

Evaluation de l'impact des rotations innovantes de l'essai SYCBIO sur la qualité du sol.

Auteur : Delcourt, Julie

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/2268.2/24322>

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.

Évaluation de l'impact des rotations innovantes de l'essai SYCBIO sur la qualité du sol

JULIE DELCOURT

**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.

Évaluation de l'impact des rotations innovantes de l'essai SYCBIO sur la qualité du sol

JULIE DELCOURT

**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

Je tiens avant tout à remercier mes deux promoteurs, Caroline De Clerck et Brieuc Hardy, pour leur encadrement bienveillant, leur disponibilité et leurs précieux conseils tout au long de ce travail. J'adresse également mes remerciements à l'équipe du CRA-W, notamment à Antoine et Frédéric, pour leur disponibilité et leur aide précieuse, ainsi qu'à Morgan pour le partage des données de rendement, la fourniture du carnet de champs et ses conseils avisés. Merci aussi à toutes les personnes du CRA-W avec qui j'ai eu le plaisir de réaliser les campagnes d'échantillonnage sur le terrain.

Je souhaite remercier Macha, Jimmy et Sok Lay pour leur accompagnement en laboratoire et leurs conseils tout au long des manipulations. Un merci particulier à Léa F., avec qui j'ai partagé de nombreux moments sur le terrain et en laboratoire. Mes remerciements s'adressent également à Mr. Brostaux et Christophe pour leurs conseils en analyse statistique, ainsi que M. Blondiau du CARAH pour ses réponses à mes appels et mails concernant les plages de référence des éléments chimiques. Merci aussi à maman, Florent et Suzette pour leurs relectures attentives et enrichissantes.

Je n'oublie pas l'Office 2022 (*turn you into stone*), la Centrale avec Claire, le week-end Épioux, et toutes les autres aventures qui ont marqué ma vie étudiante. Merci à mes cokoteurs de La Douille pour leur bonne humeur quotidienne. Je remercie aussi mes amis, en particulier le groupe « Lopin », fidèle depuis la BAC1 - Yanis, Gaëtan, Charlotte, Léa W. et Géraldine - ainsi que Léa B. pour notre soutien mutuel, les soirées créatives et tous les supers moments de complicité. Merci également à Michelle, Tobias, Damien, Valère, Erwan, Alexandre et à tous les copains de guindaille. Merci également à l'open space des TFistes. Plus largement, je garde un souvenir impérissable de l'ambiance unique vécue à la faculté : les longues soirées à l'Ag, les brouettes mémorables, la guindaille, et tous ces moments partagés, en festivités comme en auditoire, qui ont profondément marqué mon parcours... Une vraie famille gembloutoise que je n'oublierai jamais.

Merci également à mes amies de Tournai, en particulier, Alice, ma cousine et complice depuis toujours et Anna pour les pauses encourageantes et les petits mots bienveillants qui m'ont apporté du réconfort tout au long de ce travail, ainsi qu'à Elyn, Mojca, Mathilde, Alice L., Alice C. et Pauline pour les soirées entre filles.

Un immense merci à Florent, croisé sur mon chemin à Gembloux et devenu depuis mon amoureux. Merci pour son soutien constant, sa capacité à me faire sourire même dans les moments les plus compliqués, sa patience, son écoute quotidienne et pour avoir toujours cru en moi.

Enfin, je souhaite exprimer toute ma reconnaissance à ma famille. Merci à mes parents, pour leur soutien inconditionnel, leur confiance et leur amour, pour m'avoir toujours encouragée et donné la chance de mener à bien mes études. Merci à mes sœurs, pour leur écoute, leur réconfort et leur présence dans les moments difficiles. Et un clin d'œil tout particulier à ma petite nièce Joséphine, arrivée récemment, véritable rayon de soleil. Votre présence et votre soutien ont été des piliers tout au long de ce travail et de mon parcours.

*« Puisque demain au lever de l'aurore, il faut quitter ces vieux murs de
Gembloux »*

Résumé

La recherche de systèmes agricoles à la fois productifs et respectueux de l'environnement est au cœur des enjeux actuels. Si l'intensification peut répondre à la demande alimentaire croissante, elle comporte un risque élevé de dégradation des sols et de perte de services écosystémiques. L'agriculture biologique, en excluant les intrants de synthèse, constitue une alternative durable, mais nécessite de développer des systèmes adaptés à divers contextes, notamment sans élevage et sans cultures légumières à haute valeur ajoutée.

Ce travail s'inscrit dans l'essai système SYCBIO du Centre wallon de Recherches agronomiques (CRA-W), et vise à analyser l'impact de deux systèmes de cultures biologiques innovants sur la qualité des sols agricoles : un premier système dit « autonome » en termes de fertilité, c'est-à-dire sans apport externe de matière organique et un second système en agriculture biologique de conservation, dans lequel le labour est exclu. Ces deux systèmes sont comparés à un système de référence basé sur les pratiques biologiques classiques. La qualité des sols est évaluée à travers une approche intégrée combinant des indicateurs physiques (stabilité structurale, densité apparente), chimiques (stocks, stocks cumulés et teneurs en carbone organique, teneur en azote total, rapport C/N, teneurs en nutriments disponibles, statut acido-basique, rapport carbone organique/argile) et biologiques (activité microbienne, abondance bactérienne, diversité et abondance des vers de terre).

Les résultats révèlent que le système sans labour se distingue par une accumulation de matière organique en surface, ce qui améliore la stabilité structurale du sol et contribue à prévenir l'érosion hydrique. Parallèlement, l'activité microbienne et l'abondance bactérienne sont plus élevées en surface, favorisées par ces agrégats stables et par la disponibilité de substrats énergétiques ; en revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les systèmes pour les populations de vers de terre ni pour la respiration microbienne. En contrepartie, ce système sans labour présente une sensibilité accrue à la compaction dans l'horizon intermédiaire et des rendements inférieurs à ceux des systèmes labourés. Ces derniers assurent une distribution des nutriments plus homogène dans la couche de labour, maîtrisent mieux la compaction dans l'horizon intermédiaire et affichent des rendements supérieurs, mais leurs bénéfices environnementaux de surface en termes de limitation de l'érosion et de stimulation de la vie microbienne sont moins prononcés. À l'échelle du profil pédologique, les trois systèmes stockent globalement autant de carbone. Sur le plan de la fertilité chimique, aucun système ne se distingue clairement et le pH reste favorable.

Ces résultats mettent en évidence la nécessité de trouver un compromis entre qualité du sol et rendement agronomique, soulignant l'importance d'un suivi à long terme afin d'optimiser ces systèmes agricoles innovants.

Mots clés :

Agriculture biologique, Conservation des sols, Indicateurs de qualité du sol, Essai système, Durabilité, Services écosystémiques, Performance agronomique

Abstract

The search for farming systems that are both productive and environmentally responsible lies at the heart of today's challenges. While intensification can meet rising food demand, it carries a high risk of soil degradation and loss of ecosystem services. Organic farming, by excluding synthetic inputs, offers a sustainable alternative but must be tailored to diverse contexts, including systems without livestock and without high-value vegetable crops.

This work, within the SYCBIO systems experiment at the Walloon Agricultural Research Centre (CRA-W), assesses two innovative organic cropping systems: (i) a system self-sufficient in fertility i.e. with no external inputs of organic matter; and (ii) an organic conservation system in which ploughing is excluded. Both are compared with a reference based on standard organic practices. Soil quality was evaluated through an integrated set of physical (aggregate stability, bulk density), chemical (stocks, cumulative stocks and concentration of organic carbon, total nitrogen concentration, C/N ratio, available nutrients concentrations, acid-base status, organic carbon-to-clay ratio), and biological indicators (microbial activity, bacterial abundance, earthworm diversity and abundance).

Results show that the no-ploughing system is characterised by surface organic-matter accumulation, which improves soil structural stability and helps mitigate water erosion. In parallel, microbial activity and bacterial abundance are higher at the surface, supported by stable aggregates and the availability of energy substrates; however, no significant differences were observed between systems for earthworm populations or microbial respiration. Conversely, the no-ploughing system is more prone to subsurface compaction and delivers lower yields than ploughed systems. The latter achieve a more even distribution of nutrients within the plough layer, better control compaction in the intermediate horizon, and deliver higher yields. However, their surface-level environmental benefits -limiting erosion and stimulating microbial life-are less pronounced. At the scale of the soil profile, the three systems store comparable amounts of carbon. In terms of chemical fertility, no system clearly stands out, and soil pH remains favourable.

These findings highlight the need to balance soil quality and agronomic yield, underscoring the importance of long-term monitoring to optimise these innovative farming systems.

Keywords:

Organic farming, Soil conservation, Soil quality indicators, System trial, Sustainability, Ecosystem services, Agronomic performance

Liste des abréviations

ABC : agriculture biologique de conservation

ADNr : ADN ribosomique

ANOVA : analyse de la variance

C : carbone

C/argile : carbone organique/argile

C/N : carbone organique/azote total

Ca : calcium

C.A.R.A.H. : Centre pour l'Agronomie et l'Agro-industrie de la Province de Hainaut

CEC : capacité d'échange cationique

CICES : classification internationale des services écosystémiques

CPAR : Centre provincial de l'agriculture et de la ruralité

CO₂ : dioxyde de carbone

COT : carbone organique total

CRA-W : Centre wallon de Recherches agronomiques

DA : densité apparente

ESM : Equivalent Soil Mass

FAO : Food and Agricultural Organisation

FDA : diacétate de fluorescéine

K : potassium

Mg : magnésium

MO : matière organique

N : azote

Na : sodium

P : phosphore

PCR : réaction de polymérisation en chaîne

qPCR : PCR quantitative

QST : QuantiSlakeTest

SdC : système de culture

SYCBIO : système de culture biologique

Table des matières

1.	Introduction.....	1
2.	État de l'art	3
2.1.	L'agriculture durable : approche biologique, de conservation et leurs interactions	3
2.1.1.	L'agriculture durable.....	3
2.1.2.	L'agriculture biologique	3
2.1.3.	L'agriculture de conservation	3
2.1.4.	L'agriculture biologique de conservation (ABC).....	3
2.2.	Services écosystémiques rendus par le sol.....	4
2.3.	Qualité du sol.....	4
2.3.1.	Définition.....	4
2.3.2.	Evaluation de la qualité d'un sol.....	4
2.3.2.1.	Indicateurs physiques	5
2.3.2.2.	Indicateurs chimiques.....	6
2.3.2.3.	Indicateurs biologiques.....	10
3.	Objectifs.....	13
4.	Matériel et méthodes.....	14
4.1.	Localisation de l'essai.....	14
4.2.	Dispositif expérimental.....	14
4.3.	Particularités du site	15
4.4.	Mesure de la qualité du sol	17
4.4.1.	Prélèvements et conditionnement des échantillons.....	17
4.4.2.	Caractéristiques physiques du sol	20
4.4.2.1.	Densité apparente	20
4.4.2.2.	Stabilité structurale du sol.....	20
4.4.3.	Caractéristiques chimiques du sol.....	21
4.4.3.1.	Application de la méthode Equivalent Soil Mass (ESM)	22
4.4.3.2.	Détermination des plages de références pour P, K , Mg et Ca.....	22
4.4.4.	Caractéristiques biologiques du sol.....	23
4.4.4.1.	L'activité microbienne	23
4.4.4.1.1.	Etude de l'activité enzymatique par fluorescence	23
4.4.4.1.2.	Étude de la respiration microbienne.....	23
4.4.4.2.	Quantification du nombre de copies de gènes bactériens du sol par PCR quantitative (qPCR).....	24

4.4.4.3.	Dénombrement, biomasse et identification des vers de terre	25
4.5.	Analyse des rendements	25
4.6.	Analyses statistiques.....	26
5.	Résultats	28
5.1.	Propriétés physiques	28
5.1.1.	Stabilité structurale	28
5.1.2.	Densité apparente	29
5.2.	Propriétés chimiques.....	30
5.2.1.	Statut acido-basique.....	30
5.2.2.	Rapport carbone organique / argile (%)	30
5.2.3.	Caractéristiques chimiques du sol.....	31
5.3.	Propriétés biologiques.....	34
5.3.1.	Analyse de l'activité enzymatique par fluorescence (FDA).....	34
5.3.2.	Respiration microbienne	35
5.3.3.	Quantification du nombre de copies de gènes bactériens du sol par qPCR	35
5.3.4.	Vers de terre	36
5.4.	Land Equivalent Ratio du froment et de la féverole en 2024 et rendements du froment et du pois en 2025	37
5.4.1.	Land Equivalent Ratio (LER) 2024.....	37
5.4.2.	Rendements en froment et histogramme empilé du froment et du pois en 2025	37
5.5.	Corrélation des variables pour l'horizon 0-10 cm	39
6.	Discussion	40
7.	Conclusion et perspectives.....	49
8.	Contribution personnelle	51
9.	Bibliographie.....	52
10.	Annexes	62

Table des figures

Figure 1 : Indicateurs de de qualité du sol et relation avec les fonctions des écosystèmes terrestres (Muñoz-Rojas, 2018).	5		
Figure 2 : Influence de la matière organique sur les propriétés du sol (Garcia et al., 2018).....	8		
Figure 3 : Dynamique du carbone et de l'azote dans le sol (Guenet et al., 2021).....	9		
Figure 4 : Plateforme SYCBIO (CRA-W), année 2025 – En bleu : SdC1 (« business as usual »), en vert : SdC2 (système autonome) et en orange : SdC3 (agriculture biologique de conservation) (Photo personnelle).....	14		
Figure 5 : Rotations mises en place au sein de l'essai SYCBIO en fonction du système de culture étudié (Abrás, 2018).	15		
Figure 6 : Configuration de la plateforme SYCBIO (CRA-W) sur un fond pédologique. L'encadré rouge délimite l'ensemble de la plateforme SYCBIO (225mx12m). Les lignes bleu foncé représentent les séparations entre les parcelles, tandis que la zone bleu clair correspond au plateau expérimental. Les lettres A, B et C identifient trois sections. Le fond de carte illustre deux types de sols : les sols limoneux à drainage naturel favorable (orange clair) et les sols limoneux naturel à drainage modéré ou imparfait (orange foncé), selon la Carte des Principaux Types de Sols de Wallonie à 1/250 000 ("WalOnMap Géoportail de la Wallonie," 2023).....	16		
Figure 7 : Enfonce-cylindre	Figure 8 : Démoulage des cylindres	Figure 9 : Echantillons démoulés.....	18
Figure 10 : Carotte entière	Figure 11 : Seau contenant 6 prélèvements	Figure 12 : Echantillon aplati à la bouteille	18
Figure 13 : Différentes étapes du protocole d'échantillonnage et de conditionnement des vers de terre : (a) bêchée, (b) monolithe de sol, (c) récupération après application de l'extractant, (d) nettoyage sur tamis			19
Figure 14 : Opérations du protocole de conditionnement des échantillons de sol destinés aux analyses biologiques : (a) congélation instantanée d'un tube de 50 mL à l'azote liquide (« flash freezing »), (b) Bac à glace contenant les tubes de 50ml, (c) tamisage en laboratoire à l'aide de tamis de 2			20
Figure 15 : Représentation schématique du dispositif expérimental.....			21
Figure 16 : Éléments du protocole du QuantiSlakeTest (QST) : (a) Echantillon de sol avant immersion dans l'eau déminéralisé, (b) Echantillon de sol immergé, (c) Dispositif expérimental du QuantiSlakeTest			21
Figure 17 : Biais de l'estimation des stocks de carbone organique du sol (SOC) lié à l'utilisation d'une profondeur fixe en présence de différences de densités apparentes entre un sol non labouré et un sol labouré (Wendt et al., 2013).			22
Figure 18: Vue schématique d'un dispositif composé d'un puits profond et d'un puits de détection (The James Hutton Institute, 2019).			24
Figure 19 : Composition et assemblage du kit MicroResp™ (The James Hutton Institute, 2019).....			24
Figure 20 : Boxplots de l'indicateur de stabilité structurale (Wend) pour les trois systèmes de culture. Chaque point représente un échantillon de sol, la forme du symbole indiquant le bloc expérimental correspondant. Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé sur l'effet du système de culture, à un seuil de significativité de $\alpha = 0,05$			28
Figure 21 : Échantillons au terme du QuantiSlakeTest – système de culture 1 (gauche) : échantillon fortement dégradé, système de culture 3 (droite) : échantillon moins dégradé.			28
Figure 22 : Boxplots de la densité apparente (g/cm³) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3) pour trois horizons de sol (H 0-10, H 10-25, H 25-50). Chaque point représente un échantillon de sol,			

la forme du symbole indiquant le bloc expérimental correspond. Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé sur l'effet du système de culture, à un seuil de significativité de $\alpha = 0,05$	29
Figure 23 : Boxplots du pH (KCl) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3) pour trois horizons de sol (H_0-10, H_10-25, H_25-50). Chaque point correspond à un échantillon de sol, différencié par bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé sur l'effet du système de culture à un même horizon, au seuil de significativité $\alpha = 0,05$	30
Figure 24: Boxplots du rapport carbone organique / argile (%) selon le système de culture (sdc1, sdc2, sdc3) pour deux horizons de sol (H_0-10 et H_10-25). Chaque point correspond à un échantillon de sol, différencié par bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé pour évaluer l'effet du système de culture à un même horizon, au seuil de significativité $\alpha = 0,05$	31
Figure 25 : Teneurs en carbone organique, azote total, phosphore et potassium disponible (g/kg) selon la masse de sol cumulée (t/ha), pour les trois systèmes de culture étudiés (SdC1, SdC2, SdC3). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé pour comparer les systèmes de culture à une même masse de sol cumulée, au seuil de significativité $\alpha = 0,05$	33
Figure 26 : Boxplots de l'activité enzymatique de la FDA (nmol g^{-1} de sol sec h^{-1}) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3), pour deux horizons de sol (H_0-10 et H_10-25). Chaque point représente un échantillon de sol, différencié selon le bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey, réalisé pour comparer les systèmes de culture au sein d'un même horizon, avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$	34
Figure 27 : Boxplots du taux de CO_2 émis ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g/h}$) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3), pour deux horizons de sol (H_0-10 et H_10-25). Chaque point représente un échantillon de sol, différencié selon le bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey, réalisé pour comparer les systèmes de culture au sein d'un même horizon, avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$	35
Figure 28 : Boxplots de l'abondance du gène 16S (nb/g de sol) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3), pour deux horizons de sol (H_0-10 et H_10-25). Chaque point représente un échantillon de sol, différencié selon le bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey, réalisé pour comparer les systèmes de culture au sein d'un même horizon, avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$	36
Figure 29 : Diagrammes en barres empilées de l'abondance des vers de terre (nombre d'individus) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3) et le bloc expérimental (Bloc 1 à 3). Les barres représentent la composition spécifique au sein de chaque bloc. Les couleurs indiquent le groupe écologique des individus : anéciques en vert, endogés en mauve et juvéniles (épigés/endogés) en jaune. Les individus non identifiés sont représentés en gris.....	36
Figure 30 : Boxplots de l'abondance des vers de terre (Nb ind/m^2 , graphique de gauche) et de l'indice de diversité de Shannon-Wiener (H' , graphique de droite) selon le système de culture. Chaque point représente un échantillon individuel, la forme du symbole indiquant le bloc expérimental. Les lettres au-dessus des boîtes désignent les groupes homogènes issus du test post-hoc de Tukey ($\alpha = 0,05$). .	37
Figure 31 : Boxplots du rendement du froment en 2025 (t/ha) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey, réalisé pour comparer les systèmes de culture avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$	38
Figure 32 : Histogramme empilé : rendements combinés du froment et du pois en 2025 (t/ha) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3). Les barres empilées représentent la contribution respective du froment (jaune) et du pois (vert) au rendement total.	38
Figure 33 : Matrice de corrélation de toutes les variables, à l'exception des lombrics, à la profondeur 0 - 10 cm.....	39

Table des tableaux

Tableau 1 : Description des systèmes de culture.....	15
Tableau 2 : Organisation des campagnes d'échantillonnage, indicateurs étudiés et conditions au moment des prélèvements sur la plateforme SYCBIO (2025).	17

Table des annexes

Annexe 1: Plan rotation SYCBIO 2019-2025	62
Annexe 2 : Carnet de champs 2025	63
Annexe 3 : Tableaux de référence pour la classification texturale et chimique des sols (méthode du CARAH)	73
Annexe 4 : Protocole pour l'étude de l'activité enzymatique par la mesure de l'hydrolyse de la FDA .	74
Annexe 5 : Protocole d'étude de la respiration microbienne dans le sol et méthode de calcul (Campbell et al., 2003; Rowell, 1995; The James Hutton Institute, 2019).....	78
Annexe 6 : Extraction d'ADN (QIAGEN, 2019).....	86
Annexe 7 : Manuel d'utilisation du NanoDrop 1000 ("nd-1000-v3.8-users-manual-8 5x11.pdf," n.d.)	88
Annexe 8 : Quantification des populations bactériennes par qPCR.....	90
Annexe 9 : Boxplots du pH (eau) selon le système de culture (sdc1, sdc2, sdc3) pour trois horizons de sol (H_0-10, H_10-25, H_25-50).....	93
Annexe 10 : Stock et stock cumulé de carbone organique (t/ha), rapport C/N et teneurs en Mg, Ca et Na disponible (g/kg)	94
Annexe 11 : Composition granulométrique des parcelles.....	95

1. Introduction

La population mondiale ne cesse d'augmenter et devrait atteindre 9,7 milliards d'habitants d'ici 2050 (Du et al., 2024). Pour faire face à l'augmentation des besoins alimentaires, l'intensification des systèmes de production apparaît comme une solution envisageable. Toutefois, cette approche pourrait accentuer la dégradation des sols, entraînant une baisse des rendements, une altération de la qualité des sols et une diminution des services écosystémiques qu'ils fournissent (FAO, 2017 ; Krause et al., 2025). Dans ce contexte d'évolution, l'agriculture biologique fait l'objet d'un intérêt grandissant en tant qu'alternative durable (Krause et al., 2025).

En agriculture biologique, l'élevage soutient la productivité des cultures (Barbieri et al., 2022; Benoit et al., 2024). L'utilisation des effluents organiques, tels que le fumier, permet de restituer aux terres cultivées des éléments nutritifs, dont l'azote, issus des prairies (Barbieri et al., 2022; Benoit et al., 2024). De plus, l'intégration de prairies temporaires dans la rotation contribue à l'amélioration de la fertilité des sols, particulièrement lorsque des légumineuses sont présentes dans leur composition (Benoit et al., 2020; Vertès et al., 2015). Elle facilite également le contrôle des adventices (Benoit et al., 2020; El Khosht et al., 2025), notamment grâce aux coupes successives (El Khosht et al., 2025). Quant aux exploitations de grandes cultures biologiques sans troupeau, l'introduction de cultures légumières à haute valeur ajoutée dans leur rotation permet de compenser, d'une part, les coûts liés à l'achat d'engrais organiques du commerce, et d'autre part ceux associés à la mise en place d'une stratégie de désherbage reposant sur des interventions mécaniques performantes, parfois exigeantes en main d'œuvre (Abrás, 2018).

Cependant, ces modèles ne sont pas adaptés à toutes les exploitations agricoles. En effet, tous les agriculteurs envisageant une conversion à l'agriculture biologique ne disposent pas nécessairement d'un élevage, notamment ceux spécialisés en grandes cultures (Abrás, 2020). Par ailleurs, ils ne sont pas toujours en mesure d'intégrer des cultures légumières (Abrás, 2018). Ces agriculteurs doivent de ce fait explorer d'autres alternatives durables, rentables et adaptées à leur contexte.

Face à ces défis, deux systèmes de culture innovants sont étudiés au Centre wallon de Recherches agronomiques (CRA-W) et comparés à un système de référence. Le premier système repose sur un modèle autonome excluant l'utilisation d'engrais organiques, tout en intégrant des légumineuses dans la rotation, que ce soit en culture principale, en culture associée ou en interculture, afin de maintenir la fertilité du sol. En plus de leur rôle agronomique, ces légumineuses assurent une couverture végétale qui concurrence les adventices et limite leur développement. Ce système prend donc en compte deux enjeux majeurs en agriculture biologique : le maintien de la fertilité des sols et la gestion des adventices, tout en réduisant les coûts associés. Le second système est l'agriculture biologique de conservation (ABC) qui, en plus d'exclure l'utilisation d'engrais organiques du commerce et d'introduire des légumineuses, repose sur l'absence de labour. Cette approche vise à limiter l'érosion hydrique, un problème majeur dans les fermes de grandes cultures en région limoneuse tout en préservant et en améliorant la fertilité et l'activité biologique des sols (Abrás, 2018).

En parallèle, maintenir la qualité des sols en grandes cultures est essentiel pour en préserver la fertilité et la durabilité. En effet, le sol joue un rôle essentiel dans le fonctionnement des écosystèmes en fournissant de nombreux services, tant pour l'environnement que pour la société et la santé humaine, notamment en contribuant à la production agricole et à la qualité nutritionnelle des aliments (Stellacci et al., 2021). Cette préservation est d'autant plus cruciale que le sol constitue une ressource non renouvelable (FAO, 2015; Gessesew et al., 2018), sa régénération s'opérant sur des échelles de

temps très longues (FAO, 2015). Pour évaluer cette qualité, il est possible d'identifier et de combiner des indicateurs physiques, chimiques et biologiques offrant ainsi une analyse complète de l'état du sol (Stellacci et al., 2021).

Dès lors, ce travail a pour objectif d'étudier les effets de systèmes de cultures biologiques innovants, mis en place dans le cadre de l'essai SYCBIO (Systèmes de Cultures BIOlogiques) du CRA-W, sur la qualité des sols agricoles. La présente étude repose sur des indicateurs de fertilité physique, chimique et biologique, tout en tenant compte des fonctions et services écosystémiques fournis par ces sols et des rendements agricoles.

2. État de l'art

2.1. L'agriculture durable : approche biologique, de conservation et leurs interactions

2.1.1. L'agriculture durable

L'agriculture durable est un terme reconnu, englobant diverses approches selon les contextes (Hansen, 1996; Siebrecht, 2020). Ce terme peut cependant être défini comme l'adoption de pratiques agricoles qui répondent aux besoins alimentaires, de fibres et de santé de la société, maintiennent l'équilibre des écosystèmes, tout en optimisant les avantages nets pour la société après évaluation complète des coûts et des bénéfices associés aux pratiques (Tilman et al., 2002). L'agriculture durable vise à équilibrer la production de rendements importants tout en limitant les conséquences néfastes sur l'environnement (Amin, 2012).

2.1.2. L'agriculture biologique

L'agriculture biologique, initiée au début du XX^{ème} siècle (Berner et al., 2013; Fleury et al., 2014; Kirchmann et al., 2008; Sylvander et al., 2005; Remongin, 2023), est un mode de production certifié, soumise à une réglementation stricte et à des contrôles rigoureux de la production des denrées alimentaires jusqu'à la distribution des produits finis (Piriaux, 2020 ; Fleury et al., 2014; Remongin, 2023). Elle s'interdit l'utilisation d'engrais de nature chimique, des pesticides de synthèse (Doekharan et al., 2010; Fleury et al., 2014; Remongin, 2023) ainsi que d'organismes qualifiés de génétiquement modifiés (OGM) (Fleury et al., 2014 ; Remongin, 2023). La production en agriculture biologique repose sur le maintien de la fertilité naturelle des sols, le recyclage de matières organiques telles que le fumier et le lisier (Berner et al., 2013; Fleury et al., 2014), et l'application de méthodes de lutte biologique contre les bioagresseurs. Elle privilégie également des techniques culturales réduisant l'usage d'intrants (Fleury et al., 2014; Piriaux, 2020).

2.1.3. L'agriculture de conservation

L'agriculture de conservation, reconnue officiellement en 2001 par la FAO (Mollier, 2020), est un système de production fondé sur trois principes majeurs : (1) une perturbation mécanique minimale du sol, (2) une couverture végétale permanente du sol et (3) une diversification des espèces cultivées à travers des rotations de cultures adaptées dans le temps et dans l'espace (Cordeau et al., 2024; Fleury et al., 2014; Hajjaj et al., 2022; Mollier, 2020). Ce système exclut le labour et opte pour des techniques culturales simplifiées (Cordeau et al., 2024; Fleury et al., 2014; Peigné et al., 2007; Hajjaj et al., 2022), ce qui permet de stimuler les processus biologiques naturels dans le sol, en surface et en profondeur. Contrairement à l'agriculture biologique, l'agriculture de conservation ne s'interdit pas l'usage de pesticides de synthèses (Cordeau et al., 2024; Fleury et al., 2014; Hajjaj et al., 2022).

2.1.4. L'agriculture biologique de conservation (ABC)

Bien que partageant l'objectif commun de produire tout en respectant l'environnement, l'agriculture biologique et l'agriculture de conservation adoptent des approches distinctes pour y parvenir : l'agriculture biologique exclut l'usage d'intrants de synthèses, tandis que l'agriculture de conservation exclut le labour (Boeraeve et al., 2022; Fleury et al., 2014; Piriaux, 2020). L'agriculture biologique de conservation constitue une voie de convergence entre ces deux systèmes de production (Fleury et al., 2014; Piriaux, 2020), qui pourrait permettre de surmonter les limites respectives de l'agriculture biologique et de l'agriculture de conservation. Cependant, l'exclusion de pesticides de synthèse et du

labour complique la gestion des ravageurs et des adventices, dont le contrôle dépend alors totalement d'une reconstitution optimale des populations de prédateurs (Boeraeve et al., 2022).

2.2. Services écosystémiques rendus par le sol

Le sol assure de nombreux services écosystémiques essentiels, qui contribuent eux-mêmes au maintien de sa qualité et de son fonctionnement à long terme, illustrant ainsi un mécanisme de rétroaction positive (Meersmans et al., 2024). Ces services participent également au bien-être humain et leur régulation permet de maintenir une productivité agricole optimale (Pereira et al., 2018). La classification CICES (« Common International Classification for Ecosystem Services ») les regroupe en trois grandes catégories : les « services d'approvisionnement » qui englobent l'alimentation, les matériaux et l'énergie, fournis par les écosystèmes ; les « services de régulation et de maintien », incluant la gestion des déchets et des substances toxiques, la régulation des flux ainsi que des aspects tels que le climat, le cycle de l'eau et le transport de matières. Ces services assurent la stabilité des conditions physiques, chimiques et biologiques nécessaires à la durabilité des écosystèmes. Enfin, les « services culturels » désignent les liens physiques, intellectuels et symboliques que les êtres humains entretiennent avec la biodiversité, les écosystèmes et les paysages, qu'ils soient terrestres ou marins. Ces services incluent des expériences récréatives, esthétiques et spirituelles (Pereira et al., 2018; Tibi et al., 2018).

Les principales causes de la dégradation des services écosystémiques incluent l'intensification des systèmes de production agricole et l'utilisation excessive de produits chimiques (Pereira et al., 2018; van Zanten et al., 2014). Ces dégradations peuvent entraîner diverses conséquences, telles que l'acidification des sols, l'érosion, la compaction et la perte de nutriments, entre autres. Il est donc crucial de promouvoir des pratiques de gestion plus durables, comme l'agriculture biologique et de conservation qui améliorent ou préservent ces services écosystémiques à long terme (Pereira et al., 2018).

2.3. Qualité du sol

2.3.1. Définition

La qualité du sol peut se définir comme étant l'aptitude d'un sol à assurer, dans le cadre d'un écosystème aménagé ou naturel et en fonction de son usage, des fonctions essentielles telles que le maintien de la productivité biologique, la préservation de la qualité de l'air et de l'eau, ainsi que le soutien à la santé des plantes, animaux et êtres humains (Bünemann et al., 2018; Gessesew et al., 2018; Muñoz-Rojas, 2018). Elle est étroitement liée à la fertilité et à la santé des sols et peut être abordée sous deux angles : d'une part, comme une série de propriétés fondamentales du sol, et d'autre part comme un processus dynamique, influencé par le climat et les pratiques de gestion culturales. Cette qualité du sol est fréquemment associée à la dégradation des sols, laquelle se manifeste comme étant le taux de variation de la qualité du sol au cours du temps (Gessesew et al., 2018).

2.3.2. Evaluation de la qualité d'un sol

Les changements de la qualité des sols sont difficiles à détecter étant donné que les sols évoluent lentement face aux modifications d'usage et de gestion des terres. Il est donc essentiel d'identifier des indicateurs physiques, chimiques et biologiques capables de refléter le fonctionnement des sols et d'évaluer leur qualité (Bünemann et al., 2018; Muñoz-Rojas, 2018). Ces indicateurs sont étroitement liés aux fonctions des écosystèmes terrestres (figure 1) qui jouent un rôle clé dans la prestation des services écosystémiques fournis par les sols (Muñoz-Rojas, 2018). La figure 1 ci-dessous présente une liste d'indicateurs de qualité du sol. Toutefois, seuls ceux utilisés dans le cadre de ce travail seront détaillés par la suite.

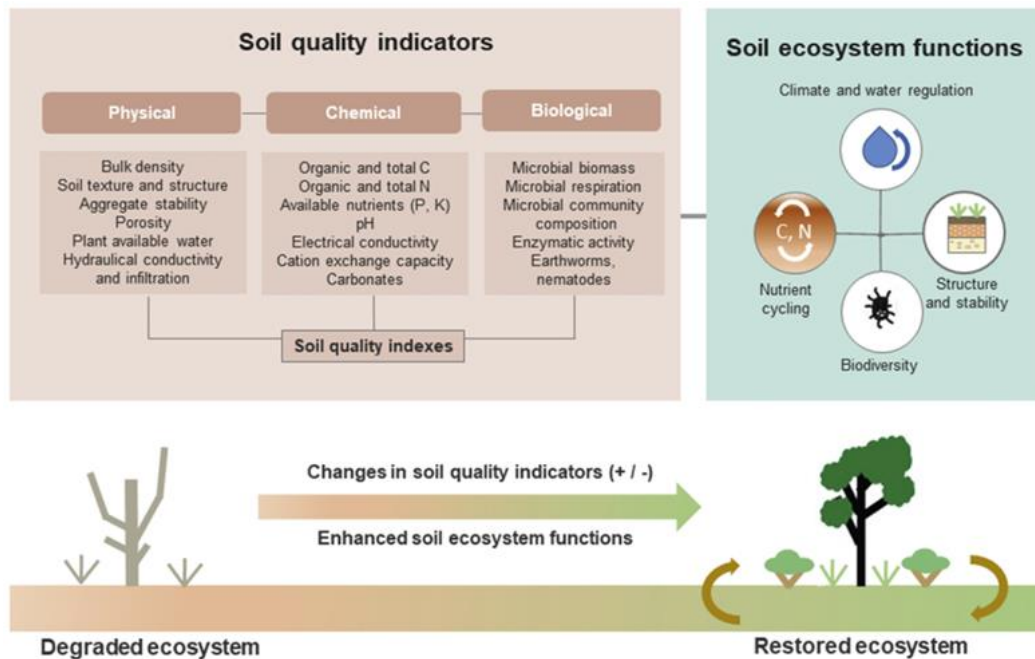


Figure 1 : Indicateurs de de qualité du sol et relation avec les fonctions des écosystèmes terrestres (Muñoz-Rojas, 2018).

