les champignons du sol sont considérés comme des ingénieurs chimiques du sol (Riou, 2018).

La biomasse microbienne joue un rôle clé dans la décomposition et la minéralisation des résidus végétaux et animaux présents dans le sol (Brookes et al., 2008 ; Basile-Doelsch et al., 2020). Elle est principalement déterminée par la quantité et la qualité des ressources alimentaires disponibles, notamment la disponibilité en carbone et en azote. Ensuite, les facteurs tels que les facteurs physiques (humidité et température), les facteurs biotiques (tels que la prédation et la compétition) et les caractéristiques chimiques du sol (pH, nutriments dissous et la salinité, ..) influent aussi sur l'abondance microbienne. Les zones de forte activité microbienne (hotspots) se situent principalement autour des racines vivantes des plantes, des débris en décomposition, de la matière organique recouvrant les galeries de vers de terre, des excréments de la faune du sol et dans divers autres environnements du sol. (Weil et al. , 2017).

De plus, les microorganismes permettent de maintenir l'état structural du sol (Riou, 2018). Ils jouent un rôle essentiel dans des processus fondamentaux comme le cycle des nutriments, la structuration du sol et la dégradation des polluants. De plus, ils se révèlent particulièrement sensibles aux perturbations externes, ce qui en fait de précieux indicateurs pour évaluer la qualité du sol (Sharma et al., 2010). Dans les sols cultivés, en raison de la destruction de l'habitat des microorganismes par le labour (Weil et al, 2017), la biomasse microbienne est faible (Basile-Doelsch et al., 2020).

L'activité enzymatique et la respiration basale figurent parmi les paramètres biologiques les plus couramment étudiés et se sont avérés être des outils efficaces pour le suivi de la qualité des sols (Sharma et al., 2010). L'activité microbienne est un indicateur clé du recyclage de la matière organique dans les habitats naturels et les agroécosystèmes. L'hydrolyse du diacétate de fluorescéine (FDA) constitue un moyen efficace d'estimer l'intensité de l'activité microbienne en mettant en évidence la capacité globale du sol à dégrader la matière organique (Hernández et al., 2020).

Dans les sols, la respiration hétérotrophe est le processus par lequel les micro-organismes décomposent la litière (résidus de cultures en sols agricoles) et la matière organique du sol. En présence d'oxygène, cette dégradation du substrat par les microorganismes génère du CO<sub>2</sub>. Avec la respiration autotrophe du sol, qui inclut la respiration racinaire et mycorhizienne, elles constituent l'une des principales sources de CO<sub>2</sub> émis par le sol. La respiration totale du sol correspond à la somme de ces deux sources de production, auxquelles il faut ajouter le transport du CO<sub>2</sub> par diffusion à travers les pores du sol (Buyssse et al., 2010). Dans le cadre de ce mémoire, la respiration hétérotrophe est analysée.

#### 2.5.4.2. Macrofaune

Les indicateurs de la qualité des sols qui vont être pris en compte dans ce travail sont l'abondance des vers de terre, la biomasse de vers de terre et la diversité des vers de terre.

Les vers de terres représentent, en terme de biomasse et de fonction, une part de la biodiversité du sol considérable. Ils ont des effets importants sur les processus et la structure du sol ainsi que sur les plantes et les autres biotes du sol (Andriuzzi et al., 2017).

Les vers de terre sont des organismes hermaphrodites. Ils se nourrissent de détritus, de matière organique du sol et de microorganismes présents dans le sol. Ils ne sont pas considérés comme nuisibles pour les plantes car ils ne se nourrissent pas de racines ni de plantes. Ce sont des organismes qui jouent un rôle prédominant dans les écosystèmes du sol (Weil et al., 2017).

Il existe environ 7000 espèces dans le monde répertoriées sous 3 grands groupes (Figure 1). Ces 3 grands groupes sont déterminés selon l'habitat des vers de terre et les habitudes de creusement du sol :

- 1) Les épigés : Ce sont des petits vers de terre (1 à 5cm) (Vigot et al., 2014) qui vivent dans la couche litière ou alors près de la surface dans la partie du sol riche en matière organique. Ces vers de terre accentuent la décomposition de la litière mais ne l'incorporent pas au sol minéral (Weil et al., 2017). Ils creusent peu ou pas de galeries (Vigot et al., 2014).
- 2) Les endogés : ce sont des vers de taille moyenne (1 à 20cm) (Vigot et al., 2014) qui vivent principalement dans les 10 à 30 cm supérieurs du sol minéral. Ils creusent des galeries peu profondes et principalement horizontales (Weil et al., 2017).
- 3) Les anéciques : Ces derniers sont de gros vers de terre (10 à 110cm) (Vigot et al., 2014) qui réalisent des galeries verticales et permanentes pouvant aller jusqu'à plusieurs mètres de profondeur. Les anéciques remontent à la surface pendant la nuit ou lorsqu'il pleut à la recherche de matière organique qu'ils reprennent avec eux dans leurs galeries. En partant, ils recouvrent souvent leur galerie avec un tas de feuilles (Weil et al., 2017).

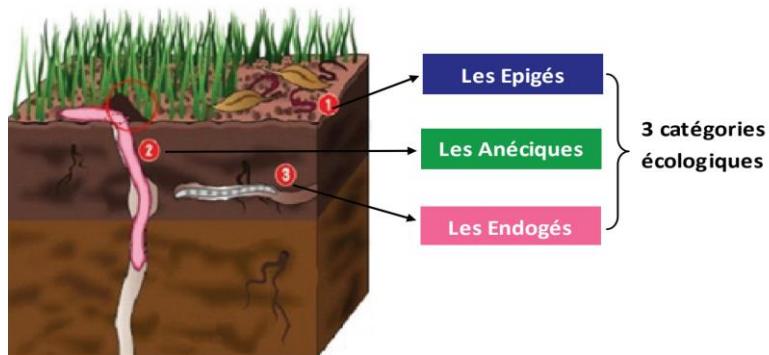


Figure 1. Les 3 catégories de vers de terre (Vigot et al., 2014).

Les vers de terre consomment 2 à 30 fois leur poids en terme de sol par jour (Weil et al., 2017). Ils fragmentent la litière, l'incorporent dans le profil du sol et mélangeant la terre par bioturbation (Basile-Doelsch et al., 2020). La nourriture ingérée par le ver de terre est expulsée sous forme de turricules. Ces turricules contiennent de nouveaux agrégats formés à partir de composants minéraux et organiques et sont riche en polysaccharides (Weil et al., 2017). Ce passage favorise le contact entre les microorganismes et la matière organique (Basile-Doelsch et al., 2020). Les turricules des vers de terre permettent d'augmenter la stabilité structurale du sol et la disponibilité des nutriments pour les plantes. Cette dernière est améliorée de 3 façons différentes. Premièrement, la matière organique et le sol sont attaqués chimiquement et physiquement par des enzymes digestives dans le tube digestif du ver de terre pour former les turricules. Ces turricules sont donc enrichis en bactéries, en matière organique et en nutriments disponibles pour les plantes. Les racines se développent dans les galeries où elles trouvent une source riche de nutriments. Le second mécanisme est le fait que les vers de terre sont eux même une riche source d'azote, de phosphore et de soufre lorsqu'ils meurent. Troisièmement, l'incorporation dans le sol des déjections de vers de terre et de litière permet une réduction de la perte des nutriments par érosion ou volatilisation (Weil et al., 2017).

Les vers de terre permettent l'aération, le drainage du sol et l'infiltration de l'eau. Ils se développent dans les sols bio-aérés, froids et humides. Ils ne vivent pas sous de conditions anaérobies et se développent facilement dans des sols présentant un pH entre 5.5-8.5. De plus, ils ont besoin de sol présentant assez de calcium pour leur processus d'excrétion (Weil et al., 2017). Les études montrent

qu'une moindre perturbation du sol conduit à un impact positif sur la diversité et l'abondance de vers de terre (da Silva et al., 2024).

### 3. Matériel et méthode

### 3.1. Localisation de l'essai système SYCMA

L'essai système se situe au CRA-W à Gembloux ( $50.553954^{\circ}$  N,  $4.661130^{\circ}$  E en WGS84). Il a été implanté en 2020 pour une période de minimum 12 ans comprenant 2 rotations de 6 ans. Cette période est nécessaire pour l'établissement d'un équilibre au niveau du sol et de la fertilité (Jamar et al., 2021). Cette année marque la fin de la première rotation. Le sol étudié est classé comme hortic Luvisol selon le système de classification WRB (Anjos et al. 2014). Il s'est développé sur du loess, un dépôt limoneux meuble, riche en quartz et dépourvu de cailloux d'origine éolienne datant du quaternaire (Jamar et al., 2023).

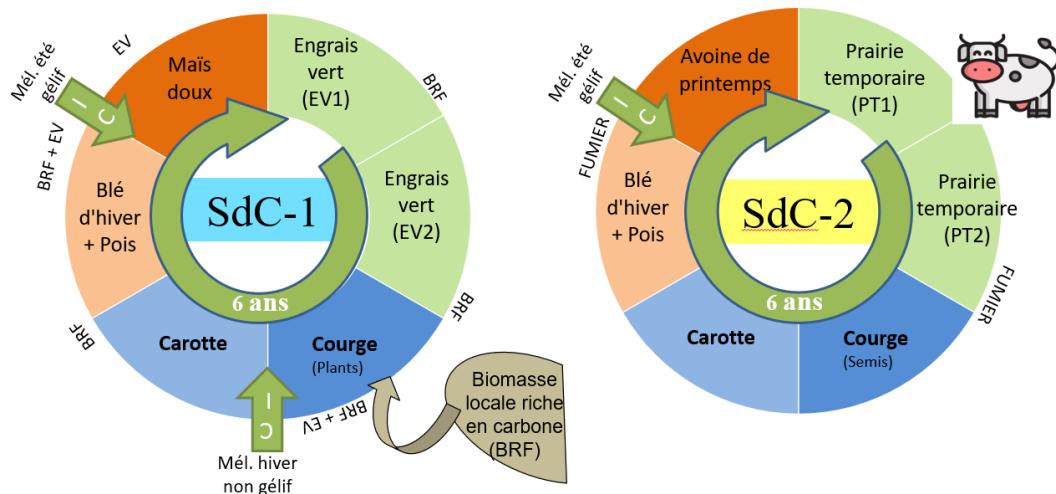
### 3.2. Conditions climatiques

Les précipitations annuelles moyennes à Gembloux pour la période 1991 à 2020 s'élèvent à 793.4 mm et la température moyenne annuelle s'élève à 10.2°C (IRM, 2025).

### 3.3. Essai système SYCMA

### 3.3.1. Les rotations

Cet essai système comprend 4 systèmes de culture (SdC) différents ayant chacun une rotation particulière. Ces rotations ont été conçues avec l'aide d'agriculteurs, de techniciens, de conseillers et de scientifiques. Les 4 systèmes sont conduits en suivant les pratiques de l'agriculture biologique mais en ayant des itinéraires techniques différents et des travaux de sols différents. Deux catégories de systèmes sont utilisés. La première catégorie (SdC1 et 2) fait référence aux systèmes « de maraîchage en plein champs » comprenant 2 à 3 légumes dans la rotation et la deuxième catégorie fait référence aux systèmes de « maraîchage intensif » (SdC3 et 4) dit légumes sur légumes comprenant 7 cultures de légume dans une rotation de 6 ans (Figure 2) (Jamar et al., 2021).



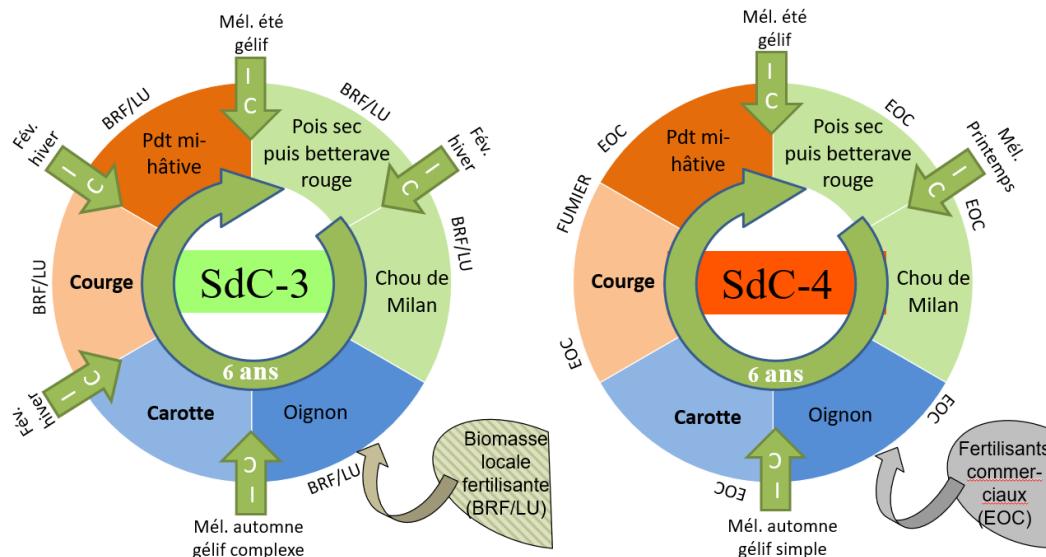


Figure 2. Les rotations culturelles dans les quatre systèmes de culture : le système de polyculture sans élevage (SdC1), le système de polyculture-élevage (SdC2), le système de maraîchage de conservation (SdC3) et le système de maraîchage biologique standard (SdC4). EV = engrains verts, BRF = bois raméal fragmenté, IC = interculture, LU = luzerne, EOC = engrais organique de commerce. (Ce visuel a été transmis par L. Jamar, agent du CRA-W gestionnaire de l'essai SYCMA).

Tableau 2. Leviers agronomiques au sein des différents systèmes de culture de la plateforme SYCMA. (Figure élaborée à partir de diverses ressources fournies par L. Jamar).

	Maraîchage de plein champ		Maraîchage intensif	
	SdC 1	SdC 2	SdC 3	SdC 4
Type de système	Polyculture sans élevage	Polyculture avec élevage	Maraîchage de conservation	Maraîchage traditionnel
Objectif	Stockage de carbone	Auto-fertilité	Conservation du sol	Bio de référence
Apport organique*	BRF	FUM	LUZ+BRF	EOC+FUM
Labour	non	oui	non	oui
Légumes/rotation	3/6	2/6	7/6	7/6
Autonomie NP	oui	oui	non	non
Elevage associé	non	oui	non	oui
Biopesticide	oui	oui	non	oui

\*BRF : bois raméal fragmenté, FUM : fumier composté, LUZ : luzerne, EOC : engrais organique du commerce

Les caractéristiques principales des quatre SdC sont synthétisées dans le Tableau 2. Les différents systèmes sont présentés ci-dessous :

**SdC 1 : Polyculture sans élevage avec comme objectif le stockage du carbone.** Ce système cherche à maintenir la fertilité des sols sans recourir au fumier animal, parfois difficilement accessible localement en agriculture biologique certifiée. La majeure partie de la fertilisation repose sur l'intégration dans la rotation de cultures améliorantes riches en légumineuses, telles que des prairies temporaires et des couverts végétaux. L'amendement principal utilisé est du bois raméal fragmenté (BRF), issu d'un taillis de saule à courte rotation implanté à proximité de la parcelle. Ce système est conduit sans labour et adopte une réduction progressive de l'intensité du travail du sol dans une logique de conservation (Jamar et al., 2023).

**SdC 2 : Polyculture avec élevage avec comme objectif l'autofertilité.** Il vise à atteindre l'autonomie en terme de fertilité sans recours à des engrains commerciaux. Il s'appuie sur l'usage de couverts d'automne, de cultures associées, de prairies temporaires, ainsi que sur le fumier produit par les animaux nourris avec les ressources du système lui-même. L'alternance des cultures, le labour et le travail du sol intensif permettent de restaurer la structure du sol et de maîtriser les adventices. Le système est équilibré entre cultures destinées à l'alimentation humaine (50 %) et à l'alimentation animale (50 %), avec pour objectif principal une autonomie globale du système de production (Jamar et al., 2023).

**SdC 3 : Maraîchage de conservation avec comme objectif la conservation du sol.** Il vise à intensifier la production légumière tout en préservant la fertilité des sols, grâce à l'apport régulier de matière organique fraîche produite localement sur le site expérimental. Ces apports proviennent d'une prairie de luzerne pérenne et d'un taillis de saule à courte rotation déjà mentionné. L'apport en azote est complété par l'implantation de cinq couverts d'automne à base de légumineuses. Ce système repose sur un travail du sol réduit, l'absence d'intrants phytosanitaires de synthèse (zéro phyto), et vise à maintenir des propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol favorables. La matière organique n'est pas incorporée mais déposée en paillage de surface pendant la période de culture, afin de limiter les adventices, réduire l'érosion et diminuer les pertes en eau par évaporation (Jamar et al., 2023)

**SdC 4 : Maraîchage traditionnel représentant le système biologique de référence.** Il correspond à un modèle de référence basé sur l'intensification de la production légumière à l'aide d'apports externes d'engrais organiques commerciaux et de fumier composté. Ce système, qui inclut deux cultures intermédiaires par an et un labour annuel, reflète les pratiques fréquemment rencontrées dans la région. L'intensification repose sur l'utilisation de fertilisants organiques du commerce, associée à des techniques classiques de travail du sol et à l'utilisation de produits de protection des plantes autorisés en agriculture biologique, pour lutter contre les maladies et ravageurs (Jamar et al., 2023).

### 3.4. Dispositif expérimental

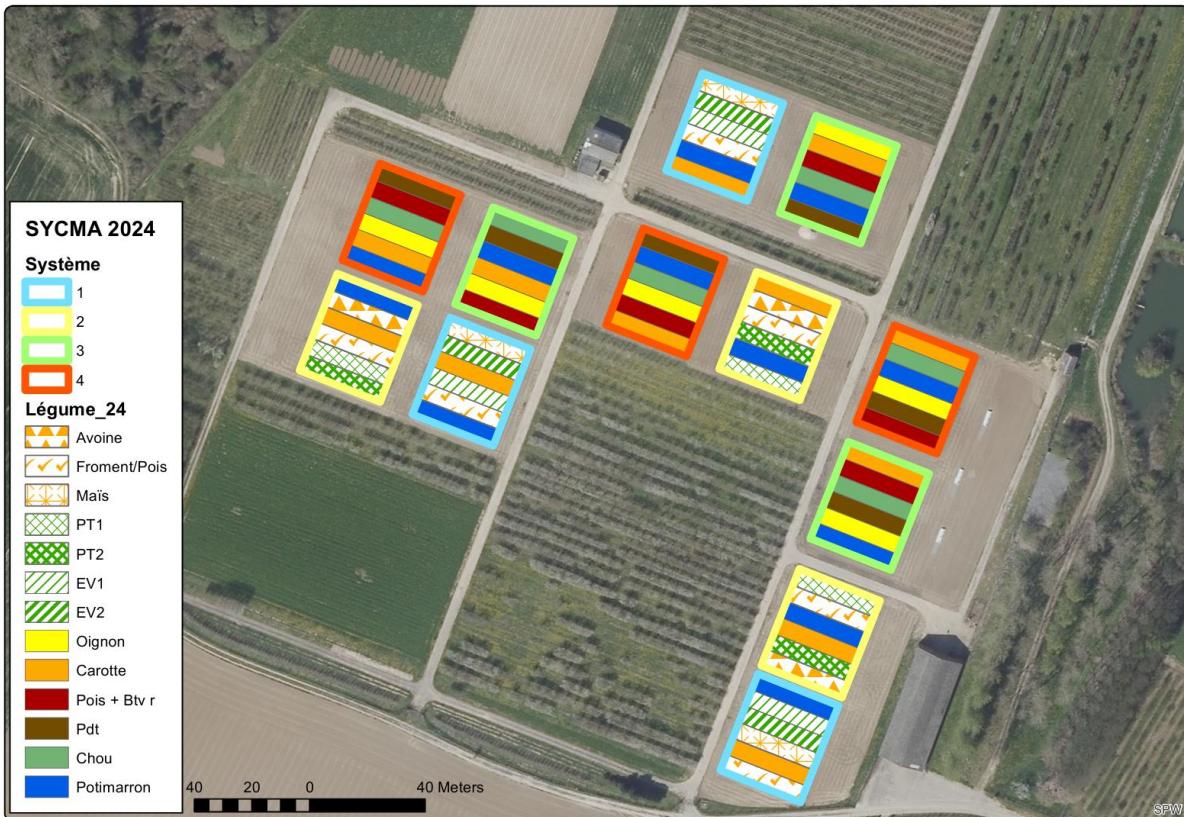


Figure 3. Dispositif expérimental de la plateforme SYCMA (visuel transmis par L. Jamar).

Le dispositif expérimental est composé de trois blocs positionnés respectivement à droite, au centre et à gauche du site. Chaque bloc contient les quatre systèmes de culture, chacun déployé selon les six cultures correspondant aux six années de la rotation. La plateforme compte ainsi un total de 72 parcelles expérimentales de 6 x 30m, arrangées selon un dispositif en « split-plot » comportant des répétitions à la fois spatiales et temporelles. Chaque parcelle expérimentale, d'une largeur de 6 mètres, est divisée en quatre planches de culture de 1,50 mètre de large. Cette configuration permet de standardiser les interrangs à 37,5 cm ou 75 cm, selon les exigences des différentes cultures légumières (Jamar et al., 2021). Les cultures de courges et carottes sont communes à tous les systèmes de culture (Figure 3).

### 3.5. Echantillonnage

#### 3.5.1. Echantillonnage pour les analyses chimiques

L'échantillonnage pour les analyses chimiques a été réalisé sur les parcelles des précédents carottes et courges, communes à tous les systèmes de culture, les 20, 21 et 24 février 2025. Sur chaque parcelle, un échantillon composite a été constitué à partir de six prélèvements effectués aléatoirement selon un schéma en « S » en évitant les bords, afin de couvrir l'ensemble de la surface.

Les échantillons ont été prélevés à trois profondeurs : 0-10 cm, 10-25 cm et 25-50 cm. Trois sondes tubulaires ont été utilisées ayant des diamètres dégressifs, ce qui a permis de réaliser les prélèvements aux différentes profondeurs successivement, dans le trou laissé par la sonde précédente (Figure 4). Le volume de la sonde étant connu, ces échantillons ont également servi à l'estimation de la densité apparente du sol. Les échantillons ont été conservés à 4 °C en chambre froide en vue de l'analyse par la méthode equivalent soil mass (ESM) (Voir point 3.6.2.1).



Figure 4. Prélèvements pour les analyses chimiques

### 3.5.2. Echantillonnage pour les analyses physiques

L'échantillonnage pour le test QuantiSlakeTest (QST) a été réalisé les 4 et 5 mars 2025 sur les précédents carottes et courges, en effectuant six prélèvements localisés aléatoirement dans chaque parcelle. Pour cela, des cylindres Kopecky ont été utilisés. Ce dispositif se compose d'un cylindre de 100 cm<sup>3</sup> à bord biseauté, inséré dans un porte-cylindre. Une fois assemblé, l'ensemble est enfoncé dans les couches superficielles du sol par le côté biseauté, jusqu'à la marque indiquée sur le cylindre. Le prélèvement est ensuite extrait du sol à l'aide de bêches (Figure 5).



Figure 5. Prélèvements pour le Quantislake test

Les Kopeckys ont ensuite démoulés au CRA-W comme nous pouvons le voir sur la figure 6 ci-dessous. Ensuite, les cylindres de sol extraits ont été placés dans des barquettes et séchés à 35°C à l'étuve.



Figure 6. Démoulage des kopecky pour le Quantislake test

### 3.5.3. Echantillonnage pour les analyses biologiques

#### 3.5.3.1. Vers de terre

L'échantillonnage des vers de terre a été réalisé les 4 et 7 avril 2025 sur les précédents courges. Il n'existe pas de protocole standardisé pour ce type d'échantillonnage (Andriuzzi et al., 2017). Dans notre cas, trois prélèvements ont été effectués en bordure de parcelle. Pour chaque prélèvement, une bêche à vers de terre de  $20 \times 20 \times 20 \text{ cm}^3$  a été utilisée à deux reprises, afin d'obtenir une cavité de  $20 \times 40 \times 20 \text{ cm}^3$ , comme illustré sur la figure 7. La terre extraite a été déposée sur une bâche puis triée manuellement pour rechercher les vers de terre. Une fois les deux mottes retirées, un mélange d'allyl isothiocyanate (AITC), d'isopropanol et d'eau (les concentrations sont en Annexe 1) a été versé dans la cavité afin de faire remonter les vers anéciques susceptibles de se trouver à plusieurs mètres de profondeur. Un arrosoir était utilisé pour 3 prélèvements.



Figure 7. Prélèvement de vers de terre

Les vers de terre ont été lavés à l'eau (Figure 8) au CRA-W à l'aide d'un tamis de 0,5 mm, comme illustré sur la figure ci-dessous. Ils ont ensuite été conservés dans de l'éthanol en vue de leur identification ultérieure.



Figure 8. Lavement de vers de terre

#### 3.5.3.2. Microflore

L'échantillonnage s'est déroulé le 08 et 09 avril 2025 sur les précédents courges et carottes. Sur chaque parcelle, un échantillon composite a été constitué à partir de 15 prélèvements effectués aléatoirement selon un schéma en « S » en évitant les bords, afin de couvrir l'ensemble de la surface. Les mêmes sondes que celles utilisées pour l'analyse chimique ont été employées. La seule différence réside dans la réalisation de deux profondeurs de prélèvement distinctes (plutôt que trois) : 0–10 cm et 10–25 cm.

Ensuite, après homogénéisation des échantillons composites, une partie a été conservée en frais à 4°C dans des sachets afin d'effectuer les analyses ultérieures d'activité microbienne et une partie a

directement été congelée sur place par « flash freezing », dans l'azote liquide pour les mesures ultérieures d'abondance microbienne.

### 3.6. Analyses en laboratoire

#### 3.6.1. Analyses physiques

Le Quantislake test (QST) permet d'évaluer la stabilité structurale des sols (Vanwindekens & Hardy 2023). Il consiste à immerger un échantillon de sol structuré, prélevé à l'aide d'un cylindre Kopecky ( $100 \text{ cm}^3$ ), dans de l'eau déminéralisée (point 3.5.2). L'échantillon est placé dans un panier métallique à mailles de 8 mm, suspendu à une balance connectée à un ordinateur qui enregistre en continu les variations de masse (Figure 9). Le programme est d'abord lancé ensuite l'échantillon est plongé dans l'eau déminéralisé.

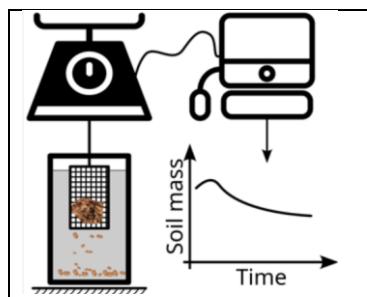


Figure 9. Le quantislake test (Vanwindekens et al., 2023)

Chaque échantillon est resté au minimum 1000 secondes dans le dispositif et a été retiré une fois que la masse finale s'était stabilisée. Les données enregistrées ont ensuite été converties en courbes à l'aide d'un logiciel, permettant d'extraire divers indicateurs (Annexe 2). Pour les analyses, l'indicateur retenu est le Wend, qui correspond à la masse relative finale de l'échantillon lorsque celui-ci ne subit plus de perte de matière.

##### 3.6.1.1. La densité apparente

Pour la densité apparente et les analyses chimiques, les échantillons prélevés au point 3.5.1 conservés à  $4^\circ\text{C}$  ont d'abord été pesés en laboratoire afin de déterminer leur masse fraîche, puis séchés à l'étuve à  $35^\circ\text{C}$ . Une fois secs, leur masse a été mesurée pour permettre le calcul de la densité apparente.

La densité apparente a été déterminée suivant cette formule:

$$\frac{\text{Masse fraîche} \times (1 - \text{Humidité massique})}{\text{Volume prélevé}}$$

L'humidité massique a été calculé à partir de la masse fraîche et de la masse sèche.

#### 3.6.2. Analyses chimiques

Pour les analyses chimiques, les échantillons secs ont été tamisés à 2 mm, puis envoyés dans deux laboratoires distincts: le Centre Provincial de l'agriculture et de la ruralité (CPAR) et le Centre pour l'Agronomie et l'Agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH). Ces laboratoires ont réalisé les analyses suivantes : carbone organique, azote total, nutriments disponibles, pH et granulométrie. L'Annexe 3 présente les différentes normes utilisées par les laboratoires.

##### 3.6.2.1. Calcul des stocks

Des stocks ont été calculés à partir des résultats de teneur en carbone, azote et nutriments et des valeurs de densité apparente par la méthode « Equivalent Soil Mass (ESM) ». En effet, comme le montrent Wendt et al. (2013), les différences de densité apparente entre sols labourés et non labourés peuvent

fausser l'estimation des stocks de carbone lorsque ceux-ci sont calculés à profondeur fixe. Cette méthode de calcul tend notamment à surestimer les stocks dans les sols non labourés, plus compacts, car on y explore une masse de sol plus importante pour une même profondeur que dans un sol labouré. C'est pourquoi les résultats ont été transformés en masse de sol équivalente plutôt qu'exprimés par profondeur fixe, afin de garantir une base de comparaison cohérente entre les traitements. Pour cela, le script R SimpleESM, développé par l'INRAE (Ferchaud et al., 2023), a été utilisé. Ce script permet d'estimer les stocks de carbone organique (et d'azote) selon la méthode ESM, notamment à l'aide d'une fonction spline cubique qui permet de modéliser la relation entre la masse de sol cumulée du profil et le stock de carbone, en suivant les principes décrits par Wendt & Hauser (2013). Cette modélisation permet ensuite de recalculer un stock de carbone pour n'importe quelle valeur de masse de sol, et de déterminer à quelle profondeur cette masse de sol serait atteinte en fonction du profil de densité apparente du sol. Les masses de sols équivalente utilisée sont 0-1000, 1000-3000 et 3000-6000 t ha<sup>-1</sup>. Cette méthode a aussi été utilisée pour les nutriments.

Les masses de sol équivalente sont calculés comme la  $M(z) = 10 \times \sum \rho(k)$ , de  $k = 1$  à  $z$  où  $\rho(k)$  est la densité apparente (en g/cm<sup>3</sup>) de la couche  $k$  calculé plus haut. Le stock cumulé de carbone organique du sol dans la couche 0-z ( $Q(z)$ , en t C/ha) est calculé comme suit :

$$QC(z) = 0,01 \times \sum \rho(k) \times C(k), \text{ de } k = 1 \text{ à } z$$

où  $C(k)$  est la concentration en COS dans la couche  $k$  (en g/kg) (Ferchaud et al., 2023).

Ces calculs ont été également réalisés pour l'azote et tous les autres éléments chimiques

### 3.6.3. Analyses biologiques

#### 3.6.3.1. Analyses des vers de terre

La biomasse (kg/ha) et l'abondance (nombre d'individus par m<sup>2</sup>) des vers de terre ont été déterminées. Les individus adultes ont été identifiés jusqu'à l'espèce. Les juvéniles ont été classés en deux groupes fonctionnels : anéciques et endogés/épigés. Une troisième catégorie regroupe les individus n'ayant pas pu être identifiés. L'identification a été réalisée sur base de critères morphologiques observables à l'œil nu ou au binoculaire sur les individus sexuellement matures (position du pore mâle, position et nombre de segments du clitellum, position et forme du puberculum, caractéristiques des soies, etc) et d'une clef d'identification (Josens & Hidvegi, non publié).

#### 3.6.3.2. Analyse de l'activité microbienne par l'analyse enzymatique par fluorescence

L'hydrolyse de l'acétate de fluorescéine (FDA) constitue une méthode simple et fiable pour évaluer l'activité microbienne dans les sols. Ce composé incolore est dégradé par des enzymes libres ou associées aux membranes, produisant de la fluorescéine, un composé coloré dont la concentration peut être déterminée par spectrophotométrie (Adam et al., 2001). La fluorescence est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre, le TECAN Spark®, sur 25 cycles de 5 minutes chacun, à 465nm en excitation et 535 nm en émission. Le protocole complet se trouve en Annexe 4.

#### 3.6.3.3. Analyse de la respiration microbienne

La méthode MicroResp™, développée par Campbell et al. (2003), repose sur la mesure du CO<sub>2</sub> produit par la respiration microbienne sur une courte période (6 heures). Elle utilise un indicateur coloré, le rouge de créosol, dont la couleur change en fonction du pH : il vire du rose au jaune lorsque le milieu devient plus acide. Le rouge de créosol est dissous dans un milieu d'indication contenant du bicarbonate de sodium. Le CO<sub>2</sub> libéré par les micro-organismes réagit avec ce bicarbonate, ce qui entraîne une diminution du pH (Figure 10). Ce changement d'acidité provoque la modification de la couleur de l'indicateur, permettant ainsi de quantifier indirectement la concentration de CO<sub>2</sub> produit. La réaction qui se produit est celle-ci :

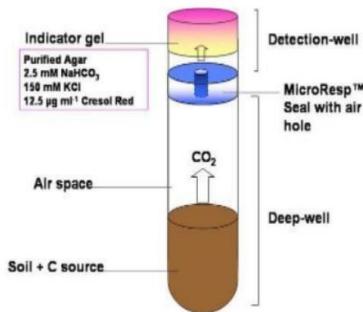


Figure 10. Méthode colorimétrique Micorresp de mesure du CO<sub>2</sub> libéré d'un échantillon de sol (protocole microrep)

Le protocole complet se trouve en Annexe 5. Les calculs réalisés se trouvent en Annexe 6.

#### 3.6.3.4. Analyse de la biomasse bactérienne par qPCR.

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est une méthode utilisée pour amplifier un fragment d'ADN ciblé, permettant d'en produire un grand nombre de copies identiques, appelées amplicons. Certaines régions conservées des gènes d'ADN ribosomique (ADNr), comme les gènes 16S chez les bactéries, facilitent la conception d'amorces spécifiques adaptées à chaque groupe (Sharma et al., 2011). La PCR quantitative (qPCR) va plus loin : elle combine amplification et quantification des fragments en temps réel, en mesurant l'intensité d'un signal fluorescent émis à chaque cycle.

L'ADN contenu dans les échantillons de sol a d'abord été extrait à l'aide du kit DNeasy PowerSoil® de QIAGEN, en suivant le protocole présenté en Annexe 7. Après extraction, la quantification a été réalisée selon le protocole de l'Annexe 8 à l'aide du spectrophotomètre Nanodrop ND-1000. Enfin, la concentration de tous les échantillons a été ajustée à 10 ng/µL.

La PCR quantitative a été réalisée sur des plaques à 96 puits à l'aide du thermocycleur. Chaque réaction comprenait le mélange GoTaq® qPCR Master Mix, une paire d'amorces spécifiques, de l'eau exempte de nucléases et l'ADN extrait des échantillons.

Pour l'amplification du gène 16S, le couple d'amorces suivant a été utilisé :

- Primer 341F : 5'- CCTACGGGNGGCWGCAG -3'
- Primer : 534R : 5'- ATTACCGCGGCTGCTGGCA -3'.

Le programme thermique appliqué pour l'amplification se composait d'une phase initiale de dénaturation à 95 °C pendant 2 minutes, suivie de 40 cycles incluant une dénaturation à 95 °C pendant 15 secondes et une étape d'hybridation/élongation à 60 °C pendant 1 minute.

Une gamme de dilutions en série du gène cible (allant de 10<sup>8</sup> à 10<sup>3</sup> copies, intégré dans un plasmide) a été préparée et amplifiée avec le même protocole, afin d'établir une courbe d'étalonnage utilisée pour la quantification.

La procédure complète est décrite en Annexe 9.

### 3.7. Analyses des données

Une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée à l'aide de modèles mixtes avec le package lme4 (Bates et al., 2015) sous R (version 4.4.1 ; R Core Team, 2024). Trois facteurs ont été initialement inclus dans la structure des modèles : le système de culture (facteur fixe), la culture (carotte ou courge, facteur fixe) et le bloc expérimental (facteur aléatoire).

Pour chaque indicateur, les modèles ont été comparés à l'aide de la fonction `anova` afin de sélectionner le modèle le plus approprié. Dans un premier temps, la présence du facteur « culture » a été testée. Dans la majorité des cas, ce facteur n'était pas significatif et n'interagissait pas avec le système de culture. Afin de simplifier les modèles et d'augmenter le nombre de degrés de liberté, il a donc été retiré lorsqu'il n'était pas significatif. La culture a toutefois été conservée pour le pH KCl de l'horizon 10–25 cm et pour le calcium dans la masse de sol équivalente de 1000 à 6000 kg m<sup>-2</sup>, où elle présentait un effet significatif.

Dans un second temps, un effet aléatoire supplémentaire correspondant à l'interaction Bloc × Système a été testé. Cette interaction n'a amélioré l'ajustement du modèle que pour l'activité enzymatique (FDA) et la respiration microbienne (MicroResp). Elle a donc été retenue uniquement pour ces deux indicateurs.

Ainsi, le modèle de base utilisé pour la majorité des variables était :

$$\text{Valeur} \sim \text{Système} + (1|\text{Bloc})$$

Pour les variables où la culture avait un effet significatif :

$$\text{Valeur} \sim \text{Système} + \text{Culture} + (1|\text{Bloc})$$

Pour les variables FDA et MicroResp :

$$\text{Valeur} \sim \text{Système} + (1|\text{Bloc}) + (1|\text{Bloc}:\text{Système})$$

Après sélection du meilleur modèle, les hypothèses associées à l'analyse (normalité des résidus, homogénéité des variances, absence d'effets de levier ou de points influents) ont été vérifiées avec le package DHARMA (Hartig et al., 2024). Pour l'abondance bactérienne, une légère déviation des résidus par rapport aux prédictions a été observée ; une transformation logarithmique a donc été appliquée.

Ensuite, la significativité globale des effets fixes a été évaluée avec la fonction `Anova` appliquée au modèle retenu. Les comparaisons entre systèmes de culture ont été réalisées à l'aide de la fonction `emmeans`, qui permet de calculer les moyennes marginales ajustées pour les niveaux du facteur fixe. Un test post hoc de Tukey a été appliqué pour détecter les différences significatives entre les systèmes, en tenant compte de la multiplicité des comparaisons, avec un seuil de significativité fixé à  $p < 0,05$ .

Enfin, une analyse en composantes principales (ACP) et une matrice de corrélation ont été réalisées sur les données de l'horizon 0–10 cm afin d'explorer les relations entre indicateurs, en excluant les données relatives aux vers de terre.

## 4. Résultats

### 4.1. Indicateurs physiques

#### 4.1.1. Densité apparente

Les analyses statistiques indiquent une différence significative de densité apparente entre les systèmes de culture dans chaque horizon étudié (Figure 11). Dans l'horizon 0–10 cm, le test post hoc de Tukey révèle que le SdC1 ( $1,20 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$ ) présente une densité significativement moins élevée que le SdC2 ( $1,34 \pm 0,03 \text{ g/cm}^3$ ), suggérant un sol plus compact dans le SdC2 et plus aéré dans le SdC1. Les systèmes SdC3 ( $1,23 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$ ) et SdC4 ( $1,32 \pm 0,04 \text{ g/cm}^3$ ) occupent une position intermédiaire entre les 2 autres systèmes. Dans l'horizon 10–25 cm, le SdC4 présente la densité apparente la plus faible ( $1,06 \pm 0,05 \text{ g/cm}^3$ ), indiquant un sol plus aéré. Les autres systèmes, SdC1 ( $1,32 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$ ), SdC2 ( $1,29 \pm 0,03 \text{ g/cm}^3$ ) et SdC3 ( $1,34 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$ ), forment un groupe aux densités similaires, traduisant un sol plus compact. Dans l'horizon 25–50 cm, les tendances observées sont similaires à celles de l'horizon précédent. Les densités sont élevées et homogènes pour les systèmes SdC1 ( $1,66 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$ ), SdC2 ( $1,66 \pm 0,03 \text{ g/cm}^3$ ) et SdC3 ( $1,66 \pm 0,01 \text{ g/cm}^3$ ), témoignant d'une compaction plus élevée en profondeur. Le SdC4, quant à lui, présente une densité plus faible ( $1,46 \pm 0,07 \text{ g/cm}^3$ ) ainsi qu'une variabilité intragroupe plus importante.

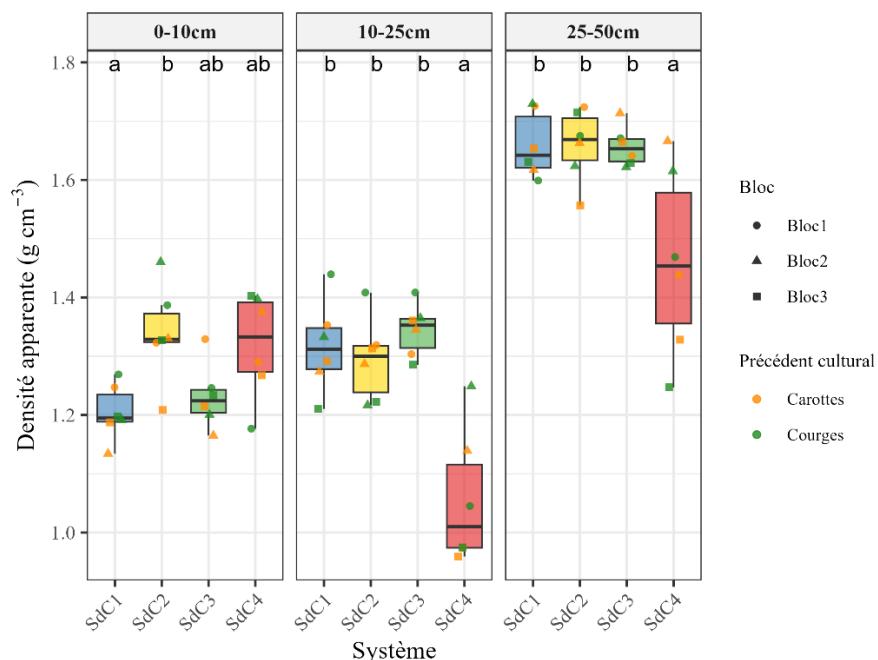


Figure 11. Densité apparente en  $\text{g cm}^{-3}$  des systèmes de culture selon les 3 horizons 0-10, 10-25 et 25-50cm. Les lettres représentent les résultats du test de tukey, de l'effet des systèmes sur la densité apparente (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

#### 4.1.2. Stabilité structurale

Les analyses statistiques mettent en évidence une différence significative entre les systèmes de culture pour le Wend du test Quantislake, qui correspond au poids relatif final de la motte de terre après désagrégation dans l'eau (Figure 12). Le test post hoc de Tukey montre que les quatre systèmes sont significativement différents les uns des autres. Le SdC1 présente la meilleure stabilité structurale, avec un poids final plus élevé après désagrégation ( $0,60 \pm 0,03\%$ ). À l'inverse, le SdC4 affiche la stabilité la plus faible ( $0,10 \pm 0,02\%$ ). Les systèmes SdC2 ( $0,26 \pm 0,03\%$ ) et SdC3 ( $0,38 \pm 0,04\%$ ) présentent des valeurs intermédiaires, le SdC3 étant légèrement plus stable que le SdC2.

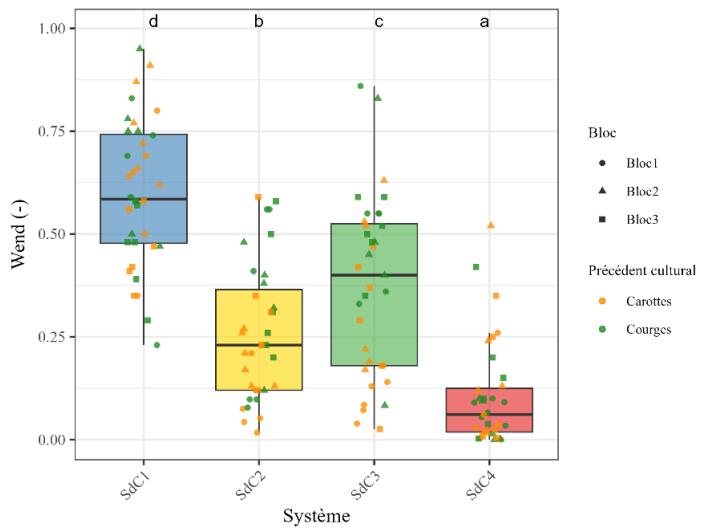


Figure 12. Stabilité structurale du sol (Wend) en fonction des systèmes de culture. Les lettres représentent les résultats du test de tukey, de l'effet des systèmes sur la stabilité structurale (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

La texture du sol (ou granulométrie) présentée en Annexe 10, reste stable entre les systèmes, les cultures, les blocs et les profondeurs. Elle se caractérise par une nette dominance du limon grossier, suivi par le limon fin et l'argile, avec très peu de sable. Aucune variation marquée n'apparaît entre les horizons 0–10 cm et 10–25 cm. Cette homogénéité traduit une texture uniforme pour tous les systèmes.

## 4.2. Indicateurs chimiques

### 4.2.1. Carbone et azote

Les analyses statistiques montrent des différences significatives entre systèmes de culture pour la teneur en carbone organique et en azote total dans les deux premiers horizons de sol (0–1000 t/ha et 1000–3000 t/ha), mais pas dans le troisième horizon (3000–6000 t/ha) (Figure 13). Dans le premier horizon, le test post hoc de Tukey distingue deux groupes, le SdC1 ( $C : 21,6 \pm 0,8$  et  $N : 1,58 \pm 0,07 \text{ g kg}^{-1}$ ) et le SdC3 ( $C : 22,0 \pm 1,0 \text{ g kg}^{-1}$  et  $N : 1,61 \pm 0,05 \text{ g kg}^{-1}$ ) présentant des teneurs en carbone organique et en azote total significativement plus élevées que le SdC2 ( $C : 15,1 \pm 0,61$  et  $N : 1,21 \pm 0,05 \text{ g kg}^{-1}$ ) et le SdC4 ( $C : 14,3 \pm 1,4$  et  $N : 1,14 \pm 0,06 \text{ g kg}^{-1}$ ). Dans le deuxième horizon, aucune différence significative n'est observée pour le carbone organique. En revanche, pour l'azote total, le test de Tukey indique que le SdC3 ( $C : 18,30 \pm 0,46$  et  $N : 1,37 \pm 0,03 \text{ g kg}^{-1}$ ) présente une teneur significativement plus élevée que le SdC4 ( $C : 14,50 \pm 1,31$  et  $N : 1,15 \pm 0,04 \text{ g kg}^{-1}$ ). Les SdC1 ( $C : 17,40 \pm 0,65$  et  $N : 1,33 \pm 0,07 \text{ g kg}^{-1}$ ) et SdC2 ( $C : 16,2 \pm 1,1$  et  $N : 1,25 \pm 0,05 \text{ g kg}^{-1}$ ) présentent des teneurs intermédiaires, sans différence significative entre eux. Bien que non significatives, les tendances observées pour le carbone organique suivent globalement celles de l'azote. Dans le troisième horizon, aucune différence significative n'est détectée pour le carbone organique ni pour l'azote total. Toutefois, une tendance se dégage visuellement, le SdC4 semble présenter des teneurs plus faibles en ces éléments.

Les stocks de carbone organique et d'azote total sont présentés en Annexe 11. Ils suivent les mêmes tendances que les teneurs. Cependant, pour les stocks cumulés, des différences significatives sont observées pour l'ensemble du profil (0–6000 t). Les systèmes SdC1 et SdC2 présentent des stocks cumulés plus élevés, tandis que le SdC4 affiche des stocks significativement plus faibles.

Enfin, bien que des différences significatives soient observées lorsque le carbone et l'azote sont considérés séparément, le ratio C/N ne présente pas de différences significatives entre systèmes (Annexe 12), même les mêmes tendances que pour le carbone et l'azote peuvent être identifiées.