Les indicateurs de la qualité des sols doivent être pertinents et applicables dans divers contextes écologiques et socio-économiques (Doran et al., 1997). Ils doivent refléter les processus écosystémiques et prendre en compte les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol. Leur utilisation doit être accessible aussi bien aux experts qu'aux agriculteurs. De plus, ces indicateurs doivent être sensibles aux pratiques de gestion culturale et aux évolutions climatiques à long terme, sans être influencés par les variations météorologiques temporaires. Enfin, ils doivent être intégrés aux bases de données existantes (Doran et al., 1997; Gessesew et al., 2018).

2.3.2.1. Indicateurs physiques

Premièrement, concernant les indicateurs physiques de qualité du sol, cela comprend notamment la densité apparente, la texture et la structure du sol, la stabilité des agrégats, la porosité, la réserve en eau disponible pour les plantes, la conductivité hydraulique et l'infiltration (Muñoz-Rojas, 2018). Dans le cadre de ce travail, les analyses portent sur la densité apparente et la stabilité structurale du sol.

La densité apparente est un indicateur essentiel de la qualité du sol (Logsdon et al., 2004), reflétant son niveau de compaction (Correa et al., 2019; Logsdon et al., 2004; Rücknagel et al., 2007) et influençant des aspects tels que le développement et la croissance des racines des plantes (Correa et al., 2019; Gessesew et al., 2018; Logsdon et al., 2004; Reinert et al., 2008). En effet, lorsque le sol est compacté, la densité apparente augmente tandis que l'espace poral diminue. Des valeurs trop élevées de cette densité peuvent limiter la croissance des racines végétales (Correa et al., 2019; Logsdon et al., 2004) et sont associées à une qualité du sol réduite (Gessesew et al., 2018). La densité apparente joue également un rôle clé dans l'évaluation de l'espace poral saturé en eaux (WFPS, *Water-Filled Pore Space*) (Doran et al., 1997; Franzluebbers, 1999), qui reflète non seulement les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol, mais aussi les processus microbiens, influencés par l'aération du sol, qui sont cruciaux pour le bon déroulement des cycles du carbone et de l'azote (Doran et al., 1997). Plusieurs facteurs influencent la variation de la densité apparente du sol : la texture du sol (Logsdon et al., 2004; Schoenholtz et al., 2000), le type de matériau parental, les cultures mises en place, les pratiques de gestion agricole appliquées (Logsdon et al., 2004), le nombre de passages de machines agricoles (Orzech et al., 2021), ainsi que la structure et la teneur en matière organique du sol

(Schoenholtz et al., 2000). De plus, la surface du sol présente une variabilité significative en termes de densité apparente, principalement en raison des pratiques de gestion (Doran et al., 1997; Logsdon et al., 2004) et des conditions climatiques (Logsdon et al., 2004).

La structure du sol correspond à l'organisation spatiale des particules solides et des vides (Bronick et al., 2005; Rabot et al., 2018; Yudina et al., 2023). Elle inclut la taille, la forme des particules et la continuité des pores (Bronick et al., 2005; Yudina et al., 2023). Cette structure conditionne la capacité du sol à retenir et à transporter des fluides ainsi que d'autres substances, qu'elles soient organiques ou inorganiques, tout en permettant le développement et la croissance des racines (Bronick et al., 2005; Meurer et al., 2020; Yudina et al., 2023). Cependant, elle ne prend pas en compte les variations chimiques de la phase solide (Rabot et al., 2018). La structure du sol régule des processus essentiels tels que l'infiltration et la rétention de l'eau, la disponibilité des nutriments, le développement racinaire (Bronick et al., 2005; Dominati et al., 2010; Meurer et al., 2020; Rabot et al., 2018; Yudina et al., 2023) et la résistance à l'érosion (Bronick et al., 2005; Rabot et al., 2018; Six et al., 2000). Elle influence également la formation de croûtes, le rendement des cultures et la dynamique de la matière organique tout en ayant un impact sur des processus externes tels que l'écoulement de l'eau, la contamination des eaux et les émissions de CO₂ vers l'atmosphère (Bronick et al., 2005). Parallèlement, elle façonne l'habitat de nombreux organismes du sol (Rabot et al., 2018; Yudina et al., 2023), impactant ainsi leur diversité et leur activité (Rabot et al., 2018).

La stabilité structurale du sol, utilisée comme indicateur de la structure du sol (Bronick et al., 2005; Gentsch et al., 2024; Six et al., 2000), représente une caractéristique physique essentielle, désignant la capacité des agrégats à résister aux forces destructrices telles que celles exercées par les pluies ou l'usage d'outils agricoles (Abrás et al., 2023). Cette propriété physique est influencée par la quantité de matière organique présente dans le sol ainsi que par les pratiques culturales appliquées (Abrás et al., 2023; Panagea et al., 2022). Une faible teneur en matière organique dans l'horizon superficiel du sol peut conduire à une fragilité de la structure (Panagea et al., 2022; Vanwindekens et al., 2023), rendant les sols plus sensibles à l'érosion et à la compaction (Vanwindekens et al., 2023), tandis que la présence de composés organiques récalcitrants et d'ions métalliques favorise une stabilité à long terme de la structure du sol (Bronick et al., 2005). De plus, une structure optimale du sol et une stabilité accrue des agrégats sont fondamentales pour favoriser la fertilité du sol, accroître les rendements agricoles, améliorer la porosité du sol et limiter l'érosion (Bronick et al., 2005). En outre, l'évaluation de la stabilité structurale constitue une méthode fiable et abordable pour déterminer la vulnérabilité du sol à l'érosion (Barthès et al., 2001; Le Bissonnais, 1996).

2.3.2.2. Indicateurs chimiques

Les indicateurs chimiques de la qualité du sol incluent les taux de carbone et d'azote organiques et totaux, les nutriments disponibles, le pH, la conductivité électrique, la capacité d'échange cationique (CEC) et la présence de carbonates (Muñoz-Rojas, 2018). Dans le cadre de ce travail, les analyses portent sur le carbone organique, l'azote total, le rapport C/N, les nutriments disponibles et le pH (eau et KCl), en tenant compte de la granulométrie.

Les éléments nutritifs sont classés en plusieurs catégories. Les macronutriments se divisent en nutriments primaires comprenant l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K) qui sont nécessaires en grandes quantités pour la plante et en nutriments secondaires, comme le calcium (Ca), le magnésium (Mg) et le soufre (S) dont les besoins sont moins élevés. La deuxième catégorie regroupe les micronutriments, également appelés oligoéléments, tels que le bore (B), le cuivre (Cu), le chlore (Cl), le fer (Fe), le manganèse (Mn), le molybdène (Mo) et le zinc (Zn), qui, bien que présents en petites quantités, sont essentiels au bon développement de la plante (Hodges, 2010).

Chaque élément joue un rôle spécifique dans la croissance des plantes (Genot et al., 2009) et doit être disponible de manière continue et en quantités appropriées pour soutenir des processus vitaux comme la photosynthèse. En cas de carence en un élément, la plante verra sa croissance et sa productivité réduites, voire son développement totalement interrompu (Hodges, 2010). Ces éléments existent sous diverses formes (cations, anions, complexes, etc.), en concentrations variables et subissent des transformations, telles que la minéralisation pour les composés organiques et la dissolution pour les minéraux, afin de devenir assimilables par les plantes (Genot et al., 2009).

Le statut nutritif du sol est déterminé par la quantification des éléments présents dans le sol et disponibles pour la plante (Genot et al., 2009). Cette quantification cible principalement la disponibilité en Ca, Mg, K et P. Dans certains cas, elle s'étend également aux oligoéléments tels que Cu, Fe, Mn et Zn. (Genot et al., 2009; Genot et al., 2012).

La matière organique du sol regroupe divers composants, notamment des résidus végétaux (racines, feuilles, exsudats) et animaux (excréments, cadavres), à divers niveaux de décomposition (Genot et al., 2012; Rogeon, 2010; Vanwindekens et al., 2024). Elle est alimentée par des organismes vivants tels que les bactéries, les champignons et la faune du sol, dont les vers de terre. Au fil du temps, la fraction organique se décompose sous l'action des organismes du sol, aboutissant à la formation de l'humus, une fraction stable de la matière organique. Cette dernière se renouvelle en permanence à travers des processus d'accumulation et de décomposition, libérant du carbone sous forme de CO₂ dans l'atmosphère, avant que celui-ci ne soit réabsorbé par la photosynthèse (Genot et al., 2012).

Selon Strosser (2010), la matière organique du sol peut être classée en trois catégories : labile, stable ou inerte. La première, la matière organique labile et se dégrade rapidement, assurant un renouvellement rapide de la matière organique sur le court terme (Strosser, 2010; Weil et al., 2017). Elle fournit de l'énergie et des nutriments aux micro-organismes du sol, tout en libérant des éléments nutritifs disponibles pour les plantes. La matière organique stable quant à elle se dégrade plus lentement, moins facilement et constitue un stock de matière organique. Son rôle principal est de participer à la capacité d'échange cationique du sol et elle est souvent stabilisée par association organo-minérale au sein des agrégats du sol. Enfin, la matière organique inerte est une forme de matière organique presque non réactive. Elle a un impact sur les propriétés physiques du sol, mais présente une capacité de sorption faible. (Strosser, 2010).

L'enrichissement des sols en matière organique peut provenir de diverses sources. Il peut résulter des cultures implantées directement sur les parcelles, à travers les résidus de cultures tels que les racines, les feuilles, les coproduits des cultures comme la paille laissée sur le sol, ou encore de cultures intermédiaires et des couverts végétaux. Ces apports correspondent à la matière organique dite endogène. Il peut également s'agir d'apports externes de matière organique, en provenance de sources variées telles que les effluents d'élevage, les sous-produits industriels comme les pulpes de betterave, les composts, les digestats issus de la biométhanisation, ou encore les boues de stations d'épuration des eaux, entre autres. Ces apports externes constituent la matière organique dite exogène (Vanwindekens et al., 2024).

Bien que la matière organique ne représente que 1 à 6% de la masse d'un sol agricole (Magdoff et al., 2021), elle joue un rôle crucial dans ses propriétés physiques, chimiques et biologiques (figure 2), ainsi que dans ses fonctions écosystémiques. Elle affecte notamment la capacité du sol à retenir l'eau et à échanger des cations (CEC). De plus, certains de ses composants sont essentiels à la formation ainsi qu'à la stabilisation des agrégats. En outre, elle constitue un réservoir de nutriments à libération progressive, notamment d'azote, et fournit énergie et éléments aux organismes du sol (Garcia et al., 2018; Genot et al., 2009; Genot et al., 2012; Vanwindekens et al., 2024; Weil et al., 2017). Sans matière organique, il n'y a pas de vie dans le sol et sans cette dernière, le sol ne peut assurer toutes ses fonctions. Par ailleurs, en plus de contribuer indirectement à la croissance de la plante par les mécanismes évoqués, certains composés organiques ont un effet stimulant direct (Weil et al., 2017).

Par conséquent, la quantité et la qualité de la matière organique du sol sont des critères incontournables dans l'évaluation de la qualité du sol (Genot et al., 2009; Genot et al., 2012; Gessesew et al., 2018; Weil et al., 2017) ainsi que dans l'évaluation de la durabilité des pratiques de gestion agricole (Gessesew et al., 2018).

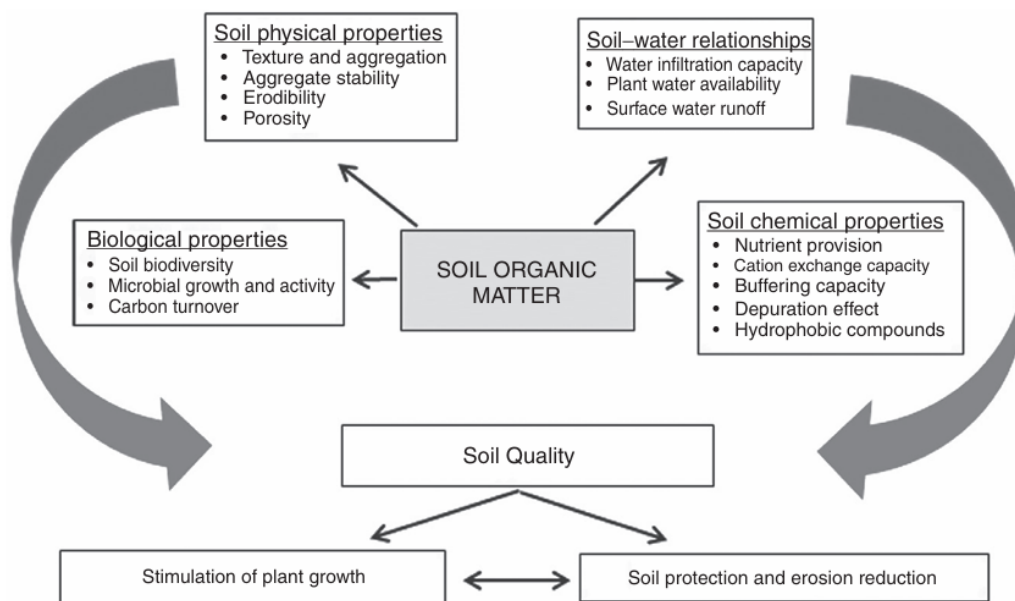


Figure 2 : Influence de la matière organique sur les propriétés du sol (Garcia et al., 2018).

Le carbone, élément essentiel de la matière organique (Rogeeon, 2010), constitue environ 58% de celle-ci (Garcia et al., 2018; Pathak et al., 2005), et est couramment utilisé pour caractériser le statut organique d'un sol, en particulier à travers la mesure du carbone organique total (COT) (Genot et al., 2012). En agriculture, un seuil de COT de 1,15%, voire de 1,5%, est requis pour que le sol puisse remplir efficacement ses fonctions agronomiques. En-deçà de ce seuil une instabilité des agrégats est observée (Vincent et al., 2019).

L'azote total est également pris en compte dans l'évaluation du statut organique d'un sol (Genot et al., 2012). Il comprend à la fois l'azote organique, qui constitue une source d'azote pour les plantes en développement et l'azote inorganique (Hodges, 2010; Pathak et al., 2005).

Au-delà des aspects purement quantitatifs, le rapport C/N, défini comme le ratio entre le carbone organique total et l'azote total (Thibault et al., 2018), constitue un indicateur clé de la qualité de la matière organique (Genot et al., 2009; Genot et al., 2012). Il permet d'évaluer les conditions de minéralisation (Genot et al., 2012), et de décomposition de la matière organique dans le sol (Amin, 2012), l'aptitude du sol à conserver et recycler les nutriments ainsi que l'énergie (Gregorich et al., 1994), et met en lumière les changements dans la qualité de la litière (Amin, 2012). Dans les sols agricoles, le rapport C/N demeure généralement stable, oscillant entre 10 et 12 (Gregorich et al., 1994), avec une plage idéale comprise entre 9 et 10 (Thibault et al., 2018).

Pendant la décomposition de la matière organique, la quantité d'azote disponible dans le sol diminue considérablement, tandis que le carbone est émis sous forme de CO₂ dans l'atmosphère (Hodges, 2010). Lorsque le rapport C/N d'un produit organique est trop élevé, dépassant 15-20, le compostage est considéré comme incomplet (Gérald et al., 2011), rendant la décomposition des résidus difficile en raison de la teneur élevée en carbone (Hodges, 2010). Cela peut provoquer un phénomène de « faim d'azote » pour les plantes. En effet, les micro-organismes du sol puisent l'azote disponible dans le sol pour décomposer ce matériau organique (Gérald et al., 2011) et synthétiser des protéines essentielles

à leur métabolisme, ce qui génère une compétition avec les cultures pour cet élément nutritif, en plus de la rivalité entre les micro-organismes eux-mêmes. À l'inverse, les matériaux organiques de rapport C/N faible sont plus facilement décomposables. Cela concerne généralement les matériaux végétaux immatures qui ont tendance à se décomposer plus rapidement et à contribuer à augmenter le taux d'azote présent dans le sol (Hodges, 2010).

La figure 3 illustre les interactions entre le cycle du carbone et de l'azote dans le sol, mettant en évidence les processus de minéralisation, de nitrification et les pertes de gaz à effet de serre.

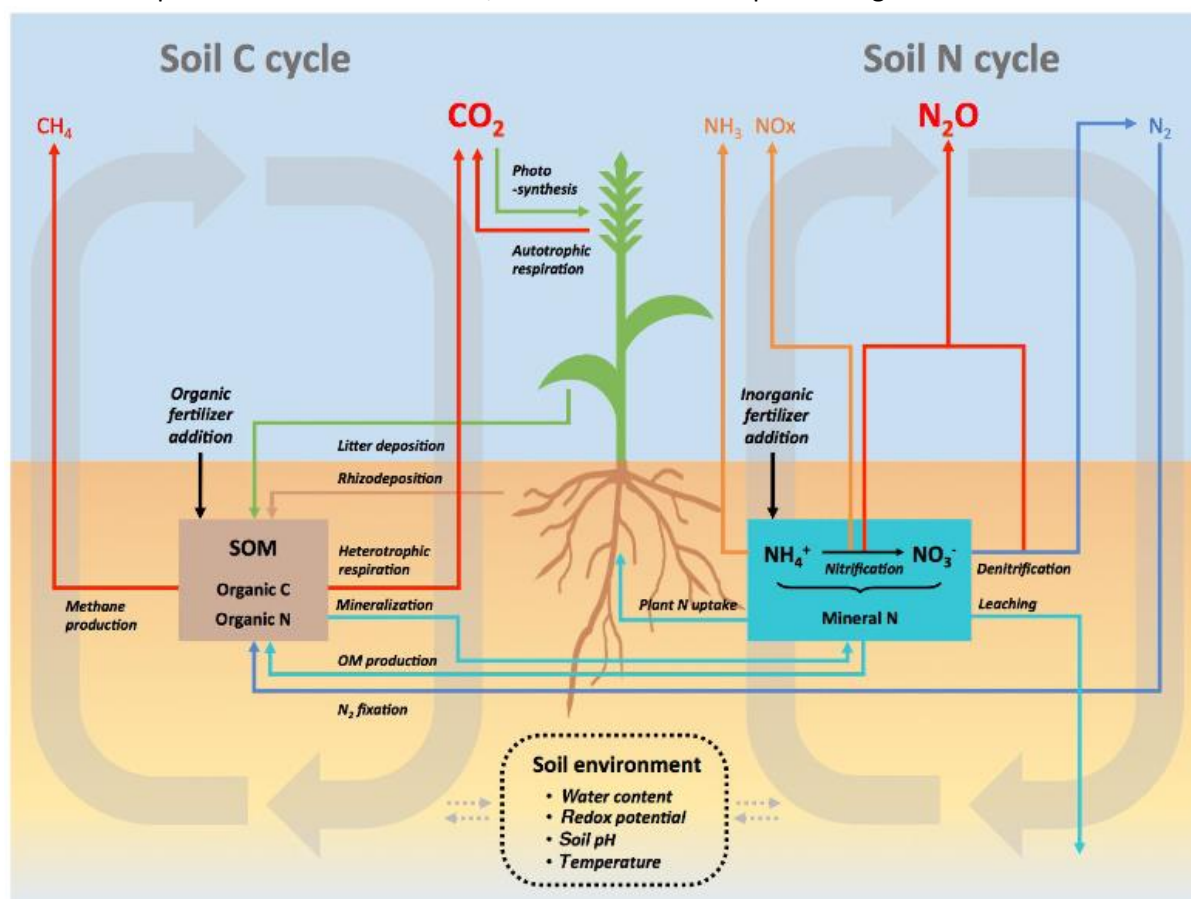


Figure 3 : Dynamique du carbone et de l'azote dans le sol (Guenet et al., 2021).

Dans les sols, l'argile contribue à la stabilisation du carbone organique total (COT) en formant des complexes argilo-humiques. Cela permet aux sols riches en argile de retenir plus efficacement le COT par rapport aux sols sableux (Vanwindekens et al., 2024). Pour mieux prendre en compte les différences de teneur en argile à travers la Wallonie, l'indicateur « COT/argile » est utilisé dans la mesure agro-environnementale et climatique (MAEC) « Sols » (MR14). Cet indicateur représente le rapport entre la quantité de carbone organique total du sol, en pourcentage de la matière sèche, et la proportion d'argile granulométrique, en pourcentage, dans l'horizon superficiel de la parcelle (SPW, April-1-2025; Vanwindekens et al., 2024). Il a été établi que le rapport carbone organique/argile est un indicateur fiable de la propension du sol à former une structure stable (Johannes et al., 2017; Prout et al., 2021). Cette relation forte entre le ratio carbone organique/argile et structure a été observée dans le contexte agricole wallon (Vanwindekens et al., 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.

Enfin, le pH du sol constitue un autre critère essentiel dans l'évaluation de la qualité des sols (Doran et al., 1997). Mesurant la teneur en ions H^+ dans le sol (Gérald et al., 2011), il permet de déterminer le statut acido-basique du sol (Genot et al., 2009) et reflète les conditions physico-chimiques qui

influencent la structure du sol, notamment la porosité, facilitant la circulation de l'air et de l'eau. Il influence également la disponibilité des macronutriments et des oligoéléments, l'activité microbienne, en particulier les processus d'humification et de minéralisation de la matière organique (Amin, 2012; Genot et al., 2012), ainsi que la composition de la communauté microbienne (Amin, 2012). Un pH situé entre 6 et 7 est généralement considéré comme optimal pour la croissance des grandes cultures (Gérald et al., 2011; Genot et al., 2012). Cette plage de pH favorise en effet l'activité biologique et l'assimilation des éléments nutritifs, tout en évitant les risques de toxicité ou de carence qui peuvent survenir en dehors de ces limites (Gérald et al., 2011). Il est à noter cependant que chaque élément pris séparément possède une gamme spécifique de pH dans laquelle il est plus facilement disponible pour la plante (Genot et al., 2009).

Concernant la mesure du pH, le pH mesuré en eau correspond à l'acidité présente dans la phase liquide du sol, tandis que la mesure en KCl inclut aussi l'acidité liée aux surfaces des particules du sol, en particulier celle retenue par les colloïdes (Sadovski, 2019). Cette dernière conduit à des valeurs plus faibles que le pH_{H₂O} (Genot et al., 2012; Wang et al., 2019), avec un écart moyen d'environ 0,5 à 1 unité pour les sols acides (Genot et al., 2012).

2.3.2.3. Indicateurs biologiques

La communauté microbienne du sol, bien qu'elle ne constitue qu'une infime portion du volume total du sol (0,1 à 0,3% dans la plupart des cas), joue un rôle fondamental dans son bon fonctionnement. En effet, elle est impliquée dans près de 90% des processus écosystémiques essentiels à la qualité des sols (Muñoz-Rojas, 2018). Les fonctions clés des micro-organismes du sol comprennent : la décomposition de la matière organique, le recyclage et la minéralisation des nutriments, la fixation de l'azote, la dégradation de polluants, le maintien de la structure du sol ainsi que la régulation biologique de ravageurs des cultures, entre autres (Gessesew et al., 2018; Sharma et al., 2010).

Les indicateurs biologiques de la qualité des sols, traduisant la complexité des interactions entre divers facteurs environnementaux (Krüger et al., 2018), comprennent la biomasse microbienne, la respiration microbienne, la composition de la communauté microbienne, les activités enzymatiques (activité en hydrolase, phosphatase, etc.), la diversité et la biomasse des vers de terre, la quantification des nématodes, entre autres (Muñoz-Rojas, 2018). Ces marqueurs biologiques permettent de repérer rapidement des changements subtils dans la qualité des sols (Pathak et al., 2005; Sharma et al., 2010), et apportent des données complémentaires aux indicateurs chimiques, notamment en ce qui concerne les nutriments, leurs cycles, la dégradation de la matière organique, etc (Vincent et al., 2019). La présente étude se concentre sur l'activité microbienne et l'abondance microbienne (en particulier des bactéries) ainsi que sur l'étude des vers de terre.

L'activité microbienne du sol peut être mesurée par la quantification de l'activité enzymatique des micro-organismes et par la mesure de leur respiration.

L'activité enzymatique du sol, assurée par des enzymes extracellulaires sécrétées par bactéries et champignons, renseigne sur la vitesse de décomposition de la matière organique et la redistribution des nutriments. (Steinweg et al., 2012).

La mesure de l'activité microbienne, par la mesure de la respiration du sol, est également un indicateur biologique de la qualité du sol (Gessesew et al., 2018; Sharma et al., 2010; Vincent et al., 2019). Elle offre des informations sur la capacité des micro-organismes à décomposer la matière organique (Gessesew et al., 2018), principale fonction de ces derniers (Vincent et al., 2019), à minéraliser les nutriments et à les rendre accessible aux plantes et autres organismes. Elle renseigne également sur la capacité à stocker les nutriments, à gérer leur disponibilité dans le temps et à favoriser une bonne structure du sol, entre autres (Gessesew et al., 2018).

La respiration du sol est le processus d'oxydation de la matière organique par les communautés microbiennes. Ce processus produit l'énergie nécessaire à leur développement et à leur survie, tout en libérant du CO₂. Le dioxyde de carbone émis est utilisé pour mesurer le taux de respiration du sol, déterminé par la quantité de CO₂ libérée sur une période donnée et dans des conditions contrôlées (Pathak et al., 2005). Parmi les différentes méthodes de mesures de la respiration du sol, la respiration basale ne nécessite pas d'ajout de substrat (Semenov et al., 2025), contrairement à la respiration potentielle où la respiration est induite par l'ajout d'un substrat (Hofman et al., 2004). Un sol avec un niveau élevé d'activité biologique est généralement considéré comme un sol de bonne qualité (Sharma et al., 2010).

L'abondance microbienne du sol, indicateur de la qualité biologique des sols (Vincent et al., 2019), dépend principalement de la disponibilité et de la qualité des ressources nutritives, en particulier de leur teneur en carbone et en azote. Elle est également influencée par des paramètres physiques tels que l'humidité et la température, des interactions biotiques comme la prédation et la compétition, ainsi que par des caractéristiques chimiques du sol, notamment son pH, la concentration en nutriments dissous et la salinité. Par ailleurs, les pratiques agricoles, notamment le travail du sol, réduisent l'abondance et la biomasse des organismes du sol par rapport aux terres non perturbées (Weil et al., 2017). Une abondance microbienne élevée est un signe de sol de bonne qualité (Semenov et al., 2025). L'abondance des micro-organismes dans le sol peut être estimée en quantifiant l'ADN microbien extrait par gramme de sol, ce qui correspond à la biomasse moléculaire microbienne.

Un gramme de sol peut héberger jusqu'à un milliard de bactéries, réparties en près d'un million d'espèces (Dignac et al., 2017). Ces microorganismes participent au recyclage des nutriments, à la stabilisation de la matière organique et à sa décomposition (Dignac et al., 2017; Gregorich et al., 1994; Najmuldeen, 2010), influençant ainsi le cycle du carbone et de l'azote (Dignac et al., 2017; Najmuldeen, 2010; Yuan et al., 2017). La densité des communautés de bactéries peut être évaluée par le comptage de gènes ribosomiques spécifiques (ADNr-16S) (Recous et al., 2017). La quantification par qPCR du gène 16S rRNA constitue une approche couramment utilisée et fiable pour estimer l'abondance bactérienne dans les sols (Kaurin et al., 2018; Postollec et al., 2011; Semenov et al., 2025; Schmidt et al., 2018; Yuan et al., 2017).

Finalement, les vers de terre et leur activité constituent également un bon indicateur de la qualité d'un sol (Lemtiri et al., 2014; Pathak et al., 2005).

Les vers de terre sont répartis en trois catégories écologiques : épigés, endogés et anéciques (Capowiez et al., 2024; Gérald et al., 2011; Weil et al., 2017). Les vers de terre épigés occupent la couche superficielle du sol, parmi la litière et la matière organique en décomposition. Ceux-ci participent au processus de transformation et de recyclage de la matière organique (Gérald et al., 2011; Weil et al., 2017). Les vers de terre dits endogés, quant à eux, vivent exclusivement dans le sol (Gérald et al., 2011), principalement dans les couches supérieures du sol minéral, entre 10 et 30 cm de profondeur (Weil et al., 2017), où ils forment des galeries horizontales (Gérald et al., 2011; Weil et al., 2017). Leur mode de vie varie : certains, à l'allure filiforme, se logent le long des racines, tandis que d'autres, sous forme d'amas dans les horizons plus profonds du sol, participent à la filtration de l'eau en séparant les particules organiques. Quant aux vers de terres de type anécique, ceux-ci forment des galeries verticales (Gérald et al., 2011; Weil et al., 2017), et remontent à la surface pour collecter de la matière organique. Ils ingèrent alors, avec de la terre, les éléments qu'ils transportent dans leurs galeries (Gérald et al., 2011).

Les lombriciens, souvent désignés comme étant les « ingénieurs des écosystèmes » (Blouin et al., 2013; Gérald et al., 2011; Johnson-Maynard et al., 2007), jouent de nombreux rôles dans le sol. Premièrement, ils apportent des modifications positives à la structures du sol (Gérald et al., 2011;

Lemtiri et al., 2014; Oliveira, 2012) via les galeries qu'ils creusent. Ces galeries participent à la formation de la porosité du sol, favorisant ainsi les échanges d'eau et d'air, facilitent le développement racinaires (Gérald et al., 2011; Oliveira, 2012) améliorant le prélèvement de nutriments (Oliveira, 2012). Deuxièmement, les vers de terre participent à la décomposition de la matière organique (Edwards et al., 2022; Gérald et al., 2011; Lemtiri et al., 2014; Oliveira, 2012), en transformant physiquement et chimiquement les résidus végétaux au cours de leur ingestion, digestion et excrétion (Gérald et al., 2011). Ils jouent ainsi un rôle clé en tant que décomposeurs, favorisant la formation d'agrégats stables (Bossuyt et al., 2006; Brown et al., 2000; Edwards et al., 2022; Lemtiri et al., 2014) et participant aux cycles d'éléments nutritifs essentiels tels que l'azote, le phosphore et le carbone (Edwards et al., 2022; Lemtiri et al., 2014). Par ailleurs, en ingérant une quantité importante de sol, les vers de terre influencent la composition des communautés microbiennes au cours de leur digestion (Lemtiri et al., 2014; Oliveira, 2012). Ils modifient également le fonctionnement des microorganismes présents dans le sol (Oliveira, 2012 ; Scheu et al., 2002). Ainsi, toute modification de leur activité, notamment en réponse aux pratiques agricoles, peut être un indicateur pertinent de la qualité des sols (Lemtiri et al., 2014).

Les vers de terre réagissent aux pratiques agricoles mises en place par les agriculteurs, telles que le travail du sol, (Bertrand et al., 2015; Edwards et al., 2022; Gérald et al., 2011), le drainage et l'irrigation, l'emploi de pesticides, de fertilisants et de chaux ainsi que la rotation des cultures (Lemtiri et al., 2014). Les pratiques agricoles sans labour tendent à augmenter la population de vers de terre (Johnson-Maynard et al., 2007; Lemtiri et al., 2014). Cependant, dans les systèmes labourés, ce sont principalement les espèces de vers de terre anéciques de grande taille, qui sont les plus sensibles (Bertrand et al., 2015; Lemtiri et al., 2014), car le labour détruit leurs galeries, enfouit la matière organique de surface qu'elles consomment et peut même les blesser directement et les exposer aux prédateurs (Gérald et al., 2011). Quant aux espèces endogées, plus petites, celles-ci sont moins impactées et peuvent même en bénéficier grâce aux résidus qu'il enfouit (Bertrand et al., 2015; Gérald et al., 2011; Lemtiri et al., 2014).

3. Objectifs

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'essai longue durée « SYCBIO » du CRA-W et a pour objectif d'évaluer l'impact de trois systèmes de cultures biologiques, dont deux systèmes de cultures biologiques innovants sur la qualité des sols agricoles. Le premier système innovant, qualifié d'autonome, ne prévoit aucun apport de matière organique exogène, tandis que le second est mené en agriculture biologique de conservation. Un système de référence, basé sur les pratiques courantes en agriculture biologique, est également mise en place dans le cadre de l'essai SYCBIO.

Pour fournir un bilan global de la qualité des sols, l'étude porte sur trois catégories d'indicateurs de qualité du sol :

1. Physique (stabilité structurale, densité apparente)
2. Chimique (statut acido-basique, teneur, stock et stock cumulé de carbone organique, teneurs en éléments nutritifs, rapport C/argile)
3. Biologique [activité enzymatique (mesurée par hydrolyse du diacétate de fluorescéine), respiration microbienne, abondance microbienne (bactérie), diversité et abondance des vers de terre]

Elle s'attache également à faire des liens avec les fonctions et services écosystémiques rendus par ces sols, pour répondre aux questions suivantes :

- Les systèmes permettent-ils de limiter l'érosion ?
- Les systèmes permettent-ils de stocker plus de carbone ?
- Les systèmes permettent-ils de maintenir des niveaux de fertilité chimique suffisants ?
- Les systèmes sont-ils sensibles à la compaction ?
- Les systèmes sont-ils favorables à la vie du sol ?

4. Matériel et méthodes

4.1. Localisation de l'essai

L'essai SYCBIO (Systèmes de Cultures BIOlogiques) est implanté à Gembloux, région limoneuse soumise à un climat océanique tempéré, sur le domaine agricole du Centre wallon de Recherches agronomiques (CRA-W) (50°33'37.0"N 4°43'06.5"E). Mis en place et converti à l'agriculture biologique en automne 2018, cet essai a pour objectif de comparer trois systèmes de culture (SdC) en grandes cultures biologiques, à travers une approche expérimentale de long terme.

4.2. Dispositif expérimental

L'essai SYCBIO repose sur un dispositif en blocs comportant neuf parcelles, réparties en trois blocs (Bloc 1 à 3) afin de limiter l'influence de l'hétérogénéité du sol. Chaque système de culture (SdC) est implanté sur trois parcelles distinctes, réparties entre les blocs (figure 4).

Les parcelles, de grandes dimensions (225 m × 12 m) et séparées par des bandes enherbées de 3 mètres, ont été conçues de manière à reproduire des conditions de conduites culturales proches de celles rencontrées en exploitations agricoles.

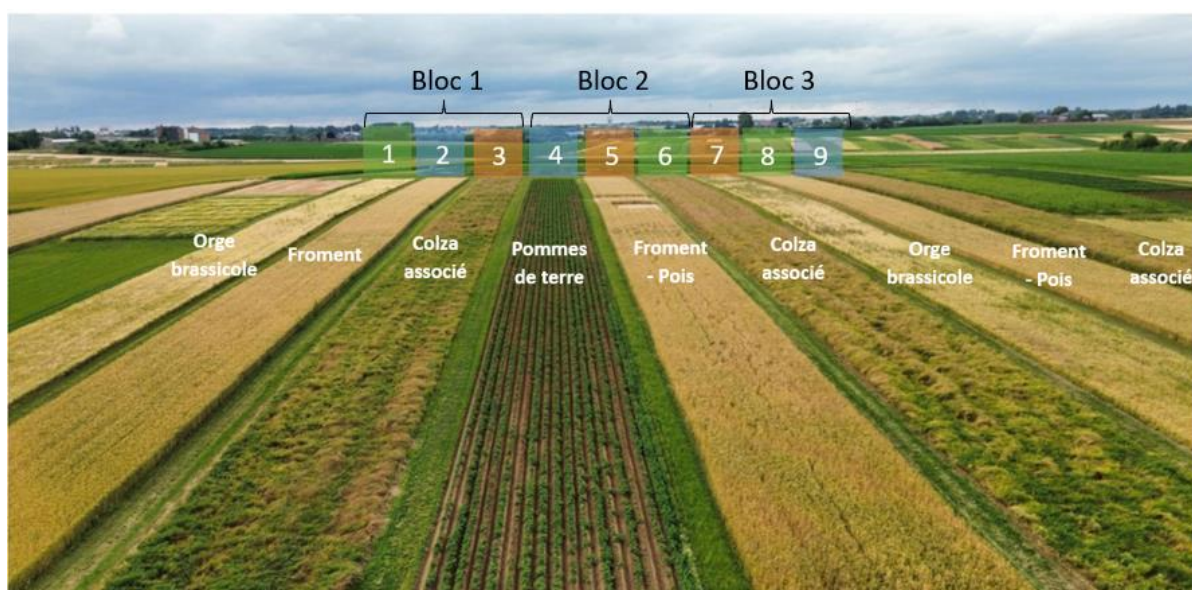


Figure 4 : Plateforme SYCBIO (CRA-W), année 2025 – En bleu : SdC1 (« business as usual »), en vert : SdC2 (système autonome) et en orange : SdC3 (agriculture biologique de conservation) (Photo personnelle).