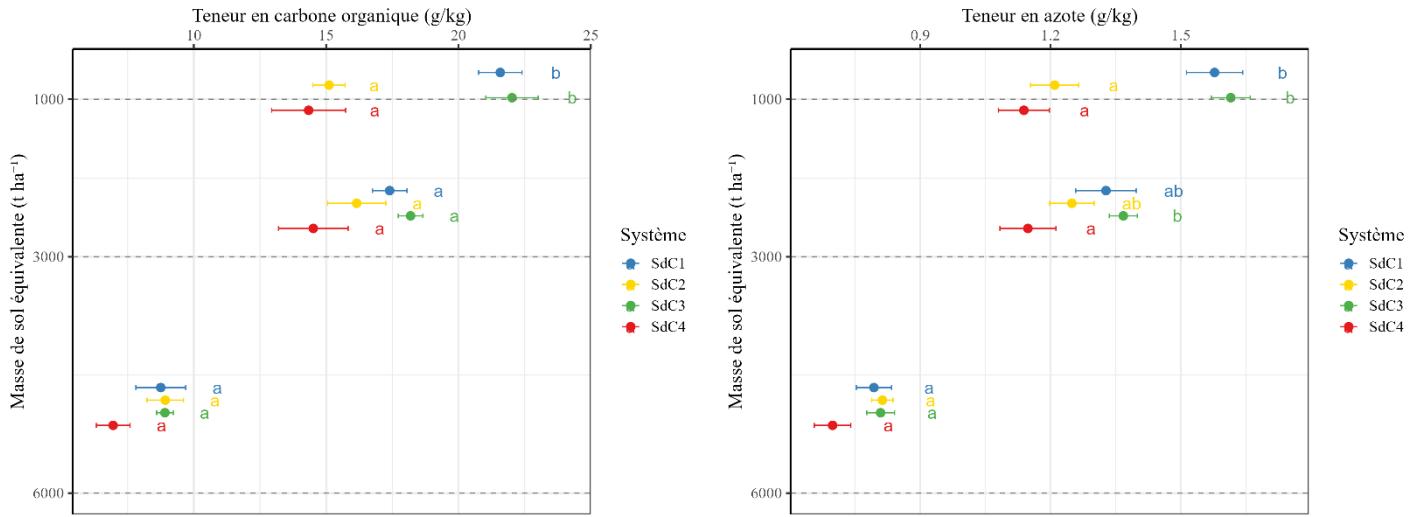


Figure 13. Teneur en carbone organique ou azote total en ( $\text{g kg}^{-1}$ ) en fonction de la masse de sol équivalente ( $\text{t ha}^{-1}$ ). Les masses de sol équivalentes représentent le profil du sol. Elles reflètent approximativement les horizons du sol : 0–1000  $\text{t ha}^{-1}$  pour l'horizon 0–10 cm, 1000–3000  $\text{t ha}^{-1}$  pour l'horizon 10–25 cm et 3000–6000  $\text{t ha}^{-1}$  pour l'horizon 25–50 cm. Les lettres représentent les résultats du test post-hoc de Tukey, de l'effet des systèmes sur les teneurs en carbone organique et en azote totale (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

#### 4.2.2. Nutriments

Les analyses statistiques montrent des différences significatives entre systèmes de culture pour la teneur en phosphore et en potassium dans les deux premiers horizons de sol (0–1000  $\text{t ha}^{-1}$  et 1000–3000  $\text{t ha}^{-1}$ ), mais pas dans le troisième horizon (3000–6000  $\text{t ha}^{-1}$ ) (Figure 14). Dans le 1<sup>er</sup> horizon, le test post hoc de Tukey indique que le système SdC3 ( $P : 0,132 \pm 0,008$  et  $K : 0,49 \pm 0,023 \text{ gkg}^{-1}$ ) comporte des valeurs nettement plus hautes que les autres pour les deux éléments. Toutefois, pour le phosphore, les systèmes SdC1 ( $0,097 \pm 0,007 \text{ gkg}^{-1}$ ), SdC2 ( $0,083 \pm 0,011 \text{ gkg}^{-1}$ ) et SdC4 ( $0,086 \pm 0,012 \text{ gkg}^{-1}$ ) ne présentent pas de différences significatives entre eux. En ce qui concerne le potassium, SdC4 ( $0,27 \pm 0,01 \text{ gkg}^{-1}$ ) est le système qui en contient le moins, SdC1 ( $0,361 \pm 0,031 \text{ gkg}^{-1}$ ) forme un groupe distinct, tandis que SdC2 ( $0,294 \pm 0,027 \text{ gkg}^{-1}$ ) occupe une position intermédiaire entre SdC1 et SdC4. Dans le 2<sup>ème</sup> horizon, le SdC3 ( $P : 0,126 \pm 0,009$  et  $K : 0,410 \pm 0,017 \text{ gkg}^{-1}$ ) est significativement différent des autres systèmes pour les 2 teneurs. La principale différence réside dans le fait que pour la teneur en phosphore, le SdC4 ( $0,094 \pm 0,012 \text{ gkg}^{-1}$ ) est intermédiaire aux 3 autres systèmes tandis que pour la teneur en potassium, le SdC2 ( $0,332 \pm 0,028 \text{ gkg}^{-1}$ ) est intermédiaire aux autres systèmes. Il y a une inversion de tendances entre le SdC2 et SdC4 selon l'élément considéré. Dans le 3<sup>ème</sup> horizon, aucune différence significative n'a été mise en évidence ni pour le phosphore ni pour le potassium.

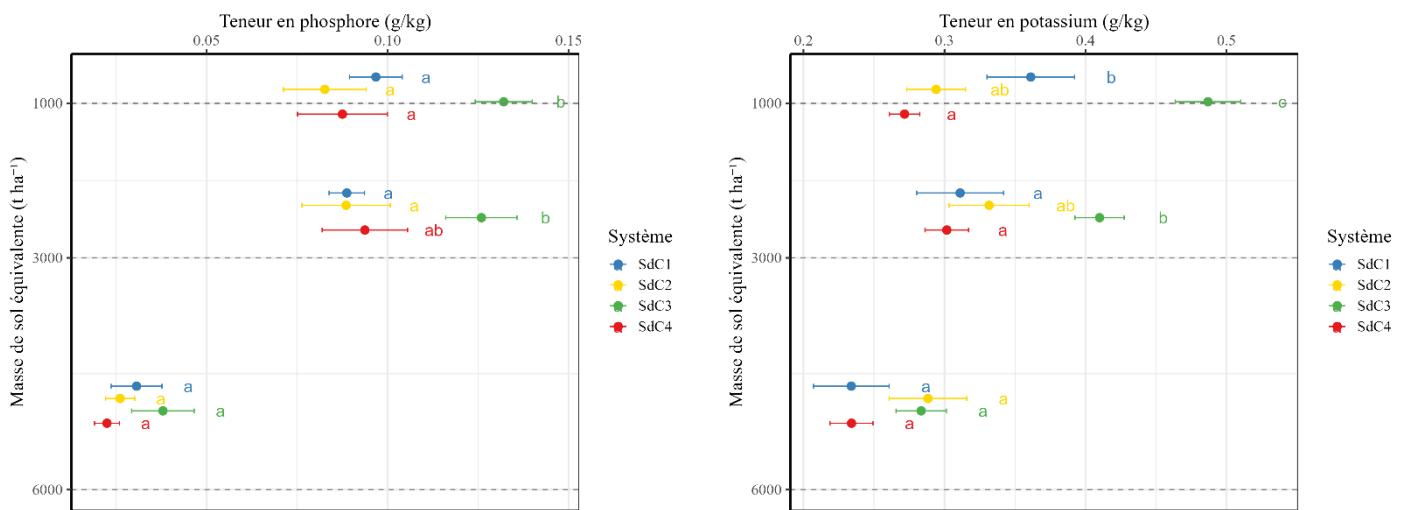


Figure 14. Teneur en phosphore et en potassium en ( $\text{g kg}^{-1}$ ) en fonction de la masse de sol équivalente ( $\text{t ha}^{-1}$ ). Les masses de sol équivalentes représentent le profil du sol. Elles reflètent approximativement les horizons du sol : 0–1000  $\text{t ha}^{-1}$  pour l'horizon 0–10 cm, 1000–3000  $\text{t ha}^{-1}$  pour l'horizon 10–25 cm et 3000–6000  $\text{t ha}^{-1}$  pour l'horizon 25–50 cm. Les lettres représentent les résultats du test post-hoc de Tukey, de l'effet des systèmes sur les teneurs en phosphore et en potassium (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

Les graphiques relatifs aux autres éléments chimiques (sodium, calcium, magnésium et soufre) sont présentés en Annexe 13. Les analyses statistiques n'ont mis en évidence aucune différence significative entre les systèmes de culture pour le magnésium et le calcium, à l'exception de la fraction de masse de sol équivalente 1000–3000  $\text{t ha}^{-1}$ , où le système SdC3 se démarque significativement du SdC2 par une teneur plus élevée en calcium. Concernant le soufre, une tendance similaire à celle du calcium est observée dans la fraction 0–1000  $\text{t ha}^{-1}$ , avec des teneurs plus élevées dans le SdC3 par rapport au SdC2. Aucune différence significative n'a été détectée dans les autres fractions. En revanche, pour le sodium, le système SdC4 présente des teneurs significativement supérieures aux autres systèmes pour l'ensemble des fractions étudiées.

#### 4.2.3. pH

Les analyses statistiques montrent une différence significative du pH  $\text{H}_2\text{O}$  entre les systèmes de culture pour les deux profondeurs étudiées (Figure 15). Le pH  $\text{H}_2\text{O}$  représente l'activité en  $\text{H}^+$  dans la solution du sol, considérée comme représentative de l'acidité de l'environnement racinaire. Dans l'horizon 0–10cm, le test post hoc de Tukey indique que le SdC1 ( $7,09 \pm 0,10$ ) présente le pH le plus proche de la neutralité. Le SdC4 ( $7,59 \pm 0,10$ ), un peu plus basique, se distingue significativement du SdC1. Les systèmes SdC2 ( $7,18 \pm 0,17$ ) et SdC3 ( $7,46 \pm 0,05$ ) occupent une position intermédiaire entre ces deux extrêmes. Dans l'horizon 10-25cm, le SdC2 ( $7,14 \pm 0,18$ ) affiche le pH le plus proche de la neutralité. Le SdC4 ( $7,62 \pm 0,09$ ) s'en différencie significativement, tandis que les systèmes SdC1 ( $7,26 \pm 0,09$ ) et SdC3 ( $7,55 \pm 0,07$ ) sont intermédiaires. Dans l'horizon 25-50cm, aucune différence significative est observée.

En ce qui concerne le pH KCl (Annexe 14), aucune différence significative n'a été observée entre les systèmes. Dans l'ensemble, les valeurs de pH obtenues sont satisfaisantes mais possèdent une très grande variabilité.

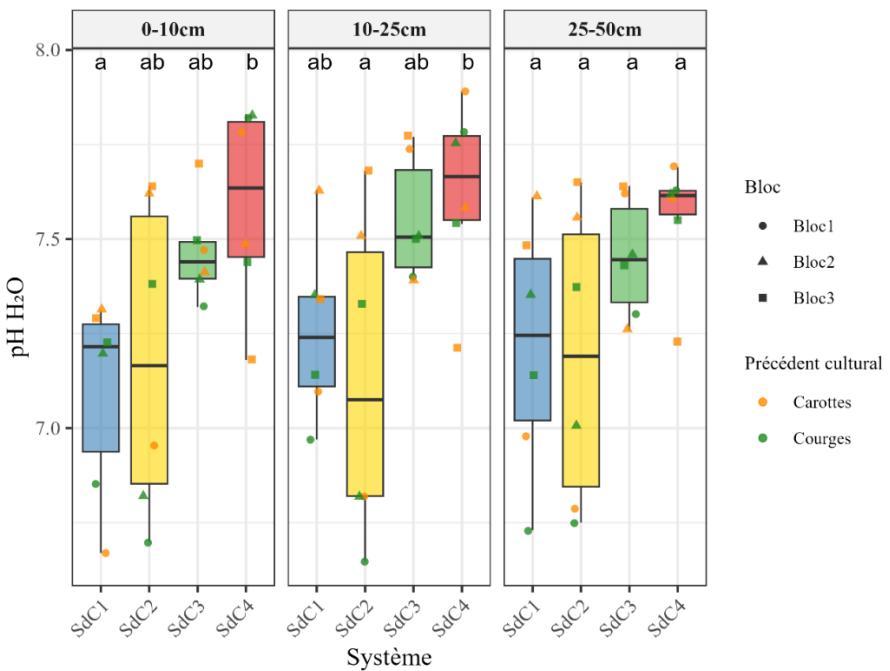


Figure 15. pH H<sub>2</sub>O des systèmes de culture selon les 3 horizons 0-10, 10-25 et 25-50cm. Les lettres représentent les résultats du test de tukey, de l'effet des systèmes sur le pH H<sub>2</sub>O (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

#### 4.2.4. Rapport C/argile

Les analyses statistiques révèlent une différence significative pour le rapport C/argile entre les systèmes de culture dans l'horizon 0–10 cm, tandis qu'aucune différence n'a été observée dans l'horizon 10–25 cm (Figure 16). Dans l'horizon 0–10 cm, le test post hoc de Tukey indique que les systèmes SdC1 ( $0,112 \pm 0,003$ ) et SdC3 ( $0,124 \pm 0,009$ ) présentent un rapport C/argile statistiquement distinct et supérieur à celui observé pour SdC2 ( $0,083 \pm 0,005$ ) et SdC4 ( $0,073 \pm 0,009$ ). Dans l'horizon 10–25 cm, aucune différence significative entre les systèmes n'a été mise en évidence.

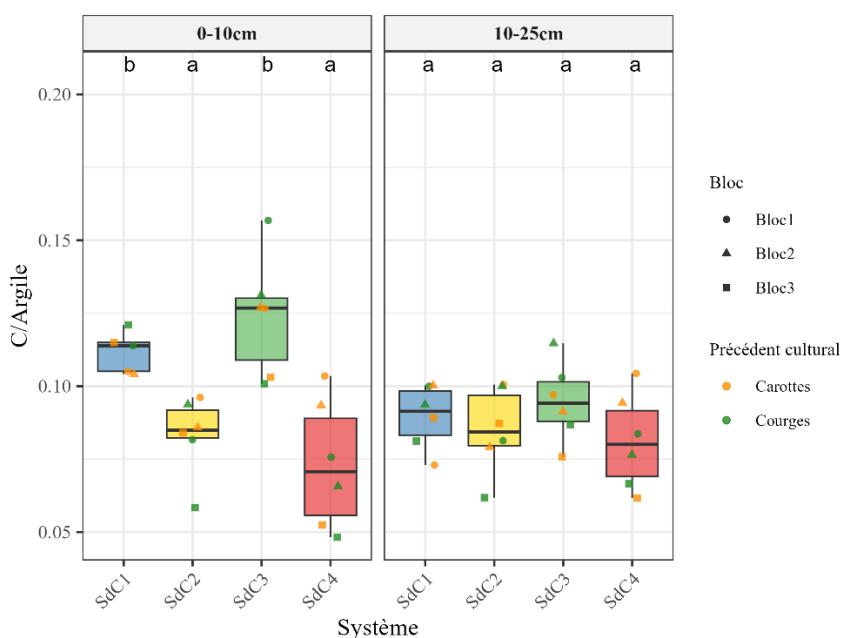


Figure 16. Rapport C/argile des systèmes de culture en fonction des 2 horizons à 0-10 et 10-25cm. Les lettres représentent les résultats du test de tukey, de l'effet des systèmes sur le rapport C/argile (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

## 4.3. Indicateurs biologiques

### 4.3.1. Microflore

#### 4.3.1.1. Abondance bactérienne

L'analyse statistique révèle des différences significatives entre les systèmes de culture dans les deux horizons étudiés pour l'abondance bactérienne. Dans l'horizon 0–10 cm, le test post hoc de Tukey montre que le nombre de copies du gène 16s des bactéries (en log) par gramme de sol sec varie significativement selon les systèmes (Figure 17). Le SdC4 ( $10,70 \pm 0,03$ ) présente les valeurs les plus faibles, significativement différentes de celles des autres systèmes. À l'opposé, le SdC3 ( $11 \pm 0,02$ ) affiche les valeurs les plus élevées, suivi du SdC2 ( $10,9 \pm 0,05$ ) et du SdC1 ( $11 \pm 0,05$ ), ce dernier occupant une position statistiquement intermédiaire. Ces résultats mettent en évidence un effet du système de culture sur l'abondance bactérienne, avec une distinction nette entre SdC4 et les autres modalités. Dans l'horizon 10–25 cm, le test de Tukey confirme également une variation significative entre les systèmes. Le SdC3 ( $11,09 \pm 0,08$ ) se distingue par des valeurs plus élevées, significativement supérieures à celles du SdC4 ( $10,70 \pm 0,03$ ), qui restent les plus faibles. Les systèmes SdC1 ( $10,80 \pm 0,04$ ) et SdC2 ( $10,80 \pm 0,03$ ) présentent des valeurs intermédiaires.

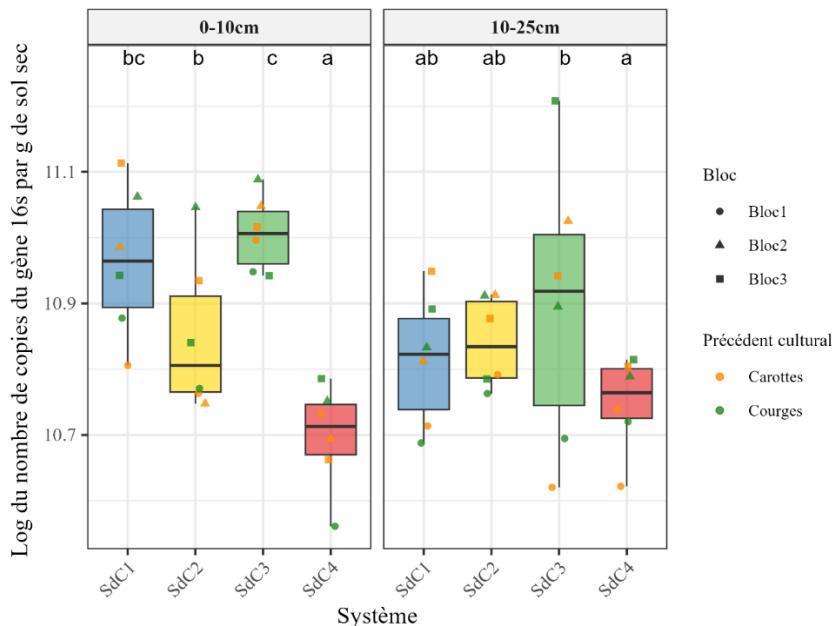


Figure 17. Log du nombre de copies du gènes 16s des bactéries selon les systèmes de culture par log du nombre par g de sol sec. Les lettres représentent les résultats du test de Tukey, de l'effet des systèmes sur le nombre de copies du gènes 16s (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

#### 4.3.1.2. Activité enzymatique

Les analyses statistiques indiquent des différences significatives d'activité enzymatique microbienne, mesurée par la production de fluorescéine en ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ), pour les deux horizons étudiés (Figure 18). Dans l'horizon 0–10 cm, le test post hoc de Tukey montre que le SdC1 ( $0,122 \pm 0,020 \mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ) présente l'activité la plus élevée, significativement supérieure à celle du SdC4 ( $0,056 \pm 0,004 \mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ), qui affiche les valeurs les plus faibles. Les systèmes SdC2 ( $0,068 \pm 0,009 \mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ) et SdC3 ( $0,111 \pm 0,01 \mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ) présentent des niveaux intermédiaires. Dans l'horizon 10–25 cm, le test post hoc indique que les systèmes SdC1 ( $0,091 \pm 0,010 \mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ), SdC2 ( $0,094 \pm 0,009 \mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ) et SdC3 ( $0,099 \pm 0,01 \mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ) ne diffèrent pas significativement entre eux, mais se distinguent du SdC4 ( $0,681 \pm 0,006 \mu\text{mol g}^{-1} \text{sol sec}^{-1}$ ), dont la production de fluorescéine est significativement plus faible.

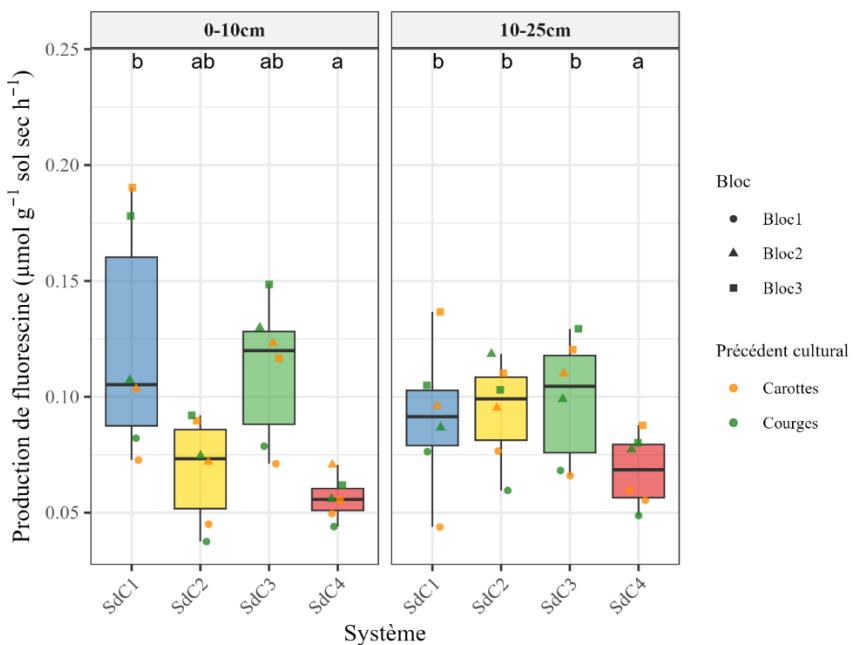


Figure 18. Activité enzymatique des microorganismes en production de fluorescéine en ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  sol sec  $\text{h}^{-1}$ ) selon les différents systèmes. Les lettres représentent les résultats du test de Tukey, de l'effet des systèmes sur l'activité enzymatique des microorganismes (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

#### 4.3.1.3. Respiration microbienne

Les analyses statistiques n'indiquent aucune différence significative de respiration microbienne, mesurée par la production de  $\text{CO}_2$  par les microorganismes en ( $\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1}$  sol  $\text{h}^{-1}$ ) pour les deux horizons étudiés (Figure 19). Le test post hoc de tukey ne montre aucune différence significative pour les 2 profondeurs. Le SdC1, le SdC2 et le SdC3 présentent une très grande variabilité tandis que le SdC4 est beaucoup plus stable.

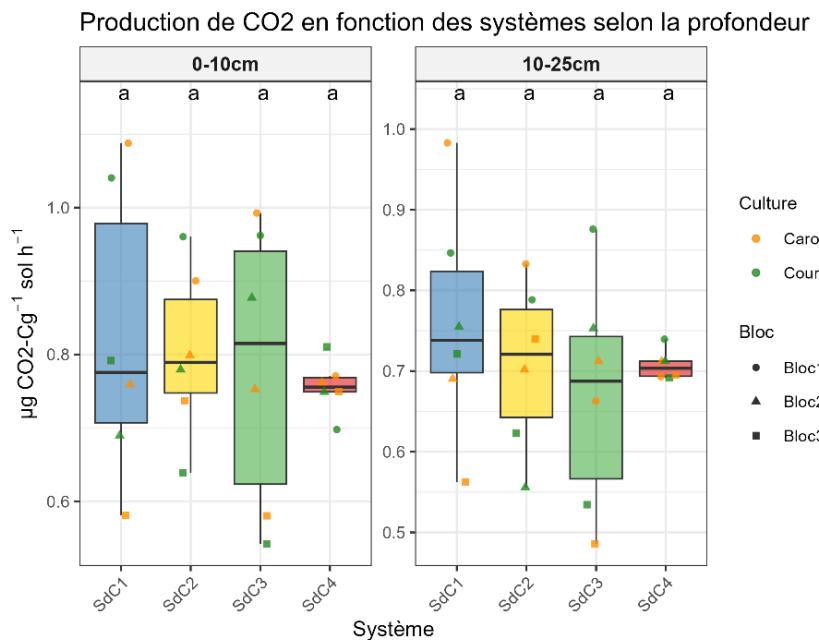


Figure 19. La production de  $\text{CO}_2$  par les microorganismes en ( $\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1}$  sol  $\text{h}^{-1}$ ) selon les différents systèmes. Les lettres représentent les résultats du test de Tukey, de l'effet des systèmes sur la respiration microbienne (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

### 4.3.2. Vers de terre

#### 4.3.2.1. Abondance et biomasse de vers de terre

L'analyse statistique met en évidence des différences significatives concernant le nombre d'individus et la biomasse des vers de terre (Figure 20).

Pour le nombre d'individus, le test post hoc de Tukey indique que le SdC1 ( $265 \pm 17 \text{ ind m}^{-2}$ ) présente la plus forte abondance lombricienne, tandis que le SdC4 ( $100 \pm 22 \text{ ind m}^{-2}$ ) enregistre les effectifs les plus faibles. Les systèmes SdC2 ( $178 \pm 30 \text{ ind m}^{-2}$ ) et SdC3 ( $172 \pm 38 \text{ ind m}^{-2}$ ) affichent des valeurs intermédiaires.

Concernant la biomasse, bien que l'ANOVA révèle une différence significative ( $p = 0,02611$ ), les comparaisons multiples réalisées par le test de Tukey ne mettent en évidence aucune différence significative entre les systèmes de culture.

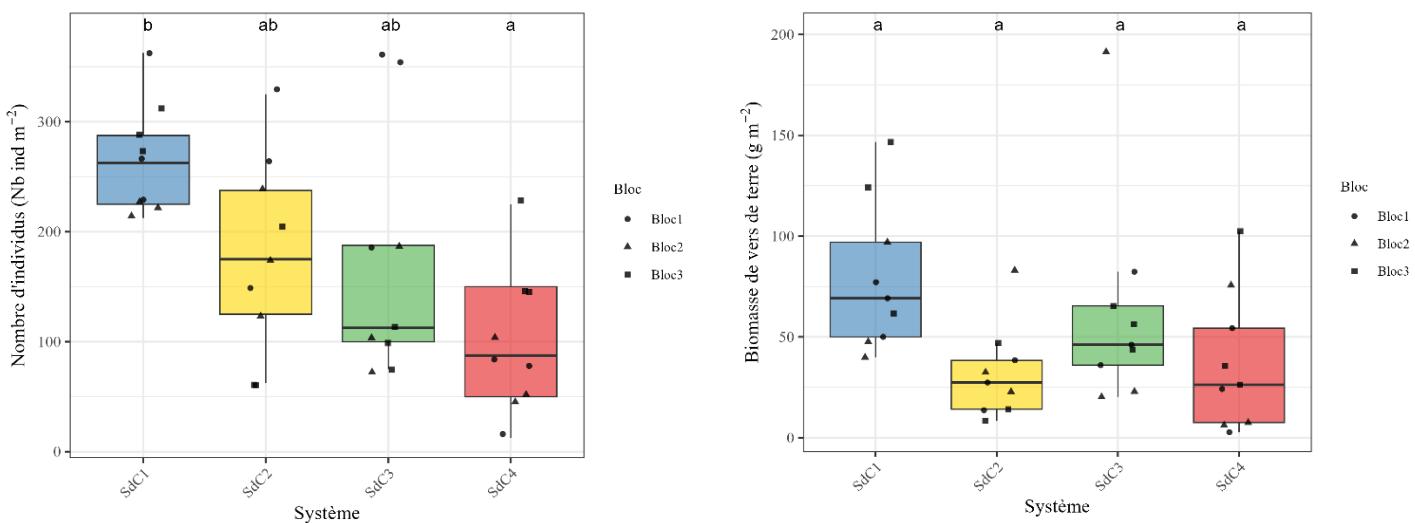


Figure 20. Nombre d'individus de vers de terre par  $\text{m}^2$  et biomasse de vers de terre par  $\text{gm}^2$  selon les différents systèmes. Les lettres représentent les résultats du test de Tukey, de l'effet des systèmes sur la densité apparente (niveau de significativité :  $\alpha < 0,05$ ).