Les trois systèmes de culture en agriculture biologique comparés sont repris dans le tableau 1 :

- Le premier système (SdC1), dit « business as usual » est représentatif des pratiques agricoles biologiques courantes dans les fermes de grandes cultures en région limoneuse. Il repose sur des cultures pures, avec fertilisation et travail du sol incluant le labour.
- Le deuxième (SdC2), le système autonome, vise à réduire les apports d'intrants exogènes, notamment en azote et phosphore. Pour compenser l'absence de fertilisation azotée, il intègre des légumineuses, capables de fixer l'azote atmosphérique via une symbiose avec les bactéries du genre *Rhizobium* au niveau de leurs nodules racinaires (Vertès et al., 2015). Ces légumineuses sont introduites de manière variée : en culture principale, en culture associée ou

en interculture. Cette approche favorise également le recouvrement du sol, contribuant ainsi à réduire la pression des adventices.

- Finalement, le troisième système (SdC3), nommé « ABC » (Agriculture Biologique de Conservation), associe la suppression des intrants exogènes à l'abandon total du labour. Il repose également sur une l'intégration des légumineuses, et poursuit les mêmes objectifs que le système autonome en termes d'autonomie en azote et de gestion des adventices, tout en renforçant les principes de l'agriculture de conservation.

Tableau 1 : Description des systèmes de culture.

Système de culture	Rotation	Parcelles (numéros)	Fertilisation	Labour
AB "Business as usual"	Cultures pures	2, 4, 9	✓	✓
Autonome	Cultures associées et légumineuses	1, 6, 8	✗	✓
"ABC"	Cultures associées et légumineuses	3, 5, 7	✗	✗

4.3. Particularités du site

Chaque système suit une rotation culturale de 7 ans dont le colza constitue la tête de rotation. La figure 5 représente les successions culturales mises en place pour chacun des trois systèmes.

Pour une année donnée, les trois parcelles associées à un même système de culture accueillent trois cultures différentes (trois cultures successives de la rotation), ce qui permet de représenter plusieurs phases du cycle sur une même année et ainsi limiter l'influence d'un effet saisonnier sur les résultats annuels de l'essai. Ainsi, en 2025, pour le SdC « *business as usual* », les trois parcelles accueillent respectivement du colza, du froment et des pommes de terre (figure 4). L'annexe 1 représente l'organisation des cultures implantées sur la plateforme expérimentale depuis 2019.

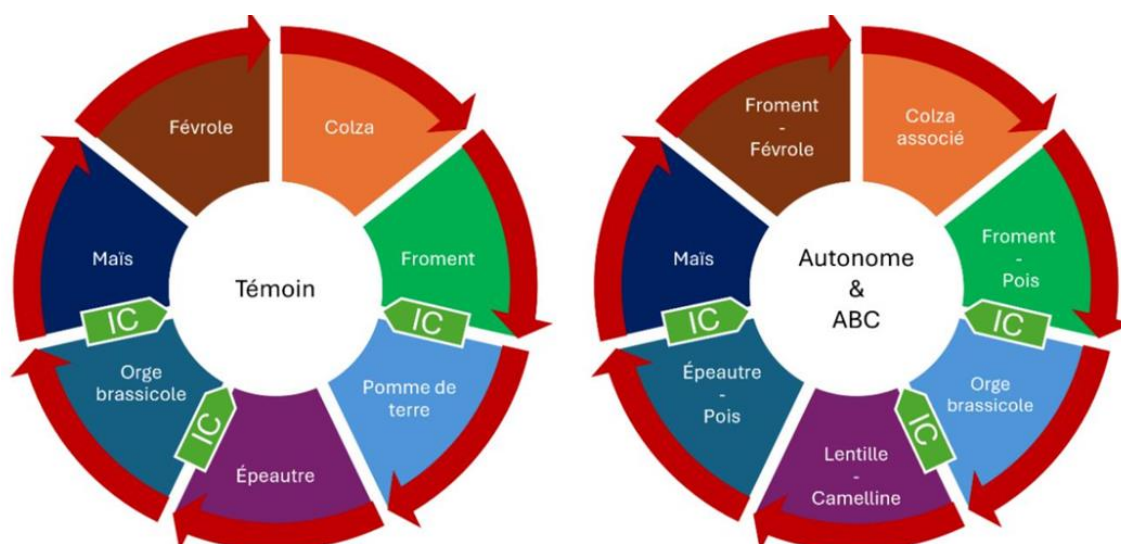


Figure 5 : Rotations mises en place au sein de l'essai SYCBIO en fonction du système de culture étudié (Abrás, 2018).

Par ailleurs, la plateforme SYCBIO présente une configuration particulière, issue du regroupement de deux parcelles agricoles distinctes, ce qui peut engendrer une hétérogénéité spatiale liée à l'historique d'exploitation. Le site comprend, dans sa partie supérieure, un plateau long de 90 m (en bleu clair sur

la figure 6). Une transition pédologique y est perceptible, avec l'apparition de sols à drainage naturel modéré ou imparfait au niveau des parcelles 1 à 3, en complément des sols à drainage naturel favorable. Une rupture de pente intervient à la fin du plateau et coïncide avec un changement de drainage : au-delà, l'ensemble des parcelles repose sur des sols à drainage naturel modéré ou imparfait.

L'ensemble des échantillons ont été prélevés sur ce plateau, afin de limiter l'hétérogénéité spatiale liée à l'historique du site. Pour les analyses chimiques et biologiques, y compris l'étude des vers de terre, le plateau a été divisé en trois sections de 30 m (A, B, C), formant pour chaque parcelle des sous-parcelles identifiées par leur numéro et leur lettre (ex. : 1A, 1B, 1C) (figure 6).

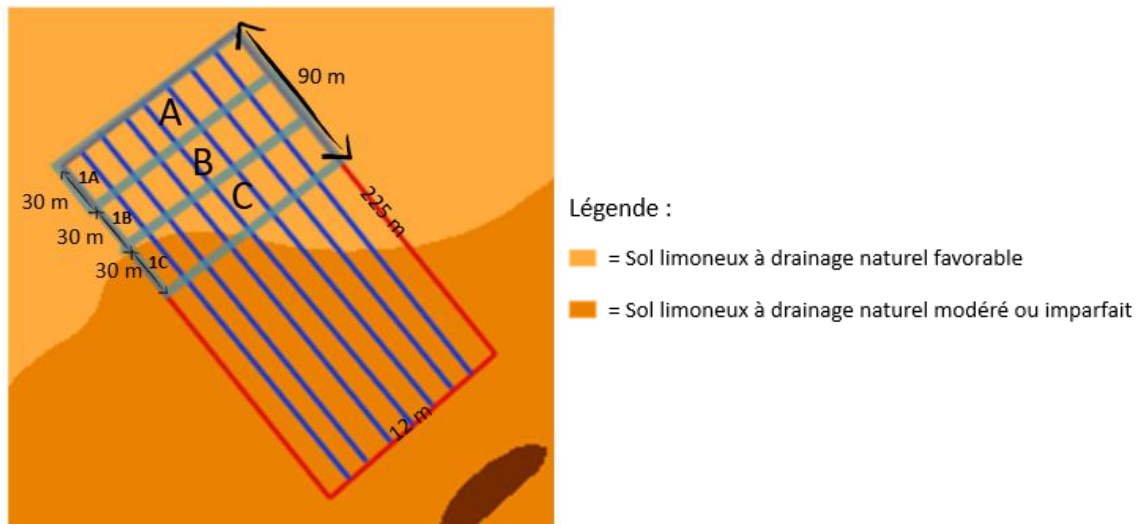


Figure 6 : Configuration de la plateforme SYCBIO (CRA-W) sur un fond pédologique. L'encadré rouge délimite l'ensemble de la plateforme SYCBIO (225mx12m). Les lignes bleu foncé représentent les séparations entre les parcelles, tandis que la zone bleu clair correspond au plateau expérimental. Les lettres A, B et C identifient trois sections. Le fond de carte illustre deux types de sols : les sols limoneux à drainage naturel favorable (orange clair) et les sols limoneux naturel à drainage modéré ou imparfait (orange foncé), selon la Carte des Principaux Types de Sols de Wallonie à 1/250 000 ("WalOnMap | Géoportail de la Wallonie," 2023).

4.4. Mesure de la qualité du sol

L'analyse de la qualité des sols de la plateforme SYCBIO s'est déroulée en plusieurs étapes successives : le prélèvement des échantillons sur le terrain, leur conditionnement et leur analyse en laboratoire selon des protocoles spécifiques à chaque paramètre étudié et l'analyse des données.

4.4.1. Prélèvements et conditionnement des échantillons

Différentes méthodes d'échantillonnage et de conditionnement ont été mises en œuvre selon les indicateurs étudiés. Les détails concernant les échantillonnages réalisés et les indicateurs de qualité du sol analysés dans le cadre de cette étude sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Organisation des campagnes d'échantillonnage, indicateurs étudiés et conditions au moment des prélèvements sur la plateforme SYCBIO (2025).

Propriétés	Dates échantillonnages et indicateurs	Outils de prélèvement	Nombre d'échantillons / parcelle	Nombre d'échantillons sur l'ensemble des parcelles	Conditions météo et état des parcelles au moment de l'échantillonnage	Opérations culturales proches de la date d'échantillonnage
Physiques	13/02/2025 Stabilité structurale	Cylindres de Kopecky	6	54	Conditions : sol ressuyé Parcelles 2, 3, 5, 6, 8, 9 : culture principale mise en place Parcelles 1 et 4 : nues Parcelle 7 : couverts	/
	19/02/2025 et 20/02/2025 Densité apparente	Idem propriétés chimiques	Idem propriétés chimiques	Idem propriétés chimiques	Idem propriétés chimiques	Idem propriétés chimiques
Chimiques	19/02/2025 et 20/02/2025 pH eau, pH KCl C, N, P, K Mg, Ca, Na, Granulométrie	Sondes à pédales de profondeur réglable : <u>Sonde 1</u> : profondeur 0-10cm, diamètre : 2,10cm <u>Sonde 2</u> : profondeur 10-25cm, diamètre : 1,85cm <u>Sonde 3</u> : profondeur 25-50cm, diamètre : 1,50cm	9 échantillons composites	81 échantillons composites : 1 échantillon composite de 6 prises* 3 profondeurs *3 sous-parcelles * 9 parcelles	Conditions : sol ressuyé Parcelles 2, 3, 5, 6, 8, 9 : culture principale mise en place Parcelles 1 et 4 : nues Parcelle 7 : couverts	Parcelle 2 : 18/02/25 - Epandage organique (Biogreen 10 (10-3-1)) Parcelle 4 : 18/02/25 - Epandage organique , Biogreen 10 (10-3-1) Parcelle 9 : 18/02/25 - Epandage organique , Biogreen 10 (10-3-1)
Biologiques	02/04/2025 AM Vers de terre	Bêchée	3	27 échantillons : 1 échantillon*3 sous parcelles * 9 parcelles	Conditions : sec Parcelles 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 : culture principale mise en place Parcelles 4 : nues	/
	09/04/2025 Activité microbienne (FDA, Microresp) Abondance microbienne (qPCR)	Sondes à pédales de profondeur réglable : <u>Sonde 1</u> : profondeur 0-10cm, diamètre : 2,10cm <u>Sonde 2</u> : profondeur 10-25cm, diamètre : 1,85cm	6 échantillons composites	54 échantillons composites : 1 échantillon composite de 10 prises*2 profondeurs * 3 sous-parcelles *9 parcelles	Conditions : sec Parcelles 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 : culture principale mise en place Parcelles 4 : nues	Parcelle 1 : 08/04/25 - Désherbage mécanique Parcelle 4 : 02/04/25 PM - Travail de surface - + 07/04/25 - Fertilisation minérale (Patentkali) Parcelle 7 : 08/04/25 - Désherbage mécanique

Le carnet de champs reprenant toutes les interventions par parcelle de la campagne 2025 est repris en annexe 2.

Les prélèvements relatifs aux caractéristiques physiques du sol ont été réalisés sur le plateau de la plateforme (figure 6), le 13 février 2025. Six prélèvements de sol (100 cm³ chacun) ont été réalisés, par parcelle, de façon aléatoire (trajectoire en « Z »), à plus de 2 m des bordures, à l'aide d'un cylindre de

Kopecky et d'un enfonce-cylindre (figure 7). Chaque lot de six échantillons a été étiqueté, mis en sachet, puis stocké à 4 °C jusqu'au démoulage le 17 février. Lors de cette étape, l'échantillon a été libéré délicatement à l'aide d'un support métallique (figure 8), mis sur une barquette (figure 9), étiqueté à nouveau, puis mis en étuve à 40 °C. Enfin, le 24 février 2025, les échantillons ont été sortis de l'étuve et entreposés en grenier.



Figure 7 : Enfonce-cylindre



Figure 8 : Démoulage des cylindres



Figure 9 : Echantillons démoulés

Les prélèvements destinés à l'analyse chimique ont été réalisés les 19 et 20 février 2025 sur le plateau de la parcelle d'essai, divisé en trois sections (A, B, C) (figure 6). Dans chaque sous-parcelle, six points d'échantillonnage ont été répartis selon un schéma en zig-zag, à plus de 2 m des bordures. À chaque point, la sonde de plus grand diamètre prélevait la couche 0-10 cm, la sonde de diamètre intermédiaire extrayait la tranche 10-25 cm et enfin la plus fine atteignait 25-50 cm. Après chaque extraction, chaque sonde était nettoyée à l'extérieur et un bâton était introduit pour repousser la carotte vers le centre de la sonde afin d'en récupérer la totalité (figure 10). Les carottes ont ensuite été regroupées par profondeur dans des seaux (figure 11), puis dans des sachets plastiques étiquetés et stockées à 4 °C. Le 24 février, chaque échantillon a été pesé à l'état frais, fragmenté à travers le sachet pour éviter les contaminations croisées et transféré en barquette pour un séchage en étuve à 40 °C. Les 5 et 6 mars 2025, les poids secs ont été déterminés, puis chaque échantillon a été désagrégé à la main (figure 12), tamisé à 2 mm, homogénéisé et réparti en deux lots pour analyses au C.A.R.A.H. (Centre pour l'Agronomie et l'Agro-industrie de la Province de Hainaut) et au CPAR (Centre provincial de l'agriculture et de la ruralité), avec nettoyage du matériel de tamisage entre chaque échantillon.



Figure 10 : Carotte entière



Figure 11 : Seau contenant 6 prélèvements



Figure 12 : Echantillon aplati à la bouteille

Le prélèvement et le conditionnement des vers de terre ont été réalisés sur le plateau de la parcelle SYCBIO (figure 6). Un prélèvement par sous-parcelle (A, B et C) a été effectué en bordure pour ne pas impacter le rendement : une bâche a été déployée, puis deux monolithes adjacents ont été extraits à l'aide d'une bêche (20×20×20 cm) (figure 13a) et déposés sur la bâche (figure 13b), la terre fine résiduelle du trou y étant également ajoutée. Le fond du trou a ensuite été arrosé d'une solution extractante à base d'AITC (Isothiocyanate d'allyle) et d'isopropanol pour provoquer la remontée des vers anéciques des horizons profonds. La solution a été préparée, par un membre du CRA-W, en diluant 5 g d'AITC par litre d'isopropanol, puis en mélangeant ce volume avec de l'eau pour obtenir une solution finale à 0,1 g d'AITC par litre. Tandis que la solution agissait dans le sol, les monolithes étaient émiettés manuellement jusqu'à obtenir des agrégats de moins de 1 cm, permettant de récupérer tous les individus, y compris les juvéniles. Les vers remontés ont été récupérés (figure 13c) et placés dans des pots étiquetés, avant d'être placés dans un bac frigorifique et les trous ont été rebouchés.

Au laboratoire, les vers ont été déposés sur un tamis de 1 mm, rincés à l'eau sous faible pression (figure 13d) et ensuite transférés dans des pots étiquetés, dans lesquels une solution d'éthanol à 70 % a été ajoutée pour assurer leur conservation en vue de l'identification ultérieure.



Figure 13 : Différentes étapes du protocole d'échantillonnage et de conditionnement des vers de terre : (a) bêche, (b) monolithe de sol, (c) récupération après application de l'extractant, (d) nettoyage sur tamis

Le 9 avril 2025, sur le plateau SYCBIO (figure 6), dix prélèvements ont été réalisés par profondeur dans chaque sous-parcelle selon un tracé en zig-zag. L'intégralité de chaque carotte était vérifiée. Les dix carottes de chaque profondeur et sous-parcelle étaient ensuite rassemblées dans un seau, émiettées manuellement avec des gants jetables changés entre chaque lot, puis réparties entre un tube de 50 ml et un sachet plastique étiqueté. Sur le terrain, les tubes ont été flash-freezés (figure 14a) dans de l'azote liquide puis placés dans un bac rempli de glace (figure 14b), les sachets stockés dans un frigo box avec glaçons et les sondes, seaux et bâtons étaient désinfectés à l'éthanol entre chaque parcelle. En laboratoire, les tubes ont été placés dans un congélateur à - 80 °C et les sachets rangés en chambre froide à 4 °C. Les 15 et 17 avril, tous les échantillons de 0-10 cm ont été tamisés en frais à 2 mm, et ceux de 10-25 cm d'abord à 4 mm puis à 2 mm (figure 14c), chaque tamis et bac ayant été nettoyés et désinfectés à l'éthanol avant chaque manipulation, avec des gants neufs pour chaque échantillon.

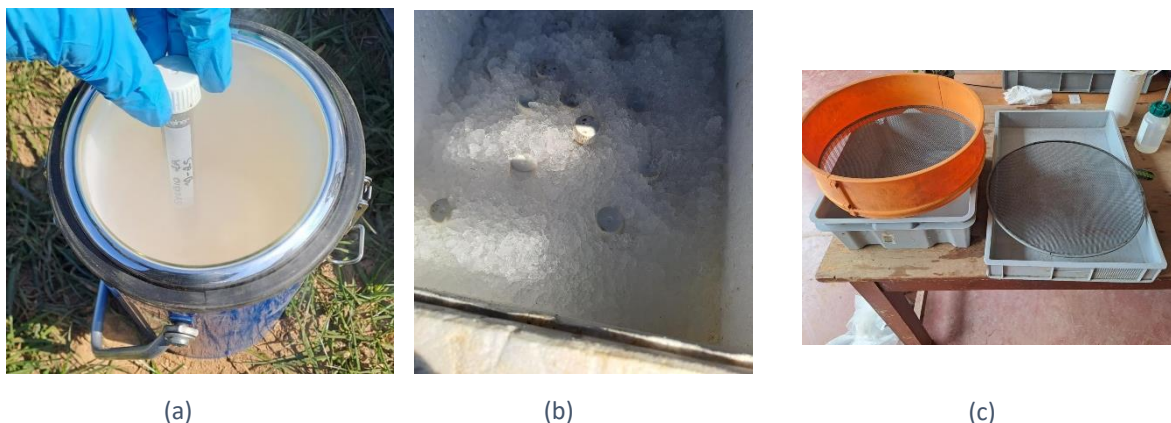


Figure 14 : Opérations du protocole de conditionnement des échantillons de sol destinés aux analyses biologiques : (a) congélation instantanée d'un tube de 50 mL à l'azote liquide (« flash freezing »), (b) Bac à glace contenant les tubes de 50ml, (c) tamisage en laboratoire à l'aide de tamis de 2

4.4.2. Caractéristiques physiques du sol

4.4.2.1. Densité apparente

La densité apparente (DA) a été déterminée à partir des échantillons de sol collectés à l'aide de sondes cylindriques pour les analyses chimiques, à trois profondeurs : 0-10cm, 10-25cm et 25-50cm.

Son calcul repose sur trois paramètres : le poids frais total de l'échantillon (g), le pourcentage d'humidité massique (%) et le volume de sol prélevé (cm³). La densité apparente, correspondant à la masse de sol sec par unité de volume (Blake et al., 1986; Correa et al., 2019), a été déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Densité apparente (g/cm}^3\text{)} = [\text{Poids frais total} \times (1 - \text{Humidité massique} / 100)] / \text{Volume prélevé}$$

Le pourcentage d'humidité massique a été déterminé après le passage des échantillons à l'étuve à 40°C, selon la formule :

$$\text{Humidité massique (\%)} = [(\text{Poids frais} - \text{Poids sec}) / \text{Poids frais}] \times 100$$

Le volume de sol prélevé a été calculé en fonction du nombre de prises réalisées (6 par échantillon), de la longueur de prélèvement (10, 15 ou 25 cm selon la profondeur) et du diamètre intérieur de la sonde utilisée (2,10 cm ; 1,85 cm ou 1,50 cm). Le volume de sol prélevé a été calculé par la formule du volume d'un cylindre ($V_{\text{cylindre}} = \pi \times r^2 \times h$), multiplié par le nombre de prélèvements :

$$\text{Volume prélevé (cm}^3\text{)} = 6 \times \pi \times (\text{Diamètre}/2)^2 \times \text{Longueur}$$

4.4.2.2. Stabilité structurale du sol

La stabilité structurale a été évaluée à l'aide d'une méthode quantitative appelée QuantiSlakeTest (QST). Cette méthode repose sur l'enregistrement en continu de la variation de masse d'un échantillon de sol non perturbé et immergé dans de l'eau déminéralisée, au moyen d'un dispositif de pesée dynamique (Vanwindekens et al., 2023). La figure 15 illustre de façon schématique le montage expérimental utilisé pour le QST. L'échantillon de sol, placé dans un panier métallique (figure 16a), est immergé dans l'eau déminéralisée (figure 16b). Ce panier est suspendu à un crochet situé sous une balance (figure 16c), qui enregistre en continu les variations de masse au cours du test. La balance est reliée à un ordinateur assurant la collecte des données.

Les échantillons utilisés pour cette analyse sont les échantillons structurés, prélevés à l'aide de cylindres de Kopecky. Chaque échantillon a été soumis au test pendant une durée minimale de 1000 secondes.

Lorsque la masse ne s'était pas encore stabilisée au terme de ce délai, l'échantillon était maintenu dans le dispositif, jusqu'à ce que l'ordinateur enregistre une masse constante pendant deux minutes.

L'indicateur Wend, correspondant à la masse relative de l'échantillon à la fin de l'expérience a été généré par Frédéric Vanwindekens (CRA-W).

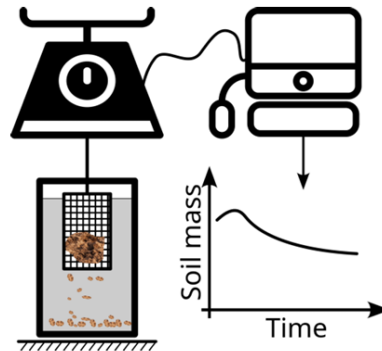


Figure 15 : Représentation schématique du dispositif expérimental du QuantiSlakeTest, CRA-W (Vanwindekens et al., 2023).

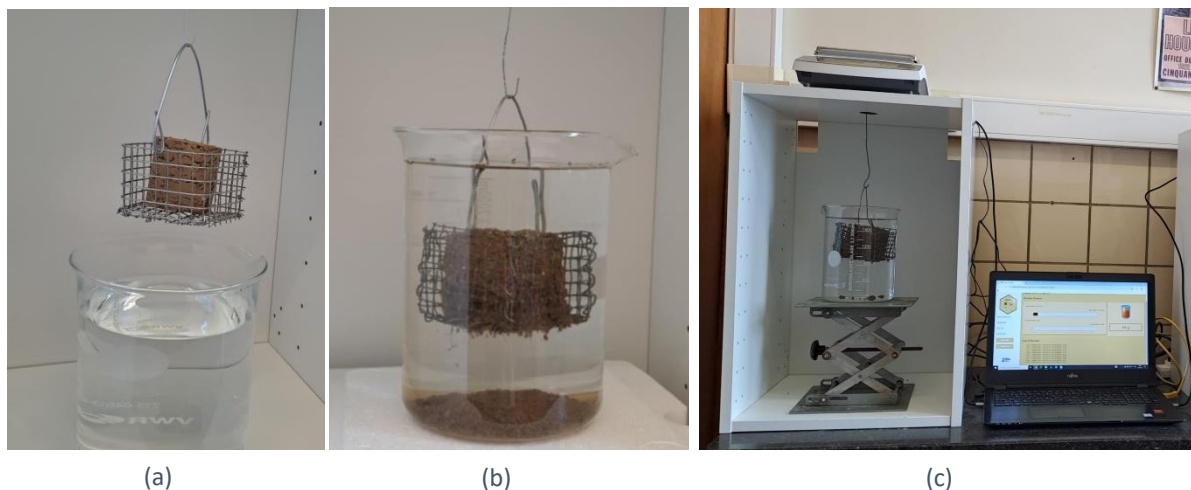


Figure 16 : Éléments du protocole du QuantiSlakeTest (QST) : (a) Échantillon de sol avant immersion dans l'eau déminéralisée, (b) Échantillon de sol immergé, (c) Dispositif expérimental du QuantiSlakeTest

4.4.3. Caractéristiques chimiques du sol

Les analyses chimiques ont été réalisées par deux laboratoires provinciaux : le CARAH (situé à Ath) et le CPAR (situé à La Hulpe).

Le CARAH a fourni des données relatives aux pH (pH_eau et pH_KCl, mesurés selon la norme ISO 10390), aux teneurs en carbone organique (norme NF ISO 10694) et en azote (méthode DUMAS), ainsi qu'aux concentrations en phosphore, potassium, magnésium, calcium et sodium (mg/100g) déterminées conformément aux normes NF X31-120 et NF EN ISO 11885. L'extraction de ces éléments a été réalisée à l'acétate d'ammonium et à l'EDTA en milieu acide, selon la méthode de Lakanen et al. (1971), qui permet d'exprimer la teneur en éléments disponibles (Blondiau L.M., communication personnelle, 29 juillet 2025).

Les mesures de texture (contenus en sable, limon et argile) ont été analysées au CPAR appliquant les principes de la loi de Stokes, conformément à une procédure dérivée de la norme NF X31-107:2003 (Association Française de Normalisation, 2003). Ces analyses ont été complétées par une mesure du C

organique (NF ISO 10694:1995) (International Organization for Standardization, 1995) et du pH_{eau} (NF ISO 10390:2005) (International Organization for Standardization, 2005).

4.4.3.1. Application de la méthode Equivalent Soil Mass (ESM)

À l'aide des mesures de densité apparente, les teneurs en C, N et en nutriments disponibles ont été converties en stocks (t/ha) et en teneurs (g/kg) selon une masse de sol équivalente, en appliquant la méthode « Equivalent Soil Mass » (ESM) (Wendt et al., 2013). Cette approche a été privilégiée plutôt que la méthode classique à profondeur fixe (Fixed Depth, FD), sujette à des biais liés aux variations de densité apparente entre traitements (Ferchaud et al., 2023; Wendt et al., 2013), biais qui auraient pu survenir dans ce travail compte tenu du labour pratiqué dans les systèmes « business as usual » et « autonome », mais absent du système « ABC ». En effet, de telles différences de travail du sol modifient la structure et la densité apparente du sol, sans nécessairement affecter les concentrations en éléments chimiques. Dans ce contexte, un calcul des stocks à profondeur fixe aurait pu conduire à une sous- ou surestimation des stocks (Ferchaud et al., 2023 ; Wendt et al., 2013), comme illustré dans la figure 17.

Pour appliquer la méthode ESM, les concentrations initiales en C, N, P, K, Mg, Ca et Na (fournies par le CARAH) ont été converties en g/kg, puis traitées à l'aide du script R de Ferchaud et al. (2023), qui applique cette méthode et réalise une interpolation entre les points discrets des profils de sol en utilisant une fonction cubic spline.

Pour le carbone organique, en plus des valeurs obtenues pour les différents horizons, les teneurs ont également été recalculées pour l'horizon 0-25 cm (couche 0-3000 t/ha) à partir de moyennes pondérées.

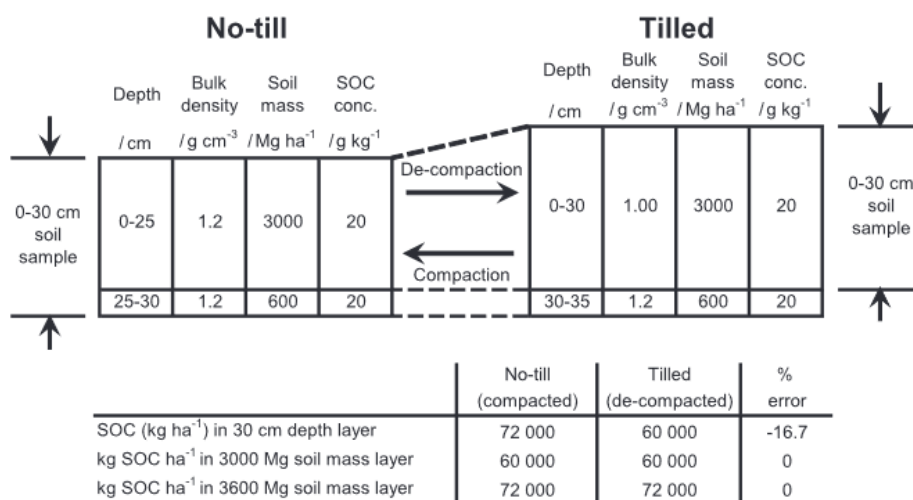


Figure 17 : Biais de l'estimation des stocks de carbone organique du sol (SOC) lié à l'utilisation d'une profondeur fixe en présence de différences de densités apparentes entre un sol non labouré et un sol labouré (Wendt et al., 2013).

4.4.3.2. Détermination des plages de références pour P, K, Mg et Ca

Par ailleurs, sur base des recommandations de L.M. Blondiau (CARAH, service de pédologie), des plages de référence pour les éléments P, K, Mg et Ca ont été établies afin d'évaluer la qualité du statut nutritif des sols.

Pour le P, les plages de référence ont été établies à partir du taux d'argile, ce qui a permis de classer la texture du sol selon des seuils précis (annexe 3), ainsi que du pH_{KCl}. La combinaison de ces paramètres a permis de déterminer, via un tableau de référence (annexe 3), si la teneur en P (mg/100 g) est considérée comme élevée, bonne ou basse. Dans le cadre de cette étude, le pourcentage d'argile et le pH_{KCl} ont été calculés en prenant la moyenne des valeurs mesurées pour chaque paramètre.

Pour les éléments K, Mg et Ca, les plages de référence ont dépendu de la capacité d'échange cationique (CEC). Celle-ci reflète la faculté du sol à retenir et échanger des cations (nutritifs ou non) via les charges négatives des colloïdes (Mattila et al., 2022).

La CEC a été calculée à partir de la formule préconisée par le CARAH :

$$CEC = (\% \text{ d'argile} \times 0,37) + (\% C \times 2,73)$$

Les pourcentages d'argile et de carbone ont été déterminés en prenant la moyenne de leurs valeurs respectives. Les plages spécifiques pour K, Mg et Ca (mg/100 g de terre sèche) ont ainsi été définies en fonction de la CEC calculée.

L'ensemble de ces références a été établi selon la méthode du CARAH, les tableaux correspondants figurant en annexe 3.

4.4.4. Caractéristiques biologiques du sol

4.4.4.1. L'activité microbienne

4.4.4.1.1. Etude de l'activité enzymatique par fluorescence

Afin d'évaluer l'activité microbienne globale du sol (Szabó et al., 2022), l'activité enzymatique a été déterminée en utilisant le diacétate de fluorescéine (FDA). Ce composé, chimiquement désigné sous le nom de 3',6'-diacétyl fluorescéine, constitue un substrat qui subit une réaction enzymatique d'hydrolyse. Cette hydrolyse est catalysée par différentes enzymes, notamment les estérases, lipases et les protéases, largement présentes chez les bactéries et champignons, principaux organismes impliqués dans la décomposition de la matière organique du sol (Prosser et al., 2011). Lors de cette réaction, la FDA, incolore, libère la fluorescéine, un composé coloré mesurable par spectrophotométrie (Adam et al., 2001; Prosser et al., 2011).

Dans le cadre de ce travail, les mesures de fluorescence ont été réalisées à l'aide du lecteur de microplaques, TECAN Spark®, à raison d'un enregistrement toutes les cinq minutes pendant deux heures, avec une excitation à 465 nm et une émission à 535nm. Par ailleurs, une courbe de calibration a été établie afin de convertir les valeurs de fluorescence en concentration de fluorescéine, permettant ainsi l'interprétation des résultats issus du test FDA. Le protocole détaillé est présenté en annexe 4.

4.4.4.1.2. Étude de la respiration microbienne

Dans le cadre du présent travail, la méthode du kit « MicroResp™ » a été utilisée pour évaluer l'activité microbienne du sol à partir de la quantité de dioxyde de carbone (CO₂) libérée par les micro-organismes au cours d'une courte période d'incubation (six heures). Développée par Campbell et al. (2003), cette méthode repose sur une détection colorimétrique du CO₂. Elle utilise un indicateur coloré, le rouge de crésol, intégré dans un gel contenant du bicarbonate de sodium. Le CO₂ émis par les micro-organismes du sol diffuse dans ce gel et réagit avec le bicarbonate, ce qui entraîne une production d'ions H⁺, acidifiant le milieu. Cette variation de pH induit un changement de couleur de l'indicateur, qui s'éclaircit, passant de rose à jaune plus prononcé à mesure que l'acidité augmente (figure 18) (The James Hutton Institute, 2019).

L'équation chimique représentative de ce mécanisme est la suivante :



La lecture de l'absorbance du gel de détection a été réalisée à l'aide du spectrophotomètre TECAN Spark® à 570nm et à une température de 20°C. Le taux d'émission de CO₂ (µg CO₂-C/g/h) a ensuite été calculé en suivant les formules fournies avec le kit, reprises dans le protocole détaillé disponible en annexe 5.

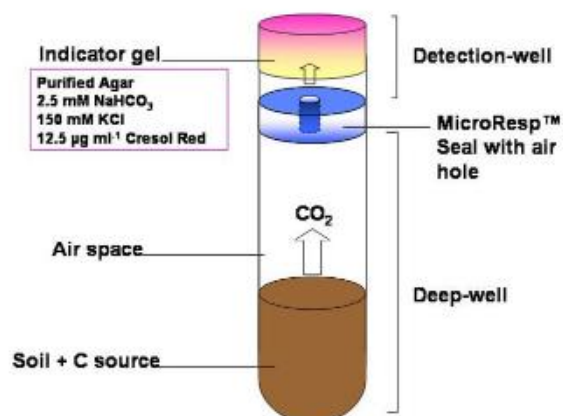


Figure 18: Vue schématique d'un dispositif composé d'un puits profond et d'un puits de détection (The James Hutton Institute, 2019).