#### 4.3.2.2. Diversité de vers de terre

La diversité des vers de terre illustre à la fois le nombre total d'individus et la composition spécifique (Figure 21). Cette figure met en évidence une forte proportion de juvéniles dans les échantillons. Des espèces épigées sont uniquement observées dans les systèmes SdC1 et SdC4. En revanche, les systèmes SdC2 et SdC3 semblent abriter une moindre proportion d'anéciques par rapport aux autres. Les systèmes SdC1 et SdC2 semblent comporter les proportions les plus élevées d'endogés.

L'indice de diversité de Shannon a été calculé en Annexe 15, selon la méthode utilisée dans l'étude de Singh et al. (2020). Un test post hoc de Tukey appliqué à cet indice n'a révélé aucune différence significative entre les systèmes de culture.

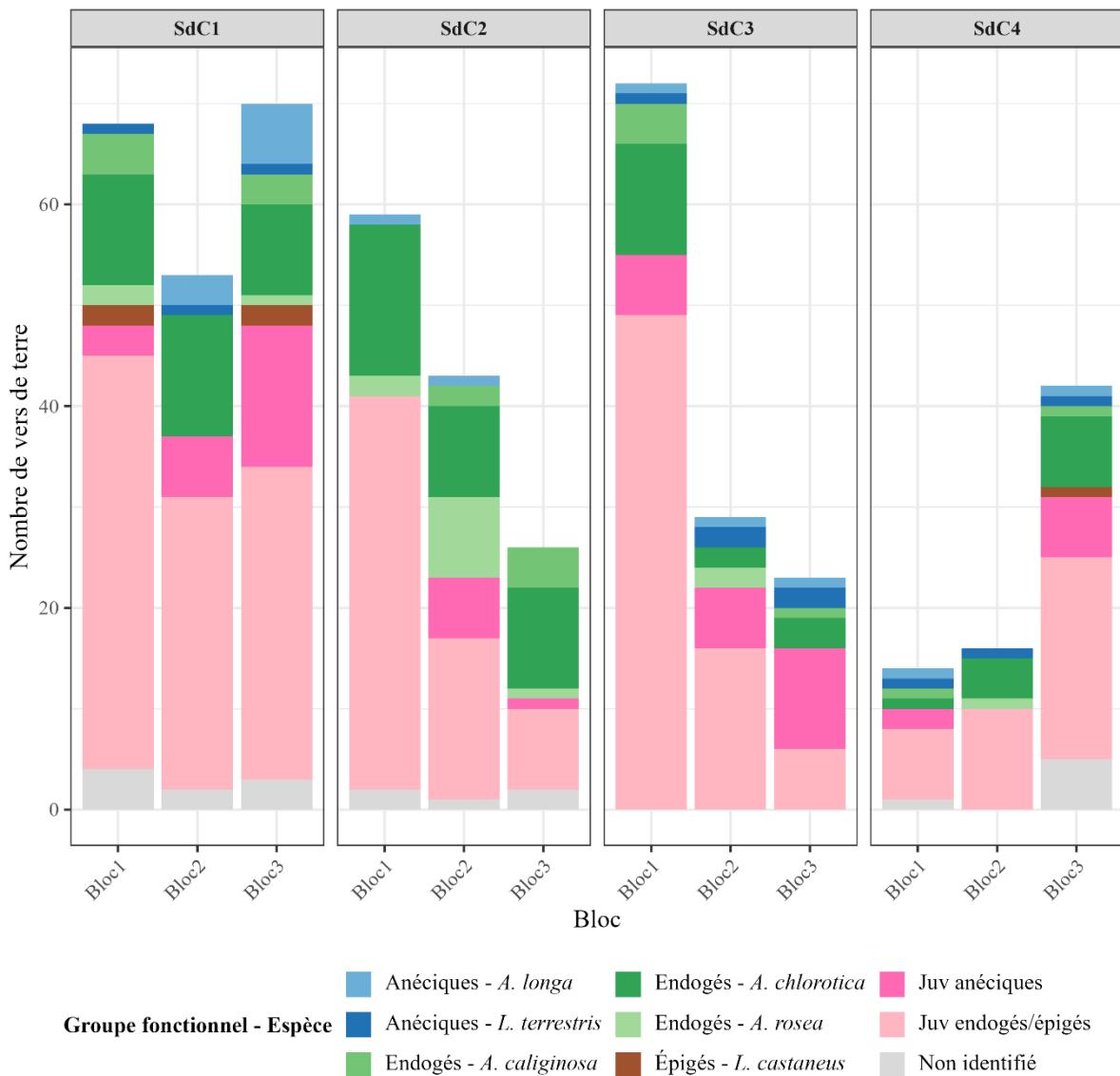


Figure 21. Diversité des vers de terre en fonction des différents systèmes de culture et des blocs

#### 4.4. Analyse en composantes principales des indicateurs

L'analyse en composantes principales sur l'horizon 0-10cm montre que les deux premiers axes expliquent 56 % de la variance totale (Figure 22). L'analyse met en évidence une corrélation marquée entre plusieurs variables : la stabilité structurale, le rapport C/argile, le carbone organique, l'azote total, le potassium, la qPCR et l'activité enzymatique (FDA). Cela est vérifié avec la matrice de corrélation en Annexe 16. À l'opposé, le sodium (Na) ainsi que la densité apparente sont inversement associés à ce groupe d'indicateurs, le Na montrant une corrélation négative particulièrement forte. Le pH (mesuré à l'eau et au KCl) et le magnésium (Mg) sont fortement corrélés entre eux, mais n'entretiennent pas de lien clair avec les variables liées au carbone ou à la biologie du sol. Enfin, les variables MicroResp et le rapport C/N sont mal représentées sur les deux premiers axes, bien qu'elles apparaissent proches l'une de l'autre dans l'espace des composantes.

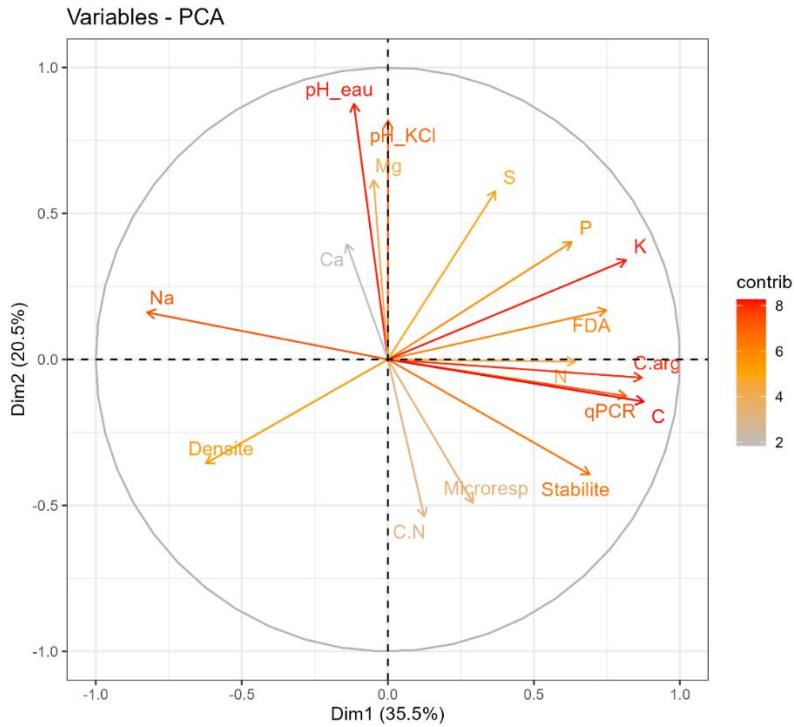


Figure 22. Analyse en composantes principales des indicateurs de la qualité des sols. L'échelle montre la contribution de chaque variable à la construction des axes.

## 5. Discussion

### 5.1. Les systèmes permettent-ils de stocker plus de carbone (résilience agronomique/enjeux climatiques) ?

Face au changement climatique, le rôle des sols comme réservoirs potentiels de carbone suscite un intérêt croissant, notamment pour leur capacité à contribuer à la réduction des émissions de CO<sub>2</sub> par la séquestration du carbone organique (Metay et al., 2009).

En comparant les résultats de la Figure 13 avec le Tableau 3, dans les SdC1 et SdC3, établis sur des sols limoneux, les teneurs en carbone organique total peuvent être considérées comme élevées dans l'horizon 0-10cm. Pour les SdC2 et SdC4, la moyenne est à un niveau satisfaisant dans l'horizon 0–10 cm. Dans l'horizon 10-25 cm, le carbone organique reste globalement élevé pour tous les systèmes de culture, à l'exception du SdC4 où il est satisfaisant. Les tendances sont les mêmes pour la teneur en azote total. Comme l'expliquent Weil et al. (2017), le carbone constitue la principale source d'énergie et de substrat structural pour constituer les composés organiques essentiels pour les micro-organismes, tandis que l'azote est indispensable à la synthèse des biomolécules cellulaires telles que les protéines, les enzymes et les acides nucléiques. Cela concorde avec les résultats de l'analyse en composante principale (Figure 22) et de la matrice de corrélation (Annexe 16) où une corrélation importante est observée entre le carbone, l'azote, l'abondance et l'activité enzymatique des microorganismes. De plus, les micro-organismes du sol ont besoin d'un équilibre entre carbone et azote pour se développer (Weil et al., 2017). Cela positionne le rapport C/N comme un indicateur intéressant à regarder.

Tableau 3. Classements des sols en fonction du carbone organique totale (COT) en g/100g (Requasud, 2019)

COT (g/100 g)	Sois non-carbonatés		
	Sableux	Limoneux	argileux
> 6.0	Trop élevé	Trop élevé	Trop élevé
> 4.0	Trop élevé	Trop élevé	Elevé
> 2.7	Trop élevé	Elevé	Elevé
> 2.4	Elevé	Elevé	Elevé
> 2.0	Elevé	Elevé	Satisfaisant
> 1.6	Satisfaisant	Elevé	Satisfaisant
> 1.2	Satisfaisant	Satisfaisant	Satisfaisant
> 1.1	Satisfaisant	Satisfaisant	Faible
≤ 1.1	Faible	Faible	Faible

L'analyse du rapport C/N (Annexe 12) montre que pour tous les systèmes, il est supérieur à 12 pour les horizons 0-10cm et 10-25cm. Dans l'horizon 0-10cm, les tendances sont plus élevées pour le SdC1 et SdC3 sans pour autant être significatives. Ce rapport supérieur à 12 pourrait signifier qu'il y ait une minéralisation lente donc qu'il y aurait moins d'éléments nutritifs à disposition pour les plantes (Requasud, 2019). Cependant, Weil et al (2017) expliquent que le rapport C/N de la matière organique dans l'horizon arable des zones cultivées se situe généralement entre 8 et 15, avec une valeur médiane d'environ 12. Cela prouve qu'il est difficile de savoir si les sols des systèmes sont dans une gamme optimale de rapport C/N. L'horizon 25-50cm indique que le rapport C/N est inférieur à 12 pour tous les systèmes de culture. Selon Weil et al (2017), le rapport C/N est généralement plus bas dans les horizons profonds que dans les couches superficielles du sol. Ensuite, les résultats n'ont pas montré de différences significatives entre les systèmes à chaque horizon pour ce rapport. Cela concorde avec l'étude de Tremblay et al., 1998, puisque le carbone et l'azote ont évolué de manière parallèle, le rapport C/N n'avait pas significativement différé entre les traitements BRF et les sols non amendés, même si le BRF a entraîné une augmentation des teneurs en carbone et en azote totale du sol (Tremblay et al., 1998, Pérez-Llorca et al., 2025) comme c'est le cas dans le SdC1 et SdC3.

Sur la plateforme SYCMA, les paillis de luzerne et de BRF ont un rapport C/N respectivement de 14 et 78 (Jamar et al., 2023). Weil et al., 2017 expliquent que lorsqu'un apport organique présente un rapport C/N supérieur à 25, comme le BRF dans le SdC1 et SdC3, les microorganismes puisent l'azote

directement dans le sol pour satisfaire leurs besoins, ce qui peut entraîner une immobilisation temporaire de l'azote minéral, réduisant sa disponibilité pour les plantes. Cette réaction microbienne rapide, surtout après l'apport de résidus riches en carbone, s'accompagne d'une forte respiration et d'une production importante de CO<sub>2</sub> (Weil et al., 2017). Cependant, dans notre cas, les résultats de MicroResp n'ont pas permis de démontrer cette production de CO<sub>2</sub> importante. Le BRF ayant un rapport C/N élevé a donc montré dans certaines études une immobilisation de l'azote dans le sol tandis que d'autres études n'ont montré aucune immobilisation (Prabhakaran et al., 2025). Une diminution transitoire de la disponibilité de l'azote peut se produire dans les mois suivant l'incorporation (Pérez-Llorca et al., 2025). L'ajout d'une source riche en azote, comme dans le SdC3 avec la luzerne, en complément du BRF pourrait aider à réduire cette immobilisation (Prabhakaran et al., 2025). Il est difficile de voir si dans nos analyses, il y a une immobilisation de l'azote.

Le carbone organique du sol joue un rôle fondamental dans la structuration et la stabilité du sol (Genot et al., 2012). Les rotations culturales et les résidus de culture contribuent à maintenir, voire à augmenter les stocks de COS (Krauss et al., 2022). L'effet du non-labour dépend toutefois fortement du type de sol et des conditions climatiques (Dimassi et al., 2013). Des études à long terme montrent que le non-labour entraîne une forte stratification du COS et de l'azote total en le favorisant à la surface, contrairement au labour conventionnel complet qui homogénéise leur répartition dans le profil (Dimassi et al., 2013 ; Krauss et al., 2022). Nos résultats montrent les mêmes tendances où les teneurs semblent similaires pour SdC2 et 4 dans l'horizon 0-10 et 10-25cm tandis que pour le SdC1 et 3, une plus forte stratification est vue. De plus, les SdC1 et SdC3 reçoivent des quantités d'amendements nettement plus importantes. En moyenne annuelle, le SdC1 reçoit 24 t/ha de BRF, tandis que le SdC3 combine 24 t/ha de BRF avec 60 t/ha de luzerne. À titre de comparaison, le SdC2 reçoit 8 t/ha de fumier bovin composté et le SdC4 4 t/ha de fumier associés à 1 t/ha d'engrais minéral (Jamar et al., 2023). Selon Mazzoncini et al. (2016), le stockage du carbone semble liée à des apports plus importants de matière organique dans les systèmes non labourés par rapport aux systèmes conventionnels. En conventionnel, la capacité à maintenir le COS et l'azote total dans la couche superficielle est plus faible, en raison d'une dégradation rapide de la matière organique et de sa dilution dans le profil. Cela montre que les amendements organiques pourraient être le principal facteur des différences entre les systèmes pour les teneurs en carbone et en azote.

Les stocks cumulés de carbone montrent que SdC1 et SdC3 conservent les plus grandes quantités sur la profondeur étudiée, suivis de SdC2, tandis que SdC4 présente les valeurs les plus faibles (Annexe 11). Ces résultats soulignent que les pratiques mises en œuvre dans SdC1 et SdC3 favorisent une réserve totale de carbone plus importante, contribuant à la fois au maintien de la fertilité et au rôle du sol comme puits de carbone.

Le rapport carbone organique / argile (C/argile) est utilisé comme un indicateur pour évaluer si un sol contient suffisamment de carbone organique par rapport à sa teneur en argile. Ce faisant, il apporte à la fois une information importante quant au statut organique du sol mais aussi à sa propension à régénérer une structure stable après une opération de travail du sol (Johannes et al. 2017 ; Prout et al. 2021 ; Vanwindekens et Hardy, 2023). Un sol argileux ayant tendance à accumuler plus facilement le carbone organique qu'un sol sableux du fait de processus pédologiques liés au complexe argilo-humique (SPW, 2025).

Tableau 4. Classement des types de sols en fonction des seuils de COT/argile (SPW, 2025)

Type de sol (% argile)	Rapport COT/argile Défavorable	Rapport COT/argile Transition	Rapport COT/argile Favorable
Léger (< 12%)	< 14%	14 – 17%	> 17%
Moyen (12 – 19%)	< 8%	8 - 10%	> 10%
Lourd (> 19%)	< 6%	6 – 9%	> 9%

Selon les résultats de la granulométrie (Annexe 10), la teneur en argile la plus faible est de 17 %, tandis que la majorité des sols dépassent 19 %, ce qui les classe parmi les sols à texture lourde. Le ratio C/argile est supérieur à 9 % dans les SdC1 et SdC3 pour l'horizon 0–10 cm, ce qui indique un potentiel favorable à la formation d'une structure stable (Figure 16). En revanche, les SdC2 et SdC4 présentent des ratios intermédiaires, suggérant un état de transition, ce qui signifie qu'un stockage supplémentaire de carbone organique permettrait d'augmenter la résilience de la structure du sol de ces systèmes. Cette tendance se retrouve également dans l'horizon 10–25 cm, où l'ensemble des systèmes semblent en phase de transition.

Les SdC1 et SdC3 semblent être plus favorables au stockage du carbone, grâce à des apports réguliers de matière organique à rapport C/N élevé comme le BRF et un ratio C/argile supérieur à 9 %. Ces éléments renforcent leur potentiel de stockage de carbone, contribuant ainsi à la résilience agronomique et à la lutte contre le changement climatique.

## 5.2. Les systèmes permettent-ils de maintenir des niveaux de fertilité chimique suffisants ?

Des carences dites « induites » peuvent survenir lorsque les éléments sont présents dans le sol, mais non assimilables par la plante, en raison d'un pH inadapté, d'un déséquilibre entre éléments minéraux ou encore de conditions climatiques défavorables qui limitent l'absorption. La valeur optimale de pH KCl des sols sous cultures est de 6.5 (Genot et al., 2012). Les valeurs de pH KCl de la plateforme se situent entre 6.2 et 7 pour l'horizon 0-10cm ce qui semble être dans la gamme optimale (Annexe 14).

Tous les systèmes étudiés présentent des teneurs en phosphore (0,05 à 0,15 g/kg) et en potassium (0,2 à 0,5 g/kg) supérieures aux seuils de fertilité généralement admis, qui se situent entre 0,048 et 0,063 g/kg pour le phosphore et entre 0,164 et 0,219 g/kg pour le potassium (Carah, s.d.) (Figure 14). Ces résultats indiquent que les systèmes présentent globalement de bonnes teneurs en éléments nutritifs majeurs disponibles dans le sol. Le système SdC3 montre des teneurs significativement supérieures pour ces 2 éléments, ce qui suggère un effet bénéfique des apports combinés de BRF et de luzerne sur la disponibilité en éléments nutritifs. La luzerne utilisée en mulch contient approximativement 278 kg N/ha, 27 kg P/ha et 223 kg K/ha et des quantités importantes de soufre, calcium et magnésium (Kerré et al., 2017). Cela pourrait expliquer le fait que le SdC3 contienne des quantités plus importantes en phosphore et en potassium. Le carbone organique du sol agit indirectement en stimulant l'activité microbienne, ce qui peut accroître la disponibilité du phosphore. Selon Topa et al. (2021), la réduction du travail du sol et l'apport complémentaire de résidus de culture favorise l'accumulation en surface des macronutriments, comme dans le SdC1 et 3 pour le potassium et dans le SdC3 pour le phosphore. En général, les teneurs en azote, phosphore et potassium disponibles diminuent avec la profondeur, en lien avec une augmentation de la densité du sol (Topa et al., 2021), comme cela peut être vu dans les résultats.

À l'inverse de l'étude de Tremblay et al. (1998), qui rapportent une immobilisation du phosphore après l'incorporation de BRF en raison d'une compétition entre plantes et micro-organismes pour le phosphore minéral, les résultats ne révèlent aucune diminution des teneurs en phosphore dans les SdC1 et SdC3. Cela peut s'expliquer par le fait que dans notre étude le BRF est appliqué en paillage.

Pour les autres éléments chimiques, les teneurs en magnésium (Annexe 13) sont légèrement supérieures à la plage souhaitable (0,102 à 0,136 g/kg), tandis que celles en calcium se situent bien dans cette plage (1,86 à 1,90 g/kg). En revanche, les teneurs en soufre et en sodium sont inférieures aux valeurs recommandées, avec respectivement 0,016 à 0,020 g/kg pour le soufre et 0,026 à 0,036 g/kg pour le sodium (Carah, s.d.). Cependant, le soufre a été dosé par les sulfates qui sont très versatiles donc cela peut ne pas être représentatif de la réalité car ces teneurs peuvent varier très fortement. La teneur plus élevée en sodium dans le SdC4 peut s'expliquer par l'utilisation de pellets organiques commerciaux.

Dans l'ensemble, les résultats montrent que les quatre systèmes de culture permettent de maintenir des niveaux de fertilité chimique suffisants.

### 5.3. Les systèmes permettent-ils de limiter l'érosion ?

La résistance du sol à l'érosion repose principalement sur la stabilité structurale des agrégats et la présence d'un couvert végétal. La stabilité des agrégats du sol dépend de plusieurs facteurs biologiques comme les sucres produits par les microbes, les champignons du sol, la biomasse microbienne, les racines des plantes, ainsi que les apports de carbone et d'azote provenant de la matière organique fraîche. Cela positionne la stabilité structurale comme un indicateur de l'érosion du sol (García-Orenes et al., 2012). Plusieurs travaux ont mis en évidence une forte corrélation entre la stabilité structurale et la teneur en carbone organique (Roger-Estrade et al., 2011 ; van Dael et al., 2025). Dans notre étude, une corrélation de 0,61 est observée (Annexe 16), ce qui indique également une relation forte entre les deux indicateurs. L'accumulation de matière organique stable favorise directement l'agrégation du sol (Estrade et al., 2011), elle permet de lier les particules entre elles, ce qui réduit le ruissellement et les pertes de sol (Roger-Estrade et al., 2011 ; Aytenew et al., 2020).

Les résultats montrent des différences significatives entre tous les systèmes, avec un ordre de stabilité décroissant : SdC1, SdC3, SdC2, puis SdC4 (Figure 12). Les pratiques culturales semblent jouer un rôle majeur. L'absence de labour et l'apport de BRF dans les SdC1 et SdC3 contribuent probablement à améliorer la structure du sol, notamment grâce à un meilleur statut organique. Toutefois, le SdC1 présente en moyenne une stabilité structurale nettement supérieure à celle du SdC3, bien que ces deux systèmes combinent les mêmes leviers. Cette différence pourrait être liée au type de maraîchage : le SdC1, en maraîchage de plein champ, offrirait une meilleure stabilité que le SdC3, en maraîchage intensif. Enfin, le SdC4 affiche probablement la stabilité la plus faible, ce qui s'expliquerait par un labour réalisé juste avant les prélèvements.

Le non-labour, appliqué dans le SdC1 et 3, a généralement un effet bénéfique sur la stabilité structurale (Roger-Estrade et al., 2011 ; Topa et al., 2021), car il limite les perturbations du sol ce qui favorise l'activité biologique. Cependant, les effets de la réduction du travail du sol varient selon les contextes pédoclimatique et topographique, et peuvent être contradictoires. La position des parcelles dans le paysage joue un rôle déterminant dans le contrôle de l'érosion, notamment en situation de versant (Roger-Estrade et al., 2011). Dans les systèmes sans labour, l'amélioration de la structure peut s'expliquer en partie par le maintien des résidus en surface, ce qui protège physiquement la surface du sol de la battance et l'érosion, favorise l'accumulation de matière organique et stimule l'activité microbienne dans le sol de surface (Topa et al., 2021). A l'inverse, le labour, comme dans le SdC2 et 4, dilue la matière organique dans toute la couche de labour.

La présence d'un couvert végétal à la surface du sol est un facteur majeur de réduction de risque d'érosion (Roger-Estrade et al., 2011). Une gestion raisonnée des apports organiques permet donc de favoriser la formation et le maintien des agrégats (Aytenew et al., 2020). Dans l'étude Barthès et al. (2010), l'apport de BRF en paillage a contribué à renforcer la stabilité structurale et à réduire l'érosion.

Cela pourrait expliquer pourquoi les systèmes intégrant du BRF en paillage, comme le SdC1 et 3 présentent une meilleure stabilité.

Bien que l'étude d'Aytenew et al. (2020) ait montré un effet positif du fumier sur la stabilité structurale, nos résultats n'indiquent pas d'effet comparable par rapport au BRF. Une différence notable entre les systèmes réside dans la fréquence des apports. Le BRF est appliqué chaque année dans le SdC1 et le SdC3, tandis que le fumier est appliqué tous les trois ans dans le SdC2 et une seule fois dans la rotation du SdC4. Cela montre que la fréquence d'apport et la quantité totale de matière organique incorporée diffère nettement entre systèmes. De plus, selon Bissonnais 1995, la présence du sodium échangeable favoriserait la dispersion tandis que l'ion calcium tendrait à favoriser la stabilité. Cela concorde avec nos résultats, où le SDC4 comporte le plus de sodium.

Le système de culture SdC1 présente la meilleure stabilité structurale, avec une masse finale moyenne supérieure à 60 % de sa masse initiale après le test QST, contre moins de 50 % en moyenne pour les autres systèmes. Cette meilleure résistance à la désagrégation contribue à limiter les risques d'érosion.

#### 5.4. Les systèmes sont-ils sensibles à la compaction ?

La compaction du sol constitue un processus majeur de dégradation des terres agricoles, affectant directement la fertilité physique du sol. Elle entraîne une diminution de la porosité, limite l'infiltration de l'eau et de l'air, freine l'activité biologique et augmente les besoins en puissance mécanique lors du travail du sol (Badalíková, 2010). La compaction touche à la fois les couches superficielles (0–30 cm) et les horizons plus profonds. Les horizons plus profonds sont plus difficilement réversibles (Destain, 2013). La densité apparente est un indicateur de la compaction du sol (Topa et al., 2021).

Dans l'horizon 0-10 cm, le SdC1 (non labour) présente la plus basse densité tandis que le SdC2 (labour) présente la plus haute. Les 2 autres systèmes SdC3 et 4 sont intermédiaires (Figure 11). En sol limono-argileux, la densité apparente idéale est inférieure à 1,3 g/cm<sup>3</sup> ce qui est le cas pour les SdC1 et 3, tandis que des valeurs supérieures à 1,60 g/cm<sup>3</sup> peuvent limiter la croissance racinaire (Derivry, 2019). De nombreuses études montrent que le labour entraîne une réduction de la densité apparente (Lampurlanés et al., 2003 ; Osunbitan et al., 2005 ; Ismail, 2011). En effet, cette étude (Singh et al., 2006) montre que dans l'horizon 0-7,5cm la densité en non labour est plus élevé qu'en labour. Cela est contradictoire avec nos résultats. Par ailleurs, certaines études ont aussi montré que la densité apparente pouvait être plus élevée en labour qu'en non-labour (Ismail, 2011). D'autres travaux indiquent que le semis direct à long terme pouvait contribuer à réduire la densité apparente grâce au maintien des résidus en surface (Topa et al., 2021). L'application de compost, de fumier ou de résidus de culture permet de réduire significativement la densité apparente du sol, tout en améliorant sa porosité, sa capacité de rétention en eau et sa perméabilité. Ces effets s'expliquent à la fois par la faible densité des matériaux organiques et par une amélioration de la structure du sol. Par exemple, des apports de légumineuses ou de fumier animal ont permis de réduire la densité apparente de plus de 5 % par rapport à un sol fertilisé uniquement à l'engrais minéral (Aytenew et al., 2020). Les apports de BRF dans le SdC1 et BRF et luzerne dans le SdC3 ont l'air d'avoir un impact positif sur le premier horizon. La plus faible densité apparente dans les systèmes non labourés dans l'horizon 0-10cm pourrait être dû à un meilleur taux de carbone organique dans le sol. Les résidus de culture ne semblent pas avoir un effet différents entre les systèmes car ils sont tous laissés en surface.

Lors des prélèvements, le SdC4 venait tout juste d'être labouré, ce qui a entraîné des difficultés importantes pour obtenir des carottes de sol intactes. Cette contrainte s'est répercutee sur les résultats de densité apparente, notamment en raison de la présence de vides entre l'horizon labouré et le sous-sol. Par ailleurs, le SdC4 présente systématiquement une forte variabilité, qui pourrait également

s'expliquer par les difficultés rencontrées lors de l'échantillonnage, mais aussi par l'hétérogénéité induite par le labour. De plus, le SdC4 est le seul système à avoir subi un décompactage profond. Cela pourrait expliquer pourquoi il contient une densité plus faible dans les deux profondeurs 10-25 et 25-50cm. Dans l'horizon 25-50cm, les trois autres systèmes ont une densité plus élevée. Cela concorde avec les propos d'Alamooti (2008), selon lesquels la densité apparente augmente avec la profondeur.

Cependant, la densité apparente relativement élevée observée dans tous les systèmes, à l'exception du SdC4, pourrait résulter du passage répété d'engins mécaniques ayant compacté le sol. Destain (2013) explique que les charges exercées par les engins agricoles (poids, fréquence de passage) influencent fortement le risque de compaction, notamment en profondeur.

Les systèmes SdC1 et SdC3 présentent une compacité globalement satisfaisante, avec des densités apparentes inférieures à 1,3 g/cm<sup>3</sup> en surface. Les densités apparentes plus élevées peuvent être dues à l'intensification de la mécanisation sur la parcelle. Le SdC4 comporte une densité plus faible en profondeur dû à un décompactage profond.

## 5.5. Les systèmes sont-ils favorables à la vie du sol ?

### 5.5.1. Microflore

Les résultats indiquent que pour l'abondance bactérienne, le SdC3 présente les valeurs les plus élevées, tandis que le SdC1 est intermédiaire (Figure 17). À l'inverse, pour l'activité d'hydrolyse de la FDA, le SdC1 se classe en tête et le SdC3 occupe une position intermédiaire (Figure 18). Toutefois, les moyennes restent très proches entre ces deux systèmes pour les deux indicateurs. Les SdC1 et 3, exempts de labour et recevant des apports importants de matières organiques exogènes sous forme de BRF (et de luzerne pour le SdC3) ont des taux de C organique élevés dans la couche de sol de surface (0-10 cm). Cette hausse du taux de matière organique va de pair avec une hausse de l'activité (FDA hydrolase) de l'abondance (qPCR 16S) bactérienne. Cela semble cohérent puisque les microorganismes se nourrissent de la matière organique du sol. Le coefficient de corrélation entre le carbone organique et l'abondance microbienne est de 0,76 et il est de 0,61 entre l'hydrolyse de la FDA et le carbone organique. Selon Liu et al 2023, parmi les différents facteurs, le COS apparaît comme le déterminant principal de la réponse de la biomasse microbienne aux amendements, suivi de près par l'azote total (TN). De plus, leur disponibilité stimule l'activité enzymatique, notamment les enzymes impliquées dans les cycles du carbone, de l'azote, du phosphore et les processus d'oxydation, ce qui améliore la décomposition de la matière organique, le recyclage des nutriments et la croissance végétale.

De nombreuses études ont montré que la réduction de l'intensité des interventions mécaniques, notamment l'abandon du labour, comme le SdC1 et 3, favorisait à la fois la densité et la diversité des microorganismes du sol (Bouthier et al., n.d ; Sánchez-Monedero et al., 2008). En effet, le non-labour induit une stratification verticale des nutriments, ce qui influence directement l'abondance et l'activité microbienne. À l'inverse, le labour, comme le SdC2 et 4, mélange les résidus et aère le sol, ce qui homogénéise l'activité et la structure des communautés microbiennes (Sánchez-Monedero et al., 2008).

L'apport d'amendements organiques est souvent associé à une augmentation significative de la biomasse et de l'activité microbienne par rapport aux apports minéraux (Liu et al., 2023). La nature du matériau organique apporté influence fortement la réponse des communautés microbiennes. Selon Barthès et al 2010, l'apport de BRF, comme dans le SdC1 et 3, contribue à enrichir le sol en matière organique et en nutriments. Cela soutient l'activité biologique du sol, en particulier celle des champignons, et améliore à terme la disponibilité des éléments nutritifs pour les plantes. Toutefois, certaines études ont observé une baisse de rendement l'année suivant le premier apport de BRF, probablement liée à une immobilisation temporaire de l'azote (Barthès et al., 2010).

Le coefficient de corrélation entre l'hydrolyse de la FDA et la respiration microbienne est de -0.28 (Annexe 16). Dans l'étude de Stark et al, (2017), une absence de corrélation entre ces 2 paramètres a également été vues. Cela pourrait indiquer que la respiration microbienne et l'hydrolyse de la FDA ne mesurent pas le même type d'activité. Stark et al. (2017) explique que l'émission de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) est un bon indicateur de l'activité microbienne totale, car elle dépend du substrat disponible et est influencée par la composition des communautés, leur physiologie et les conditions environnementales tandis que l'activité d'hydrolyse de la FDA est corrélée à la biomasse microbienne et est influencée par la stabilité de la matière organique, mais est peu affectée par les perturbations environnementales liées à l'amendement (Stark et al., 2007). Dans notre étude, cela est également observée avec l'ACP et la matrice de corrélation ou l'hydrolyse de la FDA, l'abondance bactérienne et le carbone semblent très corrélée.

Selon Creamer et al. (2016), le pH, le carbone organique et l'usage des terres sont les principaux déterminants de l'utilisation des substrats carbonés par les microorganismes en Europe. Après l'apport de substrats facilement dégradables, une hausse de la respiration microbienne est généralement attendue (Stark et al., 2007). Cependant, nos résultats ne montrent pas de différences significatives entre les SdC (Figure 19). Cela est probablement dû à la variabilité des résultats qui pourrait masquer les différences qu'il y aurait. Une très grande variabilité est observée pour les SdC1, le SdC2 et le SdC3 tandis que le SdC4 semble plus stable. Une amélioration du protocole pourrait être envisagée car les calculs réalisés étaient ceux fournis par le kit commercial mais ces derniers pourraient être optimisés. Au cours de l'analyse en laboratoire, des biais importants ont été observés entre les différentes séries d'analyses. Néanmoins, les valeurs observées ici sont cohérentes avec celles rapportées pour les sols arables européens (Creamer et al., 2016), et correspondent aux niveaux typiques mesurés en agriculture biologique et de conservation, notamment en Wallonie (Vincent et al., 2019).

Lorsque l'on rapporte les indicateurs biologiques à l'unité de carbone organique, des différences significatives apparaissent pour l'horizon 0–10 cm. Les systèmes SdC2 et SdC4 présentent alors une respiration microbienne et une abondance bactérienne par unité de carbone potentiellement plus élevées (Annexe 17 et Annexe 19). Le fumier se décompose plus rapidement, alors que le BRF, avec un rapport C/N plus élevé, présente une dégradation plus lente. Ainsi, les différences observées pourraient ne pas seulement être liées à la quantité de matière organique apportée, mais aussi à sa qualité. Le BRF dans SdC1 et 3, appliqué en plus grandes quantités, entraîne une respiration microbienne et une abondance bactérienne brutes plus élevées (Figure 17 et 19), mais une efficacité d'utilisation du carbone par unité plus faible (Annexe 17 et 19). À l'inverse, le fumier dans le SdC2 et 4, appliqué en plus faible quantité, génère une activité microbienne brute plus faible, mais une efficacité d'utilisation du carbone par unité plus élevée. Ces observations rejoignent celles de Stark et al. (2007), qui ont montré que l'augmentation de la biomasse microbienne est inversement corrélée au degré de stabilité de la matière organique ajoutée. Néanmoins, les résultats relatifs à la respiration microbienne doivent être interprétés avec prudence en raison d'une fiabilité plus limitée. Pour la production de fluorescéine par unité de carbone (Annexe 18), la tendance diffère, le SdC1 comporte l'activité la plus élevée, ce qui pourrait indiquer que les populations microbiennes y sont plus réactives et possèdent une capacité plus élevée à produire des enzymes hydrolases.

### 5.5.2. Macrofaune

L'abondance et la biomasse des vers de terre dépendent étroitement de nombreux facteurs édaphiques, notamment la texture du sol, la teneur en carbone organique, l'humidité et le pH, mais aussi des conditions climatiques, des pratiques de travail du sol et de l'historique d'utilisation des terres (Peigné et al., 2009). Le pH, bien que n'agissant pas directement, influence la disponibilité des nutriments, et donc indirectement la répartition des vers de terre, qui tolèrent généralement des sols neutres à

légèrement acides ou alcalins. Par ailleurs, une forte teneur en argile et un bon taux de carbone organique favorisent leur développement, ce dernier représentant une source essentielle de nourriture (Singh et al., 2020). L'activité des vers influence directement la structure du sol via la production de galeries et de turricules, ce qui améliore l'aération, l'infiltration et les flux hydriques (Chan, 2001).

Dans ce contexte, la différence observée entre les systèmes de culture (SdC1 et SdC4) pour le nombre de vers de terre pourrait s'expliquer par la présence de prairies temporaires, l'absence de labour, ainsi que l'usage d'amendements organiques (Figure 20). Une méta-synthèse récente rapporte une abondance moyenne de 106 vers par m<sup>2</sup> et environ 4,1 espèces par site sur plusieurs types de sols et d'usages (y compris agricoles, prairiaux, forestiers), provenant de 8 pays européens (Blakemore, 2018). Cela positionne SYCMA au-dessus de cette moyenne pour la plupart des systèmes, à l'exception du SdC4 dont l'abondance est proche de cette valeur de référence.

De nombreuses études ont montré que les apports d'amendements organiques ainsi que les systèmes agricoles non conventionnels améliorent la qualité du sol, ce qui favorise l'activité et l'abondance des vers de terre (Singh et al., 2020). Le labour conventionnel détruit les habitats, expose les vers à la dessiccation et aux prédateurs, et entraîne une baisse de la matière organique (Bouthier et al., s.d.) et de la stabilité structurale des agrégats (Chan, 2001), contribuant à la dégradation des conditions de vie des vers de terre. Les systèmes de conservation du sol montrent, à l'inverse, une augmentation de la biomasse et de l'activité des vers (Chan, 2001 ; Bouthier et al., s.d.).

Dans nos résultats, les anéciques (*Aporrectodea longa* et *Lumbricus terrestris*) semblent moins abondants dans les systèmes labourés (SdC2 et SdC4), tandis que les endogés (*Aporrectodea chlorotica*, *Aporrectodea rosea* et *Aporrectodea caliginosa*) ne paraissent pas affectés. Ces derniers semblent même plus présents dans les SdC1 et SdC2, où des prairies temporaires sont implantées (Figure 21). Toutefois, il s'agit seulement de tendance car l'indice de Shannon n'a révélé aucune différence significative entre les systèmes (Annexe 15). Tous les groupes fonctionnels ne réagissent pas de la même manière au travail du sol. Selon Bouthier et al., les endogés semblent moins sensibles au labour, voire parfois favorisés, notamment en présence de résidus de culture enfouis qui leur servent de nourriture. En effet, Chan (2001) rapporte qu'après le labour d'une prairie, les espèces endogées se rétablissent rapidement grâce à la matière organique enfouie et aux cocons déjà présents dans le sol. Dans une étude, *A. caliginosa*, une espèce endogée, a montré une réponse positive à la perturbation, bien qu'elle soit plus sensible aux anciens résidus végétaux qu'au travail du sol lui-même (Peigné et al., 2009). Cependant, Chan (2001) explique que les espèces anéciques comme *Lumbricus terrestris* et *A. longa* sont nettement moins abondantes dans les sols labourés. Le labour perturbe davantage les anéciques, en détruisant leurs galeries, que les endogés et épigées (Chan, 2001). En résumé, les espèces épigées et anéciques sont généralement les plus sensibles aux perturbations mécaniques, tandis que les endogés présentent une plus grande résilience. Ensuite, l'espèce épigée *Lumbricus rubellus castaneus* n'est présente que dans le SdC1 et 4 sur la plateforme SYCMA. Selon l'étude de Peigné et al 2009, cette espèce est très sensible à l'humidité du sol, sa présence est un indicateur de bonnes conditions. Elle était associée à la présence d'un couvert végétal ou à une forte infestation d'adventices (Peigné et al., 2009). En regroupant tous les indicateurs, le SdC1 semble posséder des conditions plus favorables à la présence de cette espèce tandis que le SdC4 semble être moins favorable. Une explication possible à sa présence dans le SdC4 serait que la parcelle se situe à proximité d'une allée enherbée, ce qui pourrait favoriser sa présence. Néanmoins, il convient de rappeler que le nombre d'individus épigés observés très faible et que leur présence doit donc être interprétée avec précaution.

## 6. Conclusion et perspectives

L'objectif principal de ce mémoire était d'évaluer l'effet de systèmes de culture innovants en maraîchage biologique sur la qualité des sols, en mobilisant un ensemble d'indicateurs physico-chimiques et biologiques dans le cadre de l'essai système SYCMA.

Dans l'ensemble, les résultats montrent que les systèmes sans labour, intégrant des apports organiques produits localement, tels que le SdC1 (polyculture sans élevage avec BRF) et le SdC3 (maraîchage de conservation avec apports de BRF et luzerne), présentent les conditions de sol les plus favorables. Le SdC1 semble toutefois se démarquer du SdC3 pour certains paramètres, notamment la stabilité structurale, la densité apparente et l'abondance de vers de terre. Les systèmes SdC2 et SdC4, tous deux soumis au labour, affichent des résultats globalement moins favorables en termes de structure du sol, de stockage de carbone et d'activité biologique. Le SdC2 montre néanmoins une activité biologique légèrement supérieure à celle du SdC4, probablement grâce à l'intégration de prairies temporaires dans sa rotation et d'un plus grand nombre d'intercultures dans sa rotation. L'ensemble de ces observations confirme l'intérêt de réduire le travail du sol et de favoriser l'apport de matière organique pour améliorer la qualité globale des sols en maraîchage biologique.

Il aurait été pertinent de comparer les résultats sur la qualité des sols avec les rendements des cultures, afin d'évaluer si les systèmes les plus favorables pour le sol le sont aussi d'un point de vue agronomique. Un bilan économique global prenant en compte l'impact des pratiques sur les différents coûts de production et les retours liés au rendement et à la qualité des denrées produites serait nécessaire afin d'évaluer la viabilité de systèmes de culture innovants testés sur la plateforme SYCMA.

De plus, l'ajout d'indicateurs comme l'abondance des champignons ou la diversité microbienne (bactérienne et fongique) aurait permis de mieux comprendre les dynamiques biologiques du sol dans chaque système et d'évaluer les éventuels bénéfices des combinaisons de pratiques innovantes sur la biodiversité du sol.

Enfin, une autre perspective est d'utiliser les séries temporelles de données depuis le début de l'essai. Cela permettrait d'observer plus précisément l'évolution de la qualité des sols au fil du temps. Cette analyse temporelle permettrait de mieux interpréter l'impact des pratiques agricoles sur l'évolution de la qualité d'un sol initialement très fertile, en raison de son utilisation antérieure en verger avec enherbement de l'interligne, qui explique, pour le moins en partie, les taux de matière organique élevé pour la région limoneuse.

## **7. Contribution personnelle**

L'ensemble des prélèvements de sol (pour les indicateurs chimiques, physiques et biologiques) et les analyses en laboratoire ont été réalisés en collaboration avec Julie Delcourt, à la fois sur la plateforme SYCMA (étudiée dans le cadre de ce mémoire) et sur SYCBIO (étudiée dans le cadre du mémoire de Julie). Des prélèvements ont également été effectués sur la plateforme SYCI, bien que ce site ne soit pas inclus dans le présent travail.

Nous avons assuré la préparation des échantillons au laboratoire pour les analyses chimiques, les tests QST et les analyses microbiologiques. L'analyse des vers de terre a été réalisée par Brieuc Hardy et Antoine Mottet, tandis que l'extraction des indicateurs à partir des courbes de QST a été effectuée par Frédéric Vanwindekens. L'ensemble des résultats de SYCMA a été analysé par mes soins et a servi de base à la rédaction de ce mémoire.

## 8. Bibliographie

- 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. *Soil Biology and Biochemistry* **33**(7), 943–951, DOI:[10.1016/S0038-0717\(00\)00244-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00244-3).
- Alamooti M. younesi, 2008. Investigation of plowing depth effect on some soil physical properties. *ResearchGate*.  
[https://www.researchgate.net/publication/23674514\\_Investigation\\_of\\_plowing\\_depth\\_effect\\_on\\_som\\_e\\_soil\\_physical\\_properties](https://www.researchgate.net/publication/23674514_Investigation_of_plowing_depth_effect_on_som_e_soil_physical_properties), (30/07/2025).
- Al-shammary A.A.G., Kouzani A.Z., Kaynak A., Khoo S.Y., Norton M. & Gates W., 2018. Soil Bulk Density Estimation Methods: A Review. *Pedosphere* **28**(4), 581–596, DOI:[10.1016/S1002-0160\(18\)60034-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60034-7).
- Andriuzzi W.S., Pulleman M.M., Cluzeau D. & Pérès G., 2017. Comparison of two widely used sampling methods in assessing earthworm community responses to agricultural intensification. *Applied Soil Ecology* **119**, 145–151, DOI:[10.1016/j.apsoil.2017.06.011](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.06.011).
- Anjos L., Cruz Gaistardo C., Deckers S., Dondene S., Eberhardt E., Gerasimova M., Harms B., Jones A., Krasilnikov P., Reinsch T., Vargas R. & Zhang G., 2014. *World Reference Base for Soil Resources 2014: international soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps - KU Leuven*, Roma.
- Aytenew M. & Bore G., 2020. Effects of organic amendments on soil fertility and environmental quality: a review **13**, DOI:[10.11648/j.jps](https://doi.org/10.11648/j.jps).
- Badalíková B., 2010. Influence of Soil Tillage on Soil Compaction. In: Dedousis, A.P., Bartzanas, T. eds. *Soil Engineering*. Springer, Berlin, Heidelberg, 19–30.
- Barthès B.G., Manlay R.J. & Porte O., 2010. Effets de l'apport de bois raméal sur la plante et le sol : une revue des résultats expérimentaux. *Cahiers Agricultures* **19**(4), 280-287 (1), DOI:[10.1684/agr.2010.0412](https://doi.org/10.1684/agr.2010.0412).
- Basile-Doelsch I., Balesdent J. & Pellerin S., 2020. Reviews and syntheses: The mechanisms underlying carbon storage in soil. *Biogeosciences* **17**(21), 5223–5242, DOI:[10.5194/bg-17-5223-2020](https://doi.org/10.5194/bg-17-5223-2020).
- Bates D., Mächler M., Bolker B. & Walker S., 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* **67**, 1–48, DOI:[10.18637/jss.v067.i01](https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01).
- Bissonnais L., 1995. Mesurer la stabilité structurale des sols pour évaluer leur sensibilité à la battance et à l'érosion. *Étude et Gestion des Sols*.
- Blakemore R.J., 2018. Critical Decline of Earthworms from Organic Origins under Intensive, Humic SOM-Depleting Agriculture. *Soil Systems* **2**(2), 33, DOI:[10.3390/soilsystems2020033](https://doi.org/10.3390/soilsystems2020033).

Blanco-Canqui H. & and Lal R., 2004. Mechanisms of Carbon Sequestration in Soil Aggregates. *Critical Reviews in Plant Sciences* **23**(6), 481–504, DOI:[10.1080/07352680490886842](https://doi.org/10.1080/07352680490886842).

Bongiorno G., Büinemann E.K., Oguejiofor C.U., Meier J., Gort G., Comans R., Mäder P., Brussaard L. & de Goede R., 2019. Sensitivity of labile carbon fractions to tillage and organic matter management and their potential as comprehensive soil quality indicators across pedoclimatic conditions in Europe. *Ecological Indicators* **99**, 38–50, DOI:[10.1016/j.ecolind.2018.12.008](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.12.008).

Bouthier A., Cortet J., Bispo A. & Piron D., n.d. Impact du travail du sol sur son fonctionnement biologique.

Brookes P.C., Cayuela M.L., Contin M., De Nobili M., Kemmitt S.J. & Mondini C., 2008. The mineralisation of fresh and humified soil organic matter by the soil microbial biomass. *Waste Management*, OECD Workshop - Soils and Waste Management: A Challenge to Climate Change **28**(4), 716–722, DOI:[10.1016/j.wasman.2007.09.015](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.09.015).

Buyssse P. & Aubinet M., 2010. La respiration hétérotrophe dans les sols agricoles : description des facteurs importants et comparaison de modèles semi-mécanistes existants. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*

Campbell C.D., Chapman S.J., Cameron C.M., Davidson M.S. & Potts J.M., 2003. A Rapid Microtiter Plate Method To Measure Carbon Dioxide Evolved from Carbon Substrate Amendments so as To Determine the Physiological Profiles of Soil Microbial Communities by Using Whole Soil. *Applied and Environmental Microbiology* **69**(6), 3593–3599, DOI:[10.1128/AEM.69.6.3593-3599.2003](https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3593-3599.2003).

Carah, n.d. Clés pour les agriculteurs.

CERTISYS, 2024. Les Intrants en Agriculture Biologique. *CERTISYS*.

Chan K.Y., 2001. An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity — implications for functioning in soils. *Soil and Tillage Research* **57**(4), 179–191, DOI:[10.1016/S0167-1987\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00173-2).

Congreves K.A., Hayes A., Verhallen E.A. & Van Eerd L.L., 2015. Long-term impact of tillage and crop rotation on soil health at four temperate agroecosystems. *Soil and Tillage Research* **152**, 17–28, DOI:[10.1016/j.still.2015.03.012](https://doi.org/10.1016/j.still.2015.03.012).