Le kit MicroResp™ utilisé dans cette étude (figure 19) est composé de plusieurs éléments. Il comprend une microplaque à 96 puits profonds destinée à accueillir les échantillons de sol, ainsi qu'un dispositif de remplissage. Une seconde microplaque, la microplaque de détection (96 puits), contiendra le gel colorimétrique de détection ; elle est conçue pour être positionnée en vis-à-vis de la première. Ces microplaques peuvent être réunies de manière étanche à l'aide d'un tapis en caoutchouc et une pince de maintien assure la stabilité de l'ensemble pendant l'incubation (The James Hutton Institute, 2019).

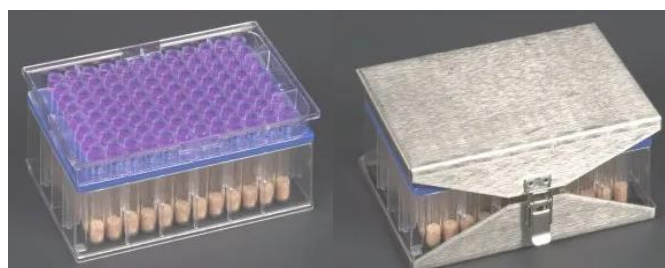


Figure 19 : Composition et assemblage du kit MicroResp™ (The James Hutton Institute, 2019).

4.4.4.2. Quantification du nombre de copies de gènes bactériens du sol par PCR quantitative (qPCR)

La PCR quantitative en temps réel (qPCR), permettant de déterminer le nombre de copies de gènes présents dans un échantillon et d'estimer la biomasse microbienne (Postollec et al., 2011), a été mise en œuvre dans cette étude afin de quantifier les populations bactériennes des échantillons de sol.

Avant la réalisation de cette analyse, plusieurs étapes préparatoires ont été nécessaires. L'ADN présent dans le sol a été extrait en suivant le protocole du kit DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN, 2019), dont les détails sont présentés en annexe 6. La concentration en ADN a ensuite été mesurée à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop ND-1000 en suivant le manuel d'utilisation (annexe 7). Les concentrations obtenues ont été ajustées à 10 ng/µL d'ADN pour un volume final de 35 µL, en vue de leur utilisation en qPCR.

La qPCR appliquée repose sur une amplification cyclique de l'ADN cible, dont le suivi en temps réel est assuré par un fluorochrome. Chaque cycle comprend la dénaturation de l'ADN, l'hybridation d'amorces spécifiques, puis l'élongation à l'aide d'une ADN polymérase (Postollec et al., 2011). Le fluorochrome SYBR Green, agent de détection, se fixe spécifiquement à l'ADN double brin. L'intensité du signal fluorescent augmente proportionnellement à la quantité d'ADN amplifiée, permettant de suivre la

réaction à chaque cycle. La valeur Cq (cycle de quantification), obtenue à partir de la courbe d'amplification lorsque celle-ci croise le seuil de détection (threshold), reflète la quantité initiale d'ADN cible.

Les réactions de qPCR ont été réalisées à l'aide d'un thermocycleur BIO-RAD CFX96™ sur des plaques à 96 puits, avec un mélange réactionnel comprenant le GoTaq® qPCR Master Mix, des amorces spécifiques, de l'eau exempte de nucléases et l'ADN extrait des échantillons. Le programme de qPCR comportait une étape de pré-dénaturation à 95°C pendant 2 minutes, suivie de 40 cycles d'amplification, chacun composé d'une dénaturation à 95°C pendant 15 secondes, puis d'une phase d'hybridation et d'élongation à 60°C pendant 1 minute.

Les amorces spécifiques utilisées dans ce travail pour l'amplification du gène 16S sont :

- 5'- CCT ACG GGN GGC WGC AG -3'
- 5'- ATT ACC GCG GCT GCT GGC A -3'

Des dilutions en série du plasmide contenant le gène cible, allant de 10⁸ à 10³ copies, réparties en triplicat dans la plaque de qPCR, ont été utilisées pour établir une droite d'étalonnage. Celle-ci a permis de mettre en relation les valeurs de Cq aux concentrations connues d'ADN, et ainsi de déterminer le nombre absolu de copies du gène cible dans les échantillons de sol.

Le protocole détaillé se trouve en annexe 8.

4.4.4.3. Dénombrement, biomasse et identification des vers de terre

Le dénombrement, la pesée et l'identification au binoculaire des vers de terre ont été réalisés par plusieurs membres du CRA-W. 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 à l'aide d'une clef d'identification (Josens et al., non publié).

4.5. Analyse des rendements

Les données de rendement pour le froment et la féverole en 2024, ainsi que pour le froment et le pois en 2025, ont été obtenues par Morgan Abras, agent du CRA-W et chef de culture de l'essai SYCBIO. Il s'agit du rendement en grain, en tonnes par hectare (t/ha), ramené à 15% d'humidité qui a été utilisé dans le cadre de ce travail, afin d'assurer une comparaison cohérente des résultats.

Pour l'année 2024, l'indice LER (Land Equivalent Ratio) a pu être calculé. Cet indice compare l'efficacité d'un mélange de deux cultures à celle de ces mêmes cultures en culture pure. Il est défini par la formule suivante (Pierreux et al., 2020) :

$$\text{LER} = \text{LER}_{\text{légumineuse}} + \text{LER}_{\text{blé}} = \left(\frac{\text{Rdt légumineuse assoc}}{\text{Rdt légumineuse seule}} \right) + \left(\frac{\text{Rdt blé assoc}}{\text{Rdt blé seul}} \right)$$

Cet indice a été calculé pour la féverole et le froment, présents dans tous les systèmes étudiés en 2024, à partir des rendements moyens corrigés à 15 % d'humidité.

En 2025, les rendements du froment, culture commune à chaque système, ainsi que les rendements du pois en association, ont été repris dans ce travail. Toutefois, l'absence du pois en culture pure n'a pas permis le calcul du LER pour cette année.

4.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel RStudio® (version R 4.2.2). Pour toutes les variables étudiées, le système de culture a été considéré comme un facteur fixe principal. La structure expérimentale a été prise en compte via un effet aléatoire hiérarchisé, correspondant à l'imbrication des parcelles dans les blocs (1|Bloc/Parcelle), conformément à la configuration de la plateforme expérimentale, à l'exception du rendement du froment 2025 pour lequel l'effet « Bloc » n'a pas été inclus (1|Parcelle) car chaque système de culture n'était pas présent dans tous les blocs. L'évaluation de la diversité des vers de terre a été réalisée au moyen de l'indice de Shannon-Wiener (H'), conformément à la méthode appliquée par Singh et al. (2020). Cet indice a été calculé avec la fonction `diversity(index = "shannon")` du package *vegan*.

Bien que les cultures implantées puissent varier entre les blocs (notamment en raison des rotations spécifiques à chaque système), il s'agit ici d'un essai système : l'objectif n'est pas d'isoler l'effet de chaque facteur (comme dans un essai factoriel), mais bien d'évaluer la performance globale de systèmes de culture cohérents et représentatifs de pratiques agricoles réelles (Drinkwater, 2002; Marget et al., 2020)

Un modèle linéaire mixte, intégrant l'effet fixe (système de culture) et les effets aléatoires hiérarchisés (Bloc/Parcelle), a été ajusté aux données via la fonction `lmer()` (Linear Mixed-Effect Regression). Les packages utilisés pour l'application de ce modèle sont : *lme4*, *lmerTest*, *car*, *multcompView*, *multcomp*. Une fois le modèle ajusté, une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée afin d'évaluer la significativité de l'effet fixe.

Ensuite, les conditions d'application du modèle (normalité des résidus et l'homogénéité de la variance) ont été évaluées à l'aide du package DHARMA (Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models). Ce dernier a permis de générer des résidus simulés standardisés à partir du modèle ajusté, via la fonction `simulateResiduals()`, et de les comparer à une distribution théorique attendue. L'analyse graphique des diagnostics, obtenue avec la commande `plot(sim)`, a permis de vérifier visuellement la validité des hypothèses sous-jacentes au modèle.

Par ailleurs, lorsque cela s'avérait nécessaire et que les conditions d'application n'étaient pas respectées, des QQ-plots ont été générés à l'aide de la fonction `qqPlot()` du package *car*, afin de détecter visuellement d'éventuelles valeurs extrêmes. Lorsqu'un point s'écartait nettement de la distribution attendue, il était identifié puis vérifié dans le jeu de données. Si cette valeur s'avérait aberrante, elle était retirée avant réanalyse.

À la suite de chaque ANOVA, des comparaisons post-hoc ont été effectuées à l'aide de la fonction `emmeans()` du package *emmeans*, permettant d'estimer les moyennes marginales pour chaque système de culture. Un ajustement des p-valeurs a été appliqué selon la méthode de Tukey, avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$, afin de comparer les modalités. Les résultats ont ensuite été synthétisés à l'aide de la fonction `cld()` du package *multcompView*, qui attribue des lettres aux modalités. Deux modalités partageant la même lettre ne présentent pas de différence significative, tandis que des lettres différentes indiquent une différence statistiquement significative.

Pour l'analyse du rendement du froment de 2025, les données ont été transformées par racine carrée (`sqrt`) avant l'ajustement du modèle afin de satisfaire les conditions de normalité et d'homogénéité de variance. Les résultats du test post-hoc de Tukey, issus de ce modèle transformé, ont ensuite été rétro-transformés pour être exprimés en tonnes par hectare. Les graphiques correspondants ont été réalisés à partir des données brutes mais les lettres issues du test de Tukey proviennent du modèle transformé.

En complément, une matrice de corrélation de Pearson a également été calculée à partir des données numériques, en ne considérant que les valeurs du premier horizon (0-10 cm), car il s'agit du seul pour lequel un jeu de données complet est disponible. De plus, cet horizon est celui qui présente la variabilité la plus marquée. Les données relatives aux vers de terre n'ont pas été intégrées car elles ont été prélevées sur 0-20 cm. La matrice a été représentée avec la fonction `corrplot()` du package *corrplot*.

Les graphiques ont été réalisés à l'aide du package *ggplot2*. Des graphes de type « boxplots », profils verticaux et histogrammes empilés ont été utilisés selon les variables représentées. Les lettres issues des comparaisons post-hoc de Tukey ont été ajoutées sur les graphiques afin d'indiquer la présence ou l'absence de différences significatives entre les systèmes de culture. Des codes couleurs spécifiques ont été utilisés pour distinguer visuellement les modalités.

5. Résultats

5.1. Propriétés physiques

5.1.1. Stabilité structurale

La figure 20 présente les distributions de W_{end} pour les trois systèmes de culture (SdC1, SdC2 et SdC3) à l'issue du QuantiSlakeTest.

L'ANOVA révèle un effet très significatif du système de culture sur W_{end} ($p = 0,0029$). Les moyennes ajustées de W_{end} augmentent progressivement du SdC1 (0,177), SdC2 (0,257) au SdC3 (0,736), indiquant une perte de masse moins importante pour SdC3, observation confirmée visuellement sur l'aspect des agrégats (figure 21). En dépit de cette tendance, le test post-hoc de Tukey n'identifie aucune différence significative entre les paires de systèmes (toutes annotées « a »).

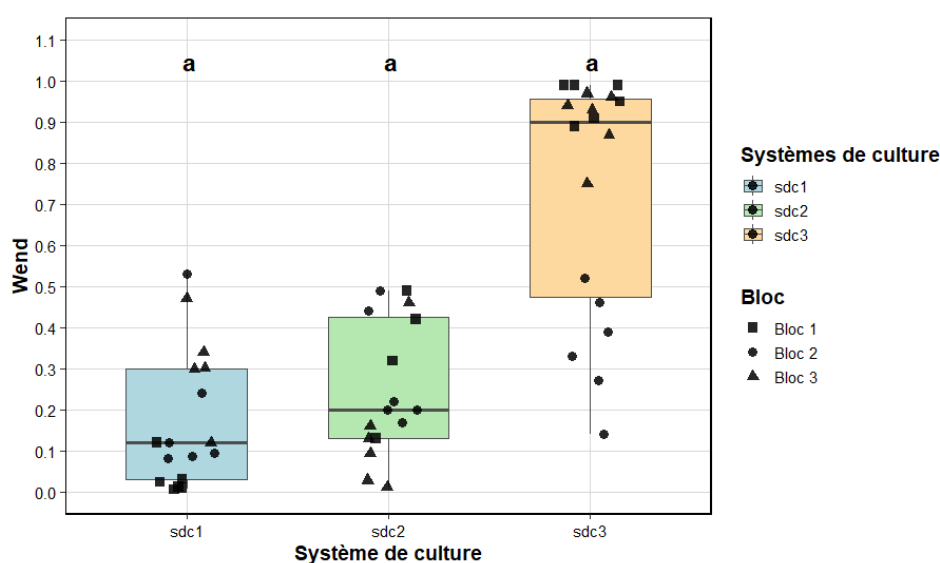


Figure 20 : Boxplots de l'indicateur de stabilité structurale (W_{end}) pour les trois systèmes de culture. Chaque point représente un échantillon de sol, la forme du symbole indiquant le bloc expérimental correspondant. Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé sur l'effet du système de culture, à un seuil de significativité de $\alpha = 0,05$.



Figure 21 : Échantillons au terme du QuantiSlakeTest – système de culture 1 (gauche) : échantillon fortement dégradé, système de culture 3 (droite) : échantillon moins dégradé.

5.1.2. Densité apparente

La figure 22 présente l'évolution de la densité apparente (g/cm^3) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3), pour trois horizons de sol : 0-10 cm, 10-25 cm, 25-50 cm (H_0-10, H_10-25 et H_25-50).

Pour l'horizon H_0-10, l'ANOVA révèle un effet significatif du système de culture ($p = 0,0254$). Les moyennes ajustées varient de $1,35 \text{ g/cm}^3$ (SdC3) à $1,42 \text{ g/cm}^3$ (SdC1 et SdC2), traduisant une tendance à la baisse pour SdC3, qui s'observe visuellement sur le graphique. Toutefois, le test de Tukey n'indique aucune différence significative entre les systèmes (tous annotés « a »).

Dans l'horizon H_10-25, l'effet du système de culture est également significatif ($p = 0,0124$). Les moyennes ajustées montrent une hausse de la densité apparente pour SdC3 ($1,51 \text{ g/cm}^3$) par rapport à SdC1 et SdC2 ($1,36 \text{ g/cm}^3$). Là encore, aucune différence significative n'est détectée en post-hoc (lettre « a » partagée), malgré la tendance observée.

Enfin, dans l'horizon H_25-50, l'effet du système de culture sur la densité apparente n'est pas significatif ($p = 0,0578$). La densité apparente estimée pour SdC1 et SdC2 est de $1,59 \text{ g/cm}^3$ et s'élève légèrement à $1,63 \text{ g/cm}^3$ pour SdC3. Le test de Tukey ne révèle pas de différence significative entre les groupes.

Dans l'ensemble, bien que certaines tendances soient observées selon les horizons, avec notamment une densité apparente légèrement plus faible pour SdC3 dans l'horizon de surface (H_0-10), et au contraire une densité apparente plus élevée pour ce même système dans les horizons plus profonds (H_10-25 et H_25-50), aucune différence significative n'est détectée entre les systèmes de culture après correction post-hoc.

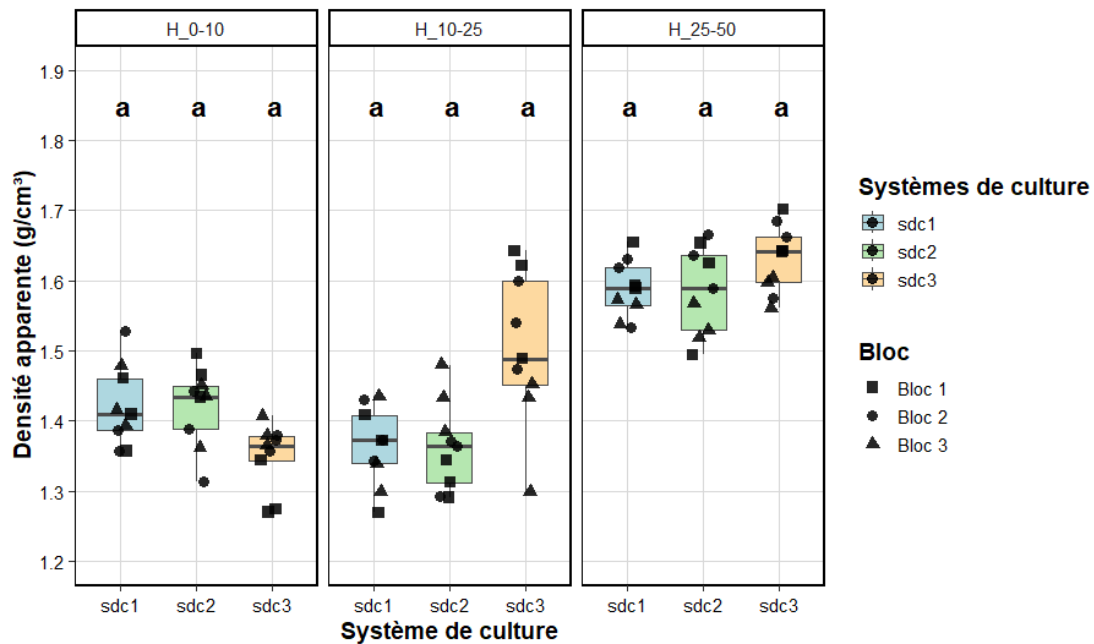


Figure 22 : Boxplots de la densité apparente (g/cm^3) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3) pour trois horizons de sol (H_0-10, H_10-25, H_25-50). Chaque point représente un échantillon de sol, la forme du symbole indiquant le bloc expérimental correspond. Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé sur l'effet du système de culture, à un seuil de significativité de $\alpha = 0,05$.

5.2. Propriétés chimiques

5.2.1. Statut acido-basique

La figure 23 présente les valeurs de pH (KCl) selon le système de culture pour trois horizons de sol (H_0-10, H_10-25 et H_25-50). Pour chaque horizon, les moyennes ajustées de pH varient légèrement entre systèmes, sans suivre de tendance marquée. Les analyses de variance (ANOVA) n'ont mis en évidence aucun effet significatif du système de culture sur le pH, que ce soit en surface ($p = 0,5377$), dans l'horizon intermédiaire ($p = 0,6286$) ou en profondeur ($p = 0,6939$). Le test de Tukey confirme l'absence de différence significative entre les systèmes à chaque profondeur.

En ce qui concerne les différences entre horizons, une légère baisse du pH est observée dans l'horizon H_25-50 par rapport aux horizons supérieurs, avec des valeurs ajustées comprises entre 6,43 (SdC3) et 6,52 (SdC1) pour l'horizon H_0-10, contre 6,35 (SdC2) à 6,44 (SdC3) pour l'horizon H_25-50.

Le pH (eau) (annexe 9) ne présente pas non plus de différence significative entre les systèmes de cultures au sein d'un même horizon.

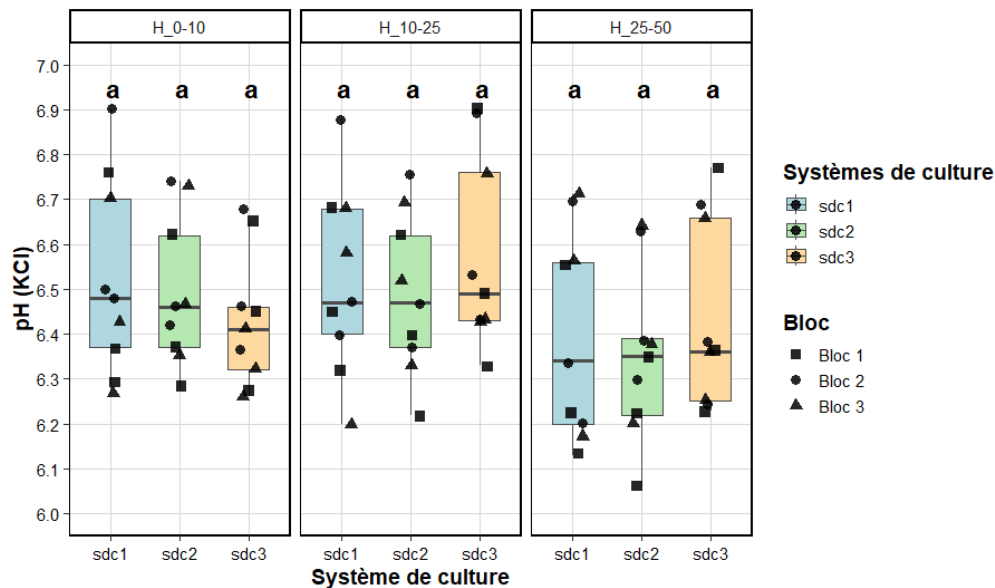


Figure 23 : Boxplots du pH (KCl) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3) pour trois horizons de sol (H_0-10, H_10-25, H_25-50). Chaque point correspond à un échantillon de sol, différencié par bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé sur l'effet du système de culture à un même horizon, au seuil de significativité $\alpha = 0,05$.

5.2.2. Rapport carbone organique / argile (%)

La figure 24 illustre l'évolution du rapport carbone organique/argile (%) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3) pour deux horizons de sol : H_0-10 et H_10-25.

Pour l'horizon H_0-10, l'ANOVA met en évidence un effet hautement significatif du système de culture ($p = 2,029 \times 10^{-11}$). Les moyennes ajustées indiquent une augmentation du ratio carbone organique/argile (C/argile) dans le système SdC3 (0,0858 %) par rapport aux SdC1 (0,0637 %) et SdC2 (0,0609 %). Le test post-hoc de Tukey confirme cette différence, attribuant la lettre « b » au SdC3 et la lettre « a » aux deux autres systèmes, qui ne diffèrent pas significativement entre eux.

Dans l'horizon H_10-25, l'effet du système de culture reste significatif ($p = 0,0211$). Les valeurs ajustées varient de 0,0667 % (SdC1) à 0,0596 % (SdC3), avec SdC2 en position intermédiaire (0,0650 %).

Cependant, le test de Tukey ne révèle aucune différence significative entre les systèmes à cette profondeur, toutes les modalités partageant la lettre « a ».

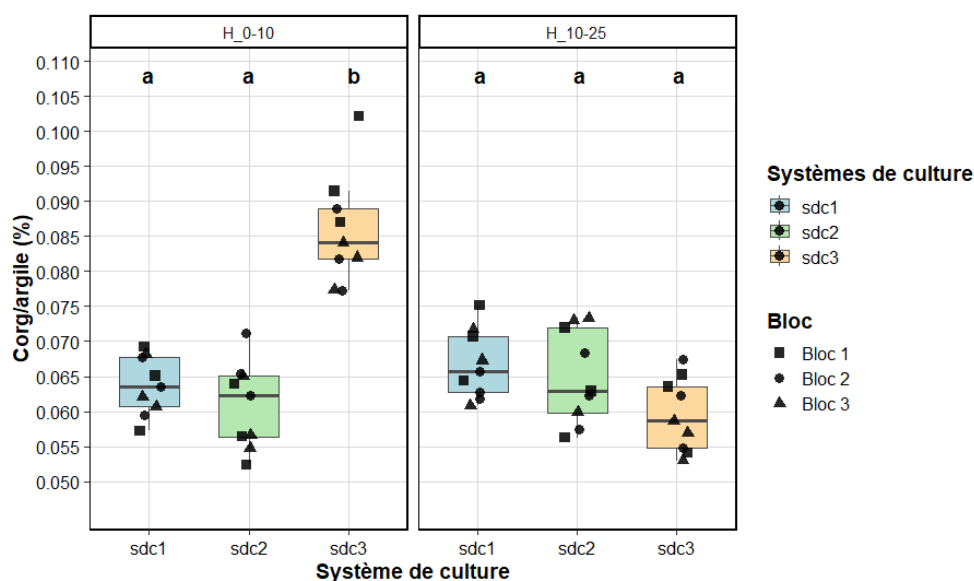


Figure 24: Boxplots du rapport carbone organique / argile (%) selon le système de culture (sdc1, sdc2, sdc3) pour deux horizons de sol (H_0-10 et H_10-25). Chaque point correspond à un échantillon de sol, différencié par bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé pour évaluer l'effet du système de culture à un même horizon, au seuil de significativité $\alpha = 0,05$.

5.2.3. Caractéristiques chimiques du sol

La figure 25 représente les teneurs en carbone organique, azote total, phosphore et potassium disponibles (g/kg) en fonction de la couche de sol explorée, cette dernière étant exprimée en masse de sol cumulée (t/ha) selon le principe de la méthode « ESM », pour les trois systèmes de culture étudiés.

Premièrement, en ce qui concerne la teneur en carbone organique des sols, l'analyse de la variance met en évidence un effet très significatif du système de culture dans la première couche de sol (0-1000 t/ha) ($p = 0,0058$). Les moyennes ajustées indiquent une concentration plus élevée dans le SdC3 (12,7 g de carbone organique/kg de sol sec) par rapport aux systèmes SdC1 (9,14 g/kg) et SdC2 (9,85 g/kg). Le test post-hoc de Tukey confirme cette différence.

Pour la deuxième couche de sol (3000 t/ha), l'analyse de la variance ne révèle aucun effet significatif du système de culture sur la teneur en carbone organique du sol ($p = 0,3951$). Le test post-hoc de Tukey confirme cette absence de différence, les moyennes ajustées avoisinant toutes 10 g/kg.

Enfin, dans la troisième couche de sol (6000 t/ha), un effet hautement significatif du système de culture est observé (ANOVA, $p = 0,0005$). Le test post-hoc de Tukey distingue deux groupes : le système SdC3 présente une teneur significativement plus faible que celles observées dans les systèmes SdC1 et SdC2, ces deux derniers n'étant pas significativement différents l'un de l'autre et affichant des teneurs plus élevées.

Les teneurs moyennes pondérées en carbone organique pour la couche 0-3000 t/ha sont respectivement de 9,83 g/kg, 10,02 g/kg et 10,81 g/kg pour les SdC1, SdC2 et SdC3.

Les stocks de carbone organique (annexe 10) suivent globalement la même tendance que les teneurs : le SdC3 présente un stock significativement plus élevé en surface, puis des stocks comparables à ceux des autres systèmes à 3000 t/ha, et enfin un stock plus faible en profondeur (6000 t/ha), en cohérence avec les variations de teneur observées aux différentes profondeurs. Par ailleurs, une augmentation du stock de carbone organique avec la profondeur est observée pour l'ensemble des systèmes de culture.

De plus, le graphique des stocks cumulés de carbone (annexe 10) montre qu'en surface (1000 t/ha), le SdC3 présente un stock significativement plus élevé que les SdC1 et SdC2. À mi-profondeur (3000 t/ha), ce système conserve une valeur significativement supérieure à celle du SdC1, tandis que le SdC2 affiche un niveau intermédiaire ne différant pas significativement des deux autres. Aucune différence significative n'est observée entre systèmes à la masse de sol cumulée de 6000 t/ha.

Du point de vue de la teneur en azote total, les analyses statistiques révèlent des tendances similaires à celles observées pour la teneur en carbone organique, avec des teneurs comprises, dans ce cas-ci, entre 0,63 g/kg et 1,27 g/kg.

Quant au rapport C/N (annexe 10), aucune différence significative entre les systèmes de culture n'est observée dans les couches 1000 t/ha et 3000 t/ha. À 1000 t/ha, les moyennes ajustées varient entre 9,98 et 10,75, et à 3000 t/ha, entre 10,2 et 10,4. En revanche, dans la couche 6000 t/ha, une différence significative est détectée : le SdC1 présente un rapport C/N significativement plus élevé que le SdC3, tandis que SdC2 se situe dans une position intermédiaire. Les valeurs moyennes dans cette couche vont de 9,13 à 9,72.

Concernant la teneur en phosphore disponible, aucune différence significative entre les systèmes de culture n'est observée, quelle que soit la couche de sol considérée. Les moyennes ajustées issues des tests post-hoc de Tukey partagent toutes la même lettre (« a »), confirmant l'absence de différences statistiquement significatives entre les systèmes de cultures.

On peut néanmoins observer que, pour l'ensemble des systèmes de culture, les teneurs en phosphore disponible sont plus élevées en surface qu'en profondeur, avec des valeurs autour de 0,22 g/kg dans la première couche (1000 t/ha) et de l'ordre de 0,11 g/kg dans la couche la plus profonde (6000 t/ha).

Finalement, concernant le potassium disponible, l'analyse de la variance révèle un effet très significatif du système de culture dans la première couche de sol (0-1000 t/ha) (ANOVA, $p = 0,006948$). Le SdC3 présente la teneur la plus élevée (0,33 g/kg), suivi du SdC1 (0,26 g/kg) puis du SdC2 (0,20 g/kg). Le test post-hoc de Tukey indique que SdC3 est significativement différent de SdC2, tandis que SdC1 n'est significativement différent ni de SdC3 ni de SdC2.

En revanche, pour les couches plus profondes (3000 et 6000 t/ha), l'analyse de la variance ne met pas en évidence d'effet significatif du système de culture (ANOVA, $p = 0,4323$ et $p = 0,0516$ respectivement). Le test post-hoc de Tukey confirme cette absence de différence, les moyennes ajustées variant de 0,21 à 0,25 g/kg pour la couche intermédiaire (3000 t/ha), et de 0,17 à 0,24 g/kg pour la couche la plus profonde (6000 t/ha).

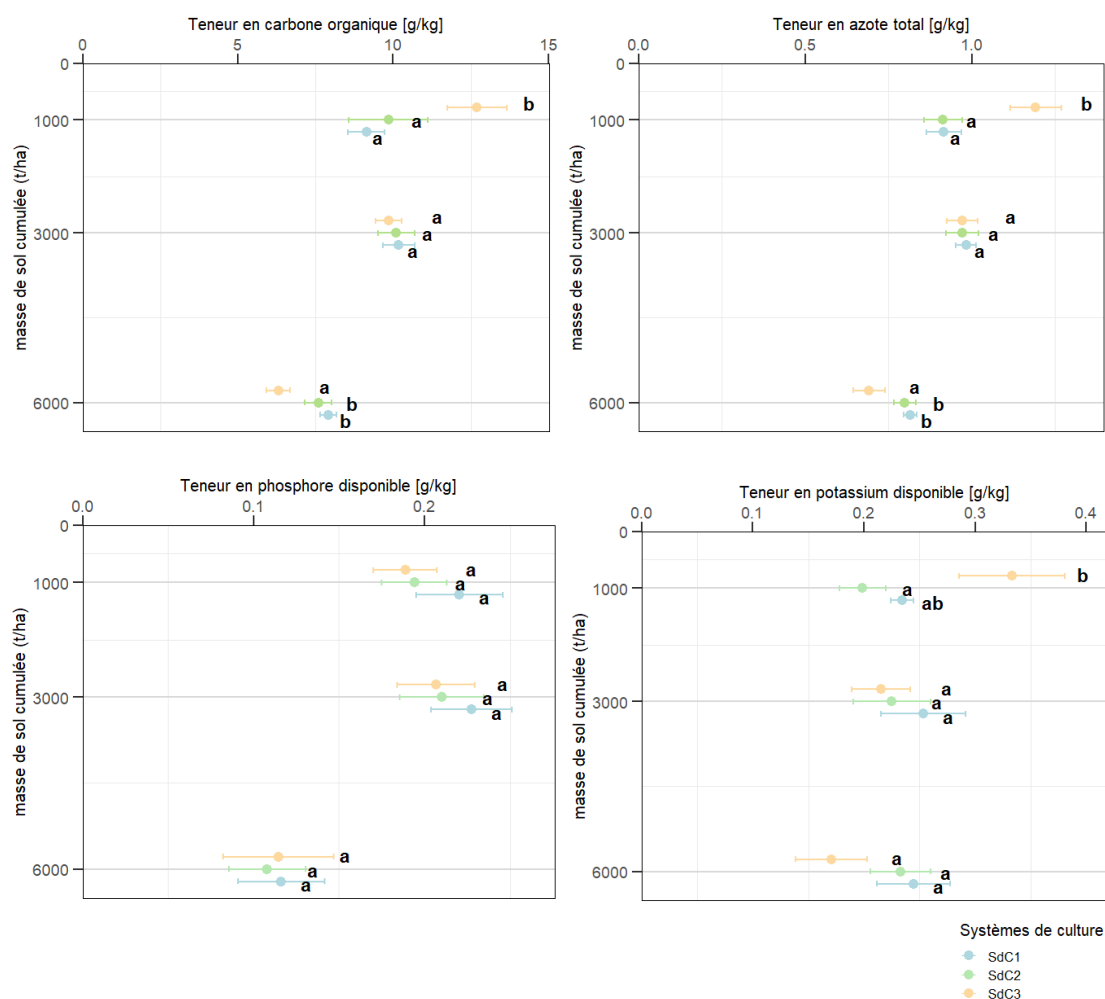


Figure 25 : Teneurs en carbone organique, azote total, phosphore et potassium disponible (g/kg) selon la masse de sol cumulée (t/ha), pour les trois systèmes de culture étudiés (SdC1, SdC2, SdC3). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey réalisé pour comparer les systèmes de culture à une même masse de sol cumulée, au seuil de significativité $\alpha = 0,05$.

Les résultats concernant le Mg, le Na et le Ca disponibles sont présentés en annexe 10. Le magnésium disponible, présente des différences significatives en surface : le système SdC3 affiche une teneur significativement plus élevée que SdC2, tandis que SdC1 n'est significativement différent ni de SdC2 ni de SdC3. Cette différence s'estompe en profondeur : aucune différence significative n'est observée entre les systèmes dans les couches 3000 t/ha et 6000 t/ha.

Pour le sodium disponible, dans la couche 1000 t/ha, le SdC1 présente une teneur significativement plus élevée que le SdC2, tandis que SdC3 ne diffère pas significativement des deux autres. Dans la couche 3000 t/ha, le SdC3 affiche la teneur la plus élevée, significativement supérieure à celle de SdC2, avec SdC1 en position intermédiaire. Enfin, dans la couche 6000 t/ha, aucune différence significative n'est observée entre les systèmes.

Enfin, aucune différence significative n'est détectée pour le calcium disponible, les trois systèmes affichant des teneurs similaires, avec des moyennes ajustées comprises entre 2,02 et 2,32 g/kg, indépendamment de la profondeur.

Par ailleurs, les plages de référence obtenues pour les éléments P, K, Mg et Ca sont les suivantes (annexe 3).

Pour le phosphore, le sol étant considéré comme un sol léger (selon les recommandations de L.M. Blondiau) et le pH_{KCl} (6,47) se situant au-dessus de 5,5, les teneurs en P sont considérées comme :

- Élevées : $> 0,10$ g/kg,
- Bonnes : entre 0,066 et 0,10 g/kg,
- Basses : $< 0,066$ g/kg.

En ce qui concerne le K, le Mg et le Ca, la capacité d'échange cationique (CEC) calculée est de 8,13 méq/100 g, soit une valeur comprise entre 5 et 10 méq/100 g. Les plages de référence correspondantes sont :

- K : 0,104 à 0,155 g/kg,
- Mg : 0,065 à 0,097 g/kg,
- Ca : 0,90 à 1,349 g/kg.

5.3. Propriétés biologiques

5.3.1. Analyse de l'activité enzymatique par fluorescence (FDA)

L'ANOVA met en évidence un effet hautement significatif du système de culture sur l'activité enzymatique de la FDA dans l'horizon de surface (H_{0-10}) ($p < 2,2e-16$). Les moyennes ajustées indiquent une activité nettement plus élevée dans le SdC3 (92,6 nmol/g sol sec/h), comparée au SdC1 (48,0) et SdC2 (47,8). Le test post-hoc de Tukey confirme cette différence : SdC3 se distingue significativement des deux autres systèmes (lettre "b"), tandis que SdC1 et SdC2, qui partagent la lettre "a", ne diffèrent pas significativement l'un de l'autre (figure 26).

En revanche, dans l'horizon plus profond (H_{10-25}), l'ANOVA ($p = 0,0849$) et le test de Tukey n'indiquent pas de différence significative entre les systèmes. Les moyennes ajustées varient de 42,1 (SdC3) à 58,8 nmol/g sol sec/h (SdC1).

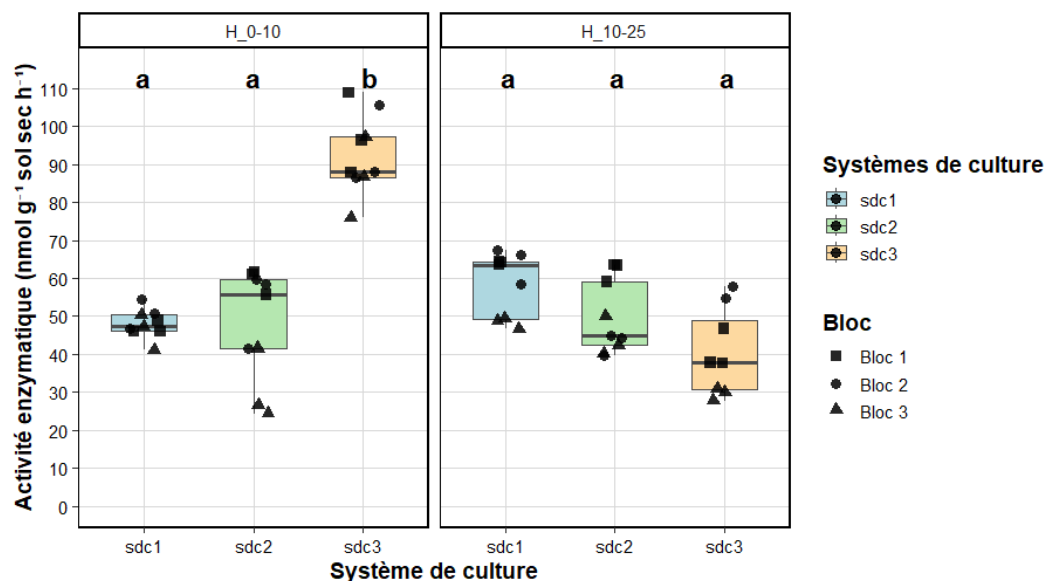


Figure 26 : Boxplots de l'activité enzymatique de la FDA (nmol g⁻¹ de sol sec h⁻¹) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3), pour deux horizons de sol (H₀₋₁₀ et H₁₀₋₂₅). Chaque point représente un échantillon de sol, différencié selon le bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey, réalisé pour comparer les systèmes de culture au sein d'un même horizon, avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$.

5.3.2. Respiration microbienne

Aucune différence significative entre les systèmes de culture n'est observée pour le taux de CO₂ émis (µg CO₂-C/g de sol sec/h), aussi bien dans l'horizon de surface (H_0–10) que dans l'horizon plus profond (H_10–25). L'ANOVA ne révèle pas d'effet du système de culture ($p = 0,8998$ pour H_0–10 ; $p = 0,853$ pour H_10–25), et le test post-hoc de Tukey confirme cette absence de différence (figure 27).

Les moyennes ajustées s'échelonnent de 0,74 à 0,78 µg CO₂-C/g de sol sec/h dans l'horizon de surface et de 0,69 à 0,72 µg CO₂-C/g de sol sec/h dans le second horizon.

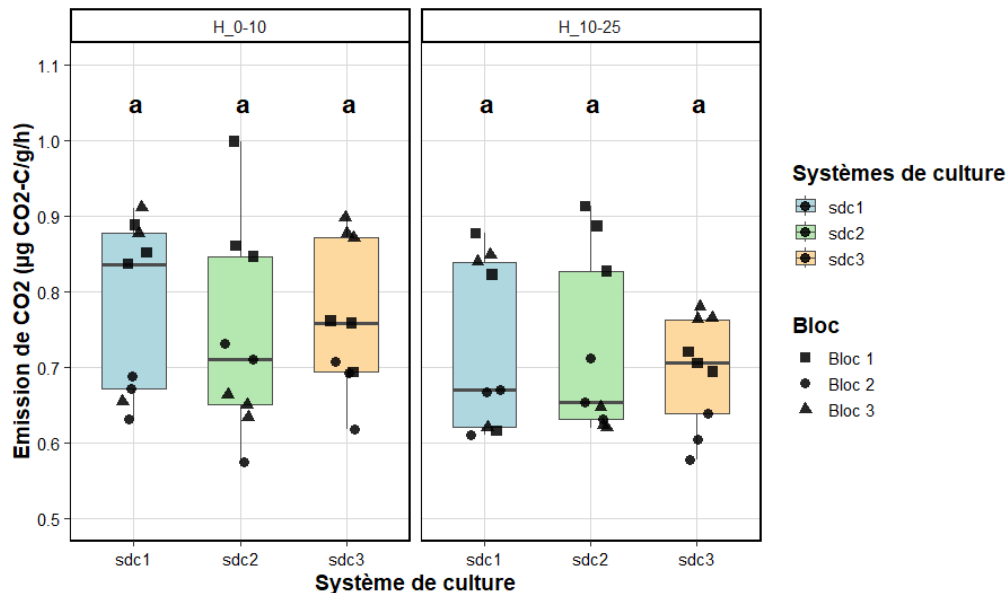


Figure 27 : Boxplots du taux de CO₂ émis (µg CO₂-C/g/h) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3), pour deux horizons de sol (H_0-10 et H_10-25). Chaque point représente un échantillon de sol, différencié selon le bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey, réalisé pour comparer les systèmes de culture au sein d'un même horizon, avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$.

5.3.3. Quantification du nombre de copies de gènes bactériens du sol par qPCR

L'analyse de la variance révèle un effet hautement significatif du SdC sur l'abondance du gène 16S dans l'horizon de surface (H_0–10) ($p = 9,97 \times 10^{-10}$). Les moyennes ajustées indiquent une abondance plus élevée dans le SdC3 ($7,61 \times 10^{10}$ copies de gènes/g de sol), comparée au SdC1 ($3,36 \times 10^{10}$) et SdC2 ($4,53 \times 10^{10}$). Le test post-hoc de Tukey confirme cette différence : SdC3 se distingue significativement des deux autres systèmes (lettre "b"), tandis que SdC1 et SdC2 partagent la lettre "a", indiquant l'absence de différence significative entre eux (figure 28).

En revanche, dans l'horizon plus profond (H_10–25), aucune différence significative n'est observée entre les systèmes de culture (ANOVA, $p = 0,355$). Le test de Tukey confirme cette absence. Les moyennes ajustées varient de $3,88 \times 10^{10}$ (SdC3) et $5,03 \times 10^{10}$ (SdC2) copies de gènes/g de sol.

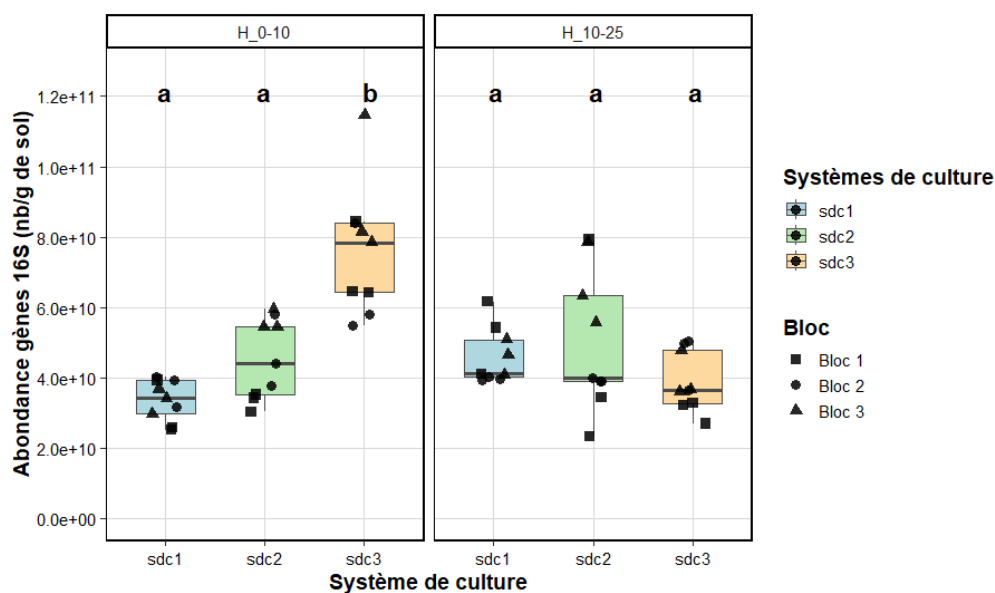


Figure 28 : Boxplots de l'abondance du gène 16S (nb/g de sol) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3), pour deux horizons de sol (H_0-10 et H_10-25). Chaque point représente un échantillon de sol, différencié selon le bloc expérimental (forme des symboles). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey, réalisé pour comparer les systèmes de culture au sein d'un même horizon, avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$.

5.3.4. Vers de terre

La composition spécifique des communautés lombriciennes est présentée dans la figure 29. Les individus juvéniles représentent une part importante de la communauté lombricienne. Parmi les adultes, *Allolobophora chlorotica* est fréquemment rencontrée, avec des abondances élevées dans les SdC1 et SdC2. *Aporrectodea caliginosa* est également bien représentée dans l'ensemble des systèmes. En revanche, les espèces *Lumbricus terrestris* et *Aporrectodea longa*, toutes deux anéciques, apparaissent en plus faibles effectifs. Enfin, aucun individu adulte appartenant au groupe écologique des épigés n'a été observé.

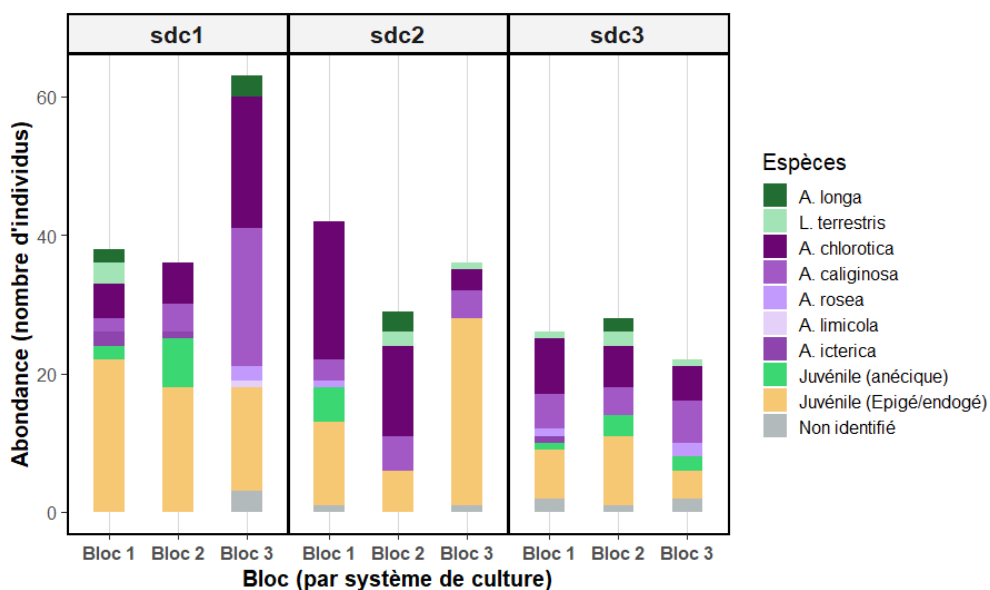


Figure 29 : Diagrammes en barres empilées de l'abondance des vers de terre (nombre d'individus) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3) et le bloc expérimental (Bloc 1 à 3). Les barres représentent la composition spécifique au sein de chaque bloc. Les couleurs indiquent le groupe écologique des individus : anéciques en vert, endogés en mauve et juvéniles (épigés/endogés) en jaune. Les individus non identifiés sont représentés en gris.

Malgré ces différences de composition spécifique, aucune différence significative n'a été observée entre les SdC en ce qui concerne l'abondance des vers de terre (Nombre d'individus/m²) ni l'indice de diversité de Shannon-Wiener (Figure 30, gauche et droite).

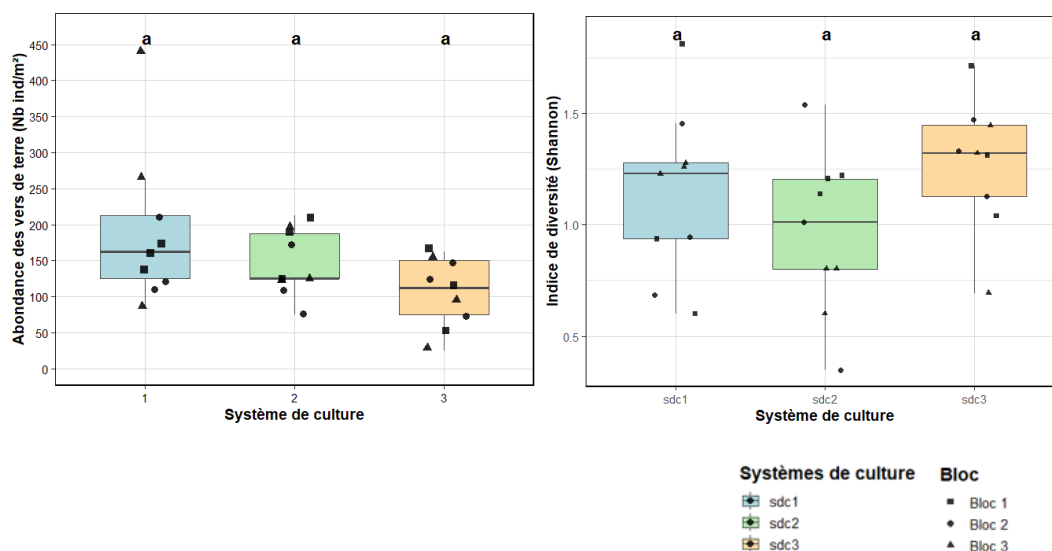


Figure 30 : Boxplots de l'abondance des vers de terre (Nb ind/m², graphique de gauche) et de l'indice de diversité de Shannon-Wiener (H' , graphique de droite) selon le système de culture. Chaque point représente un échantillon individuel, la forme du symbole indiquant le bloc expérimental. Les lettres au-dessus des boîtes désignent les groupes homogènes issus du test post-hoc de Tukey ($\alpha = 0,05$).

5.4. Land Equivalent Ratio du froment et de la féverole en 2024 et rendements du froment et du pois en 2025

5.4.1. Land Equivalent Ratio (LER) 2024

Les LER pour l'année 2024 sont respectivement de 0,647 pour la comparaison entre le SdC1 et le SdC2, et de 0,640 pour la comparaison entre le SdC1 et le SdC3. Dans les deux cas, les valeurs sont inférieures à 1.

5.4.2. Rendements en froment et histogramme empilé du froment et du pois en 2025

L'analyse des rendements de 2025 porte sur le froment cultivé en pur dans le SdC1, et en association avec du pois dans les SdC2 et SdC3. Dans ces deux derniers systèmes, les données présentées pour le froment correspondent donc uniquement à sa composante dans l'association.

La figure 31 illustre les rendements du froment selon le système de culture. L'analyse de la variance révèle un effet hautement significatif du SdC sur ces rendements ($p = 9,091 \times 10^{-14}$), confirmé par le test post-hoc de Tukey. Le SdC1 présente les rendements les plus élevés avec une moyenne ajustée de 7,52 t/ha, tandis que le SdC2 atteint 5,13 t/ha et le SdC3 seulement 3,82 t/ha.

La figure 32, sous forme d'histogramme empilé, illustre les rendements combinés du froment et du pois, mettant en évidence la contribution du pois au rendement total dans les SdC2 et SdC3.

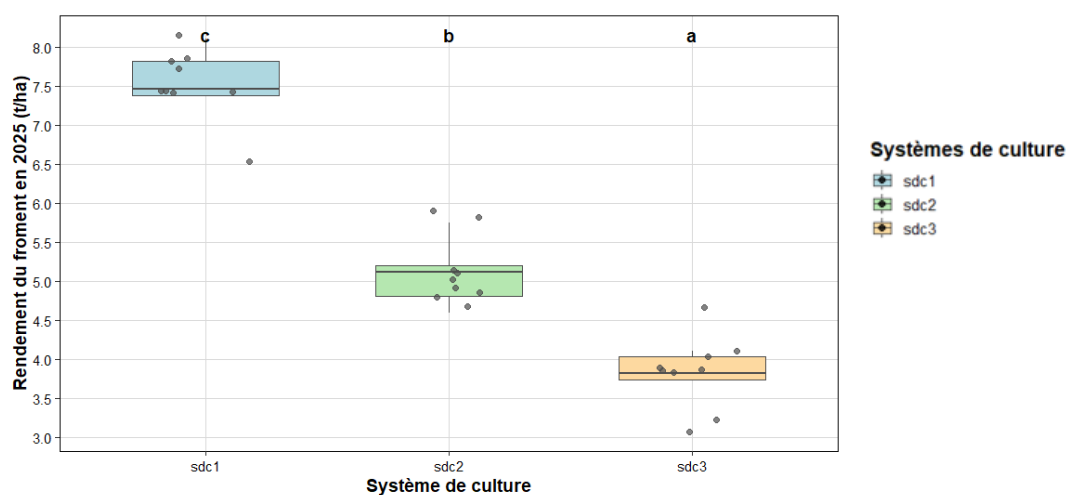


Figure 31 : Boxplots du rendement du froment en 2025 (t/ha) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3). Les lettres indiquent les résultats du test de Tukey, réalisé pour comparer les systèmes de culture avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$.

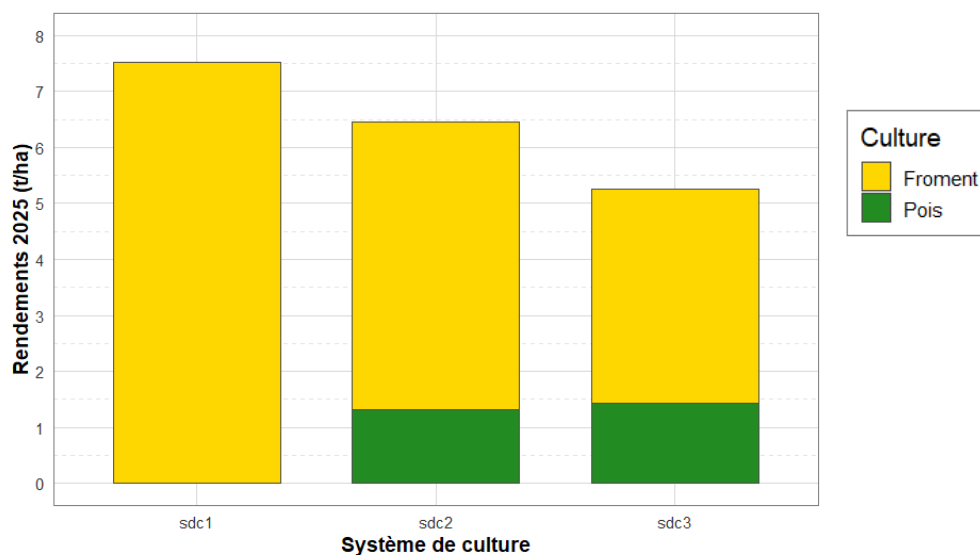


Figure 32 : Histogramme empilé : rendements combinés du froment et du pois en 2025 (t/ha) selon le système de culture (SdC1, SdC2, SdC3). Les barres empilées représentent la contribution respective du froment (jaune) et du pois (vert) au rendement total.

5.5. Corrélation des variables pour l'horizon 0-10 cm

La figure 33 présente la matrice de corrélation de l'ensemble des variables mesurées dans l'horizon 0-10 cm du sol. Chaque case de cette matrice indique le coefficient de corrélation entre deux variables, allant de -1 (corrélation négative, en bleu foncé) à +1 (corrélation positive, en rouge foncé). Les valeurs proches de 0 (teintes blanches) traduisent une absence ou une très faible corrélation.

Des corrélations particulièrement fortes apparaissent entre la stabilité structurale (Stabilité), le ratio carbone organique/argile (Corg_argile), le carbone organique (C_orga), l'activité enzymatique (FDA) et la biomasse bactérienne estimée par qPCR (qPCR). À l'inverse, la densité apparente (DA) présente des corrélations négatives avec ces indicateurs.

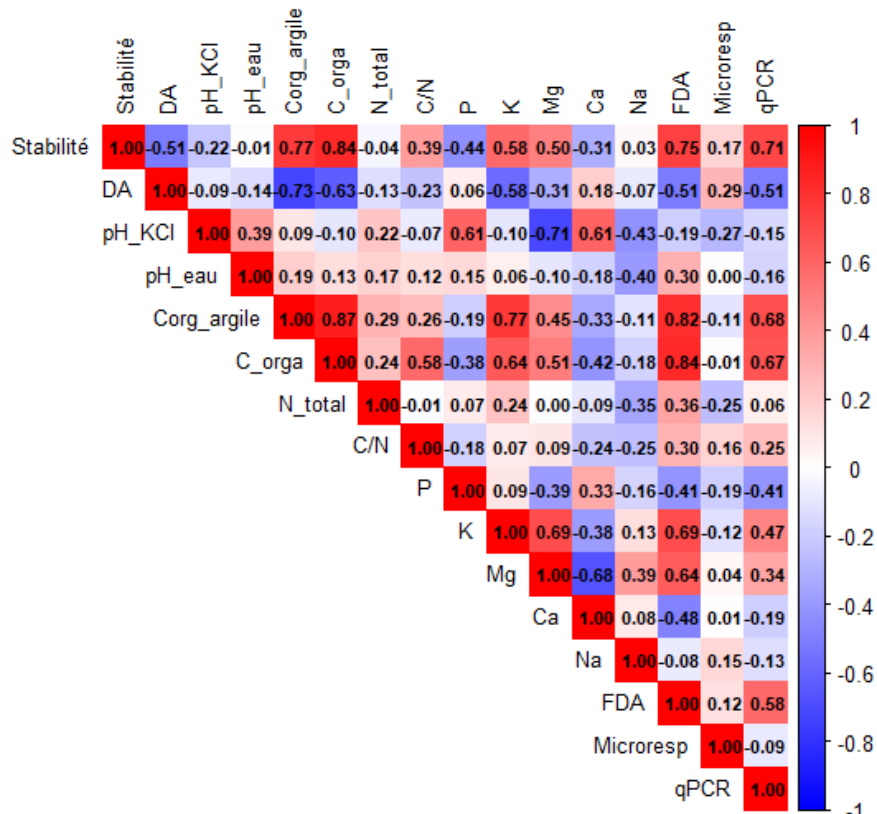


Figure 33 : Matrice de corrélation de toutes les variables, à l'exception des lombrics, à la profondeur 0 - 10 cm

6. Discussion

Avant tout, il convient de rappeler que SYCBIO est un essai système destiné à évaluer la performance globale de différents systèmes de culture représentatifs de pratiques agricoles réelles. Les cultures implantées pouvant différer d'un bloc à l'autre, la culture en place ainsi que le précédent cultural ne sont pas identiques entre blocs. Cette variabilité peut introduire un biais dans l'interprétation des résultats (différences de systèmes racinaires, de dynamique de libération des nutriments, etc.) : même si une rotation complète a été réalisée cette année et que l'historique cultural est similaire, des différences de temporalité et de rotation - SdC1 suivant un schéma distinct de celui commun à SdC2 et SdC3 - peuvent influencer les paramètres étudiés.

Concernant la stabilité structurale (QST), il était attendu que le SdC3 se distingue significativement des deux autres en raison de l'absence de labour. En effet, plusieurs études montrent que la réduction du travail du sol, et en particulier le non-labour, améliore la stabilité des agrégats (Abdollahi et al., 2013; D'Haene et al., 2008; Lahmar, 2010; Obalum et al., 2019) notamment dans un contexte de grandes cultures en région limoneuse (Vanwindekens et al., 2023). Or, bien que les valeurs de stabilité structurale observées dans le système sans labour (SdC3) soient généralement supérieures à celles observées dans les deux systèmes labourés (SdC1, SdC2), les résultats du bloc 2 font exception, atténuant l'effet global du système de culture et conduisant à l'absence de différence significative.

Cette disparité pourrait s'expliquer, comme le suggèrent Khosravani et al. (2024) par le type de culture en place au moment de l'échantillonnage, en lien avec les caractéristiques du système racinaire et le stade de développement. La parcelle du SdC3-bloc 2 était implantée en froment-pois, tandis que celle du SdC3-bloc 1 était en colza associé et celle du SdC3-bloc 3 en cultures de couverture.

Par ailleurs, le froment-pois du SdC3-bloc 2 a été implanté le 28 octobre 2024 et aucun travail du sol n'a été réalisé entre cette date et les prélèvements. Or, une intervention mécanique, même superficielle, aurait pu influencer les résultats obtenus en stabilité structurale, une propriété connue pour sa sensibilité au travail du sol (Abdollahi et al., 2013). Cependant, il est également envisageable que des pratiques antérieures aient affecté localement les dynamiques structurales.

Un autre facteur explicatif réside dans l'hétérogénéité spatiale du site, qui pourrait aussi expliquer une partie des variations observées (Khosravani et al., 2024; Shi et al., 2020). En effet, selon Khosravani et al. (2024) la stabilité structurale peut varier, notamment, en fonction de la granulométrie. Toutefois, l'annexe 11 ne montre pas de différences flagrantes entre les parcelles : toutes présentent une texture majoritairement limoneuse.

Il était également attendu qu'une différence plus marquée soit observée entre le SdC1, d'une part, et les SdC2 et SdC3, d'autre part. En effet, les SdC2 et SdC3 intègrent plus fréquemment des légumineuses dans leur rotation. Or, plusieurs études montrent que l'intégration de légumineuses dans les successions culturales contribue à améliorer la stabilité structurale du sol, notamment en favorisant l'accumulation de la matière organique (MO) (Haynes et al., 1997; Saad et al., 2017). Toutefois, dans le cas du SdC2, des rendements plus faibles, liés à l'absence d'apports d'engrais exogènes, ont probablement limité le retour de carbone organique via les résidus de culture, malgré l'utilisation accrue de légumineuses. Des niveaux similaires de statut organique et de gestion du travail du sol entre SdC1 et SdC2 pourraient ainsi expliquer la similitude des valeurs de stabilité structurale observées.

En cohérence avec les résultats de Vanwindekens et al. (2023), une relation positive ($r = 0,84$) a été mise en évidence entre la stabilité structurale globale du sol et sa teneur en carbone organique (C_{org}). Ce dernier représente la fraction dominante de la matière organique du sol (Garcia et al., 2018), reconnue pour son rôle déterminant dans le maintien de la stabilité structurale des sols. En agissant

comme agent liant au sein des microagrégats, la MO contribue à la cohésion des particules et, par conséquent, à la stabilité des agrégats. Elle influence leur comportement en présence d'eau : une teneur plus élevée en carbone organique tend à réduire la mouillabilité des agrégats et de l'argile associée, limitant ainsi leur désagrégation rapide lors du contact avec l'eau (Chenu et al., 2000). Une corrélation positive est également observée entre la stabilité structurale et le rapport C/argile ($r = 0,77$), ce qui confirme l'intérêt de ce ratio comme critère déterminant de la stabilité structurale des sols, comme le souligne l'article de Vanwindekens et al. (2023). En effet, la mesure de ce ratio dans les différentes modalités d'essais longue durée emblavés en froment d'hiver a permis de démontrer le lien fort entre le ratio C/argile et la stabilité structurale dans des conditions culturales standardisées (Vanwindekens et al., 2023). Cette étude démontre ainsi l'intérêt du rapport C/argile en tant qu'indicateur du potentiel du sol à régénérer une structure stable, par exemple après un travail du sol.

Par ailleurs, la stabilité des agrégats, qui est associée à un taux élevé de carbone organique (Lahmar, 2010), peut être utilisée comme un indicateur de l'érodibilité des sols (Annabi et al., 2017; Khosravani et al., 2024; Lahmar, 2010; Le Bissonnais, 1996; Obalum et al., 2019; Vanwindekens et al., 2023). Une faible stabilité structurale du sol peut entraîner sa dégradation en surface, favorisant la battance et l'érosion (Lahmar, 2010). En effet, les précipitations peuvent désagréger les agrégats et disperser les particules. La formation d'une croûte de battance est la première étape du processus d'érosion hydrique (Le Bissonnais, 1996). Le labour, en tant que forme de travail profond du sol, est l'un des facteurs pouvant intensifier l'érosion (D'Haene et al., 2008), contrairement au travail du sol réduit, plus favorable à la stabilité des agrégats et donc à la réduction de l'érosion (Lahmar, 2010; Obalum et al., 2019). L'érosion est un phénomène qui affecte plusieurs fonctions essentielles du sol : il freine l'infiltration, réduisant la capacité du sol à retenir l'eau disponible pour les plantes. Il appauvrit le sol en MO, en éléments nutritifs (D'Haene et al., 2008; Obalum et al., 2019), et limite le développement racinaire des plantes en profondeur. Ces effets combinés nuisent à la croissance des cultures et peuvent entraîner une diminution des rendements (D'Haene et al., 2008).

La stabilité structurale du sol, en plus de son rôle dans la résistance à l'érosion, contribue à créer un environnement favorable à l'activité microbienne (Annabi et al., 2017; Khosravani et al., 2024). Cette interaction est confirmée par une corrélation positive entre la stabilité des agrégats et l'activité enzymatique mesurée par l'hydrolyse de la fluorescéine diacétate (FDA) ($r = 0,75$). En revanche, l'activité microbienne mesurée par la méthode MicroResp™ ne présente pas de lien notable avec la stabilité structurale ($r = 0,17$).

La densité apparente (DA) est étroitement liée au degré de compaction du sol : à texture égale, plus celui-ci est compacté, plus sa densité apparente augmente (Logsdon et al., 2004; Phalempin et al., 2021). Lorsqu'elle devient excessive, cette compaction réduit la porosité, entrave les échanges d'eau et d'air (Orzech et al., 2021; Zhang et al., 2024) et limite le développement racinaire, compromettant l'assimilation des nutriments et l'absorption d'eau. En outre, la diminution de la capacité d'infiltration qui en découle accentue le risque d'érosion. Les phénomènes de compaction liés à la mécanisation agricole peuvent avoir lieu dans les horizons de surface, mais aussi plus en profondeur. La semelle de labour est un problème fréquent dans les sols de grandes cultures en région limoneuse. Il s'agit d'une couche densifiée à l'interface entre la couche de labour et l'horizon sous-jacent dont la porosité a été réduite par le passage de la charrue (lissage par le soc de la charrue, compaction par le passage du pneu du tracteur). Une semelle de labour reproduit les effets néfastes de la compaction plus en profondeur, en formant une barrière à l'infiltration de l'eau, aux échanges d'air et à l'enracinement (Zhang et al., 2024).

Le seuil critique de DA, dont le dépassement compromet le développement racinaire, est tributaire de divers paramètres, notamment de la granulométrie du sol (Logsdon et al., 2004; Nyeki et al., 2017). Dans les sols limoneux, une DA inférieure à $1,40 \text{ g/cm}^3$ est généralement considérée comme optimale

pour le développement racinaire (Nyeki et al., 2017). Au-delà de cette valeur, les effets de la compaction deviennent notables (Dal Ferro et al., 2014; Nyeki et al., 2017), en particulier à partir de $1,60 \text{ g/cm}^3$. Une DA supérieure à $1,75 \text{ g/cm}^3$ peut fortement limiter la croissance des racines (Nyeki et al., 2017).

En ce qui concerne l'horizon 0-10 cm, aucune différence significative n'est observée entre systèmes de culture. Toutefois une légère tendance à la diminution de la DA est observée pour le SdC3 (non-labour), phénomène déjà observé en sols limoneux par Abid et al. (2008) qui ont mesuré des densités apparentes plus faibles ($1,47$ et $1,46 \text{ g/cm}^3$) sous non-labour contre $1,52$ et $1,56 \text{ g/cm}^3$ sous labour. Cette tendance est également confirmée par Orzech et al. (2021) et par D'Haene et al. (2008). Ce résultat pourrait s'expliquer par l'accumulation de MO en surface et la stabilité accrue des agrégats dans les systèmes non-labourés (Abid et al., 2008), comme le reflètent les corrélations négatives observées entre DA et carbone organique ($r = -0,63$) et entre DA et stabilité structurale ($r = -0,51$). Dans cet horizon, la DA de tous les systèmes de culture reste en deçà du seuil critique de $1,60 \text{ g/cm}^3$. Bien qu'aucune différence significative n'ait été détectée dans l'horizon 10-25 cm, une tendance à l'augmentation de la DA dans le SdC3 (non-labour) est toutefois observable. Cette tendance rejoint pleinement les résultats de da Silva et al. (2023) qui, dans des systèmes de non-labour, constatent eux aussi une densification du sol au-delà de 10 cm, avec des valeurs de DA supérieures à $1,60 \text{ g/cm}^3$. Cette observation pourrait s'expliquer par la persistance, sous forme compacte, de l'ancienne semelle de labour en système sans labour, entraînant ainsi une DA importante (Orzech et al., 2021). Dans cet horizon, les densités apparentes de SdC1 et SdC2 restent inférieures au seuil critique de $1,60 \text{ g/cm}^3$, tandis que SdC3 affiche des valeurs dépassant ce seuil, ce qui pourrait affecter la croissance des racines. Chacun des trois systèmes de culture présente une densification accrue dans l'horizon 25-50 cm par rapport aux niveaux supérieurs. Cette tendance, largement documentée (Abid et al., 2008 ; Blanco-Canqui et al., 2004; Panagos et al., 2024; Reidy et al., 2015), pourrait s'expliquer par la diminution de la MO, la réduction de la porosité et le poids exercé par les couches supérieures, qui accroissent le compactage du sol en profondeur (Blanco-Canqui et al., 2004). Dans cet horizon, pour chacun des systèmes de culture, une partie des mesures de DA atteint au moins $1,60 \text{ g/cm}^3$.

Aucune différence de tendance entre SdC1 et SdC2 n'a été observée, quel que soit l'horizon considéré. Ce résultat peut surprendre au regard de la présence plus fréquente de légumineuses dans la rotation du SdC2, qui aurait pu favoriser une réduction de la compaction (Saad et al., 2017), mais qui, dans les conditions de cette étude, ne semble pas avoir produit cet effet.

Les tendances observées pour les différents horizons pourraient s'accroître à long terme (> 11 ans), tel qu'observé dans l'étude de D'Haene et al. (2008).