Creamer R.E., Stone D., Berry P. & Kuiper I., 2016. Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroResp™ method. *Applied Soil Ecology*, Soil biodiversity and ecosystem functions across Europe: A transect covering variations in bio-geographical zones, land use and soil properties **97**, 36–43, DOI:[10.1016/j.apsoil.2015.08.004](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.08.004).

Da Silva C.S.R. de A., da Silva Araújo E., Costa L.S., de Araújo S.N., da Silva Junior J.B., Ziviani M.M., da Silva M.S.R. de A., Guerra J.G.M., Espindola J.A.A. & Pinheiro É.F.M., 2024. No-till system organic

vegetable production under green manure: effect on yield and soil properties. *Org. Agr.* **14**(2), 231–244, DOI:[10.1007/s13165-024-00460-x](https://doi.org/10.1007/s13165-024-00460-x).

Davies G., 2012. *ORGANIC VEGETABLE PRODUCTION: A Complete Guide*, Crowood, 304.

Derivry E., 2019. Fiches techniques indicateurs de la qualité du sol.

Destain M.-F., 2013. La compaction des sols agricole en Wallonie.

Dimassi B., Cohan J.-P., Labreuche J. & Mary B., 2013. Changes in soil carbon and nitrogen following tillage conversion in a long-term experiment in Northern France. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **169**, 12–20, DOI:[10.1016/j.agee.2013.01.012](https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.01.012).

Doran J.W. & Zeiss M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, Special issue: Managing the Biotic component of Soil Quality **15**(1), 3–11, DOI:[10.1016/S0929-1393\(00\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00067-6).

Duchaufour P., Faivre P. & Poulenard J., 2024. *Introduction à la science du sol - 8e éd.: Sol, végétation, environnement*, Dunod, 487.

FAO, 2015. *Status of the world's soil resources: Main report*, Rome, Italy.

Ferchaud F., Chlebowski F. & Mary B., 2023. SimpleESM: R script to calculate soil organic carbon and nitrogen stocks at Equivalent Soil Mass, Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE).

Fini A., Innocenti C. & Ferrini F., 2016. Effect of Mulching with Compost on Growth and Physiology of Ulmus 'FL634' Planted in an Urban Park. *Arboriculture & Urban Forestry* **42**, 192–200, DOI:[10.48044/jauf.2016.017](https://doi.org/10.48044/jauf.2016.017).

Fließbach A., Oberholzer H.-R., Gunst L. & Mäder P., 2007. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **118**(1), 273–284, DOI:[10.1016/j.agee.2006.05.022](https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.05.022).

Francioli D., Schulz E., Lentendu G., Wubet T., Buscot F. & Reitz T., 2016. Mineral vs. Organic Amendments: Microbial Community Structure, Activity and Abundance of Agriculturally Relevant Microbes Are Driven by Long-Term Fertilization Strategies. *Front. Microbiol.* **7**, DOI:[10.3389/fmicb.2016.01446](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01446).

García-Orenes F., Roldán A., Mataix-Solera J., Cerdà A., Campoy M., Arcenegui V. & Caravaca F., 2012. Soil structural stability and erosion rates influenced by agricultural management practices in a semi-arid Mediterranean agro-ecosystem. *Soil Use and Management* **28**(4), 571–579, DOI:[10.1111/j.1475-2743.2012.00451.x](https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2012.00451.x).

Gavriloaiei T., 2012. The Influence of Electrolyte Solutions on Soil pH Measurements.

Ge S., Xu H., Ji M. & Jiang Y., 2013. Characteristics of Soil Organic Carbon, Total Nitrogen, and C/N Ratio in Chinese Apple Orchards. *Open Journal of Soil Science* **03**, 213–217, DOI:[10.4236/ojss.2013.35025](https://doi.org/10.4236/ojss.2013.35025).

Genot V., Renneson M., Colinet G., Goffaux M.-J., Cugnon T., Toussaint B., Buffet D. & Oger R., 2012. base de donnees sols de REQUASUD-3ème synthèse.

Hartig F., Lohse L. & leite M. de S., 2024. DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models.

Havard M., Alaphilippe A., Deytieux V., Estrogues V., Labeyrie B., Lafond D., Meynard J.-M., Petit M.-S., Plénet D. & Picault S., 2017. *Guide de l'expérimentateur "système."*

Hernández I.Z., Natera J.F.Z., López P.M.G., Fuentes E.R. & Tapia M., 2020. Biological activity in soils treated with green manures of Lupinus spp. (Leguminosae) using the hydrolysis of fluorescein diacetate method (FDA) in Jalisco, Mexico. *Horticulture International Journal*.

Hodges S.C., 2010. NC Certified Crop Advisor Training.

İsmail Ç., 2011. Effects of tillage methods on penetration resistance, bulk density and saturated hydraulic conductivity in a clayey soil conditions. *Tarım Bilimleri Dergisi* **17**(2), 143–156, DOI:[10.1501/Tarimbil\\_0000001166](https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000001166).

Jamar L., 2022. Plateforme SYCMA. Centre wallon de Recherches agronomiques. <https://www.cra.wallonie.be/fr/sycma>, (25/03/2025).

Jamar L. & Leclercq V., 2021. Plateforme SYCMA: expérimentations de SYstèmes de Culture en MAraîchage au CRA-W. *Itinéraires bio*. <https://orgprints.org/id/eprint/44910/>, (25/07/2025).

Jamar L., Leclercq V., Hardy B., Vanwindekens F., Stilmant D. & Huyghebaert B., 2023. Crop Yields, Nutrient Flows and Soil Status in Four Organic Vegetable Cropping Systems with High Fertility-Building Crop Diversity – a Long-Term Experiment in Belgium.

Johannes A., Matter A., Schulin R., Weisskopf P., Baveye P.C. & Boivin P., 2017. Optimal organic carbon values for soil structure quality of arable soils. Does clay content matter? *Geoderma* **302**, 14–21, DOI:[10.1016/j.geoderma.2017.04.021](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.04.021).

Josens & Hidvegi, n.d. Clef des lombriciens adultes de Belgique.

Karayel D. & Šarauskis E., 2024. Influence of tillage methods and soil crust breakers on cotton seedling emergence in silty-loam soil. *Soil and Tillage Research* **239**, 106054, DOI:[10.1016/j.still.2024.106054](https://doi.org/10.1016/j.still.2024.106054).

Karlen D.L., Mausbach M.J., Doran J.W., Cline R.G., Harris R.F. & Schuman G.E., 1997. Soil quality: A concept, definition, and framework for evaluation: (A guest editorial). *Soil Science Society of America Journal* **61**(1), 4–10, DOI:[10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x](https://doi.org/10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x).

Kerré B., Willaert B. & Smolders E., 2017. Lower residue decomposition in historically charcoal-enriched soils is related to increased adsorption of organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* **104**, 1–7, DOI:[10.1016/j.soilbio.2016.10.007](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.10.007).

Krause H.-M., Mueller R.C., Lori M., Mayer J., Mäder P. & Hartmann M., 2025. Organic cropping systems alter metabolic potential and carbon, nitrogen and phosphorus cycling capacity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* **203**, 109737, DOI:[10.1016/j.soilbio.2025.109737](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2025.109737).

Krauss M., Wiesmeier M., Don A., Cuperus F., Gattinger A., Gruber S., Haagsma W.K., Peigné J., Palazzoli M.C., Schulz F., van der Heijden M.G.A., Vincent-Caboud L., Wittwer R.A., Zikeli S. & Steffens M., 2022. Reduced tillage in organic farming affects soil organic carbon stocks in temperate Europe. *Soil and Tillage Research* **216**, 105262, DOI:[10.1016/j.still.2021.105262](https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105262).

Lagrange hélène, Le Souder C. & Masson E., 2022. Analyse de terre - La matière organique du sol, un indicateur à suivre, pas forcément à corriger. *ARVALIS*. <https://www.arvalis.fr/infos-techniques/la-matiere-organique-du-sol-un-indicateur-suivre-pas-forcement-corriger>, (28/03/2025).

Laishram J., Saxena K., Maikhuri R. & Rao K., 2012. Soil quality and soil health: A review. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences* **38**.

Lampurlanés J. & Cantero-Martínez C., 2003. Soil Bulk Density and Penetration Resistance under Different Tillage and Crop Management Systems and Their Relationship with Barley Root Growth. *Agronomy Journal* **95**(3), 526–536, DOI:[10.2134/agronj2003.5260](https://doi.org/10.2134/agronj2003.5260).

Langard E., Barbot C., Bogdanok M., Delaunay G., Munier C., Nussbaumer M. & Nassr N., 2024. SEFerSol : Stratégies innovantes d'Entretien de la Fertilité du Sol en maraîchage biologique. *Innovations Agronomiques* **98**, 125, DOI:[10.17180/ciag-2024-vol98-art09](https://doi.org/10.17180/ciag-2024-vol98-art09).

Larkin R.P., 2020. Effects of Selected Soil Amendments and Mulch Type on Soil Properties and Productivity in Organic Vegetable Production. *Agronomy* **10**(6), 795, DOI:[10.3390/agronomy10060795](https://doi.org/10.3390/agronomy10060795).

Larkin R.P., 2024. Effects of Different Cover Crops and Amendments on Soil and Crop Properties in Organic Vegetable Production. *Agronomy* **14**(1), 171, DOI:[10.3390/agronomy14010171](https://doi.org/10.3390/agronomy14010171).

Lenth R.V., Banfai B., Bolker B., Buerkner P., Giné-Vázquez I., Herve M., Jung M., Love J., Miguez F., Piaskowski J., Riebl H. & Singmann H., 2025. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means.

Liu W., Yang Z., Ye Q., Peng Z., Zhu S., Chen H., Liu D., Li Y., Deng L., Shu X. & Huang H., 2023. Positive Effects of Organic Amendments on Soil Microbes and Their Functionality in Agro-Ecosystems. *Plants* **12**(22), 3790, DOI:[10.3390/plants12223790](https://doi.org/10.3390/plants12223790).

Mazzoncini M., Antichi D., Di Bene C., Risaliti R., Petri M. & Bonari E., 2016. Soil carbon and nitrogen changes after 28 years of no-tillage management under Mediterranean conditions. *European Journal of Agronomy* **77**, 156–165, DOI:[10.1016/j.eja.2016.02.011](https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.02.011).

Metay A., Arrouays D., Labreuche J., Martin M., Nicolardot B. & Germon J.-C., 2009. Effets des techniques culturales sans labour sur le stockage de carbone dans le sol en contexte climatique tempéré. <https://cdnsciencepub.com/doi/abs/10.4141/CJSS07108>, (23/07/2025).

Muñoz-Rojas M., 2018. Soil quality indicators: critical tools in ecosystem restoration. *Current Opinion in Environmental Science & Health, Sustainable soil management and land restoration* **5**, 47–52, DOI:[10.1016/j.coesh.2018.04.007](https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.04.007).

Näsholm T., Kielland K. & Ganeteg U., 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist* **182**(1), 31–48, DOI:[10.1111/j.1469-8137.2008.02751.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02751.x).

ONU, 2022. La FAO appelle à inverser le processus de dégradation des sols | ONU Info. <https://news.un.org/fr/story/2022/01/1113212>, (25/02/2025).

Osunbitan J.A., Oyedele D.J. & Adekalu K.O., 2005. Tillage effects on bulk density, hydraulic conductivity and strength of a loamy sand soil in southwestern Nigeria. *Soil and Tillage Research* **82**(1), 57–64, DOI:[10.1016/j.still.2004.05.007](https://doi.org/10.1016/j.still.2004.05.007).

Peigné J., Cannavacuolo M., Gautronneau Y., Aveline A., Giteau J.L. & Cluzeau D., 2009. Earthworm populations under different tillage systems in organic farming. *Soil and Tillage Research* **104**(2), 207–214, DOI:[10.1016/j.still.2009.02.011](https://doi.org/10.1016/j.still.2009.02.011).

Pérez-Llorca M., Jaime-Rodríguez C., González-Coria J., Lamuela-Raventós R.M., Pérez M., Vallverdú-Queralt A., Hernández R., Chantry O. & Romanyà J., 2025. Increasing soil organic matter and short-term nitrogen availability by combining ramial chipped wood with a crop rotation starting with sweet potato. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **392**, 109740, DOI:[10.1016/j.agee.2025.109740](https://doi.org/10.1016/j.agee.2025.109740).

Prabhakaran S., Lévesque V., Lynch D.H. & Lafond J., 2025. Effect of Ramial Chipped Wood Amendment on Crop Yield and Soil Health in the Boreal Region of Canada.

Programme d'actions national des nitrates, 2020. L'azote est un élément indispensable à l'agriculture, mais il peut entraîner des pollutions. *Programme d'actions national nitrates*. <https://programme-nitrate.gouv.fr/lazote-est-element-indispensable-a-lagriculture-il-peut-entrainer-pollutions.html>, (27/03/2025).

Prout J.M., Shepherd K.D., McGrath S.P., Kirk G.J.D. & Haefele S.M., 2021. What is a good level of soil organic matter? An index based on organic carbon to clay ratio. *European Journal of Soil Science* **72**(6), 2493–2503, DOI:[10.1111/ejss.13012](https://doi.org/10.1111/ejss.13012).

R Core team, 2024. A Language and Environment for Statistical Computing. R: The R Project for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>, (14/08/2025).

Requasud, 2019. les matières organiques et la fertilité du sol. [https://www.requasud.be/wp-content/uploads/2019/09/Fiche-explicative-carbone\\_v01.pdf](https://www.requasud.be/wp-content/uploads/2019/09/Fiche-explicative-carbone_v01.pdf), (23/07/2025).

Riou V., 2018. Les bactéries du sol. [https://agronnaissances.fr/fileadmin/user\\_upload/Nouvelle-Aquitaine/204\\_Eve-Agronnaissances/cobra-ocaapi/Documents/Observer/20180403\\_SOLAG\\_bacteries\\_du\\_sol.pdf](https://agronnaissances.fr/fileadmin/user_upload/Nouvelle-Aquitaine/204_Eve-Agronnaissances/cobra-ocaapi/Documents/Observer/20180403_SOLAG_bacteries_du_sol.pdf), (25/03/2025).

Roger-Estrade J., Labreuche J. & Richard G., 2011. Effets de l'adoption des techniques culturales sans labour (TCSL) sur l'état physique des sols : conséquences sur la protection contre l'érosion hydrique en milieu tempéré. *Cahiers Agricultures* **20**(3), 186-193 (1), DOI:[10.1684/agr.2011.0490](https://doi.org/10.1684/agr.2011.0490).

Rossi G., Beni C. & Neri U., 2024. Organic Mulching: A Sustainable Technique to Improve Soil Quality. *Sustainability* **16**(23), 10261, DOI:[10.3390/su162310261](https://doi.org/10.3390/su162310261).

Sánchez-Monedero M.A., Mondini C., Cayuela M.L., Roig A., Contin M. & De Nobili M., 2008. Fluorescein diacetate hydrolysis, respiration and microbial biomass in freshly amended soils. *Biol Fertil Soils* **44**(6), 885–890, DOI:[10.1007/s00374-007-0263-1](https://doi.org/10.1007/s00374-007-0263-1).

Sharma S.K., Ramesh A., Sharma M.P., Joshi O.P., Govaerts B., Steenwerth K.L. & Karlen D.L., 2011. Microbial Community Structure and Diversity as Indicators for Evaluating Soil Quality. In: Lichtfouse, E. ed. *Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture*. Springer Netherlands, Dordrecht, 317–358.

Singh B. & Malhi S.S., 2006. Response of soil physical properties to tillage and residue management on two soils in a cool temperate environment. *Soil and Tillage Research* **85**(1), 143–153, DOI:[10.1016/j.still.2004.12.005](https://doi.org/10.1016/j.still.2004.12.005).

Singh S., Sharma A., Khajuria K., Singh J. & Vig A.P., 2020. Soil properties changes earthworm diversity indices in different agro-ecosystem. *BMC Ecol* **20**(1), 27, DOI:[10.1186/s12898-020-00296-5](https://doi.org/10.1186/s12898-020-00296-5).

Singh S.K., Krishna H., Sharma S., Singh R.K., Tripathi A.N. & Behera T.K., 2024. Organic Farming in Vegetable Crops: Challenges and Opportunities. *Vegetable Science* **51**, 1–10, DOI:[10.61180/vegsci.2024.v51.spl.01](https://doi.org/10.61180/vegsci.2024.v51.spl.01).

SPW, July-23-2025. MAEC Sol - MR14 (Nouveauté 2025) - Portail de l'agriculture wallonne. *Agriculture en Wallonie*. <https://agriculture.wallonie.be/home/aides/pac-2023-2027-description-des-interventions/mesures-agro-environnementales-et-climatiques-nouveaute-2025/maec-sol---mr14.html>, (23/07/2025).

Stark C., Condron L.M., Stewart A., Di H.J. & O'Callaghan M., 2007. Influence of organic and mineral amendments on microbial soil properties and processes. *Applied Soil Ecology* **35**(1), 79–93, DOI:[10.1016/j.apsoil.2006.05.001](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.05.001).

Topa D., Cara I.G. & Jităreanu G., 2021. Long term impact of different tillage systems on carbon pools and stocks, soil bulk density, aggregation and nutrients: A field meta-analysis. *CATENA* **199**, 105102, DOI:[10.1016/j.catena.2020.105102](https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.105102).

Tremblay J. & Beauchamp C.J., 1998. Fractionnement de la fertilisation azotée d'appoint à la suite de l'incorporation au sol de bois raméaux fragmentés: modifications de certaines propriétés biologiques et chimiques d'un sol cultivé en pomme de terre. <https://cdnsciencepub.com/doi/epdf/10.4141/S96-065>, (28/07/2025).

van Dael T., Verwerft Q. & Smolders E., 2025. The soil structural stability determined by the QuantiSlakeTest: Linkage with soil porosity, water-stable aggregate fractions and soil chemical properties. *Geoderma* **457**, 117281, DOI:[10.1016/j.geoderma.2025.117281](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2025.117281).

Vanwindekens F.M. & Hardy B.F., 2023. The QuantiSlakeTest, measuring soil structural stability by dynamic weighing of undisturbed samples immersed in water. *SOIL* **9**(2), 573–591, DOI:[10.5194/soil-9-573-2023](https://doi.org/10.5194/soil-9-573-2023).

Vigot marion & Cluzeau D., 2014. Les vers de terre. [https://clg-thierry-limay.ac-versailles.fr/IMG/pdf/guide\\_vers\\_de\\_terre\\_01.pdf](https://clg-thierry-limay.ac-versailles.fr/IMG/pdf/guide_vers_de_terre_01.pdf), (03/04/2025).

Vincent Q., Chartin C., Krüger I., van Wesemael B. & Carnol M., 2019. La qualité biologique et le carbone organique des sols agricoles en Wallonie.

Weil R. & Brady N., 2017. *The Nature and Properties of Soils. 15th edition.*

Wendt J.W. & Hauser S., 2013. An equivalent soil mass procedure for monitoring soil organic carbon in multiple soil layers. *European Journal of Soil Science* **64**(1), 58–65, DOI:[10.1111/ejss.12002](https://doi.org/10.1111/ejss.12002).

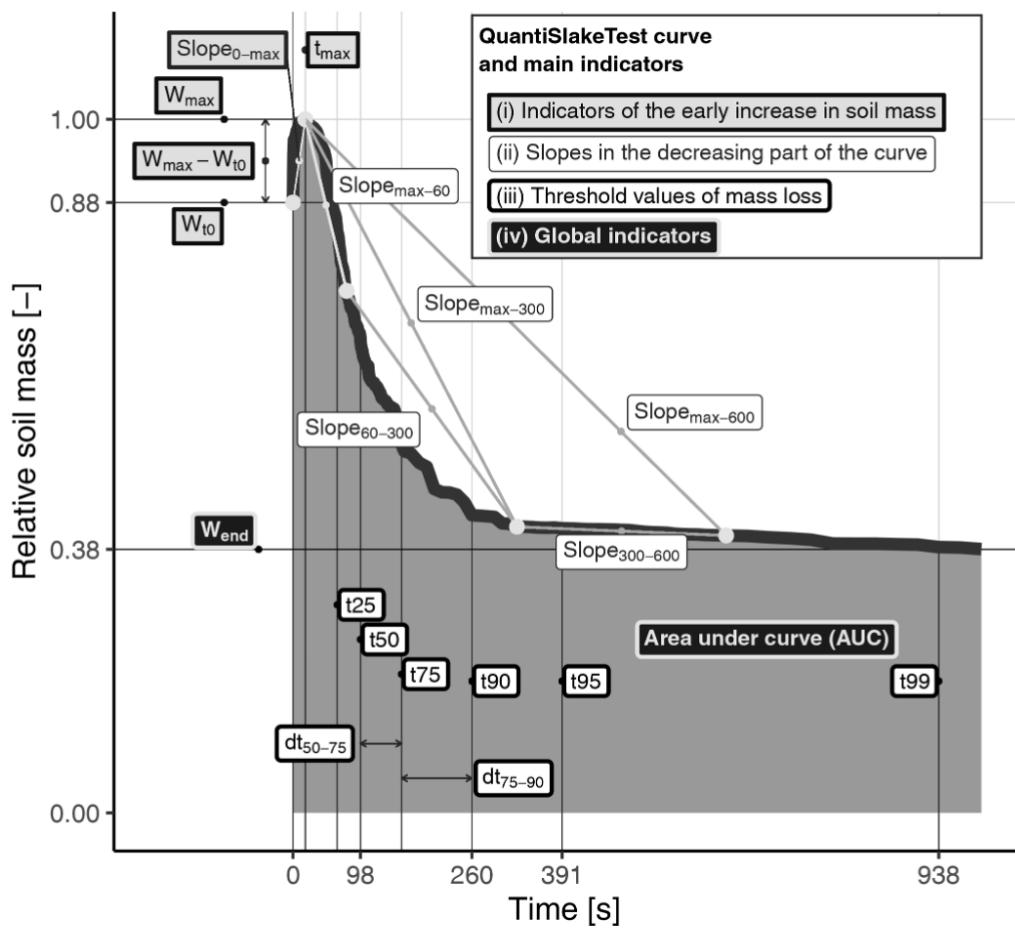
Zuber S.M. & Villamil M.B., 2016. Meta-analysis approach to assess effect of tillage on microbial biomass and enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* **97**, 176–187, DOI:[10.1016/j.soilbio.2016.03.011](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.03.011).

## 9. Annexes

Annexe 1: Composition de la préparation (50 L) destinée à l'extraction des vers de terre.

Quantité AITC (pureté=94% et densité=1,0175 g/cm <sup>3</sup> )	5g
Concentration AITC	0,1g AITC/L solution finale
Quantité d'isopropanol	1l
Concentration isopropanol	0,02 L isopropanol/L solution finale
Quantité d'eau	49L

Annexe 2 : Les différents indicateurs de la courbe dérivé du Quantislake test (Vanwindekens et al., 2023)



### Annexe 3 : Normes utilisées par les laboratoires pour les analyses chimiques

Carah :

- Carbone total (PTCT) - NF ISO 10694 - %
- Potassium échangeable (PTKASS) - NF X31-120 et NF EN ISO 11885 - mg/100 g
- Magnésium échangeable (PTMGECH) - NF X31-120 et NF EN ISO 11885 - mg/100 g
- Sodium échangeable (PTNAECH) - NF X31-120 et NF EN ISO 11885 - mg/100 g
- Azote organique (PTNO) - méthode Dumas - % N
- Phosphore assimilable (PTPHASS1) - NF X31-120 et NF EN ISO 11885 -- mg/100 g
- pH dans l'eau (PTPHH2O) - ISO 10390
- pH dans KCl (PTPHKCL) - ISO 10390

CPAR :

- La texture du sol - NF-X31-107:2003

## **Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil**

Reference: MOPIL002	Date of writing: 17/10/2024	Version n°1
---------------------	-----------------------------	-------------

Fluorescein diacetate [3',6'-diacetyl fluorescein (FDA)] is used to determine general microbial activity. This method is based on a hydrolysis reaction of converting FDA to fluorescein with ubiquitous enzymes like lipase, protease and esterase (in biochemistry, an esterase is a class of enzyme that splits esters into an acid and an alcohol in a chemical reaction with water called hydrolysis). Following hydrolysis of FDA, fluorescein is released and can be measured spectrophotometrically.

### **1. MATERIAL (TOOLS AND REAGENTS)**

#### **Reagents**

- Phosphate buffer pH 7.6
- Aceton pure Lot #22114003
- Fluorescein diacetate (Sigma-aldrich) Lot # MKCC8346 powder form
- Fluorescein (Sigma-aldrich) powder form

#### **Tools**

- Precision scale
- Falcon tubes 50 mL (N per sample + 2 tubes for FDA solutions)
- Incubator shaker
- Sonicator
- Aluminium for covering 4 Falcon tubes and 1 Eppendorf tube
- Black microplate
- Spectrophotometer microplate reader (eg. Tecan)

#### **Before starting**

Prepare phosphate buffer pH 7.6 (needs autoclaving step).