La teneur en carbone organique total reflète la quantité de MO présente dans le sol (Vincent et al., 2019). La MO joue un rôle central dans la qualité des sols, en établissant des liens étroits entre leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques (Lal, 2015). Premièrement, la MO renforce la stabilité structurale du sol, en favorisant la formation d'agrégats résistants et en augmentant la porosité de la matrice (Lal, 2015; Vincent et al., 2019), améliorations que l'on retrouve dans les coefficients de corrélation observés (stabilité structurale, $r = 0,84$ et C/argile, $r = 0,87$). En ce qui concerne les propriétés chimiques du sol, la MO intervient comme un acteur majeur en renforçant la CEC et en tamponnant les variations de pH (Krull et al., 2004; Lefèvre, 2015; Vincent et al., 2019). Enfin, sur le plan biologique, la MO constitue la principale source d'énergie et de nutriments pour les organismes hétérotrophes (Krull et al., 2004; Vincent et al., 2019), stimulant leur activité métabolique (Lahmar, 2010; Vincent et al., 2019). Dans ce présent travail, la teneur en carbone organique montre une corrélation significative avec l'activité enzymatique (FDA, $r = 0,84$) et avec le nombre de copies de gènes bactériens (qPCR, $r = 0,67$). De plus, comme déjà évoqué, une teneur élevée en MO limite l'érosion des

sols (Hoffland et al., 2020; Krauss et al., 2022; Lahmar, 2010), tout en contribuant à la régulation climatique par séquestration du carbone organique (Hoffland et al., 2020).

Dans cette étude, les résultats révèlent une stratification verticale marquée du carbone organique dans le profil pédologique, observation largement documentée dans la littérature (Abid et al., 2008; Krauss et al., 2022; Lahmar, 2010). Dans la couche superficielle, SdC3 présente une teneur et un stock en carbone organique significativement plus élevée que SdC1 et SdC2. Dans la couche intermédiaire, aucune différence significative n'est observée. Enfin, en profondeur, SdC1 et SdC2 affichent des teneurs et des stocks significativement supérieurs à ceux de SdC3. Ces résultats pourraient s'expliquer par l'absence d'incorporation de la MO vers les horizons profonds sous SdC3 en raison de l'absence de labour, entraînant son accumulation en surface; à l'inverse, les labours pratiqués dans SdC1 et SdC2 assurent un mélange et une redistribution plus uniformes de la MO dans le profil pédologique (Krauss et al., 2022), l'accumulation en surface, pour le SdC3 n'affectant pas nécessairement la quantité totale de carbone présente dans le profil (Abid et al., 2008). Les résultats relatifs au stock cumulé de carbone organique confirment ce phénomène : le SdC3 favorise un stockage accru dans les couches superficielles et intermédiaires, tandis qu'aucune différence significative n'est observée entre systèmes sur l'ensemble du profil, ce qui montre que l'effet du système de culture se concentre principalement dans les horizons supérieurs. Ce résultat confirme que le non-labour est donc avant tout une mesure de conservation du sol, permettant de le protéger de la battance et de l'érosion plutôt qu'une mesure climatique dans le contexte pédoclimatique et cultural de ce travail.

Par ailleurs, les SdC1 et SdC2 présentent des résultats en teneur et en stock, similaires dans l'ensemble des horizons, alors que, selon Saad et al. (2017), la présence plus fréquente de légumineuses dans une rotation peut favoriser l'accumulation de MO dans le sol.

À titre de comparaison, la teneur moyenne en carbone organique des sols limoneux wallons (0-25 cm, 2015–2019) est de 11,9 g /kg (SPW 2020). Dans cette étude, les moyennes pondérées calculées pour la couche 0-25 cm sont inférieures à cette valeur, mais restent relativement proches.

Ces observations suggèrent que le SdC3 sans labour améliorerait la séquestration du carbone en surface, et que l'accumulation de MO en surface contribuerait à mieux limiter l'érosion, conformément aux conclusions de Krauss et al. (2022) pour les régions tempérées d'Europe. De plus, l'accumulation en surface de carbone organique induirait une meilleure stabilité structurale du sol et stimulerait l'activité microbienne dans l'horizon concerné pour le SdC3. C'est d'ailleurs ce qui est constaté dans le cadre de ce travail : le rapport C/argile, l'indice de Wend, l'activité de la FDA et les quantifications par qPCR 16S y présentent leurs valeurs les plus élevées.

L'azote total incluant l'azote organique et minéral du sol (Vasile Scăteanu et al., 2025), constitue un indicateur central de sa fertilité, car il alimente à la fois la croissance végétale (Fustec et al., 2010; Hodges, 2010; Kim et al., 2023; Liu et al., 2024 ; Vasile Scăteanu et al., 2025; Zhang et al., 2023), et l'activité microbienne (Gérald et al., 2011). Une déficience en azote total compromet les rendements (Liu et al., 2024; Zhang et al., 2023), tandis qu'un excès peut engendrer l'eutrophisation (Liu et al., 2024; Zhang et al., 2023) et accroître les émissions de gaz à effet de serre (Zhang et al., 2023).

Comme pour le carbone organique, les résultats mettent en évidence une stratification verticale marquée de l'azote total dans le profil pédologique. Cette distribution reflète également, pour le SdC3 mené en non-labour, l'accumulation de MO dans les couches supérieures du sol, l'azote provenant de la minéralisation de cette MO (Gérald et al., 2011), celle-ci étant constituée en grande majorité de carbone, mais contenant également des quantités importantes d'azote, d'oxygène et d'hydrogène, bases des composés organiques naturels présents dans le sol (Vanwindekens et al., 2024). Les valeurs obtenues sont comparables à celles observées dans une étude menée sur des sols arables limoneux en région tempérée, où la teneur moyenne en azote total était de $1,01 \pm 0,20$ g/kg. Les auteurs y rapportent également une diminution de la teneur en azote avec la profondeur (Antony et al., 2022).

Ainsi, les pratiques favorisant l'accumulation de MO, telles que le non-labour et l'intégration de légumineuses dans le SdC3, profiteraient simultanément au stockage du carbone et de l'azote en surface. À l'inverse, les pratiques de travail du sol dans SdC1 et SdC2 entraînent une redistribution plus homogène de la MO dans le profil, ce qui pourrait expliquer les teneurs plus élevées en azote et en carbone en profondeur. Il semblerait que le SdC1, bénéficiant d'apports d'engrais azotés externes, n'enrichirait pas le sol en azote total davantage que le SdC2, qui intègre régulièrement des légumineuses en associations culturales et intercultures. Ce constat corrobore l'idée de Fustec et al. (2010) : l'intégration de légumineuses, et donc la fixation symbiotique de l'azote pourrait se substituer aux engrais azotés et offrir une solution de fertilisation plus durable.

Calculé à partir du carbone organique total et de l'azote total, le rapport C/N renseigne notamment sur l'état de dégradation de la MO (Thibault et al., 2018) et sur ses conditions de minéralisation (Genot et al., 2012), un ratio de 9 à 10 étant considéré comme optimal (Thibault et al., 2018). Dans le cadre de cette étude, toutes les valeurs restent très proches de la plage optimale (9-10), ce qui pourrait indiquer que, quel que soit le SdC, la dynamique de minéralisation de la MO demeure globalement favorable.

Le rapport C/argile est significativement plus élevé pour le SdC3 dans l'horizon de surface (0-10 cm) que pour les SdC1 et SdC2, alors qu'aucune différence notable n'apparaît dans l'horizon 10-25 cm. Par ailleurs, les SdC1 et SdC2 présentent des résultats similaires dans les deux horizons, ce qui suggère que, dans les conditions de cette étude, la présence plus fréquente de légumineuses dans la rotation du SdC2 n'a pas eu d'effet marqué sur l'amélioration de la structure du sol, bien que ces cultures puissent contribuer à l'améliorer (Saad et al., 2017).

Les résultats obtenus concordent avec les mesures de stabilité structurale ($r = 0,77$) et de teneur en carbone organique ($r = 0,87$), le rapport C/argile constituant un indicateur de la vulnérabilité structurale du sol (Sauzet et al., 2024).

Afin de qualifier cette vulnérabilité, quatre classes sont généralement définies dans la littérature, selon trois seuils : ratio $< 1/13$ (0,077) « dégradé », $1/13-1/10$ (0,077 - 0,10) « modéré », $1/10-1/8$ (0,10 - 0,125) « bon » et $\geq 1/8$ ($\geq 0,125$) « très bon » (Feeney et al., 2024; Sauzet et al., 2024).

Seul le SdC3 en surface atteint le palier « modéré », les autres échantillons restant dans la classe « dégradée ». Ces valeurs témoigneraient d'une vulnérabilité structurale notable, particulièrement dans l'horizon profond. Conformément aux préconisations de Sauzet et al. (2024), il conviendrait toutefois de recalibrer ces seuils au contexte pédologique local : une analyse fine de la corrélation entre le ratio C/argile et la qualité structurale moyenne des sols cultivés permettrait d'ajuster les bornes des classes aux conditions spécifiques, les seuils existants n'étant pas d'application générale à toutes les classes de sols (Feeney et al., 2024; Sauzet et al., 2024). C'est une perspective qui pourrait permettre d'améliorer, à terme, la MR14 (MAEC sol) en vigueur en région wallonne.

Un pH_KCl avoisinant 6,5 est généralement considéré comme favorable au bon développement des cultures. Lorsque le pH_KCl descend en dessous de 6, cela peut indiquer une désaturation progressive du complexe d'échange, et à des valeurs inférieures à 5, des éléments comme l'aluminium ou le fer peuvent devenir toxiques pour les plantes. À l'inverse, un pH_KCl supérieur à 7 peut entraîner une moindre disponibilité de certains nutriments, ce qui peut également limiter la croissance des cultures (Genot et al., 2012).

Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail confirment des conditions acido-basiques globalement favorables dans les sols étudiés. Le pH_KCl mesuré dans les différents horizons reste proche de la valeur optimale de 6,5, sans différence significative entre les systèmes de culture. Aucune situation d'acidité excessive ou de toxicité n'est observée. Le pH_H₂O, logiquement plus élevé, reste globalement dans une plage favorable à la croissance des cultures également.

Une acidification du sol aurait néanmoins pu être attendue dans le SdC3, non labouré, car ce type de gestion favorise l'accumulation de MO en surface, dont la décomposition s'accompagne d'une libération de protons (H^+), pouvant abaisser le pH au fil du temps (Zhao et al., 2022). Ce phénomène pourrait toutefois devenir observable à plus long terme.

Il était attendu que le non-labour favorise une concentration plus élevée de phosphore (P) et de potassium (K) dans l'horizon de surface (Neugschwandtner et al., 2014; Régniez et al., 2015; Vullioud et al., 2006). Or, dans cette étude, le SdC3 (non-labour, sans apport) ne présente pas de teneur en P supérieure à celles du SdC1 et SdC2, et pour le K seule la comparaison avec SdC2 est significative (SdC1, qui reçoit des apports, est équivalent à SdC3). Ces observations suggèreraient que le régime de fertilisation du sol influence la teneur en ces éléments en surface. Pour distinguer clairement l'effet spécifique du non-labour, il aurait été pertinent d'ajouter un traitement « non-labour + fertilisation ». Enfin, aucun des trois systèmes ne se distingue significativement en profondeur, en accord avec Régniez et al. (2015).

Pour le phosphore, les valeurs mesurées se situent globalement dans la classe qualifiée de « élevée » par le CARAH, quelle que soit la masse cumulée de sol. Ces teneurs élevées pourraient favoriser l'eutrophisation des eaux (Genot et al., 2009; Genot et al., 2012). Pour le potassium, toutes les valeurs mesurées dans cette étude se situent au-dessus de la plage de référence du CARAH, un excès pouvant induire des interactions négatives qui réduisent la teneur en magnésium et calcium dans les tissus végétaux (Genot et al., 2012).

En surface (masse cumulée de 1000 t/ha), une teneur significativement plus élevée en magnésium disponible a été observée dans le SdC3, comparativement au SdC2, mais sans différence significative par rapport au SdC1. Cette tendance pourrait s'expliquer par une plus forte teneur en MO en surface dans les systèmes sans labour, favorisant la rétention des cations échangeables tels que le Mg^{2+} via une CEC accrue (Reijneveld, 2013). Toutefois, le SdC1, malgré le recours au labour, reçoit des apports organiques externes, ce qui pourrait contribuer à maintenir un niveau de Mg comparable. Ainsi, les dynamiques du Mg en surface semblent à la fois être influencées par la structure du sol liée au travail du sol et par les pratiques d'amendement. L'ensemble des valeurs mesurées se situe dans la plage de référence du CARAH, indiquant une disponibilité en magnésium satisfaisante dans l'ensemble des systèmes étudiés.

Pour le calcium, aucune des profondeurs analysées ne révèle de différence significative entre les trois systèmes de culture, ce qui suggère que ni la méthode de travail du sol ni le « régime de fertilisation » n'ont influé sur sa concentration disponible. Les moyennes ajustées obtenues dans ce travail se situent nettement au-dessus des plages de référence du CARAH, ce qui pourrait traduire un excès susceptible d'interférer avec la disponibilité d'autres nutriments et d'induire des carences (Genot et al., 2009).

La rétention du sodium suit, bien que de façon plus atténuée, les mêmes mécanismes que pour le Mg. Le Na est non indispensable au métabolisme des plantes et devient nuisible à forte concentration : il fragilise la structure du sol, réduit sa perméabilité à l'eau et compromet la croissance végétale (Horneck et al., 2011).

Il est toutefois possible que les épandages organiques réalisés sur les parcelles du SdC1 (tableau 2) aient influencé les résultats, même si la prise d'échantillons et leur conditionnement ont été effectués de manière à limiter tout risque de contamination liée à ces apports.

La dégradation de la fluorescéine diacétate (FDA) résulte de l'action conjointe d'enzymes largement répandues chez les bactéries et champignons du sol, ce qui en fait un marqueur global de l'activité microbienne (Prosser et al., 2011).

Dans cette étude, l'activité enzymatique atteint ses valeurs maximales sous le système non labouré (SdC3) en surface, là où l'accumulation de carbone organique ($r = 0,84$), la stabilité des agrégats ($r = 0,75$) et le rapport C/argile ($r = 0,82$) sont ou tendent, dans le cas de la stabilité structurale, à être

significativement plus élevés, témoignant à la fois de l'abondance de substrats énergétiques (Vincent et al., 2019), et d'un habitat microbien au sein d'agrégats stables (Annabi et al., 2017; Khosravani et al., 2024). C'est également dans cet horizon de surface que la fixation symbiotique des légumineuses enrichit le sol en azote, renforçant la disponibilité nutritive et stimulant l'activité microbienne (Gérald et al., 2011; Saad et al., 2017). Dans l'horizon intermédiaire (10-25 cm), où le carbone organique et C/argile sont plus modérés, l'activité FDA diminue sans toutefois différer significativement entre les systèmes.

Ainsi, la concordance entre FDA, C_{org}, N_{tot} et stabilité structurale illustre comment le non-labour et l'intégration de légumineuses structurent simultanément la qualité physique, chimique et biologique du sol via une redistribution de la MO dans le profil de sol. En accumulant la MO en surface, l'arrêt du labour permet d'augmenter l'activité biologique et la stabilité des agrégats en surface du sol, le protégeant ainsi mieux contre l'érosion hydrique. Une accumulation en surface de certains nutriments (ex. : K) lié à des apports accrus par minéralisation peut aussi causer une hausse de la densité racinaire dans le sol de surface (Vanwindekens et al., 2023) et ainsi contribuer à améliorer la structure et la résistance du sol à la battance.

Si les valeurs obtenues sont inférieures à celles rapportées par l'étude menée par Zablotowicz et al. (2000), elles confirment néanmoins la même tendance. Ces valeurs plus faibles pourraient s'expliquer par la sensibilité de la mesure FDA aux variations de pH, d'humidité et de température (Adam et al., 2001), ainsi que par la variabilité induite par la faible quantité d'échantillon de sol utilisée lors des analyses (1,25 g), entre autres.

Une correspondance de tendance entre la respiration microbienne et l'activité enzymatique était attendue pour les raisons évoquées précédemment. Or, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence, tandis qu'une variabilité notable se manifeste au sein d'un même système de culture.

Plusieurs éléments pourraient expliquer ces résultats. D'une part, la mesure de la respiration est extrêmement sensible aux paramètres biotiques et abiotiques au moment des prélèvements et des mesures ultérieures, ce qui pourrait biaiser les résultats (Lori et al., 2017). D'autre part, les opérations culturales réalisées pour certaines parcelles la veille des échantillonnages (tableau 2), pourraient constituer un facteur susceptible de modifier temporairement les conditions du sol et d'influencer ainsi les mesures de respiration microbienne. Au vu de ces sources potentielles d'incertitude, il reste difficile de déterminer avec certitude l'origine de l'absence de signification statistique et d'expliquer la variabilité importante observée dans chaque système de culture.

Les valeurs obtenues, se situent, d'après Vincent et al. (2019) dans la classe « moyenne » de la respiration des sols en Wallonie. Elles dépassent cependant les 0,4 µg CO₂-C/g de sol sec/h mesurés pour l'agriculture biologique dans la même étude, ainsi que les 0,5 µg CO₂-C/g de sol sec/h observés pour les systèmes de conservation. À nouveau, il est difficile de déterminer précisément les raisons de ce constat, tant en raison de la variabilité intrinsèque de l'activité microbienne que des limites méthodologiques.

Les résultats du nombre de copies de gènes bactériens révèlent une différence significative dans le premier horizon : le SdC3 a un nombre de copies de gènes bactériens significativement supérieur au SdC1 et SdC2. Cette observation pourrait s'expliquer à nouveau par l'absence de labour dans le SdC3 (Bouthier et al., 2014; Kaurin et al., 2018; Schmidt et al., 2018), limitant les perturbations de l'environnement des bactéries et de la disponibilité de leurs nutriments (Bouthier et al., 2014). Ces résultats corroborent ceux de Kaurin et al. (2018), qui rapportent, dans l'horizon 0-10 cm, une moyenne de $13,60 \times 10^9$ copies de gènes bactériens par gramme de sol en non-labour, comparé à $7,07 \times 10^9$ en labour ; ces valeurs restant tout de même inférieures aux valeurs obtenues lors de ce travail. En revanche, dans l'horizon 10-25 cm, aucune différence significative n'est observée entre les systèmes de culture, ce qui rejoint les constats de Bouthier et al. (2014) et de Kaurin et al. (2018) ; les valeurs

observées par Kaurin et al. (2018) étant de $9,65 \times 10^9$ copies de gènes bactériens par gramme de sol en non-labour, dans l'horizon 10-20 cm comparé à $9,18 \times 10^9$ en labour. Enfin, l'absence de différence significative pour les deux horizons entre SdC1 et SdC2 suggère que l'effet des légumineuses sur la communauté bactérienne pourrait être analogue à celui des apports organiques commerciaux.

Ces résultats, tout comme l'activité microbienne mesurée par l'activité enzymatique, reflètent la stratification verticale du carbone organique du sol, comme l'ont également mis en évidence Bouthier et al. (2014). Le lien étroit entre densité bactérienne et teneur en MO (représentée par le carbone organique dans cette étude, $r = 0,67$) souligne le rôle prépondérant du carbone dans le développement microbien (Schmidt et al., 2018). Par ailleurs, comme l'ont montré Yuan et al. (2017), le coefficient de corrélation entre le nombre de copies de gènes bactériens et l'activité microbienne (FDA) est élevé ($r = 0,58$), ce qui souligne le lien entre activité et abondance microbienne.

À noter que Schmidt et al. (2018) ont remarqué que, même si le labour modifie la répartition bactérienne, l'abondance globale sur 0-30 cm reste inchangée - un scénario qui pourrait s'appliquer à ce travail.

Finalement, l'évolution observée ici suit également celle du rapport C/argile ($r = 0,68$). Cela pourrait s'expliquer par la sécrétion d'exopolysaccharides (EPS) par les bactéries, qui « cimentent » les particules en agrégats solides, tandis que les fixatrices d'azote fournissent les nutriments nécessaires à cette production, assurant à la fois cohésion structurale et circulation de l'eau et des gaz dans le sol (Wang et al., 2025).

Malgré l'absence de labour dans le SdC3, qui laissait présager une abondance et une diversité lombriciennes supérieures à celles des SdC1 et SdC2, aucune différence significative n'a été constatée entre ces trois systèmes. Cette attente reposait pourtant sur de nombreuses études montrant qu'une diminution de l'intensité du travail du sol favorise généralement les populations de vers de terre (Bouthier et al., 2014; Chan, 2001; Gérald et al., 2011; Lahmar, 2010; Singh et al., 2020). La présence de légumineuses dans les SdC2 et SdC3 ne semble non plus pas avoir modifié l'abondance des vers de terre. Pourtant, l'enrichissement en MO induit par ces cultures (Saad et al., 2017), aurait pu être favorable à leur présence (Bouthier et al., 2014). Ce constat peut indiquer que les travaux de sol, même sans retournement, peuvent nuire aux populations lombriciennes. Il pourrait aussi indiquer que l'effet néfaste du labour est en partie contrebalancé par les apports d'engrais exogènes dans le SdC1, les résidus organiques étant bénéfiques aux vers de terre.

Par ailleurs, une distribution plus marquée des vers de terre anéciques était attendue, avec un nombre nettement plus élevé dans le SdC3, le labour détruisant leur galerie et pouvant directement les blesser (Chan, 2001; Gérald et al., 2011). En outre, une tendance à une abondance plus élevée de vers endogés dans les SdC1 et SdC2 se dégage visuellement. Cette constatation concorde avec la littérature, qui indique que le labour enfouissant la MO, tend à favoriser le développement de ces vers de terre (Bouthier et al., 2014; Chan, 2001; Gérald et al., 2011). *A. chlorotica* et *A. caliginosa* se démarquent des autres vers de terre endogés dans certains échantillons. *A. chlorotica* creuse environ 22 cm de galeries horizontales par semaine, souvent colmatées par leur déjection (Capowiez et al., 2014). Son activité, comme l'ont démontré Hallam et al. (2020) pourrait, dans le cadre de cette étude, contribuer à la formation d'agrégats stables et à améliorer la capacité de rétention en eau du sol. De son côté, *A. caliginosa*, fréquemment présente dans les sols cultivés (Bart et al., 2018; Rosas-Medina et al., 2010), adopte un comportement fouisseur (Bouthier et al., 2014), dont la présence pourrait contribuer à améliorer le cycle des nutriments ainsi que la circulation de l'eau et de l'air dans le sol (Bart et al., 2018). Pour ce qui est des vers de terre épigés, leur absence n'est pas étonnante (Bouthier et al., 2014; Lahmar, 2010; Singh et al., 2020), ceux-ci étant sensibles à tout travail du sol (Bouthier et al., 2014; Gérald et al., 2011). Enfin, la présence marquée de juvéniles pourrait indiquer une capacité de reproduction et de régénération notable des populations lombriciennes (Torppa et al., 2024).

Ces résultats inattendus pourraient résulter de certaines limites du protocole. L'efficacité de l'extractant pourrait varier selon les conditions du sol. Par ailleurs, certains vers, n'étant pas totalement remontés à la surface, étaient capables de s'enfoncer de nouveau lors de la collecte. De même, de petits juvéniles pourraient avoir échappé au tri manuel. Un effet de bordure, conjugué à la surface relativement faible échantillonnée, pourrait aussi limiter la représentativité des observations. Ces hypothèses méthodologiques pourraient donc expliquer l'absence de différences significatives entre systèmes. En outre, la date d'échantillonnage pourrait avoir influencé l'abondance observée, comme cela a été rapporté dans l'étude de Rosas-Medina et al. (2010), tout comme les conditions météorologiques au moment du prélèvement, notamment la température et l'humidité du sol (Curry, 2004).

Au-delà des aspects liés à la qualité du sol, il est important de comparer les performances des trois systèmes de culture sous l'angle de la gestion des adventices et de leur impact sur le rendement. Une étude menée par Lacroix (2024) sur la même plateforme expérimentale que celle étudiée dans ce travail, porte sur l'impact de la gestion des trois systèmes de culture biologiques étudiés sur la flore adventice au cours de la période de culture du maïs. L'analyse conduite sur trois années a montré que le SdC3 (sans labour), présentait une infestation en adventices plus importante que les systèmes labourés (Lacroix, 2024), constat également rapporté dans la littérature (Krauss et al., 2020; Peigné et al., 2015), ce qui se traduisait par des rendements en moyenne inférieurs de 45 %. En revanche, bien que la rotation et le niveau d'apports organiques diffèrent entre SdC1 et SdC2, l'auteur rapporte que ces variations n'ont pas significativement influencé la composition ni la densité des adventices. Le SdC1 s'est néanmoins distingué par une production de biomasse et un rendement plus élevé, probablement liés aux apports organiques externes. Ces résultats indiquent que l'intensité du travail du sol constitue le facteur ayant exercé l'influence la plus marquée sur la flore adventice et les performances de la culture. L'auteur souligne également que certaines limites observées en travail réduit pourraient être liées à une modification de la disponibilité en eau, à une compaction plus marquée du sol ou à un décalage dans la libération des nutriments (Lacroix, 2024).

Les observations réalisées dans le cadre de ce travail vont dans le même sens. En 2024, les valeurs de LER calculées étaient inférieures à 1 pour les deux comparaisons (SdC1 vs SdC2 et SdC1 vs SdC3), indiquant que les associations froment-féverole ont produit moins par unité de surface que les cultures pures (Pierreux et al., 2020), confirmant la supériorité du SdC1 en termes de rendement. Or, dans les associations céréales-légumineuses, les légumineuses peuvent libérer de l'azote sous forme d'exsudats racinaires ou via la décomposition de leurs nodules et racines, entraînant généralement un transfert vers la céréale. Un tel processus aurait pu, dans le cas présent, se traduire par une augmentation du rendement par rapport à la culture pure (Akchaya et al., 2025; Fustec et al., 2010). Toutefois, l'absence d'apports d'engrais exogènes en SdC2 et SdC3 a probablement contribué à leurs rendements plus faibles par rapport au SdC1, limitant également le retour de carbone organique au sol via les résidus de culture. En 2025, bien qu'il n'ait pas été possible de calculer le LER, les résultats montrent des différences significatives entre les trois systèmes, avec une tendance favorable au SdC1 et une performance la plus faible pour le SdC3. Cette comparaison doit toutefois être nuancée, car dans le SdC2 et le SdC3, le froment était cultivé en association et l'association avec le pois contribue à augmenter le rendement total.

7. Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour objectif d'évaluer l'impact global de trois systèmes de culture biologique sur la qualité des sols agricoles dans le cadre de l'essai système SYCBIO du CRA-W : un système de référence basé sur des pratiques biologiques courantes (SdC1), un système innovant autonome sans apport externe de matière organique (SdC2) et un système d'agriculture biologique de conservation (SdC3). L'étude s'est appuyée sur une approche intégrée combinant indicateurs physiques, chimiques et biologiques, afin de relier les pratiques mises en place à la qualité du sol et aux services écosystémiques clés tels que la prévention de l'érosion, le stockage du carbone, le maintien de la fertilité, la résistance à la compaction et la conservation de la biodiversité du sol.

Les résultats révèlent que le système biologique de conservation tend à présenter une stabilité structurale plus élevée grâce à l'accumulation de matière organique en surface, qui soutient la formation d'agrégats stables ; cela renforce la résistance à la battance et limite l'érosion. Du point de vue du stockage du carbone, le système sans labour ne stocke pas davantage de carbone : les trois systèmes en stockent globalement autant à l'échelle de l'ensemble du profil pédologique, l'éventuel avantage de SdC3 se limitant aux couches superficielles. Par conséquent, d'un point de vue climatique, aucun gain net de séquestration n'est observé à l'échelle du profil, dans les conditions pédoclimatiques et culturelles de cette étude.

Du point de vue de la fertilité chimique, aucun système ne se démarque clairement et le pH reste favorable. En revanche, les teneurs en phosphore, potassium et calcium sont globalement au-dessus des valeurs de référence. De tels dépassements peuvent accroître le risque d'eutrophisation (cas du phosphore) et, par antagonisme entre nutriments, induire des carences (cas du potassium et du calcium). Malgré les apports exogènes d'azote dans le SdC1, l'azote total de ce dernier n'excède pas celui de SdC2 ; cette observation confirme l'effet des légumineuses via la fixation symbiotique. Les systèmes labourés (SdC1 et SdC2) possèdent une répartition plus homogène des nutriments, tandis que le système en non-labour (SdC3) concentre davantage de nutriments en surface.

Sur le plan de la compaction du sol, le SdC3 (non-labour) présente une densité apparente plus faible en surface. En revanche, à l'horizon intermédiaire (10-25 cm), les valeurs atteignent, voire dépassent, le seuil critique, ce qui peut à terme limiter l'enracinement ; à ce niveau, les systèmes labourés permettent une meilleure gestion de ce problème grâce à une meilleure aération du sol par le labour. Enfin, l'horizon profond présente une densité supérieure et similaire dans tous les systèmes.

Parallèlement à la hausse du contenu en matière organique, la vie du sol est renforcée dans le sol de surface du SdC3. L'activité enzymatique et l'abondance bactérienne y sont plus élevées, allant de pair avec des agrégats plus stables qui offrent un habitat propice aux micro-organismes et un milieu riche en substrats énergétiques, en cohérence avec une teneur en carbone organique et un rapport carbone organique/argile plus élevés, ce qui reflète la stratification verticale du carbone organique dans le profil pédologique. Cependant, aucune différence significative n'a été observée entre les systèmes ni pour les populations de vers de terre ni pour la respiration microbienne.

Il est important de souligner que SYCBIO étant un essai système, les résultats obtenus peuvent être influencés par des biais liés aux rotations culturales spécifiques et aux pratiques culturales en interaction mises en place dans chaque système (fertilisation, rotation culturale, travail du sol). Ces interactions rendent difficile l'attribution exclusive des effets observés à un seul facteur isolé tel que le travail du sol ou l'intégration des légumineuses.

Enfin, les résultats mettent en évidence un compromis entre l'amélioration de la qualité du sol et la performance agronomique. L'agriculture biologique de conservation présente des bénéfices environnementaux significatifs (prévention de l'érosion, activité et abondance biologique renforcées), mais rencontre des défis en termes de gestion des adventices et de rendement. À l'inverse, le système « business as usual » démontre une meilleure productivité mais reste limité quant à l'amélioration globale des indicateurs de qualité du sol.

Ce travail souligne la nécessité d'évaluer ces systèmes à plus long terme afin de confirmer les tendances observées et d'identifier les leviers agronomiques susceptibles de concilier qualité du sol et performance productive. Une attention particulière devra être portée à la gestion de la compaction en systèmes sans labour ainsi qu'à l'optimisation des rotations pour soutenir la productivité et la maîtrise des adventices. Il conviendra en parallèle de recalibrer localement les seuils du ratio carbone organique/argile afin d'affiner le diagnostic de vulnérabilité structurale. Pour dissocier les effets du travail du sol et des apports, il sera pertinent d'intégrer un traitement « non-labour + fertilisation ». Enfin, l'intégration d'approches socio-économiques (bilans technico-économiques) permettra d'évaluer dans quelle mesure les pertes de rendement des systèmes innovants affectent la rentabilité des exploitations.

8. Contribution personnelle

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'essai SYCBIO, qui explore des systèmes de culture permettant de conserver une rentabilité économique tout en excluant l'élevage et les cultures légumières.

J'ai tout d'abord collecté et conditionné les échantillons de sol destinés aux différentes analyses : stabilité structurale, densité apparente, analyses chimiques, mesures d'activité enzymatique, de respiration et d'abondance microbienne, ainsi que les prélèvements et le conditionnement pour l'étude des vers de terre. J'ai réalisé le conditionnement et les manipulations liés aux analyses biologiques (activité enzymatique, respiration et abondance microbienne) dans les laboratoires du bâtiment de biologie végétale (BV) de la faculté, et celles concernant la stabilité structurale ainsi que le conditionnement des échantillons pour les analyses chimiques et le conditionnement des vers de terre dans les laboratoires du bâtiment Arthur Petermann (CRA-W). Pour l'abondance bactérienne, la lecture des plaques a été effectuée au bâtiment la Quintinie du CRA-W.

Les analyses chimiques ont été confiées à deux laboratoires provinciaux. Au sein du CRA-W, le comptage et l'identification des vers de terre, la préparation de la solution extractante AITC/isopropanol, la transmission des données de rendement, la fourniture du carnet de champs ainsi que le calcul de l'indicateur Wend à partir des résultats de l'analyse de stabilité structurale ont été assurés par différents membres de l'équipe.

J'ai ensuite préparé et traité l'ensemble des données, puis réalisé l'analyse statistique de tous les indicateurs (physiques, chimiques et biologiques) et élaboré la matrice de corrélation sous RStudio®. Enfin, j'ai interprété les résultats et rédigé ce rapport.

9. Bibliographie

- Abdollahi L. & Munkholm L., 2013. Tillage System and Cover Crop Effects on Soil Quality: I. Chemical, Mechanical, and Biological Properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **78**, DOI:10.2136/sssaj2013.07.0301.
- Abid M. & Lal R., 2008. Tillage and drainage impact on soil quality: I. Aggregate stability, carbon and nitrogen pools. *Soil and Tillage Research* **100**(1), 89–98, DOI:10.1016/j.still.2008.04.012.
- Abras M., 2018. Grandes Cultures Bio. *Centre wallon de Recherches agronomiques*. <https://www.cra.wallonie.be/fr/sybio>, (21/07/2025).
- Abras M., 2020. Vidéo : La plateforme grandes cultures biologiques du CRA-W. *Centre wallon de Recherches agronomiques*. <https://www.cra.wallonie.be/fr/video-la-plateforme-grandes-cultures-biologique-du-cra-w>, (21/07/2025).
- Abras M., Hardy B., Huyghebaert B., Lacroix C., Sail S. & Vanwindekens F., 2023. Trois ans d'expérimentation systèmes en grandes cultures bio. *Itinéraires bio*. <https://orgprints.org/id/eprint/51499/>, (19/03/2025).
- 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.
- Akchaya K., Parasuraman P., Pandian K., Vijayakumar S., Thirukumaran K., Mustaffa M.R.A.F., Rajpoot S.K. & Choudhary A.K., 2025. Boosting resource use efficiency, soil fertility, food security, ecosystem services, and climate resilience with legume intercropping: a review. *Front. Sustain. Food Syst.* **9**, DOI:10.3389/fsufs.2025.1527256.
- Amin B.A.Z., 2012. Rôle des enzymes lignocellulolytiques dans le processus de biodégradation de résidus végétaux dans les sols : Influence de la qualité des résidus sur l'efficacité des enzymes et leur dynamique (These de doctorat).
- Annabi M., Raclot D., Bahri H., Bailly J.-S., Gomez C. & Le Bissonnais Y., 2017. Spatial variability of soil aggregate stability at the scale of an agricultural region in Tunisia. *CATENA* **153**, 157–167, DOI:10.1016/j.catena.2017.02.010.
- Antony D., Collins C.D., Clark J.M. & Sizmur T., 2022. Soil organic matter storage in temperate lowland arable, grassland and woodland topsoil and subsoil. *Soil Use and Management* **38**(4), 1532–1546, DOI:10.1111/sum.12801.
- Association Française de Normalisation, 2003. Qualité du sol - Détermination de la distribution granulométrique des particules du sol - Méthode à la pipette, Standard NF-X31-107. *Afnor EDITIONS*. <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-x31107/qualite-du-sol-determination-de-la-distribution-granulometrique-des-particu/fa124875/21997>, (09/08/2025).
- Barbieri P., Dumont B., Benoit M. & Nesme T., 2022. Opinion paper: Livestock is at the heart of interacting levers to reduce feed-food competition in agroecological food systems. *Animal* **16**(2), 100436, DOI:10.1016/j.animal.2021.100436.
- Bart S., Amossé J., Lowe C.N., Mougin C., Péry A.R.R. & Pelosi C., 2018. *Aporrectodea caliginosa*, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. *Environ Sci Pollut Res Int* **25**(34), 33867–33881, DOI:10.1007/s11356-018-2579-9.
- Barthès B. & Roose E., 2001. La stabilité de l'agrégation, un indicateur de la sensibilité des sols au ruissellement et à l'érosion : validation à plusieurs échelles. *Cahiers Agricultures* **10**.
- Benoit M., Barbieri P. & Dumont B., 2024. Quel élevage pour une agriculture biologique performante ? *INRAE Productions Animales* **37**, 7372, DOI:10.20870/productions-animales.2024.37.2.7372.
- Benoit M., Dumont B., Barbieri P. & Nesme T., 2020. Une agriculture durable pour nourrir la planète : l'élevage au coeur du débat. *Innovations Agronomiques* **80**, 23, DOI:10.15454/zpmg-rh95.
- Berner A. & al. et, 2013. *Les principes de la fertilité des sols*, CH-Frick: Institut de recherche de l'agriculture biologique (FiBL).