### **2. METHOD**

#### **FDA test**

##### **1) Prepare soil solution**

Weigh 1,250 g of soil into a 50 mL Falcon tube

- Add 20 mL of phosphate buffer

- 
- Shake for 10 min, 335 rpm
  - Sonicate for 2 min
  - Shake for 5 min

2) Prepare FDA solutions

FDA1 Stock solution (5 mg/mL):

- Weigh 50 mg of FDA into a 1,5 mL Eppendorf tube, add 1 mL of acetone and then transfer to 50 mL Falcon tube covered with aluminum
- Add 9 mL of acetone to dissolve

Store at 4°C, protecting from light.

FDA2 solution (FD 25x, 0.2mg/mL) (prepare fresh for each use):

Into a 50 mL Falcon tube covered with aluminum add as follows:

4,8 mL	phosphate buffer
4,8 mL	acetone
400 uL	FDA1 stock solution

3) Fill the black microplate

- For each sample (Test) repeat at least 4 times (minimum 4 wells)
- For Blank repeat at least 8 times (8 wells)
- Before taking the soil sample, make sure to homogenize them properly (resuspend all)

	Test (1 well)	Blank (1 well)
Phosphate buffer	195 uL	220 uL
Soil sample	25 uL	-
FDA2 solution	30 uL	30 uL

4) Read fluorescence

Insert the plate into the spectrophotometer plate reader (eg. Tecan). Measure the fluorescence every 5 min for 2 hours. Excitation wavelength 495 nm, emission wavelength 535 nm, Gain 20.

### **Calibration curve for fluorescein**

#### 1) Prepare fluorescein solutions:

##### Stock solution « A » 0,5 mg/mL:

- Weigh 6,7 mg (0,0067 g) of fluorescein in Eppendorf 1,5 mL tube covered with aluminium
- Add 1 mL of aceton
- Transfer all the solution from Eppendorf tube into a 50 mL Falcon tube with 12,4 mL of aceton, covered with aluminium

Store at 4°C, protecting from light.

##### Solution « B » DF 40X, 0,0125 mg/mL:

Prepare fresh for each use.

- Take 200 uL from solution A into a 7,8 mL of aceton in a 50 mL Falcon tube

If needed make solution « C » DF 800X (from sol A), 0,625 ug/mL:

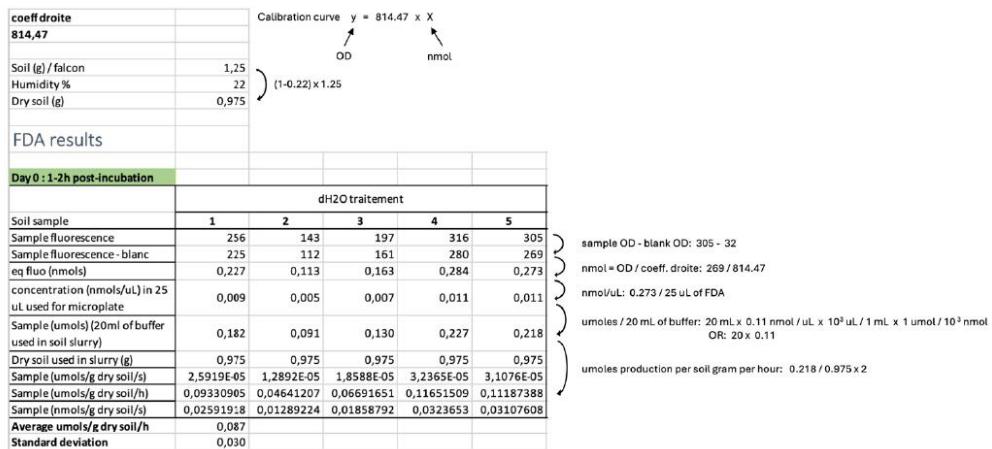
- Take 500 uL from solution B into a 9,5 mL of aceton in a 50 mL Falcon tuve

#### 2) Fill the black microplate

- Make in triplicate each condition (3 wells per condition)
- Before taking the soil sample, make sure to homogenize it properly (resuspend all)
- Before doing the calibration curve, measure fluorescence of a known quantity of solution A and B (C if done). Choose one solution for calibration curve.
- Final volume of the well should always be 250 uL

Exemple :

	1 (well)	2 (well)	3 (well)	4 (well)	5 (well)
Phosphate buffer (uL)	225	220	215	210	205
Soil sample (uL)	25	25	25	25	25
Fluorescein (uL)	0	5	10	15	20



**Fig. 1.** Calculation of the conversion from FDA hydrolysis activity (measured in OD units) to the production of umoles of fluorescein per gram of soil per hour.

### Composition of buffers

#### Phosphate buffer pH 7.6

Into a Schott bottles of 1 L:

8,7 g	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
1,3 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>

Wait until the powder is dissolved with an aid of a magnetic stirrer

Adjust the pH to 7.6

800 mL	Disstilled water
200 mL	Disstilled water

Autoclave for 20 min at 120°C

---

### **3. REFERENCES**

- Protocol from Caroline De Clerck

## Annexe 5 : Protocole MicroResp pour l'étude de la respiration microbienne dans le sol

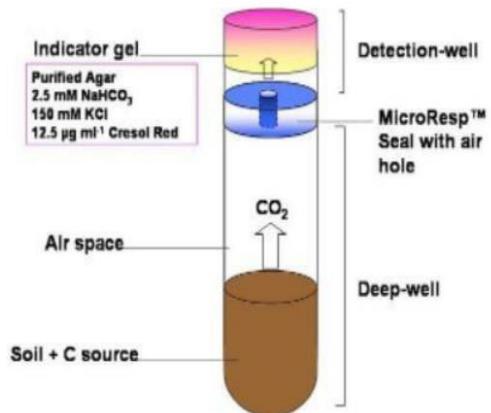
### Protocole MicroResp

#### 1 Principe

« MicroResp a été développée par Campbell (Campbell et al., 2003) pour mesurer l'évolution du CO<sub>2</sub> sur une courte période de temps (4-6 h).

Il s'agit d'une technologie basée sur l'utilisation d'un indicateur coloré (Rouge de créosol) qui change de couleur avec le changement de pH : il passe du rose au jaune, quand le pH devient plus acide.

Le rouge de créosol est préparé dans un milieu d'indication contenant du bicarbonate de sodium. Lorsque du CO<sub>2</sub> réagit avec le bicarbonate de sodium contenu dans le milieu d'indication selon l'équation suivante et le schéma ci-dessous, le pH du milieu d'indication décroît et le rouge de créosol change la couleur de ce dernier, ce qui permet de doser la quantité de CO<sub>2</sub> qui a réagi avec le milieu d'indication (Rowell, 1995) :



*Méthode colorimétrique Microresp de mesure du CO<sub>2</sub> libéré d'un échantillon de sol*

(“Science behind MicroResp™,” 2019)» (TFE SAMAD IDI-ISSA, 2022).

## 2 Echantillons de sol

### 2.1 Prélèvements

Huit prélèvements sont réalisés sur la surface supérieure de chaque butte à l'aide d'une tarière de 30 cm de long. Chacun de ces prélèvements sont séparés arbitrairement en trois sur base de critères visuels et sont regroupés en échantillons composites. Chaque échantillon composite est représentatif d'une couche de sol constituant la butte. La couche 1 étant considérée comme la couche de surface faisant entre 15 et 30 cm selon les modalités, la couche 2 constituée de la matière organique en décomposition (10-30 cm) et la couche 3 de la terre de fond de la butte (20-30 cm).

Si on sépare le sol de chaque butte en 3 couches, il y aura 3 couches x 5 modalités x 4 répétitions = 60 échantillons composites. Pour le MicroResp, les prélèvements de quatre répétitions par modalité de butte seront échantillonnés et l'on va s'intéresser qu'au 2 premières couches des buttes, ce qui donne un total de 2 couches x 5 modalités x 4 répétitions = 40 échantillons à analyser .

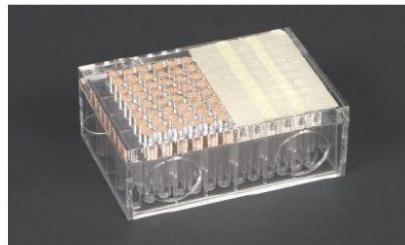
### 2.2 Préparation

1. Tamiser, à l'aide d'un tamis de maille 2mm, chaque échantillon afin de retirer les racines et les pierres.  
⇒ *Laisser stocker à 4°C les échantillons de sol prélevés quand ils ne sont pas utilisés*
2. Echantillonner une partie des prélèvements de sol tamisés afin d'avoir des échantillons de taille adéquate.
3. Déterminer la teneur en humidité de chaque échantillon de sol  
Pour ce faire :
  - a) Prélever une partie de l'échantillon (minimum 10 g) qui servira d'échantillon martyr, celui pourra être séché afin d'en connaître la masse sèche
  - b) Peser l'échantillon de terre fraîche → **masse fraîche martyr**
  - c) Sécher l'échantillon au four à 105°C pendant minimum 48h
  - d) Peser l'échantillon après séchage → **masse sèche martyr**
  - e) Calculer la proportion d'eau dans le sol frais :
    - a. % Poids sec par unité de sol frais = (masse sèche / masse fraîche)\*100
    - b. Teneur en eau du sol frais (%) = 100 - % Poids sec = % eau par unité de sol frais
4. Déterminer la capacité maximale de rétention d'eau de chaque échantillon de sol exprimée en pourcentage de sol sec (*capacité des particules d'un sol à retenir physiquement le maximum d'eau contre la force de la gravité, par unité de poids sec*)
  - a) Placer la terre sèche dans un gobelet en plastique perforé dans le fond à l'aide d'une aiguille.



- b) Placer le gobelet dans un bac rempli d'eau. Attendre que la surface de l'échantillon soit mouillé et que l'ensemble de la terre soit gorgée d'eau.
  - c) Une fois l'échantillon de sol entièrement humidifié, le peser → **masse humide martyr**
  - d) Calculer la **capacité maximale de rétention d'eau** de l'échantillon par unité de sol sec (%) =  $((\text{masse humide} - \text{masse sèche}) / \text{masse sèche}) * 100$
5. Ajuster la teneur en humidité des échantillons de sol à 30% de leur capacité maximale de rétention d'eau.
- a) Peser le restant de l'échantillon de sol frais → **masse fraîche à étudier**
  - b) Calculer sa masse sèche théorique à l'aide du % de poids sec : % Poids sec \* masse fraîche à étudier = **masse sèche théorique (g)**
  - c) Calcul de la masse d'eau du sol frais : Teneur en eau du sol frais (%) \* masse fraîche à étudier = **masse d'eau du sol frais (g)**
  - d) Calcul de la masse d'eau du sol lorsque celui-ci a atteint 30% de sa capacité maximale de rétention d'eau :  $30\% * \text{Capacité maximale de rétention d'eau (\%)} * \text{masse sèche théorique} \rightarrow \text{masse d'eau du sol à 30\% de la capacité maximale de rétention d'eau}$   
Calcul de la masse d'eau à ajouter au sol frais pour atteindre 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 du sol frais = **masse d'eau à ajouter au sol frais (1g d'eau = 1 ml d'eau)**
  - e) Afin de connaître le pourcentage de la capacité maximale de rétention d'eau déjà présent dans le sol frais, il suffit de faire de rapport entre la teneur en eau du sol frais et la capacité maximale de rétention d'eau :  $\text{teneur en eau du sol frais (\%)} / \text{capacité maximale de rétention d'eau (\% de sol sec)}$ .
6. Une fois la teneur en eau de l'ensemble des échantillons ajustée à 30% de leur capacité maximale de rétention d'eau, il suffira de remplir la plaque à puits profonds avec les échantillons à étudier. Pour ce faire, il est nécessaire d'utiliser le dispositif de remplissage MicroResp ainsi que la plateau coulissant en plexiglass. Afin d'éviter d'éventuels mélanges d'échantillons lors du remplissage des puits profonds, il est fortement recommandé de couvrir les puits vides et ceux déjà remplis à l'aide de ruban adhésif et de ne laisser ouverts que ceux à remplir.





7. Peser la plaque à puits profonds après chaque remplissage d'échantillon. Cette étape permettra d'obtenir la masse moyenne de sol dans un puit profond et ce pour chaque type d'échantillon. Cette donnée sera utilisée dans le calcul du taux de CO<sub>2</sub> émis.
8. Une fois la plaque à puit profond remplie, la recouvrir de parafilm.

### 2.3 Incubation

Avant de pouvoir mesurer l'activité microbienne des sols, ces derniers doivent être incubés dans une étuve pendant 60h à 25°C. Il est important que cette incubation se fasse dans une étuve qui permet de garder une température constante pendant toute la durée de l'incubation.

L'incubation permet de stabilisé les sols à une humidité constante une fois celle-ci ajustée à 30% de la capacité maximale de rétention d'eau.

## 3 Protocole de détection colorimétrique de respiration des microorganismes du sol

### 3.1 Présentation du dispositif

Dans cette expérimentation, le dispositif expérimental MicroResp sera utilisé afin de quantifier l'émission de CO<sub>2</sub> de différents types de sols. Ce dernier est constitué d'une plaque à 96 puits profonds, d'un dispositif de remplissage, d'un plateau coulissant en plexiglass, d'un tapis de fermeture en caoutchouc, d'une microplaquette de détection et d'un dispositif de fermeture en métal.



### 3.2 Préparation de la microplaquette de détection

#### 3.2.1 Préparation de la solution mère indicatrice

1. Mesurer 900ml d'eau déminéralisée et les mettre dans un bêcher de 1000ml
2. Mettre le bêcher sur l'agitateur magnétique chauffant et porter la température de l'eau déminéralisée à environ 60°C.  
→ /!\ ne pas dépasser 65°C auquel cas le rouge de crésol sera rendu inutilisable et il faudra recommencer la préparation.
3. Ajouter à l'eau déminéralisée un barreau aimanté et lancer l'agitation à intensité moyenne
4. Ajouter à l'eau déminéralisée chaude : 18.75mg de Crésol Rouge, puis 16.77g de Chlorure de potassium et enfin 0.315g de Bicarbonate de sodium

5. Une fois les trois solutés dissous, ajuster le volume à 1000ml avec de l'eau déminéralisée et laisser mélanger encore un peu
  6. Transférer les 1000ml de solution obtenue dans une bouteille en verre. On y prélevera la quantité nécessaire pour la suite du protocole  
*→ Stocker la solution à 4°C à l'abris de la lumière. Dans ces conditions, sa durée d'utilisation peut atteindre les 6 mois.*
- 3.2.2 Préparation de la solution d'agar purifié 3%
1. Ajouter 100ml d'eau déminéralisée dans un bêcher de 100ml, puis 3g de poudre d'agar dans le même récipient
  2. Dissoudre la poudre d'agar dans l'eau déminéralisée jusqu'à obtenir une solution translucide, à l'aide de l'agitateur magnétique chauffant réglé sur 100°C pendant 5 à 10 min.
  3. Après l'avoir transvasée dans une bouteille en verre, faire refroidir la solution d'agar 3% obtenue en la laissant à l'air libre 1 à 2 minutes tout en la remuant.
  4. Ensuite, placer la bouteille dans un bain-marie à 60°C
- 3.2.3 Préparation de la solution de détection
1. Combiner la solution mère indicatrice et la solution d'agar 3% selon un ratio 1:2 (agar : indicatrice).  
*→ Préalablement au mélange des deux solutions, il faut qu'elles soient à la même température. Il faut donc mettre dans une bouteille en verre la quantité de solution mère indicatrice requise pour le mélange, puis placer cette bouteille en verre dans le bain marie à 60°C.*
- 3.2.4 Préparation d'une microplaqué de détection
- L'idéal est de préparer plusieurs microplaques en même temps, car le taux de réussite n'est pas de 100% et cela permettra d'avoir plusieurs plaques à disposition afin d'enchaîner les expérimentations si besoin.
1. À l'aide d'une pipette, disposer dans chaque puit un aliquote de 150µl de la solution de détection  
*→ Eviter la formation de bulle dans le gel lors de l'insertion de la solution indicatrice dans les puits.*
  2. Stocker la microplaqué dans un dessiccateur fermé et à l'abris de la lumière. Placer un petit erlenmeyer rempli d'eau et un pot de cristaux de chaux sodée au fond du dessiccateur.  
*→ Le but est de garder une atmosphère humide dans le dessiccateur tant qu'une microplaqué y est conservée.*
  3. Laisser s'équilibrer la microplaqué pendant 2 jours avant la première utilisation.
- 3.3 Préparation et remplissage de la plaque à puits profonds
1. Commencer par lire l'absorbance de la microplaqué à 570nm et à 20°C à l'aide d'un spectrophotomètre du type *Thermo Scientific Multi scan Go* et sauvegarder les résultats « At0 ». Ensuite vérifier le % de coefficient de variance (%CoV) afin de savoir si la microplaqué est conforme (%CoV < 5%).  
 i. Formule : % CoV = (écart-type/moyenne)\*100  
 Après lecture de l'absorbance, replacer la microplaqué de détection dans le dessiccateur en verre jusqu'à l'étape 8.
  2. Introduire un témoin positif, une solution de NaHCO3 0.25% dans la 11<sup>ème</sup> colonne de la plaque à puits profonds, à raison de 150µl par puit.

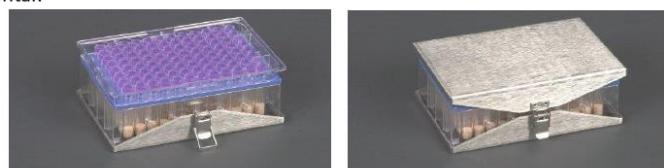
9. Introduire de l'eau distillée, à raison de 300µl par puit, comme témoin négatif (blanco) dans la 12<sup>ème</sup> colonne de la plaque à puits profond.
10. Insérer 150µl d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30% dans les puits de la 11<sup>ème</sup> colonne de la plaque puits profonds.
11. Une fois la plaque à puits profonds complètement remplie, la recouvrir avec le tapis de fermeture en caoutchouc.



12. Sortir la microplaque de détection du dessicteur et l'emboîter au dispositif composé de la plaque à puits profonds et du tapis de fermeture en caoutchouc. Cela doit être réalisé de sorte que le micropuit A1 corresponde au puit profond A12.



13. Celé le tout à l'aide du dispositif en métal permettant d'assurer l'étanchéité du dispositif expérimental.



14. Incuber le dispositif pendant 6h à 20°C.
  15. Après incubation, détacher le tout et immédiatement lire l'absorbance de la microplaque à 570nm et à 20°C à l'aide d'un spectrophotomètre du type *Thermo Scientific Multi scan Go* et sauvegarder les résultats « At6 ».
- *La microplaque de détection peut être réutilisée tant que la solution détection n'a pas séché et qu'elle est retournée à sa couleur et absorbance d'origine.*

#### 4 Bibliographie

- Campbell C.D., Chapman S.J., Cameron C.M., Davidson M.S. & Potts J.M., 2003. A Rapid Microtiter Plate Method To Measure Carbon Dioxide Evolved from Carbon Substrate Amendments so as To Determine the Physiological Profiles of Soil Microbial Communities by Using Whole Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**(6), 3593–3599, DOI:10.1128/AEM.69.6.3593-3599.2003.
- Rowell M.J., 1995. Colorimetric method for CO<sub>2</sub> measurement in soils. *Soil Biol. Biochem.* **27**(3), 373–375, DOI:10.1016/0038-0717(94)00218-P.
- Science behind MicroResp™, 2019. . <https://www.microresp.com/science>, (09/02/2023).

## Annexe 6: Calcul pour le protocole microresp

### 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 (At0) and 6hr (At6) data in single columns alongside each other.

At0 plate

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

At6 plate

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

At0 and At6 in columns

At0	At6
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 (At0) and multiply by the mean of the  $A_{570}$  reading at time 0 (At0).

To Normalise:

$$\text{6hr data: } A_i = (\text{At6} / \text{At0}) \times \text{Mean (At0)}$$



### iii. % CO<sub>2</sub> Calculations

The following formula converts the normalised 6hr data (Ai6) to %CO<sub>2</sub>:

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

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. CO<sub>2</sub> production rate

The CO<sub>2</sub> rate is calculated by converting the 6hr % CO<sub>2</sub> data to µg/g/h CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub> rate (µg CO<sub>2</sub>-C/g/h) is calculated as follows:

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

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

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](http://www.qiagen.com/HB-2495)
- Safety Data Sheets: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)
- Technical assistance: [support.qiagen.com](http://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.
  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 × 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 × 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  $\mu$ l of the lysate onto an MB Spin Column and centrifuge at 15,000  $\times g$  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  $\mu$ l of Solution EA to the MB Spin Column. Centrifuge at 15,000  $\times g$  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  $\mu$ l of Solution C5 to the MB Spin Column. Centrifuge at 15,000  $\times g$  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  $\times g$  for 2 min. Carefully place the MB Spin Column into a new 1.5 ml Elution Tube (provided).
16. Add 50–100  $\mu$ l of Solution C6 to the center of the white filter membrane.
17. Centrifuge at 15,000  $\times g$  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



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]. 1117569 05/2019 HB-2494-003 © 2019 QIAGEN, all rights reserved.

---

Ordering [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Technical Support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

## Annexe 8: Quantification de l'ADN extrait par fluorescence

### Protocole

On utilise le Spectrophotomètre ND-1000 (NanoDrop Technologies) afin de quantifier la concentration d'ADN présent dans notre extraction ainsi que les impuretés telles que les protéines et résidus de produits du kit d'extraction (EDTA, etc.).

### Matériel nécessaire :

- ADN extraits
- Pipette de 2 $\mu$ l et tips
- Eau distillée
- Dernière solution du kit d'extraction, dans lequel l'ADN extrait baigne (= *blanc*)
- Bic et cahier de labo

### Méthodologie :

1. Lancer le programme nanodrop sur l'ordinateur.
2. Soulever le pied, ajouter 2 $\mu$ l d'eau distillée dans le premier trou, refermer le pied
3. Cliquer sur « ok water sample »
4. Soulever le pied, essuyer avec un papier l'endroit où on a mis l'eau et mettre 2 $\mu$ l de *blanc*
5. Vérifier que le programme est bien sur analyse d'ADN
6. Cliquer sur « blanc »
7. Soulever le pied, essuyer avec un papier et mettre 2 $\mu$ l de solution avec ADN extrait et lancer le programme
8. Procéder de la même manière que l'étape 7 pour tous les échantillons

Les informations qui nous intéressent sont la quantité d'ADN extrait (ng/ $\mu$ l), la quantité 260/280 et 260/230.

### Absolute quantification by qPCR SybrGreen

Reference: MOPIL003	Date of writing: 30/06/2025	Version n°2
---------------------	-----------------------------	-------------

qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction), also called real-time PCR, is a method used to quantify amplified DNA during each cycle of the PCR reaction.

When performed with SYBR Green, a fluorescent dye, the fluorescence intensity is measured at every cycle. SYBR Green binds specifically to double-stranded DN, so the fluorescence signal increases proportionally as more DNA is synthesized.

This allows researchers to monitor the amplification in real time and accurately determine the initial amount of target DNA.

Absolute quantification in qPCR is a precise method that quantifies the absolute amount of a target gene by using external standards (plasmid with the gene of interest).

## 1. MATERIAL (TOOLS AND REAGENTS)

- qPCR machine with a 96-well plate (CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System, machine at CRA)
- 96-well plate (Hard-Shell PCR Plates, 96-well, thin-wall #HSP9655 BIO-RAD)
- Adhesive seal (Microseal 'B' seal, #MSB10C1 BIO-RAD)
- DNA diluted in nuclease-free water at 10 ng/µL
- Primers (10 µM):

Target	Primers	Sequence (5'->3')	Aim
16S	341F	CCTACGGGNGGCWGCAG	Amplification of Variable region #3 of 16S rRNA, amplicon size 193 bp
	534R	ATTACCGCGGCTGCTGGCA	
18S	FF390	CGATAAACGAACGAGACCT	Amplification of Variables regions #8 and #8 of 18S rRNA, amplicon 350 bp
	FR1	AICCATTCAATCGGTAIT	

- Plasmids with inserted 16S rRNA or 18S rRNA gene
- Ultrapure water (free of nucleases)
- Enzyme GoTaq® qPCR Master Mix (2X) Promega
- PCR strip tubes 0.2 mL

## 2. METHOD

### Notes Before Starting

- Disinfect the bench top with 70% EtOH.
- Wear gloves.
- Use sterile tips with filters to prevent contamination.

- 
- Keep samples on ice.
  - Do not vortex samples containing DNA polymerase (e.g., GoTaq and reaction mix).
  - Use different primers, plasmids, and programs for 16S and 18S.
  - Primers made of 20 nt are ideal.
  - Use the UV hood for mix preparation (15 min of UVs for surface sterilization).

### **1. DNA and primers preparation**

- Dilute DNA to 10 ng/ $\mu$ L with ultrapure water (final volume = 50  $\mu$ L). No need to check with Nanodrop.
- Dilute primers to 10  $\mu$ M with ultrapure water (final volume = 100  $\mu$ L).