- Bertrand M., Barot S., Blouin M., Whalen J., De Oliveira T. & Roger-Estrade J., 2015. Earthworm services for cropping systems. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **35**(2), 553–567, DOI:10.1007/s13593-014-0269-7.
- Blake G.R. & Hartge K.H., 1986. Bulk Density. In: *Methods of Soil Analysis*. John Wiley & Sons, Ltd, 363–375.
- Blanco-Canqui H., Gantzer C.J., Anderson S.H. & Alberts E.E., 2004. Tillage and Crop Influences on Physical Properties for an Epiaqualf. *Soil Science Society of America Journal* **68**(2), 567–576, DOI:10.2136/sssaj2004.5670.
- Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Peres G., Tondoh J.E., Cluzeau D. & Brun J.-J., 2013. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science* **64**(2), 161–182, DOI:10.1111/ejss.12025.
- Boeraeve F., Vialatte A., Sirami C., Caro G., Thenard J., Francis F. & Dufrêne M., 2022. Combining organic and conservation agriculture to restore biodiversity? Insights from innovative farms in Belgium and their impacts on carabids and spiders. *Frontiers in Sustainable Food Systems* **6**, DOI:10.3389/fsufs.2022.1003637.
- Bossuyt H., Six J. & Hendrix P.F., 2006. Interactive effects of functionally different earthworm species on aggregation and incorporation and decomposition of newly added residue carbon. *Geoderma* **130**(1), 14–25, DOI:10.1016/j.geoderma.2005.01.005.
- Bouthier A., Pelosi C., Villenave C., Pérès G., Hedde M., Ranjard L., Jean-François V., Peigné J., Cortet J., Bispo A. & Piron D., 2014. *Impact du travail du sol sur son fonctionnement biologique*.
- Bronick C.J. & Lal R., 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma* **124**(1), 3–22, DOI:10.1016/j.geoderma.2004.03.005.
- Brown G.G., Barois I. & Lavelle P., 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology* **36**(3), 177–198, DOI:10.1016/S1164-5563(00)01062-1.
- Bünemann E.K., Bongiorno G., Bai Z., Creamer R.E., De Deyn G., de Goede R., Flesskens L., Geissen V., Kuyper T.W., Mäder P., Pulleman M., Sukkel W., van Groenigen J.W. & Brussaard L., 2018. Soil quality – A critical review. *Soil Biology and Biochemistry* **120**, 105–125, DOI:10.1016/j.soilbio.2018.01.030.
- 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.
- Capowiez Y., Marchán D., Decaëns T., Hedde M. & Bottinelli N., 2024. Let earthworms be functional - Definition of new functional groups based on their bioturbation behavior. *Soil Biology and Biochemistry* **188**, 109209, DOI:10.1016/j.soilbio.2023.109209.
- Capowiez Y., Sammartino S. & Michel E., 2014. Burrow systems of endogeic earthworms: Effects of earthworm abundance and consequences for soil water infiltration. *Pedobiologia* **57**(4), 303–309, DOI:10.1016/j.pedobi.2014.04.001.
- 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.
- Chenu C., Le Bissonnais Y. & Arrouays D., 2000. Organic Matter Influence on Clay Wettability and Soil Aggregate Stability. *Soil Science Society of America Journal* **64**(4), 1479–1486, DOI:10.2136/sssaj2000.6441479x.
- Conservation Agriculture, February-27-2025. . *The Lens - Free & Open Patent and Scholarly Search*. <https://www.lens.org/lens>, (27/02/2025).
- Cordeau S., Maron P.-A., Sarthou J.-P. & Chauvel B., 2024. *L'agriculture de conservation des sols*, Quae, 423.
- Correa J., Postma J.A., Watt M. & Wojciechowski T., 2019. Soil compaction and the architectural plasticity of root systems. *J Exp Bot* **70**(21), 6019–6034, DOI:10.1093/jxb/erz383.
- Curry J., 2004. Factors Affecting the Abundance of Earthworms in Soils. In: *Earthworm Ecology*. 91–113.

- da Silva T.S., Suzuki L.E.A.S., Tormena C.A., Schmidt M.R., Mazurana M. & Levien R., 2023. Soil Tillage and Cropping System Effects on the Physical-Hydric Properties of a Soil under No-Tillage. *Sustainability* **15**(22), 15936, DOI:10.3390/su152215936.
- Dal Ferro N., Sartori L., Simonetti G., Berti A. & Morari F., 2014. Soil macro- and microstructure as affected by different tillage systems and their effects on maize root growth. *Soil and Tillage Research* **140**, 55–65, DOI:10.1016/j.still.2014.02.003.
- D’Haene K., Vermang J., Cornelis W.M., Leroy B.L.M., Schiettecatte W., De Neve S., Gabriels D. & Hofman G., 2008. Reduced tillage effects on physical properties of silt loam soils growing root crops. *Soil and Tillage Research* **99**(2), 279–290, DOI:10.1016/j.still.2008.03.003.
- Dignac M.-F., Derrien D., Barré P., Barot S., Cécillon L., Chenu C., Chevallier T., Freschet G.T., Garnier P., Guenet B., Hedde M., Klumpp K., Lashermes G., Maron P.-A., Nunan N., Roumet C. & Basile-Doelsch I., 2017. Increasing soil carbon storage: mechanisms, effects of agricultural practices and proxies. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **37**(2), 14, DOI:10.1007/s13593-017-0421-2.
- Doekharan K., Chung W. & Van Der Meulen B., 2010. International Federation Of Organic Agriculture Movements. In: Tietje, C., Brouder, A. eds. *Handbook of Transnational Economic Governance Regimes*. Brill | Nijhoff, 683–693.
- Dominati E., Patterson M. & Mackay A., 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics* **69**(9), 1858–1868, DOI:10.1016/j.ecolecon.2010.05.002.
- Doran J.W. & Parkin T.B., 1997. Quantitative Indicators of Soil Quality: A Minimum Data Set. In: *Methods for Assessing Soil Quality*. John Wiley & Sons, Ltd, 25–37.
- Drinkwater L., 2002. Cropping Systems Research: Reconsidering Agricultural Experimental Approaches. *HortTechnology* **12**, 355–361, DOI:10.21273/HORTECH.12.3.355.
- Du J., Liu W. & Zhou Q., 2024. Combating the Food Crisis and Farmland Contamination with Safe Farming Practices. *J. Agric. Food Chem.* **72**(27), 15053–15054, DOI:10.1021/acs.jafc.4c04606.
- Edwards C.A. & Arancon N.Q., 2022. *Biology and Ecology of Earthworms*, New York, NY: Springer US.
- El Khosht F.F., Bergkvist G., Dahlin A.S., Watson C.A., Forkman J., Nilsson J. & Öborn I., 2025. Rotational grass-legume leys increase arable crop yields, particularly at low N fertiliser rates. *Field Crops Research* **326**, 109835, DOI:10.1016/j.fcr.2025.109835.
- FAO 2015, February-28-2025. Foire aux questions. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <http://www.fao.org/soils-2015/faq/fr/>, (28/02/2025).
- FAO 2017, 2018. *2017 The State of Food and Agriculture: Leveraging food systems for inclusive rural transformation*, Food & Agriculture Org., 181.
- Feeney C.J., Bentley L., De Rosa D., Panagos P., Emmett B.A., Thomas A. & Robinson D.A., 2024. Benchmarking soil organic carbon (SOC) concentration provides more robust soil health assessment than the SOC/clay ratio at European scale. *Science of The Total Environment* **951**, 175642, DOI:10.1016/j.scitotenv.2024.175642.
- Ferchaud F., Chlebowsky 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).
- Fleury P., Chazoule C. & Peigné J., 2014. Ruptures et transversalités entre agriculture biologique et agriculture de conservation. *Économie rurale. Agricultures, alimentations, territoires* (339–340), 95–112, DOI:10.4000/economierurale.4247.
- Franzluebbers A.J., 1999. Microbial activity in response to water-filled pore space of variably eroded southern Piedmont soils. *Applied Soil Ecology* **11**(1), 91–101, DOI:10.1016/S0929-1393(98)00128-0.
- Fustec J., Lesuffleur F., Mahieu S. & Cliquet J.-B., 2010. Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **30**(1), 57–66, DOI:10.1051/agro/2009003.
- Garcia C., Nannipieri P. & Hernandez T., 2018. Chapter 9 - The Future of Soil Carbon. In: Garcia, C., Nannipieri, P., Hernandez, T. eds. *The Future of Soil Carbon*. Academic Press, 239–267.

- Genot V., Colinet G., Brahy V. & Bock L., 2009. L'état de fertilité des terres agricoles et forestières en région wallonne (adapté du chapitre 4 - sol 1 de " L'Etat de l'Environnement wallon 2006-2007 "). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*
- Genot V., Renneson M., Colinet G., Goffaux M.-J., Cugnon T., Toussaint B., Buffet D. & Oger R., 2012. Base de données sols de REQUASUD - 3ème synthèse.
- Gentsch N., Riechers F.L., Boy J., Schweneker D., Feuerstein U., Heuermann D. & Guggenberger G., 2024. Cover crops improve soil structure and change organic carbon distribution in macroaggregate fractions. *SOIL* **10**(1), 139–150, DOI:10.5194/soil-10-139-2024.
- Gérald H., Christiane S. & Environnement-Innovation S., 2011. La fertilité des sols : L'importance de la matière organique.
- Gessesew W. & Elias E., 2018. Soil Quality Attributes and Their Role in Sustainable Agriculture: A Review. *International Journal of Plant & Soil Science* **26**, 1–26, DOI:10.9734/IJPSS/2018/41589.
- Gregorich E.G., Carter M.R., Angers D.A., Monreal C.M. & Ellert B.H., 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Can. J. Soil. Sci.* **74**(4), 367–385, DOI:10.4141/cjss94-051.
- Guenet B., Gabrielle B., Chenu C., Arrouays D., Balesdent J., Bernoux M., Bruni E., Caliman J.-P., Cardinael R., Chen S., Ciais P., Desbois D., Fouché J., Frank S., Hénault C., Lugato E., Naipal V., Nesme T., Obersteiner M. & Zhou F., 2021. Can N₂O emissions offset the benefits from soil organic carbon storage? *Global Change Biology* **27**, 237–256, DOI:10.1111/gcb.15342.
- Hajjaj B. & Mrabet R., 2022. Gestion des adventices en agriculture de conservation. 219–239.
- Hallam J. & Hodson M.E., 2020. Impact of different earthworm ecotypes on water stable aggregates and soil water holding capacity. *Biol Fertil Soils* **56**(5), 607–617, DOI:10.1007/s00374-020-01432-5.
- Hansen J.W., 1996. Is agricultural sustainability a useful concept? *Agricultural Systems* **50**(2), 117–143, DOI:10.1016/0308-521X(95)00011-5.
- Haynes R.J. & Beare M.H., 1997. Influence of six crop species on aggregate stability and some labile organic matter fractions. *Soil Biology and Biochemistry* **29**(11), 1647–1653, DOI:10.1016/S0038-0717(97)00078-3.
- Hodges S., 2010. Soil Fertility Basics : NC Certified Crop Advisor Training. North Carolina State University.
- Hoffland E., Kuyper T.W., Comans R.N.J. & Creamer R.E., 2020. Eco-functionality of organic matter in soils. *Plant Soil* **455**(1), 1–22, DOI:10.1007/s11104-020-04651-9.
- Hofman J., Dušek L., Klánová J., Bezchlebová J. & Holoubek I., 2004. Monitoring microbial biomass and respiration in different soils from the Czech Republic—a summary of results. *Environment International* **30**(1), 19–30, DOI:10.1016/S0160-4120(03)00142-9.
- Horneck D., Sullivan D., Owen Jr J. & Hart J., 2011. *Soil Test Interpretation Guide*, Oregon State University Extension.
- International Organization for Standardization, 1995. Qualité du sol — Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire), NFISO-10694. *ISO*. <https://www.iso.org/fr/standard/18782.html>, (09/08/2025).
- International Organization for Standardization, 2005. Soil quality – determination of pH, Standard ISO-10390. *ISO*. <https://www.iso.org/fr/standard/40879.html>, (09/08/2025).
- 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.
- Johnson-Maynard J.L., Umiker K.J. & Guy S.O., 2007. Earthworm dynamics and soil physical properties in the first three years of no-till management. *Soil and Tillage Research* **94**(2), 338–345, DOI:10.1016/j.still.2006.08.011.
- Josens G., Hidvegi F., (non publié). Clé des lombriciens adultes de Belgique.

- 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.
- Kaurin A., Mihelič R., Kastelec D., Grčman H., Bru D., Philippot L. & Suhadolc M., 2018. Resilience of bacteria, archaea, fungi and N-cycling microbial guilds under plough and conservation tillage, to agricultural drought. *Soil Biology and Biochemistry* **120**, 233–245, DOI:10.1016/j.soilbio.2018.02.007.
- Khosravani P., Moosavi A.A., Baghernejad M., Kebonye N.M., Mousavi S.R. & Scholten T., 2024. Machine Learning Enhances Soil Aggregate Stability Mapping for Effective Land Management in a Semi-Arid Region. *Remote Sensing* **16**(22), 4304, DOI:10.3390/rs16224304.
- Kim M.-J., Lee J.-E., Back I., Lim K.J. & Mo C., 2023. Estimation of Total Nitrogen Content in Topsoil Based on Machine and Deep Learning Using Hyperspectral Imaging. *Agriculture* **13**(10), 1975, DOI:10.3390/agriculture13101975.
- Kirchmann H., Thorvaldsson G., Bergström L., Gerzabek M.H., Andrén O., Eriksson L.-O. & Winninge M., 2008. Fundamentals of Organic Agriculture – Past and Present. 13–37.
- 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.
- Krauss M., Berner A., Perrochet F., Frei R., Niggli U. & Mäder P., 2020. Enhanced soil quality with reduced tillage and solid manures in organic farming - a synthesis of 15 years. *Sci Rep* **10**(1), 4403, DOI:10.1038/s41598-020-61320-8.
- 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.
- Krüger I., Chartin C., van Wesemael B. & Carnol M., 2018. Defining a reference system for biological indicators of agricultural soil quality in Wallonia, Belgium. *Ecological Indicators* **95**, 568–578, DOI:10.1016/j.ecolind.2018.08.010.
- Krull E.S., Skjemstad J.O. & Baldock J.A., 2004. Functions of soil organic matter and the effect on Soil Properties.
https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Functions%20of%20Soil%20Organic%20Matter%20and%20the%20Effect%20on%20Soil%20Properties&publication_year=2004&author=E.S.%20Krull&author=J.O.%20Skjemstad&author=J.A.%20Baldock, (12/08/2025).
- Lacroix C., 2024. Effects of different agronomic strategies on the short- and long-term management of weed flora in arable crops.
- Lahmar R., 2010. Adoption of conservation agriculture in Europe: Lessons of the KASSA project. *Land Use Policy, Soil and Water Conservation Measures in Europe* **27**(1), 4–10, DOI:10.1016/j.landusepol.2008.02.001.
- Lakanen E. & Ervio R., 1971. A Comparison of Eight Extractants for the Determination of Plant Available Micronutrients in Soils. *Acta Agralia Fennica*, 123, 223–232. - References - Scientific Research Publishing. <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2896004>, (09/08/2025).
- Lal R., 2015. Restoring Soil Quality to Mitigate Soil Degradation. *Sustainability* **7**(5), 5875–5895, DOI:10.3390/su7055875.
- Le Bissonnais Y., 1996. Aggregate stability and assessment of soil crustability and erodibility: I. Theory and methodology. *European Journal of Soil Science* **47**(4), 425–437, DOI:10.1111/j.1365-2389.1996.tb01843.x.
- Lefèvre R., 2015. Matière organique stable du sol : dynamique et mécanismes de (dé)stabilisation (phdthesis).

- Lemtiri A., Colinet G., Alabi T., Cluzeau D., Zirbes L., Haubruge E. & Francis F., 2014. Impacts of earthworms on soil components and dynamics. A review. *Impacts des vers de terre sur les composants et la dynamique du sol* **18**.
- Liu H., Wang J., Liu S., Hu Q. & Huang D., 2024. Study on Soil Total Nitrogen Content Prediction Method Based on Synthetic Neural Network Model. *Sustainability* **16**(8), 3195, DOI:10.3390/su16083195.
- Logsdon S.D. & Karlen D.L., 2004. Bulk density as a soil quality indicator during conversion to no-tillage. *Soil and Tillage Research, Soil Quality as an Indicator of Sustainable Tillage Practices* **78**(2), 143–149, DOI:10.1016/j.still.2004.02.003.
- Lori M., Symnaczik S., Mäder P., Deyn G.D. & Gattinger A., 2017. Organic farming enhances soil microbial abundance and activity—A meta-analysis and meta-regression. *PLOS ONE* **12**(7), e0180442, DOI:10.1371/journal.pone.0180442.
- Magdoff F. & Van Es H., 2021. Ch 3. Amount of Organic Matter in Soils - SARE. <https://www.sare.org/publications/building-soils-for-better-crops/amount-of-organic-matter-in-soils/>, (21/07/2025).
- Marget P., Cordeau S. & Deytieux V., 2020. Plateforme CA-SYS : Expérimentation en agroécologie à différentes échelles. Presented at the COS Plateformes BFC.
- Mattila T.J. & Rajala J., 2022. Estimating cation exchange capacity from agronomic soil tests: Comparing Mehlich-3 and ammonium acetate sum of cations. *Soil Science Society of America Journal* **86**(1), 47–50, DOI:10.1002/saj2.20340.
- Meersmans J., Colinet G. & Negassa W., 2024. Editorial: Soil health, functions, and ecosystem services: insights into soil parameters and methods of integration. *Front. Environ. Sci.* **12**, DOI:10.3389/fenvs.2024.1358548.
- Meurer K., Barron J., Chenu C., Coucheney E., Fielding M., Hallett P., Herrmann A.M., Keller T., Koestel J., Larsbo M., Lewan E., Or D., Parsons D., Parvin N., Taylor A., Vereecken H. & Jarvis N., 2020. A framework for modelling soil structure dynamics induced by biological activity. *Global Change Biology* **26**(10), 5382–5403, DOI:10.1111/gcb.15289.
- Mollier P., 2020. L'agriculture de conservation | INRAE. <https://www.inrae.fr/actualites/dossier-lagriculture-conservation>, (27/02/2025).
- 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.
- Najmuldeen H., 2010. EFFECTS OF SOIL TEXTURE ON CHEMICAL COMPOSITIONS, MICROBIAL POPULATIONS AND CARBON MINERALIZATION IN SOIL. *J. Exp. Biol* **6**, 59–64.
- Neugschwandtner R., Liebhard P., Kaul H.-P. & Wagentristl H., 2014. Soil chemical properties as affected by tillage and crop rotation in a long-term field experiment. *Plant Soil and Environment* **60**, 57–62, DOI:10.17221/879/2013-PSE.
- Nyeki A., Milics G., Kovacs A.J. & Neményi M., 2017. Effects of soil compaction on cereal yield: A review. *Cereal Research Communications* **45**, 1–22, DOI:10.1556/0806.44.2016.056.
- Obalum S.E., Uteau-Puschmann D. & Peth S., 2019. Reduced tillage and compost effects on soil aggregate stability of a silt-loam Luvisol using different aggregate stability tests. *Soil and Tillage Research* **189**, 217–228, DOI:10.1016/j.still.2019.02.002.
- Oliveira T. de, 2012. Dynamique des communautés lombriciennes dans les parcelles conduites en Agriculture Biologique. Modélisation de la dynamique des populations d'Aporrectodea caliginosa. (phdthesis).
- Orzech K., Wanic M. & Załuski D., 2021. The Effects of Soil Compaction and Different Tillage Systems on the Bulk Density and Moisture Content of Soil and the Yields of Winter Oilseed Rape and Cereals. *Agriculture* **11**(7), 666, DOI:10.3390/agriculture11070666.
- Panagea I.S., Apostolakis A., Berti A., Bussell J., Čermak P., Diels J., Elsen A., Kusá H., Piccoli I., Poesen J., Stoate C., Tits M., Toth Z. & Wyseure G., 2022. Impact of agricultural management on soil aggregates and associated organic carbon fractions: analysis of long-term experiments in Europe. *SOIL* **8**(2), 621–644, DOI:10.5194/soil-8-621-2022.

- Panagos P., De Rosa D., Liakos L., Labouyrie M., Borrelli P. & Ballabio C., 2024. Soil bulk density assessment in Europe. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **364**, 108907, DOI:10.1016/j.agee.2024.108907.
- Pathak P., Sahrawat K.L., Rego T.J. & Wani S.P., 2005. Measurable biophysical indicators for impact assessment: changes in soil quality. Wallingford Oxfordshire, UK: CAB International Publishing, 53–74.
- Peigné J., Ball B.C., Roger-Estrade J. & David C., 2007. Is conservation tillage suitable for organic farming? A review. *Soil Use and Management* **23**(2), 129–144, DOI:10.1111/j.1475-2743.2006.00082.x.
- Peigné J., Lefevre V., Vian J.F. & Fleury Ph., 2015. Conservation Agriculture in Organic Farming: Experiences, Challenges and Opportunities in Europe. In: Farooq, M., Siddique, K.H.M. eds. *Conservation Agriculture*. Cham: Springer International Publishing, 559–578.
- Pereira P., Bogunovic I., Muñoz-Rojas M. & Brevik E.C., 2018. Soil ecosystem services, sustainability, valuation and management. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, Sustainable soil management and land restoration **5**, 7–13, DOI:10.1016/j.coesh.2017.12.003.
- Phalempin M., Lippold E., Vetterlein D. & Schlüter S., 2021. Soil texture and structure heterogeneity predominantly governs bulk density gradients around roots. *Vadose Zone Journal* **20**(5), e20147, DOI:10.1002/vzj2.20147.
- Pierreux J., Delaplace P., Dumont B. & Bodson B., 2020. La culture associée de blé et de pois protéagineux d'hiver : une possibilité de diversification pour une agriculture durable et respectueuse de l'environnement.
- Piriaux G., 2020. Agriculture biologique et agriculture de conservation : vers des systèmes ABC ? Evaluation de l'impact de trois systèmes agricoles sur l'abondance de différentes espèces de carabes prédateurs et leur capacité à réguler les limaces en céréales d'hiver dans le Nord de la Wallonie.
- Plateforme CA-SYS Expérimentation en agroécologie à différentes échelles, n.d. .
- Postollec F., Falentin H., Pavan S., Combrisson J. & Sohier D., 2011. Recent advances in quantitative PCR (qPCR) applications in food microbiology. *Food Microbiology* **28**(5), 848–861, DOI:10.1016/j.fm.2011.02.008.
- Prosser J.A., Speir T.W. & Stott D.E., 2011. Soil Oxidoreductases and FDA Hydrolysis. In: *Methods of Soil Enzymology*. John Wiley & Sons, Ltd, 103–124.
- 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.
- QIAGEN, 2019. DNeasy PowerSoil Pro Kit Quick-start Protocol. <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=3d576814-4f1e-4e26-9c94-57d5dc2bb60a&lang=en>, (15/07/2025).
- Rabot E., Wiesmeier M., Schlüter S. & Vogel H.-J., 2018. Soil structure as an indicator of soil functions: A review. *Geoderma* **314**, 122–137, DOI:10.1016/j.geoderma.2017.11.009.
- Recous S., Lashermes G. & Bertrand I., 2017. Couplages et contrôles des cycles du carbone et de l'azote par les communautés microbiennes dans les sols cultivés. In: *Les Sols et La Vie Souterraine: Des Enjeux Majeurs En Agroécologie*, Synthèses (Quae). Editions Quae - Académie d'Agriculture de France, 43–62.
- Régniez É., Aumond C., Bouthier A., Denoroy P., Félix-Faure B., Kalt S., Labreuche J., Souder C.L., Mathieu P., Valé M. & Verbeque B., 2015. Gradient de matière et profondeur de prélèvement de terre en cas d'absence prolongée de labour.
- Reidy B., Simo Josa I., Sills P. & Creamer R., 2015. Pedotransfer functions for Irish soils – estimation of bulk density (pb) per horizon type. *SOIL Discussions* **2**, 1039–1074, DOI:10.5194/soild-2-1039-2015.
- Reijneveld J.A., 2013. Unravelling changes in soil fertility of agricultural land in The Netherlands. <https://core.ac.uk/outputs/29217340/>, (28/07/2025).

- Reinert D.J., Albuquerque J.A., Reichert J.M., Aita C. & Andrada M.M.C., 2008. Bulk density critical limits for normal root growth of cover crops. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* **32**(5), 1805–1816, DOI:10.1590/S0100-06832008000500002.
- Remongin X., 2023. La certification en agriculture biologique. *Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire*. <https://agriculture.gouv.fr/la-certification-en-agriculture-biologique>, (27/02/2025).
- Rogeon H., 2010. Influence de la gestion des sols sur la structure et la dynamique du carbone organique - UPhèses - Les thèses en ligne de l'Université de Poitiers.
- Rosas-Medina M.Á., de León-González F., Flores-Macías A., Payán-Zelaya F., Borderas-Tordesillas F., Gutiérrez-Rodríguez F. & Fragoso-González C., 2010. Effect of tillage, sampling date and soil depth on earthworm population on maize monoculture with continuous stover restitutions. *Soil and Tillage Research* **108**(1), 37–42, DOI:10.1016/j.still.2010.03.008.
- Rowell M.J., 1995. Colorimetric method for CO₂ measurement in soils. *Soil Biology and Biochemistry* **27**(3), 373–375, DOI:10.1016/0038-0717(94)00218-P.
- Rücknagel J., Hofmann B., Paul R., Christen O. & Hülsbergen K.-J., 2007. Estimating precompression stress of structured soils on the basis of aggregate density and dry bulk density. *Soil and Tillage Research* **92**(1), 213–220, DOI:10.1016/j.still.2006.03.004.
- Saad R., Kobeissi A., Machinet G., Villemin G., Echevarria G. & Benizri E., 2017. Crop rotation associating a legume and the nickel hyperaccumulator *Alyssum murale* improves the structure and biofunctioning of an ultramafic soil. *Ecological Research* **33**, DOI:10.1007/s11284-017-1526-4.
- Sadovski A., 2019. Study on pH in water and potassium chloride for Bulgarian soils. *EURASIAN JOURNAL OF SOIL SCIENCE (EJSS)* **8**, 11–16, DOI:10.18393/ejss.477560.
- Sauzet O., Johannes A., Deluz C., Dupla X., Matter A., Baveye P.C. & Boivin P., 2024. The organic carbon-to-clay ratio as an indicator of soil structure vulnerability, a metric focused on the condition of soil structure. *Soil Use and Management* **40**(2), e13060, DOI:10.1111/sum.13060.
- Scheu S., Schlitt N., Tiunov A.V., Newington J.E. & Jones H.T., 2002. Effects of the presence and community composition of earthworms on microbial community functioning. *Oecologia* **133**(2), 254–260, DOI:10.1007/s00442-002-1023-4.
- Schmidt R., Gravuer K., Bossange A.V., Mitchell J. & Scow K., 2018. Long-term use of cover crops and no-till shift soil microbial community life strategies in agricultural soil. *PLOS ONE* **13**(2), e0192953, DOI:10.1371/journal.pone.0192953.
- Schoenholtz S.H., Miegroet H.V. & Burger J.A., 2000. A review of chemical and physical properties as indicators of forest soil quality: challenges and opportunities. *Forest Ecology and Management* **138**(1), 335–356, DOI:10.1016/S0378-1127(00)00423-0.
- Semenov M.V., Zhelezova A.D., Ksenofontova N.A., Ivanova E.A., Nikitin D.A. & Semenov V.M., 2025. Microbiological Indicators for Assessing the Effects of Agricultural Practices on Soil Health: A Review. *Agronomy* **15**(2), 335, DOI:10.3390/agronomy15020335.
- Sharma S., Ramesh A., Sharma M., Joshi O., Govaerts B., Steenwerth K. & Karlen D., 2010. Microbial Community Structure and Diversity as Indicators for Evaluating Soil Quality. In: *Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture*. 317–358.
- Shi P., Castaldi F. & Van Oost K., 2020. Large-Scale, High-Resolution Mapping of Soil Aggregate Stability in Croplands Using APEX Hyperspectral Imagery. <https://www.mdpi.com/2072-4292/12/4/666>, (22/07/2025).
- Siebrecht N., 2020. Sustainable Agriculture and Its Implementation Gap—Overcoming Obstacles to Implementation. *Sustainability* **12**(9), 3853, DOI:10.3390/su12093853.
- Singh S., Sharma A., Khajuria K., Singh J. & Vig A.P., 2020. Soil properties changes earthworm diversity indices in different agro-ecosystem. *BMC Ecology* **20**(1), 27, DOI:10.1186/s12898-020-00296-5.
- Six J., Elliott E.T. & Paustian K., 2000. Soil Structure and Soil Organic Matter II. A Normalized Stability Index and the Effect of Mineralogy. *Soil Science Society of America Journal* **64**(3), 1042–1049, DOI:10.2136/sssaj2000.6431042x.

- SPW, April-1-2025. MAEC Sol - MR14 - 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>, (01/04/2025).
- Steinweg M. & McMahon S., 2012. Microplate Enzyme Assay Using Fluorescence. *Docslib*. <https://docslib.org/doc/1985169/microplate-enzyme-assay-using-fluorescence-original-reference>, (29/07/2025).
- Stellacci A.M., Castellini M., Diacono M., Rossi R. & Gattullo C.E., 2021. Assessment of Soil Quality under Different Soil Management Strategies: Combined Use of Statistical Approaches to Select the Most Informative Soil Physico-Chemical Indicators. *Applied Sciences* **11**(11), 5099, DOI:10.3390/app11115099.
- Strosser E., 2010. Methods for determination of labile soil organic matter: An overview. *Journal of Agrobiology* **27**, DOI:10.2478/s10146-009-0008-x.
- Sylvander B., François M. & Morin J.-M., 2005. Chapitre Premier. Les bases de l'agriculture biologique : définitions, réglementations, histoire et état des lieux. In: François, M., Moreau, R., Sylvander, B. eds. *Agriculture biologique en Martinique*. IRD Éditions, 3–39.
- Szabó P., Jordan G., Kocsis T., Posta K., Kardos L., Šajn R. & Alijagić J., 2022. Biomonitoring and assessment of toxic element contamination in floodplain sediments and soils using fluorescein diacetate (FDA) enzymatic activity measurements: evaluation of possibilities and limitations through the case study of the Drava River floodplain. *Environ Monit Assess* **194**(9), 632, DOI:10.1007/s10661-022-10301-7.
- The James Hutton Institute, 2019. Science behind MicroResp™. <https://www.microresp.com/science>, (14/07/2025).
- Thibault C. & Lecompte F., 2018. Gestion de la fertilité des sols en cultures légumières et maraîchères. Rapport d'étude du GIS Piclé.
- Tibi A. & Therond O., 2018. *Services écosystémiques fournis par les espaces agricoles*, éditions Quae.
- Tilman D., Cassman K.G., Matson P.A., Naylor R. & Polasky S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* **418**(6898), 671–677, DOI:10.1038/nature01014.
- Torppa K.A., Castaño C., Glimskär A., Skånes H., Klinth M., Roslin T., Taylor A.R., Viketoft M., Clemmensen K.E. & Maaroufi N.I., 2024. Soil moisture and fertility drive earthworm diversity in north temperate semi-natural grasslands. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **362**, 108836, DOI:10.1016/j.agee.2023.108836.
- van Zanten B.T., Verburg P.H., Espinosa M., Gomez-y-Paloma S., Galimberti G., Kantelhardt J., Kapfer M., Lefebvre M., Manrique R., Piore A., Raggi M., Schaller L., Targetti S., Zasada I. & Viaggi D., 2014. European agricultural landscapes, common agricultural policy and ecosystem services: a review. *Agron. Sustain. Dev.* **34**(2), 309–325, DOI:10.1007/s13593-013-0183-4.
- Vanwindekens F., de Lamotte L., Serteyn L., Goidts E., Doncel A., Chartin C., Hardy B., Leclercq V., Van Der Smitten H. & Huyghebaert B., 2024. Principes généraux pour maintenir - voire améliorer - le taux de matière organique dans les sols agricoles.
- 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.
- Vasile Scăteanu G. & Madjar R.M., 2025. The Control of Nitrogen in Farmlands for Sustainability in Agriculture. *Sustainability* **17**(12), 5619, DOI:10.3390/su17125619.
- Vertès et al., 2015. Légumineuses et prairies temporaires : des fournitures d'azote pour les rotations.
- Vincent Q., Chartin C., Krüger I., van Wesemael B. & Carnol M., 2019. La qualité biologique et le carbone organique des sols agricoles en Wallonie.
- Vullioud P., NEYROUD J.-A. & MERCIER E., 2006. Résultats de 35 ans de culture sans labour à Changins.
- WalOnMap | Géoportail de la Wallonie, 2023. <https://geoportail.wallonie.be/walonmap#BBOX=128983.58246549826,130586.9606722546,149592.43823554314,150395.45025823388>, (07/08/2025).

- Wang A., Li D., Huang B. & Lu Y., 2019. A Brief Study on Using pH_{H2O} to Predict pH_{KCl} for Acid Soils. *Agricultural Sciences* **10**(2), 142–149, DOI:10.4236/as.2019.102012.
- Wang Z., Wang H., Qing H., Lin Q., Li J., Fu X. & Kuramae E.E., 2025. Periodic bioinoculations enhance soil aggregate stability through species-specific effects and interactions with the native microbiota. *Geoderma* **459**, 117345, DOI:10.1016/j.geoderma.2025.117345.
- 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.
- Yuan Z., Liu H., Han J., Sun J., Wu X. & Yao J., 2017. Monitoring Soil Microbial Activities in Different Cropping Systems Using Combined Methods. *Pedosphere* **27**(1), 138–146, DOI:10.1016/S1002-0160(15)60100-X.
- Yudina A. & Kuzyakov Y., 2023. Dual nature of soil structure: The unity of aggregates and pores. *Geoderma* **434**, 116478, DOI:10.1016/j.geoderma.2023.116478.
- Zablotowicz R.M., Locke M.A., Gaston L.A. & Bryson C.T., 2000. Interactions of tillage and soil depth on fluometuron degradation in a Dundee silt loam soil. *Soil and Tillage Research* **57**(1), 61–68, DOI:10.1016/S0167-1987(00)00150-1.
- Zhang L., Wu Z., Sun X., Yan J., Sun Y., Liu P. & Chen J., 2023. Mapping Topsoil Total Nitrogen Using Random Forest and Modified Regression Kriging in Agricultural Areas of Central China. *Plants* **12**, 1464, DOI:10.3390/plants12071464.
- Zhang M., Dai S., Gul S., He L., Chen H. & Liu D., 2024. Effect of Plow Pan on the Redistribution Dynamics of Water and Nutrient Transport in Soils. *Sustainability* **16**, 8859, DOI:10.3390/su16208859.
- Zhao xin, He C., Liu W.-S., Liu W.-X., Liu Q.-Y., Bai W., Li L.-J., Lal R. & Zhang H.-L., 2022. Responses of soil pH to no-till and the factors affecting it: A global meta-analysis. *Global change biology* **28**(1), DOI:10.1111/gcb.15930.