### **2. Mix preparation for DNA & standard curve samples**

	For 1 sample ( $\mu$ L)	For X+2 samples
H <sub>2</sub> O Nuclease Free	3.6	
Primer 1 (10 $\mu$ M)	0.2	
Primer 2 (10 $\mu$ M)	0.2	
GoTaq® qPCR Master Mix (2X)	5	
Final volume	10	

- Keep all components on ice (H<sub>2</sub>O, primers, GoTaq)
- Protect GoTaq from light

### **3. Plasmid serial dilutions for standard curve**

- Make serial dilutions of the plasmid in PCR microtubes with individual caps from 10<sup>8</sup> to 10<sup>3</sup> plasmid copies (final volume = 10  $\mu$ L)
- Prepare dilutions in triplicate

### **4. Filling the Plate**

- Fill wells with 9  $\mu$ L of reaction mix, ensuring all is deposited at the bottom.
- Add 1  $\mu$ L of DNA (plasmid or samples) to the mix.
- Seal with plastic film.

- 
- Centrifuge the plate at 400 rpm for 2 min. The plate is ready for qPCR.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	$10^8$	$10^8$	$10^8$	R1	R2	R3	R'1	R'2	R'3	...		
B	$10^7$	$10^7$	$10^7$									
C	$10^6$	$10^6$	$10^6$									
D	$10^5$	$10^5$	$10^5$									
E	$10^4$	$10^4$	$10^4$									
F	$10^3$	$10^3$	$10^3$									
G												
H	Negative control	Negative control	Negative control									

## **5. Process results**

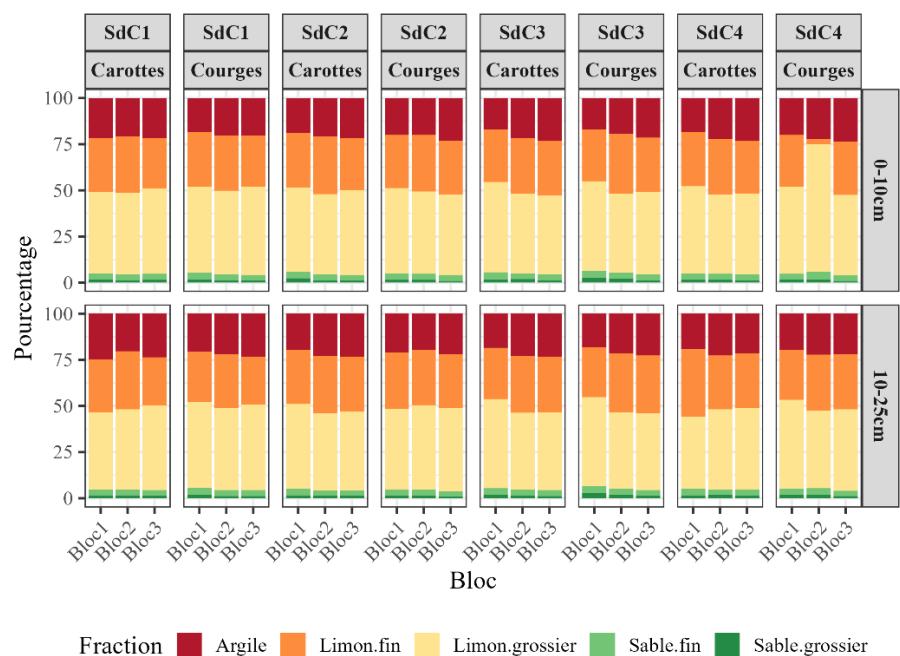
- Threshold settings are automatically calculated by the qPCR machine. It is possible to change the value manually while proceeding the results.
- Use only Ct values for the analysis.
- qPCR products can be run on a gel and purified for sequencing if needed.

**Analysis on Bio-Rad CFX Software** (<https://bio-rad-cfx-manager.software.informer.com/>). To do, import the .pcrd file. Check the melt curve plot to access the specificity of amplification. For further analysis, take out the Cq values and proceed with excel file. For the standard curve, keep only the values allowing R2 tend to 1.

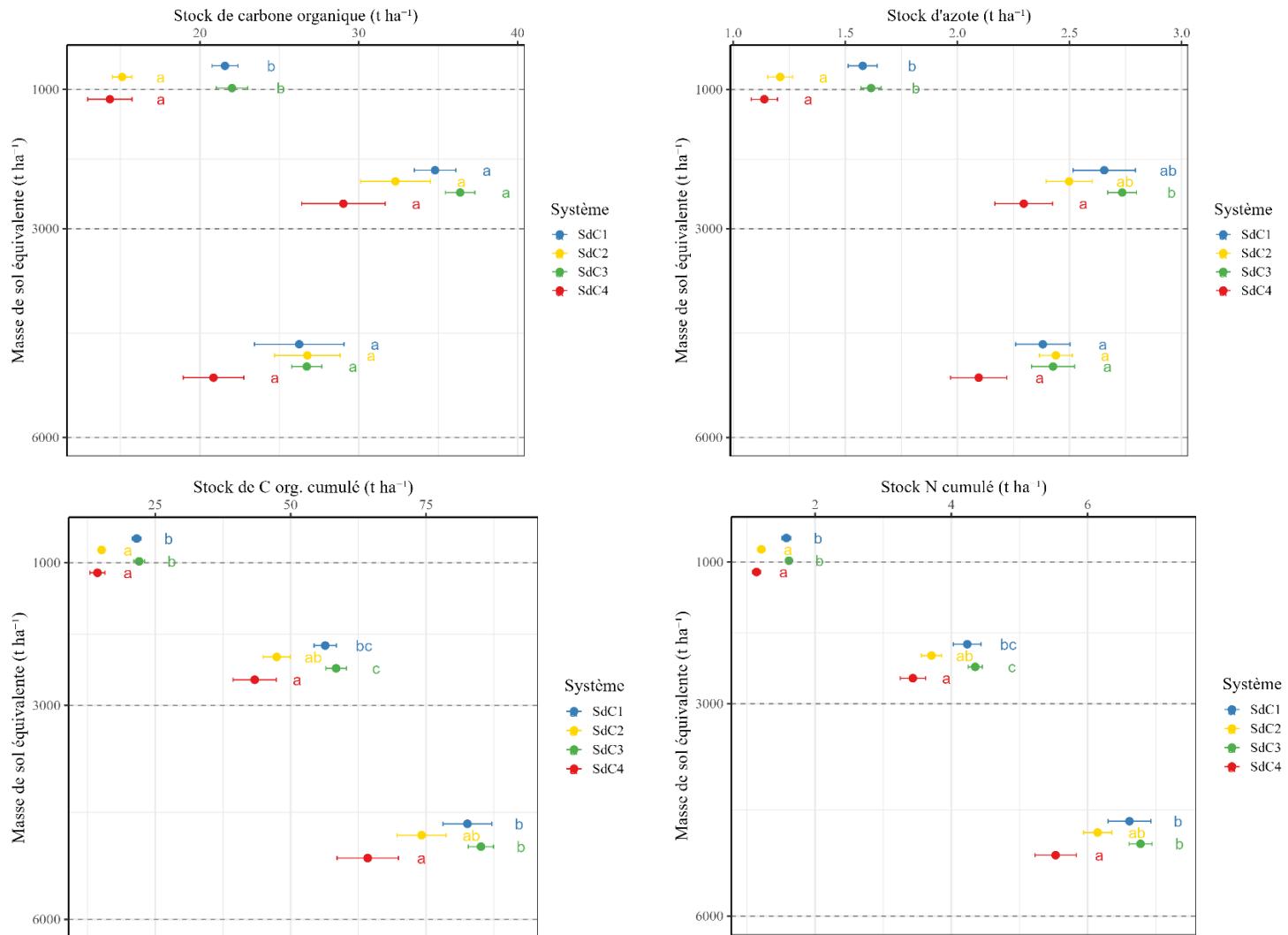
Open the .pcrd file with QuantStudio software:

- Check Threshold
- Check Negative Control Cq
- Check Melt Curve: if multiple peaks are present, run the product on an agarose gel to ensure there is only one band.
- Export results in excel

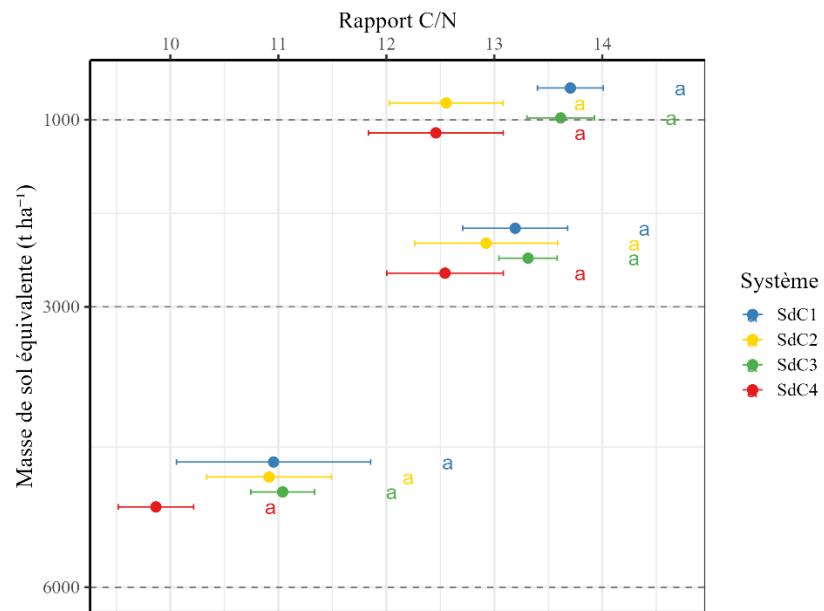
Annexe 10 : Granulométrie en fonction des systèmes de culture



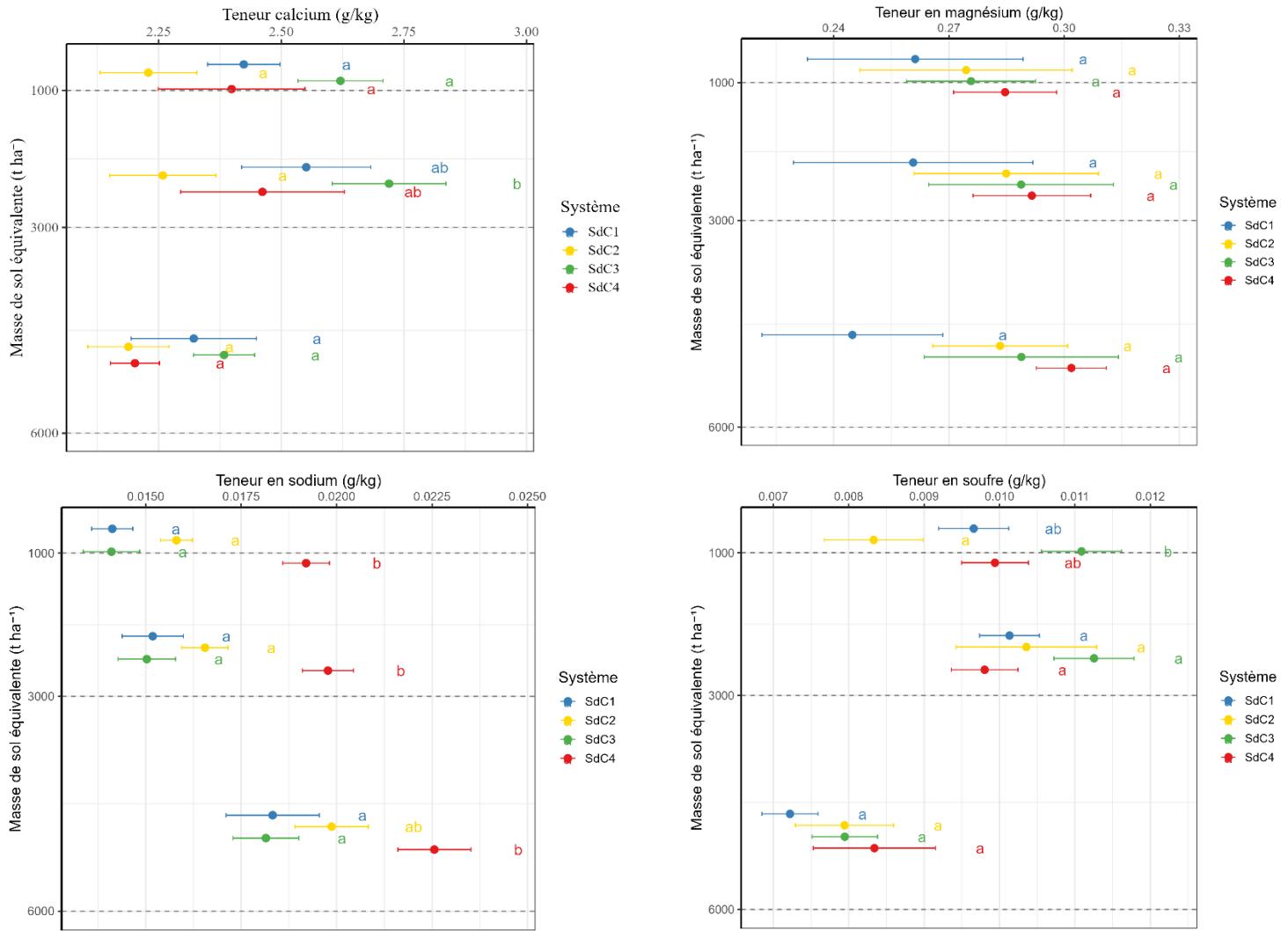
Annexe 11 : Stock de carbone et d'azote non cumulé et cumulé en fonction de la masse de sol équivalente



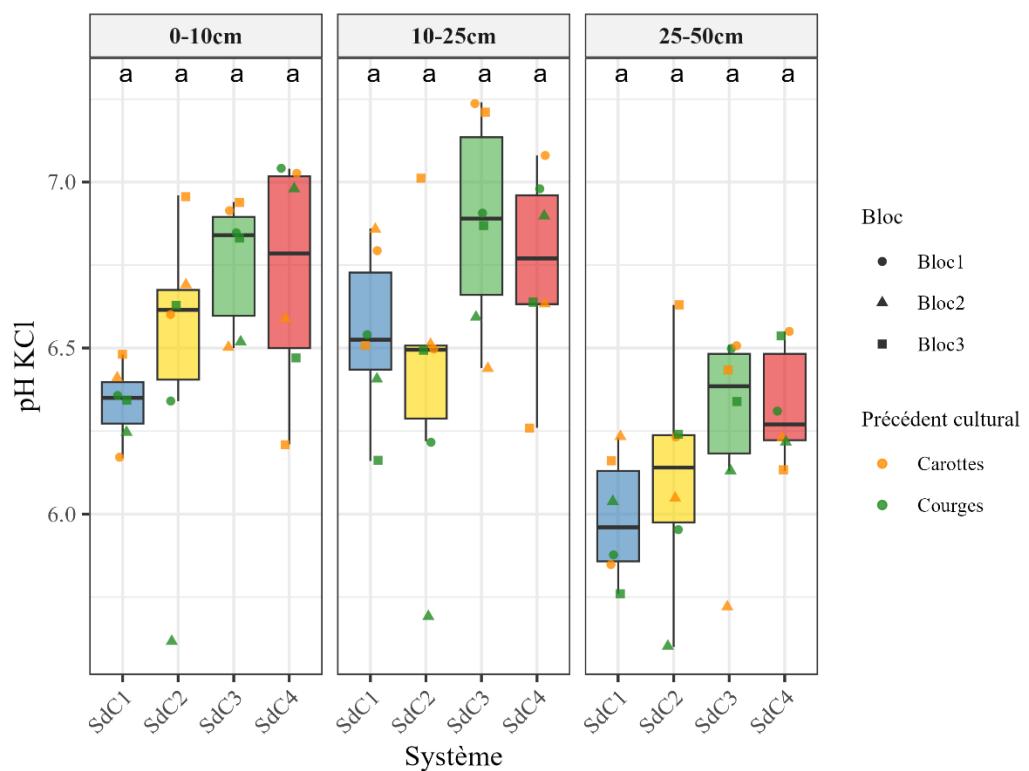
Annexe 12 : Rapport C/N en fonction de la masse de sol équivalente



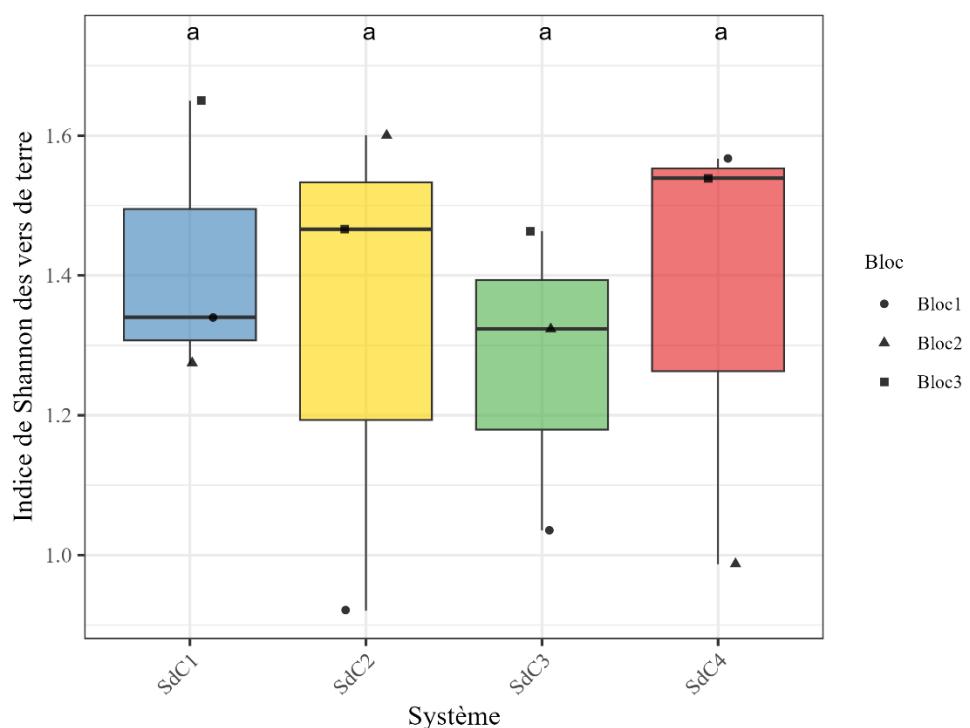
Annexe 13: Teneurs des différents éléments chimiques en fonction de la masse de sol équivalente



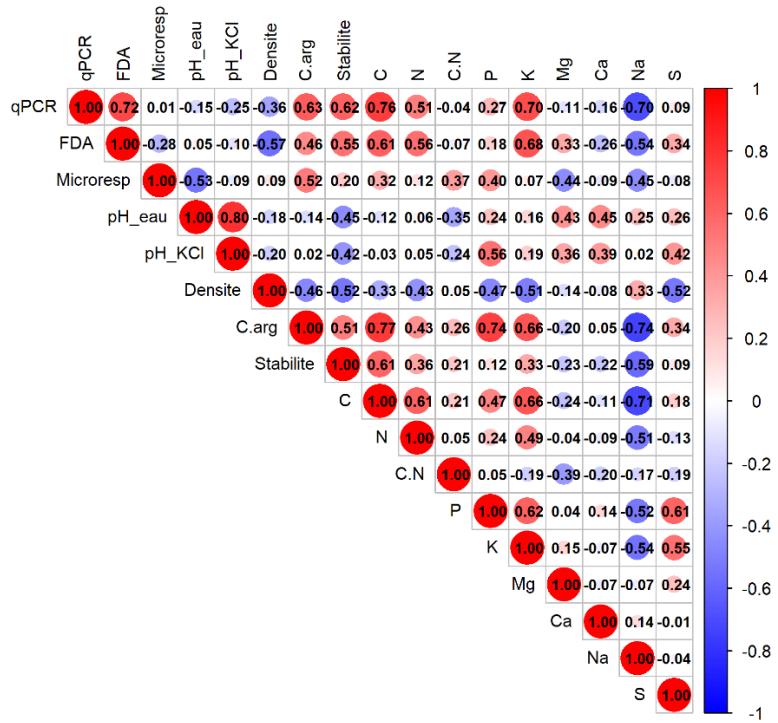
Annexe 14: pH KCl des systèmes de culture en fonction des différents horizons



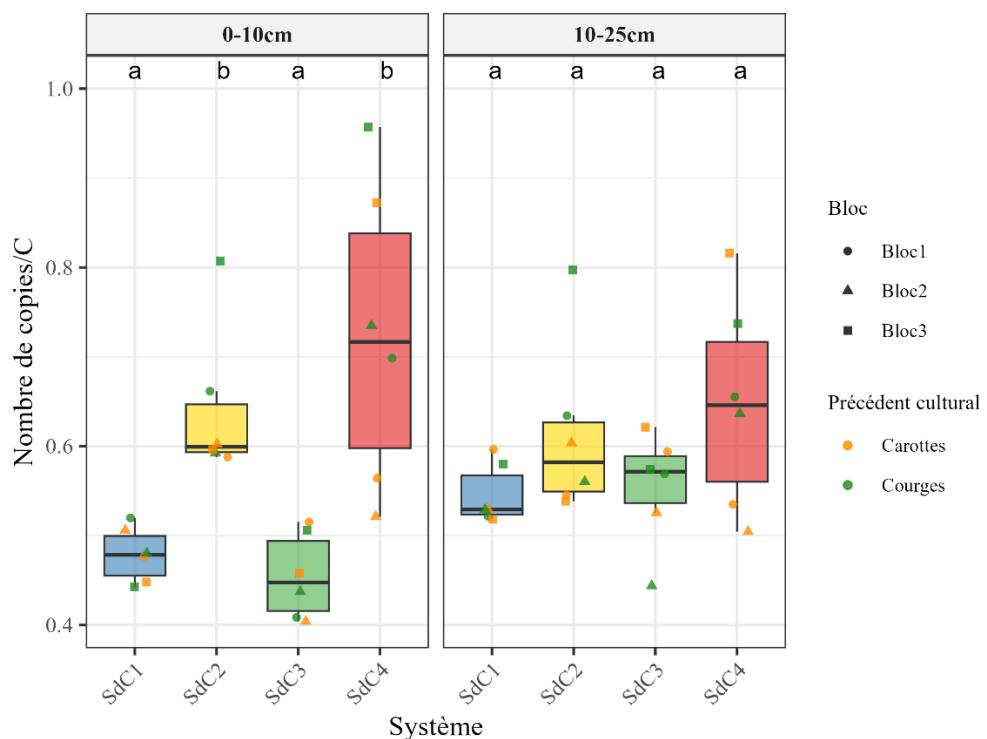
Annexe 15 : Indice de shannon pour les vers de terre



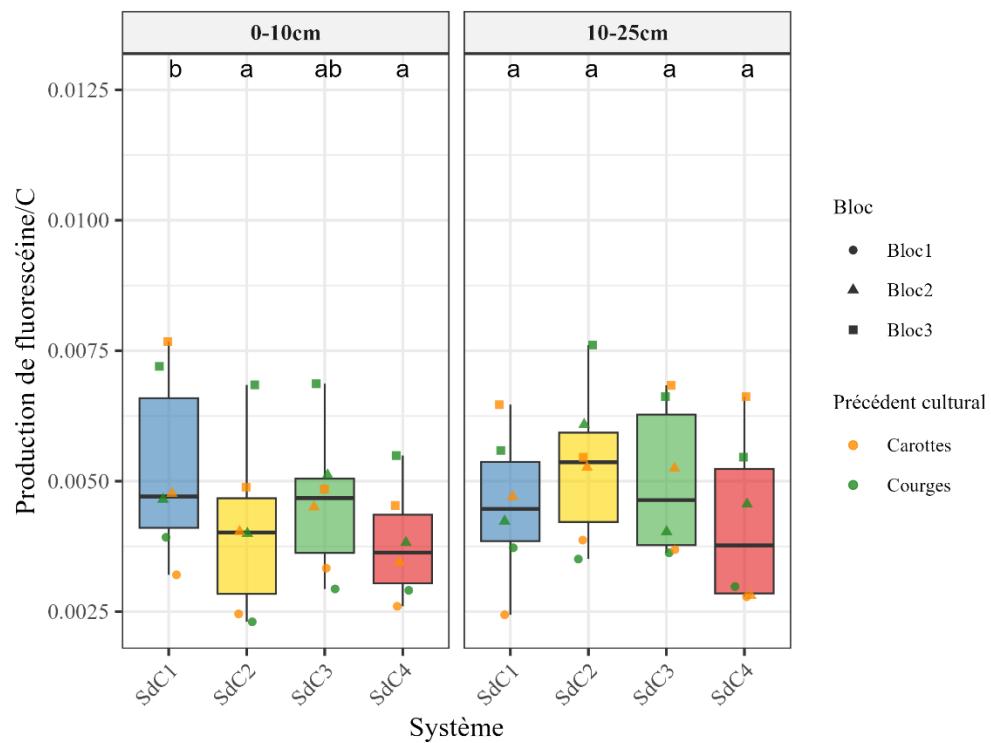
Annexe 16: Matrice de corrélation entre les différents indicateurs dans l'horizon 0-10cm



Annexe 17 : Nombre de copie du gène 16s des bactéries par unité de carbone



Annexe 18: Activité enzymatique des microorganismes par la production de fluorescéine par unité de carbone



Annexe 19 : Emission de CO2 des microorganismes par unité de carbone