10. Annexes

Annexe 1: Plan rotation SYCBIO 2019-2025

Liroux 2									
12m		3m							
SdC	2	1	3	1	3	2	3	2	1
Année	n+2	n+1	n	n+2	n+1	n	n+2	n+1	n
2019	Lentille / Cameline	Pomme de terre	Froment / Pois	Epeautre	Orge brassicole	Froment / Pois	Lentille / cameline	Orge brassicole	Froment
2020	Epeautre / Pois	Epeautre	Orge brassicole	Orge brassicole	Lentille / Cameline	Orge brassicole	Epeautre / Pois	Lentille / cameline	Pomme de terre
2021	Maïs	Orge brassicole	Lentille / cameline	Maïs	Epeautre / pois	Lentille / cameline	Maïs	Epeautre / Pois	Epeautre
2022	Froment / Féverole	Maïs	Epeautre / Pois	Féverole	Maïs	Epeautre / Pois	Froment / Féverole	Maïs	Orge brassicole
2023	Colza associé	Féverole	Maïs	Colza associé	Froment / Féverole	Maïs	Colza associé	Froment / Féverole	Maïs
2024	Froment / Pois	Colza associé	Froment / Féverole	Froment	Colza associé	Froment / Féverole	Froment / Pois	Colza associé	Féverole
2025	Orge brassicole	Froment	Colza associé	Pomme de terre	Froment / Pois	Colza associé	Orge brassicole	Froment / Pois	Colza associé
	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Rue du Zémont

~200 m

SdC Système de culture

Labour Apports N-P

SdC 1 Oui Oui

SdC 2 Oui Non

SdC 3 Non Non

Culture

n de l'année en cours

n+1 de l'année en cours +1

n+2 de l'année en cours +2

Annexe 2 : Carnet de champs 2025

Domaine Gembloux

Le 13-06-25

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio1 sdc2
Culture : Orge 2 rangs Printemps
Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
Campagne 2025

Culture intermédiaire : SIE

12-12-24 - Broyage des résidus - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Leroy	

Matériel	Durée
Broyeur KUHN BPR 28 Tracteur NH T6.155 Full	

Météo : Température 1 °C, Hygrométrie 91 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 4 Km/h.

Culture principale : Orge 2 rangs Printemps

12-12-24 - Labour - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Muyile	

Matériel	Durée
Tracteur NH T6.155 Pulve Charrue PÖTTINGER 4 socs	

Commentaire : labour léger 17 cm

Météo : Température 1 °C, Hygrométrie 91 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 4 Km/h.

07-03-25 - Semis classique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
RGT Planet BIO	170,00	46,33 kg	Verhulst	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Combiné semis KUHN Venta Tracteur NH T6.155 Full	

08-04-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Bienfait Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Herse étrille Trefler 620	

Domaine Gembloux

Le 13-06-25

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio1 sdc2
Culture : SIE
Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
Campagne 2025

12-12-24 - Broyage des résidus - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Leroy	

Matériel	Durée
Broyeur KUHN BPR 28 Tracteur NH T6.155 Full	

Météo : Température 1 °C, Hygrométrie 91 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 4 Km/h.

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio2 sdc1
 Culture : Froment Hiver
 Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
 Campagne 2025

28-10-24 - Labour - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Charrue VOGEL&NOOT 5 socs	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Sud-Ouest, Vitesse du vent 4 Km/h.

28-10-24 - Semis classique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Christoph	160,00	43,45 kg	Muylle	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Tracteur MF 7619 Combiné semis KUHN Venta	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Sud-Ouest, Vitesse du vent 4 Km/h.

18-02-25 - Epandage organique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Biogreen 10 (10-3-1)	590,00	160,24 kg	Verhulst Leroy Genon	

Matériel	Durée
Tracteur NH T5-110 Distributeur RAUCH Aero	

05-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur NH T6.155 Full Houe rotative EINBÖCK	

20-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Bienfait Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur JOHN DEERE 6130R Herse étrille Trefler 620	

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio3 sdc3
 Culture : Colza
 Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
 Campagne 2025

03-09-24 - Epandage organique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Fumier de bovins composté	20,00	5,40 t	T/Leloup ETA Verhulst	

Matériel	Durée
T/Tracteur 6215R	

Météo : Température 17,5 °C, Hygrométrie 85,5 %, Précipitation à 3 jours 4 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 2 Km/h.

03-09-24 - Déchaumage - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Déchaumeur dents JADIN	

Météo : Température 17,5 °C, Hygrométrie 85,5 %, Précipitation à 3 jours 4 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 2 Km/h.

16-09-24 - Travail de surface - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur MF 7619 Combiné semis KUHN Venta	

Météo : Température 10,5 °C, Hygrométrie 95,5 %, Précipitation à 3 jours 0 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 0 Km/h.

17-09-24 - Semis direct - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Atrakt	0,70	0,19 kg	Bienfait	
Feverolle de printemps	70,00	18,98 kg		
Colza	7,00	1,90 kg		
Lentille	20,00	5,42 kg		

Matériel	Durée
Trémie frontale KUHN Semoir Prototype 1 Tracteur JOHN DEERE 6130R	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 93 %, Précipitation à 3 jours 0 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 8 Km/h.

23-09-24 - Traitement phytosanitaire - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Ferrex Rb	5,00	1,36 kg	Genon	

Matériel	Durée

Météo : Température 15,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1,2 mm, Direction du vent Sud, Vitesse du vent 6 Km/h.

30-09-24 - Traitement phytosanitaire - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Ferrex Rb	2,833	0,77 kg	Genon	

Matériel	Durée

Météo : Température 10 °C, Hygrométrie 84 %, Précipitation à 3 jours 4,4 mm, Direction du vent Sud-Est, Vitesse du vent 9 Km/h.

05-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst Breuse	

Matériel	Durée
Bineuse CARRE Econet 3 m Tracteur JOHN DEERE 6130R	

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio4 sdc1
 Culture : Pomme de terre Consommation
 Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
 Campagne 2025

Culture intermédiaire : SIE**03-09-24 - Semis classique - 0,27 ha - Réalisée**

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Moutarde BIO	6,00	1,62 kg	Muylle	
Phacélie	6,00	1,62 kg		

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Combiné semis KUHN Venta Tracteur NH T6.155 Full	

Météo : Température 17,5 °C, Hygrométrie 85,5 %, Précipitation à 3 jours 4 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 2 Km/h.

12-12-24 - Broyage des résidus - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Leroy	

Matériel	Durée
Broyeur KUHN BPR 28 Tracteur NH T6.155 Full	

Météo : Température 1 °C, Hygrométrie 91 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 4 Km/h.

Culture principale : Pomme de terre Consommation**12-12-24 - Labour - 0,27 ha - Réalisée**

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Charrue VOGEL&NOOT 5 socs	

Météo : Température 1 °C, Hygrométrie 91 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 4 Km/h.

18-02-25 - Epandage organique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Biogreen 10 (10-3-1)	880,00	238,02 kg	Verhulst Leroy Genon	

Matériel	Durée
Tracteur NH T5-110 Distributeur RAUCH Aero	

02-04-25 - Travail de surface - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Tracteur DEUTZ Agrotron Herse rotative KUHN HR304	

Commentaire : travail superficiel pour desherber et faux semis

07-04-25 - Fertilisation minérale - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Patentkali	150,00	40,57 kg	Verhulst	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Tracteur DEUTZ Agrotron Herse rotative KUHN HR304	

29-04-25 - Décompactage - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Charles	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Déchaumeur dents JADIN	

29-04-25 - Travail de surface - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Charles	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Tracteur MF 7619 Herse rotative KUHN HR304 Rouleau Cambridge ASKEL	

29-04-25 - Plantation - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Tentation	0,00	kg	Abras Derenne Genon	

Matériel	Durée
Planteuse CIECCI & MAGLI Tracteur KUBOTA M4072	

09-05-25 - Buttage - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst	

Matériel	Durée
Butteuse PDT GRIMME GH Tracteur NH T5-110	

15-05-25 - Buttage - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst	

Matériel	Durée
Butteuse PDT GRIMME GH Tracteur NH T5-110	

Commentaire : passage deherbage

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio4 sdc1
Culture : SIE
Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
Campagne 2025

03-09-24 - Semis classique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Moutarde Bio Phacélie	6,00 6,00	1,62 kg 1,62 kg	Muyile	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Combiné semis KUHN Venta Tracteur NH T6.155 Full	

Météo : Température 17,5 °C, Hygrométrie 85,5 %, Précipitation à 3 jours 4 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 2 Km/h.

12-12-24 - Broyage des résidus - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Leroy	

Matériel	Durée
Broyeur KUHN BPR 28 Tracteur NH T6.155 Full	

Météo : Température 1 °C, Hygrométrie 91 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 4 Km/h.

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio5 sdc3

Culture : Froment pois

Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées

Campagne 2025

28-10-24 - Déchaumage - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur NH T6.155 Pulvé Déchaumeur dents JADIN	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Sud-Ouest, Vitesse du vent 4 Km/h.

28-10-24 - Semis classique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Christoph Fresnel	140,00 80,00	37,78 kg 21,59 kg	Muyile	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Tracteur MF 7619 Combiné semis KUHN Venta	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Sud-Ouest, Vitesse du vent 4 Km/h.

05-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur NH T6.155 Full Houe rotative EINBOCK	

20-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Bienfait Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur JOHN DEERE 6130R Herse étrille Trefler 620	

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio6 sdc2

Culture : Colza

Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées

Campagne 2025

03-09-24 - Epandage organique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Fumier de bovins composté	20,00	5,38 t	T/Leloup ETA Verhulst	

Matériel	Durée
T/Tracteur 6215R	

Météo : Température 17,5 °C, Hygrométrie 85,5 %, Précipitation à 3 jours 4 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 2 Km/h.

03-09-24 - Déchaumage - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Déchaumeur dents JADIN	

Météo : Température 17,5 °C, Hygrométrie 85,5 %, Précipitation à 3 jours 4 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 2 Km/h.

16-09-24 - Travail de surface - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur MF 7619 Combiné semis KUHN Venta	

Météo : Température 10,5 °C, Hygrométrie 95,5 %, Précipitation à 3 jours 0 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 0 Km/h.

17-09-24 - Semis direct - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Atrakt	0,70	0,19 kg	Bienfait	
Feverolle de printemps	70,00	18,83 kg		
Colza	7,00	1,88 kg		
Lentille	20,00	5,38 kg		

Matériel	Durée
Trémie frontale KUHN Semoir Prototype 1 Tracteur JOHN DEERE 6130R	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 93 %, Précipitation à 3 jours 0 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 8 Km/h.

23-09-24 - Traitement phytosanitaire - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Ferrex Rb	5,00	1,35 kg	Genon	

Matériel	Durée

Météo : Température 15,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1,2 mm, Direction du vent Sud, Vitesse du vent 6 Km/h.

30-09-24 - Traitement phytosanitaire - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Ferrex Rb	2,833	0,76 kg	Genon	

Matériel	Durée

Météo : Température 10 °C, Hygrométrie 84 %, Précipitation à 3 jours 4,4 mm, Direction du vent Sud-Est, Vitesse du vent 9 Km/h.

05-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst Breuse	

Matériel	Durée
Bineuse CARRE Econet 3 m Tracteur JOHN DEERE 6130R	

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio7 sdc3
 Culture : Orge 2 rangs Printemps
 Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
 Campagne 2025

Culture intermédiaire : SIE

Culture principale : Orge 2 rangs Printemps

06-03-25 - Enfouissement - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Genon	

Matériel	Durée
Déchaumeur disques KUHN Tracteur NH T6.155 Full	

07-03-25 - Déchaumage - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst	

Matériel	Durée
Déchaumeur disques KUHN Tracteur NH T6.155 Full	

07-03-25 - Semis classique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
RGT Planet BIO	170,00	45,58 kg	Verhulst	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Combiné semis KUHN Venta Tracteur NH T6.155 Full	

08-04-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Bienfait Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Herse étrille Treffler 620	

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio7 sdc3
 Culture : SIE
 Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
 Campagne 2025

Aucune intervention sur la parcelle

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Liroux 34 - GC bio8 sdc2

Culture : Froment pois

Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées

Campagne 2025

28-10-24 - Labour - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Charrue VOGEL&NOOT 5 socs	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Sud-Ouest, Vitesse du vent 4 Km/h.

28-10-24 - Semis classique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Christoph Fresnel	126,00 72,00	33,74 kg 19,28 kg	Muylla	

Matériel	Durée
Outil frontal JADIN (New) Tracteur MF 7619 Combiné semis KUHN Venta	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1 mm, Direction du vent Sud-Ouest, Vitesse du vent 4 Km/h.

05-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur NH T6.155 Full Houe rotative EINBÖCK	

20-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Bienfait Verhulst	

Matériel	Durée
Tracteur JOHN DEERE 6130R Herse étrille Treffler 620	

INTERVENTIONS PAR PARCELLE

Parcelle : Linoux 34 - GC bio9 sdc1
 Culture : Colza
 Surface : 0,27 ha

Interventions : Réalisées
 Campagne 2025

03-09-24 - Epandage organique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Fumier de bovins composté	20,00	5,34 t	T/Leloup ETA Verhulst	

Matériel	Durée
T/Tracteur 6215R	

Météo : Température 17,5 °C, Hygrométrie 85,5 %, Précipitation à 3 jours 4 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 2 Km/h.

03-09-24 - Déchaumage - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur DEUTZ Agrotron Déchaumeur dents JADIN	

Météo : Température 17,5 °C, Hygrométrie 85,5 %, Précipitation à 3 jours 4 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 2 Km/h.

16-09-24 - Travail de surface - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Ghys	

Matériel	Durée
Tracteur MF 7619 Combiné semis KUHN Venta	

Météo : Température 10,5 °C, Hygrométrie 95,5 %, Précipitation à 3 jours 0 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 0 Km/h.

17-09-24 - Semis direct - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Atrakt	0,70	0,19 kg	Bienfait	
Feverolle de printemps	70,00	18,67 kg		
Colza	7,00	1,87 kg		
Lentille	20,00	5,34 kg		

Matériel	Durée
Trémie frontale KUHN Semoir Prototype 1 Tracteur JOHN DEERE 6130R	

Météo : Température 12,5 °C, Hygrométrie 93 %, Précipitation à 3 jours 0 mm, Direction du vent Nord, Vitesse du vent 8 Km/h.

23-09-24 - Traitement phytosanitaire - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Ferrex Rb	5,00	1,33 kg	Genon	

Matériel	Durée

Météo : Température 15,5 °C, Hygrométrie 89 %, Précipitation à 3 jours 1,2 mm, Direction du vent Sud, Vitesse du vent 6 Km/h.

30-09-24 - Traitement phytosanitaire - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Ferrex Rb	2,833	0,76 kg	Genon	

Matériel	Durée

Météo : Température 10 °C, Hygrométrie 84 %, Précipitation à 3 jours 4,4 mm, Direction du vent Sud-Est, Vitesse du vent 9 Km/h.

18-02-25 - Epandage organique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
Biogreen 10 (10-3-1)	880,00	234,74 kg	Verhulst Leroy Genon	

Matériel	Durée
Tracteur NH T5-110 Distributeur RAUCH Aero	

05-03-25 - Désherbage mécanique - 0,27 ha - Réalisée

Appro	Dose	Quantité	Main d'oeuvre	Durée
	0,00		Verhulst Breuse	

Matériel	Durée
Bineuse CARRE Econet 3 m Tracteur JOHN DEERE 6130R	

Annexe 3 : Tableaux de référence pour la classification texturale et chimique des sols (méthode du CARAH)

a. Classification texturale selon le pourcentage d'argile

<9%	<13	<16	<30	<37	>37
Sableux	Sablo-limoneux	Limon léger à moyen	Limon moyen à lourd	Argileux	Argileux lourd

b. Références pour le phosphore (P) selon la texture et le pH_KCl

Texture	Sols légers		Sols moyens		Sols lourds	
pH _{KCl}	< 5,5	≥ 5,5	< 5,5	≥ 5,5	< 5,5	≥ 5,5
Élevé [mg P/100 g]	> 9,0	> 10,0	> 6,0	> 7,5	> 4,5	> 6,0
Bon [mg P/100 g]	5,1* – 9,0	6,6* – 10,0	3,0* – 6,0	4,6* – 7,5	2,6* – 4,5	3,6* – 6,0
Bas [mg P/100 g]	< 5,1	< 6,6	< 3,0	< 4,6	< 2,6	< 3,6

*Valeur pivot

c. Références pour le potassium (K), le magnésium (Mg) et le calcium (Ca) selon la CEC

Indications sur les plages de référence du bulletin du CARAH							
Cations	Les plages de référence sont calculées en fonction de la CEC.						
La mesure de la CEC se fait par la méthode NIR (Infra-rouge) , pour autant que l'échantillon corresponde à une zone déjà calibrée. Par défaut, c'est la formule : CEC = % d'argile X 0,37 + % C X 2,73							
CEC (Capacité d'échange cationique)		(méq/100g)	< 5	5 à 10	10 à 15	15 à 20	20 à 25
Potassium	4% (* 3%)	mg/100g de TS	5,2 à 7,7	10,4 à 15,5	15,6 à 23,3	20,8 à 31,1	26 à 38,9
Magnésium	8% (* 6%)		3,2 à 4,8	6,5 à 9,7	9,8 à 14,5	13 à 19,4	16 à 24,2
Calcium	68%		46 à 68,9	90 à 134,9	136 à 203,9	182 à 272,9	228 à 341
* les valeurs en prairies sont inférieures							

Axis Plant Sciences
ULiège - GxABT

MACHA OSIPENKO
Lab Protocol

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 acetone
- Transfer all the solution from Eppendorf tube into a 50 mL Falcon tube with 12,4 mL of acetone, 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 µL from solution A into a 7,8 mL of acetone in a 50 mL Falcon tube

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

- Take 500 µL from solution B into a 9,5 mL of acetone in a 50 mL Falcon tube

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 µL

Exemple :

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

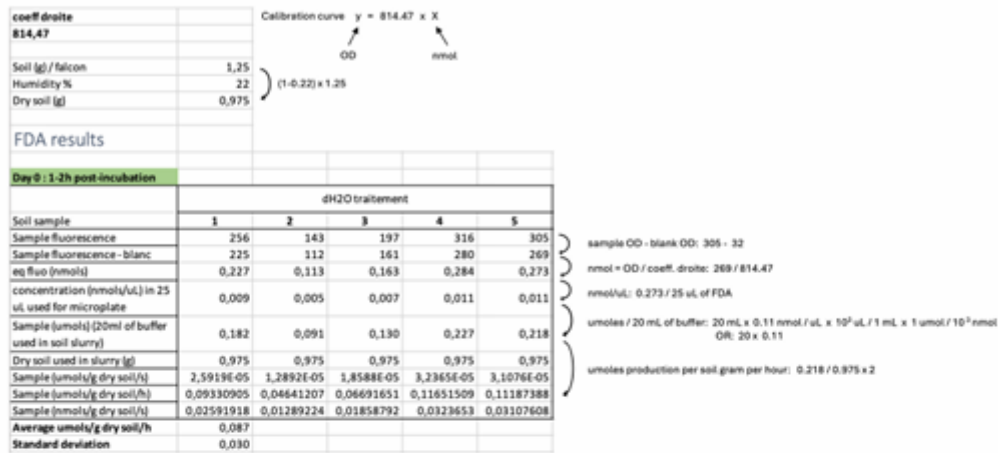


Fig. 1. Calculation of the conversion from FDA hydrolysis activity (measured in OD units) to the production of umoles of fluorescein per gram of soil per hour.

Composition of buffers

Phosphate buffer pH 7.6

Into a Schott bottles of 1 L:

8,7 g	K ₂ HPO ₄
1,3 g	KH ₂ PO ₄

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

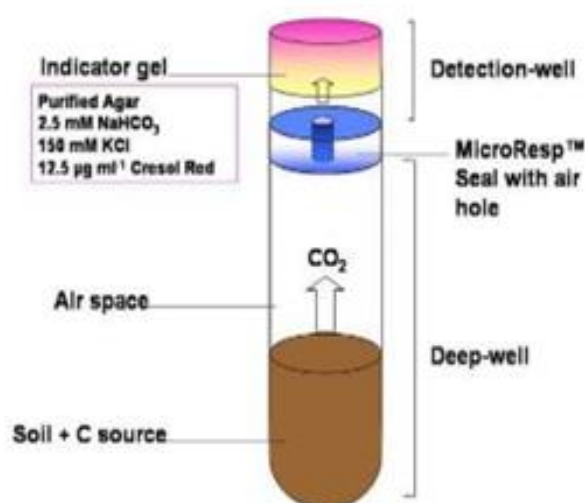
Protocole MicroResp

1 Principe

« MicroResp a été développée par Campbell (Campbell et al., 2003) pour mesurer l'évolution du CO₂ 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 crésol) qui change de couleur avec le changement de pH : il passe du rose au jaune, quand le pH devient plus acide.

Le rouge de crésol est préparé dans un milieu d'indication contenant du bicarbonate de sodium. Lorsque du CO₂ 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 crésol change la couleur de ce dernier, ce qui permet de doser la quantité de CO₂ qui a réagi avec le milieu d'indication (Rowell, 1995) :



Méthode colorimétrique Microresp de mesure du CO₂ libéré d'un échantillon de sol

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

2 Echantillons de sol

2.1 Prélèvements

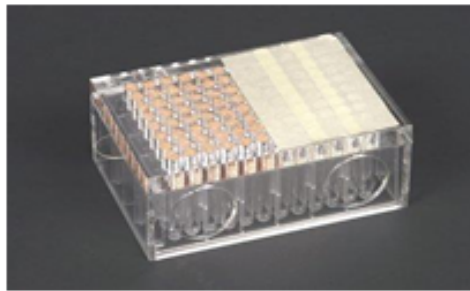
2.2 Préparation

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 = $(\text{masse sèche} / \text{masse fraîche}) \times 100$
 - b. **Teneur en eau du sol frais (%)** = $100 - \% \text{ Poids sec} = \% \text{ eau par unité de sol frais}$
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 mouillée 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 : $30\% * \text{Capacité maximale de rétention d'eau (\%)} * \text{masse sèche théorique}$ → **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 : $\text{masse d'eau du sol à 30\% de la capacité maximale de rétention d'eau} - \text{masse d'eau du sol frais} = \text{masse d'eau à ajouter au sol frais}$
(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 plaque coulissante 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 CO₂ émis.
8. Une fois la plaque à puit profond remplie, la recouvrir de parafilm.

2.3 Incubation

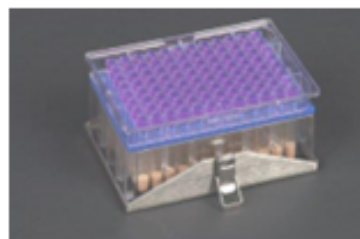
Avant de pouvoir mesurer l'activité microbienne des sols, ces derniers doivent être incubés dans une étuve pendant 60h à 25°C. Il est important que cette incubation se fasse dans une étuve qui permet de garder une température constante pendant toute la durée de l'incubation.

L'incubation permet de stabiliser 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 CO₂ 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 microplaque de détection et d'un dispositif de fermeture en métal.



3.2 Préparation de la microplaque de détection

3.2.1 Préparation de la solution mère indicatrice

1. Mesurer 900ml d'eau déminéralisée et les mettre dans un bécher de 1000ml
2. Mettre le bécher 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 prélèvera la quantité nécessaire pour la suite du protocole
 - ➔ *Stocker la solution à 4°C à l'abri 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 bécher 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 microplaque 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 microplaque dans un dessiccateur fermé et à l'abri 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 microplaque y est conservée.*
3. Laisser s'équilibrer la microplaque 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 microplaque 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 microplaque est conforme (%CoV < 5%).

i. **Formule : % CoV = (écart-type/moyenne)*100**

Après lecture de l'absorbance, remplacer la microplaque 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^{ème} colonne de la plaque à puits profonds, à raison de 150µl par puit.

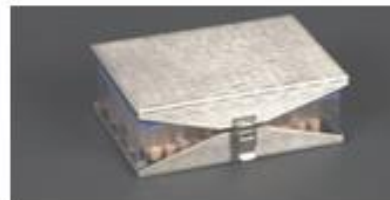
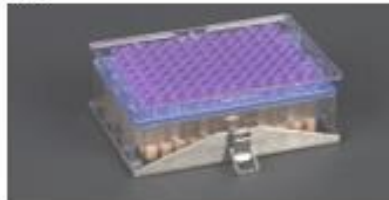
9. Introduire de l'eau distillée, à raison de 300µl par puit, comme témoin négatif (blanco) dans la 12^{ème} colonne de la plaque à puits profonds.
10. Insérer 150µl d'H₂SO₄ 30% dans les puits de la 11^{ème} colonne de la plaque puits profonds.
11. Une fois la plaque à puits profonds complètement remplie, la recouvrir avec le tapis de fermeture en caoutchouc.



12. Sortir la microplaque de détection du dessiccateur 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. Celer 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.

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:

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

iii. % CO₂ Calculations

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

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

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

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

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

iv. CO₂ production rate

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

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

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

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

Quick-Start Protocol

May 2019

DNeasy® PowerSoil® Pro Kit

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

Further information

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

Notes before starting

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

— Sample to Insight



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

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



Scan QR code for handbook.

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

Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight®, DNeasy®, PowerSoil® (QIAGEN Group). 1117569 05/2019 HB-2494-003 © 2019 QIAGEN, all rights reserved.

Ordering www.qiagen.com/contact | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com

5. Nucleic Acids

Nucleic acid samples can be readily checked for concentration and quality using the NanoDrop 1000 Spectrophotometer. To measure nucleic acid samples select the 'Nucleic Acid' application module.

Sample Volume Requirements

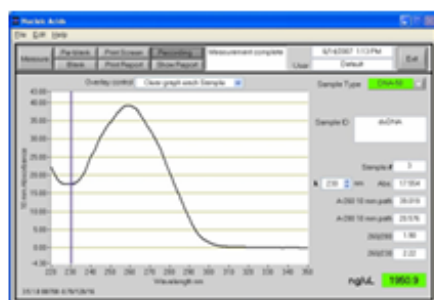
Field experience has indicated that 1ul samples are sufficient to ensure accurate and reproducible results when measuring aqueous nucleic acid samples. However, if you are unsure about your sample or your pipettor accuracy, a 1.5-2ul sample is recommended to ensure that the liquid sample column is formed and the light path is completely covered by sample.

Measurement Concentration Range

The NanoDrop 1000 Spectrophotometer will accurately measure dsDNA samples up to 3700 ng/ul without dilution. To do this, the instrument automatically detects the high concentration and utilizes the 0.2mm pathlength to calculate the absorbance.

Detection Limit (ng/ul)	Approx. Upper Limit (ng/ul)	Typical Reproducibility (minimum 5 replicates) (SD= ng/ul; CV= %)
2	3700 ng/ul (dsDNA) 3000 (RNA) 2400 (ssDNA)	sample range 2-100 ng/ul: ± 2 ng/ul sample range >100 ng/ul: $\pm 2\%$

Unique Screen Features



Sample Type: used to select the (color-keyed) type of nucleic acid being measured. The user can select 'DNA-50' for dsDNA, 'RNA-40' for RNA, 'ssDNA-33' for single-stranded DNA, or 'Other' for other nucleic acids. The default is DNA-50. If 'Other' is selected, the user can select an analysis constant between 15-150. When navigating amongst the three general sample types within the Nucleic Acids module, the last constant value entered within the 'Constant' sample type will be retained. See the "Concentration Calculation (Beer's Law)" Appendix for more details on this calculation.

λ and Abs: the user selected wavelength and corresponding absorbance. The wavelength can be selected by moving the cursor or using the up/down arrows to the right of the wavelength box. Note: The user-selected wavelength and absorbance are not utilized in any calculations.

A260 10 mm path: absorbance of the sample at 260 nm represented as if measured with a conventional 10 mm path. Note: This is 10X the absorbance actually measured using the 1 mm path length and 50X the absorbance actually measured using the 0.2 mm path length.

A280 10 mm path: sample absorbance at 280 nm represented as if measured with a conventional 10 mm path. Note: This is 10X the absorbance actually measured using the 1 mm path length and 50X the absorbance actually measured using the 0.2 mm path length.

260/280: ratio of sample absorbance at 260 and 280 nm. The ratio of absorbance at 260 and 280 nm is used to assess the purity of DNA and RNA. A ratio of ~1.8 is generally accepted as "pure" for DNA; a ratio of ~2.0 is generally accepted as "pure" for RNA. If the ratio is appreciably lower in either case, it may indicate the presence of protein, phenol or other contaminants that absorb strongly at or near 280 nm. See "260/280 Ratio" in the Troubleshooting section for more details on factors that can affect this ratio.

260/230: ratio of sample absorbance at 260 and 230 nm. This is a secondary measure of nucleic acid purity. The 260/230 values for "pure" nucleic acid are often higher than the respective 260/280 values. They are commonly in the range of 1.8-2.2. If the ratio is appreciably lower, this may indicate the presence of co-purified contaminants.

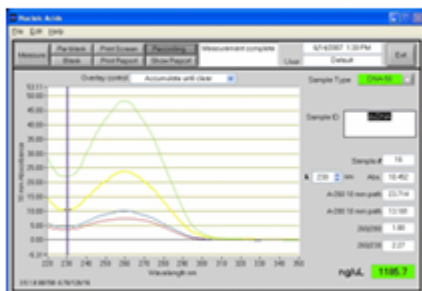
ng/ul: sample concentration in ng/ul based on absorbance at 260 nm and the selected analysis constant. See the "Concentration Calculation (Beer's Law)" in the appendix for more details on this calculation.

Spectrum Normalization

The baseline is automatically set to the absorbance value of the sample at 340 nm, which should be very nearly zero absorbance. All spectra are referenced off of this zero.

Spectrum Overlay Control

The user can display more than one spectrum in the same display using this feature. The current sample plot will be displayed in bold and previous plots will be distinguished by different colors as seen in the following example:



The default option is set to clear the display for the next reading. The user may set the overlay control to clear after each sample plot, (default setting), after each new report, or accumulate plots until prompted to clear. The 'Clear Now' setting will clear all current and previous plots. When the overlay function is active, the software will auto scale the y-axis based on the sample with the highest absorbance at 260 nm. Note: When the overlay function is active, the 'Blank' function does not clear the existing overlaid sample spectra.

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).

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	CGATAACGAACGAGACCT	Amplification of Variables regions #8 and #8 of 18S rRNA, amplicon 350 bp
	FR1	AICCATTCATCGGTAIT	

- 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

Method

NB: 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/μL with ultrapure water (final volume = 50 μL). No need to check with Nanodrop.
- Dilute primers to 10 μM with ultrapure water (final volume = 100 μL).

2. Mix preparation for DNA & standard curve samples

	For 1 sample (uL)	For X+2 samples
H ₂ O Nuclease Free	3.6	
Primer 1 (10 uM)	0.2	
Primer 2 (10 uM)	0.2	
GoTaq® qPCR Master Mix (2X)	5	
Final volume	10	

- Keep all components on ice (H₂O, 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 10⁸ to 10³ plasmid copies (final volume = 10 μL)
- Prepare dilutions in triplicate

4. Filling the Plate

- Fill wells with 9 μL of reaction mix, ensuring all is deposited at the bottom.
- Add 1 μL 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

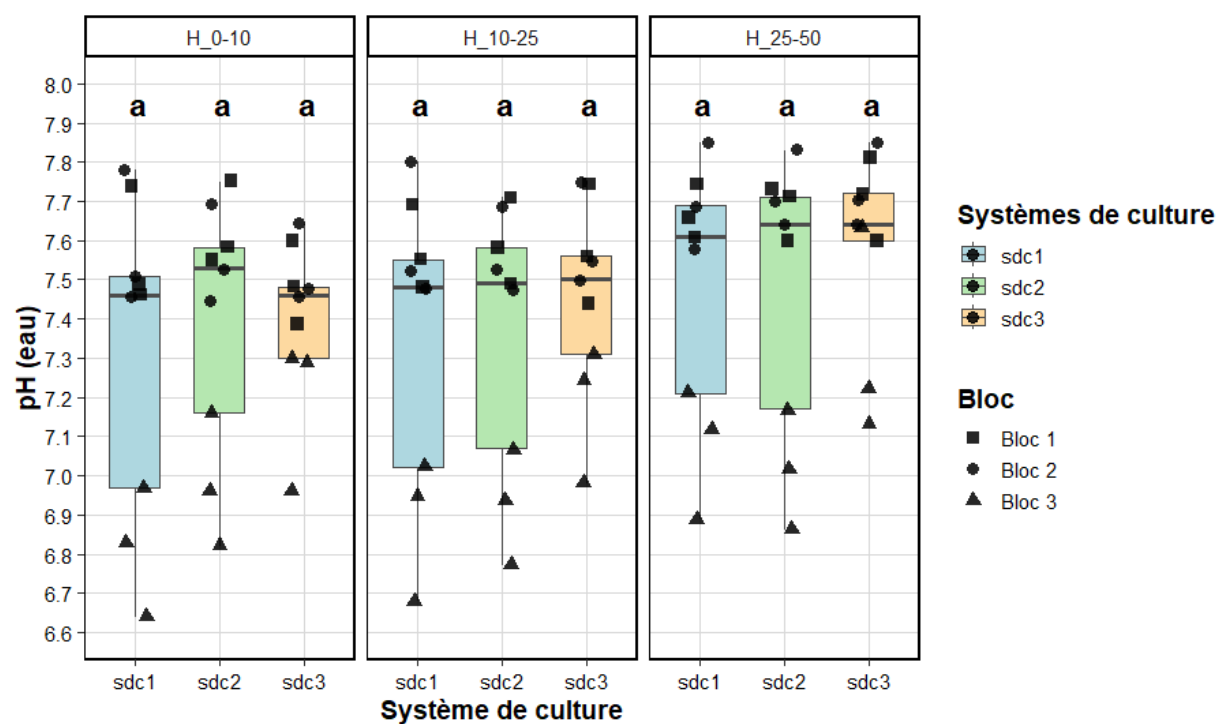
- Threshold settings are automatically calculated by the qPCR machine. It is possible to change the value manually while proceeding the results.
- Use only Ct values for the analysis.
- qPCR products can be run on a gel and purified for sequencing if needed.

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 9 : Boxplots du pH (eau) selon le système de culture (sdc1, sdc2, sdc3) pour trois horizons de sol (H_0-10, H_10-25, H_25-50)



Annexe 10 : Stock et stock cumulé de carbone organique (t/ha), rapport C/N et teneurs en Mg, Ca et Na disponible (g/kg)

