

D/2019/11802/68

Editeur responsable : DGARNE, 15 avenue Prince de Liège - 5100 Jambes

N° vert : 1718 - [www.wallonie.be](http://www.wallonie.be)

Publication gratuite, imprimée sur papier recyclé

Guide sur les indicateurs biologiques et le carbone organique des sols agricoles en Wallonie

# La qualité biologique et le carbone organique des sols agricoles en Wallonie

SPW

AGRICULTURE, RESSOURCES NATURELLES  
ET ENVIRONNEMENT

Direction de la Protection des Sols

Université de Liège

Université Catholique de Louvain

Quentin Vincent<sup>1</sup>, Caroline Chartin<sup>2</sup>, Inken Krüger<sup>1</sup>,  
Bas van Wesemael<sup>2</sup>, Monique Carnol<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'écologie végétale et microbienne, InBioS, Université de Liège, Bât. B22, Chemin de la vallée 4, 4000 Liège

<sup>2</sup>Georges Lemaître Centre for Earth and Climate Research, Earth and Life Institute. Université Catholique de Louvain, 1348 Louvain-la-Neuve

# La qualité biologique et le carbone organique des sols agricoles en Wallonie

**COMMANDITAIRE :**

SPW, AGRICULTURE, RESSOURCES NATURELLES ET ENVIRONNEMENT

Direction de la Protection des Sols

Avenue Prince de Liège, 15

B-5100 NAMUR

**AUTEURS :**Quentin Vincent<sup>1\*</sup>, Caroline Chartin<sup>2</sup>, Inken Krüger<sup>1\*</sup>, Bas van Wesemael<sup>2</sup>, Monique Carnol<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratoire d'écologie végétale et microbienne, InBioS, Université de Liège, Bât. B22, Chemin de la vallée 4, 4000 Liège<sup>2</sup>Georges Lemaître Centre for Earth and Climate Research, Earth and Life Institute. Université Catholique de Louvain, 1348 Louvain-la-Neuve

\* Contribution équivalente

**Table des matières**

1	Introduction générale .....	4
2	La qualité biologique des sols .....	5
2.1	Fertilité, santé et qualité des sols .....	5
2.2	Mesurer la qualité biologique des sols .....	7
3	Le réseau de surveillance des sols (RSS) CARBIOSOL .....	7
4	Les indicateurs du RSS CARBIOSOL - mesures et gammes de référence .....	11
4.1	Prélèvement, préparation et stockage des échantillons .....	13
4.2	Carbone organique total du sol .....	15
4.3	Fraction grossière de carbone organique du sol .....	18
4.4	Fraction fine de carbone organique du sol .....	22
4.5	Carbone extrait à l'eau froide et à l'eau chaude .....	25
4.6	Azote extrait à l'eau froide et l'eau chaude .....	29
4.7	La biomasse microbienne (carbone microbien) et l'azote microbien .....	33
4.8	Rapport Cmic/Nmic .....	37
4.9	Potentiel métabolique .....	40
4.10	Respiration potentielle .....	43
4.11	Minéralisation nette de l'azote .....	46
4.12	Densité en vers de terre .....	49
4.13	Quotient métabolique .....	53
4.14	Quotient microbien .....	55
5	Base de données et outils associés .....	57
5.1	Les bases de données 'CARBIOSOL' et 'REFERENTIEL' .....	57
5.2	Corrélogramme .....	58
5.3	Outils graphiques et cartographiques .....	59
6	Exemple d'application des indicateurs - Effets de l'exploitation et des pratiques agricoles .....	62
7	Références bibliographiques .....	68

## 1 Introduction générale

Les sols sont à la base de la production agricole et par conséquent de notre alimentation. Les pratiques agricoles influencent les propriétés des sols à court et à long terme (Larson and Pierce, 1994). L'agriculture intensive a notamment de nombreux effets négatifs sur les sols, comme par exemple la perte de biodiversité, une plus grande sensibilité à l'érosion ou le déclin de la matière organique (Tilman *et al.*, 2002). Comme partout dans le monde, cette dégradation progressive de la qualité des sols agricoles est également un réel problème en Wallonie (Goidts et van Wesemael, 2007). Par exemple, par rapport à la période 1949-1972, les sols sous cultures ont subi une diminution moyenne de 20% de leur teneur en carbone organique, tandis que la superficie de sols carencés a presque triplée (rapport sur l'EEW, DGO3, 2017).

Or, les sols sont considérés comme une ressource non renouvelable à l'échelle des générations humaines (Lal, 2009). Une prise de conscience de l'ampleur des effets des activités humaines sur les sols a mené les décideurs à élaborer des outils pour le suivi de la qualité des sols, afin de surveiller l'évolution des sols, de limiter leur dégradation et de favoriser des pratiques qui permettent une utilisation<sup>1</sup> durable des sols. Ainsi, des réseaux de surveillance ont été établis dans la majorité des pays européens, y compris la Belgique. Un réseau de surveillance est composé d'un ensemble de sites où des indicateurs de la qualité du sol sont mesurés régulièrement (Morvan *et al.*, 2008). Traditionnellement, des indicateurs chimiques et physiques comme la texture, la densité apparente, le pH ou la teneur totale en carbone organique du sol (COT) sont utilisés pour évaluer un sol agricole et en déduire des conseils de gestion adaptés (Gregorich *et al.*, 1994). Le COT est une mesure fondamentale, associée à différents processus physiques, chimiques et biologiques du sol (Six *et al.*, 2004; Koch *et al.*, 2013). Cependant, la dynamique du COT est lente et ses changements ne sont détectables qu'après plusieurs années ou décennies (Goidts and van Wesemael, 2007). De plus, le carbone organique du sol n'est nullement homogène (von Lütow *et al.*, 2007); il s'agit plutôt de divers composés carbonés avec des temps de décomposition fortement variables (Schmidt *et al.*, 2011). La séparation des fractions carbonées en fractions labiles et stables aide à distinguer les tendances à long terme (taux de renouvellement de 100 ans ou plus), importants pour la stabilisation de la matière organique dans le sol (fraction stable), des processus liés à la transformation de la matière organique, impliqués dans la fertilité actuelle des sols (fraction labile) (Trigalet *et al.*, 2017; van Wesemael *et al.*, 2019).

Cependant, les paramètres physico-chimiques ne rendent pas ou peu compte des propriétés biologiques du sol. Or, les organismes du sol interviennent directement dans la dégradation de la matière organique, et leur activité est par conséquent liée à la libération des éléments nutritifs pour les plantes. L'abondance, la diversité et l'activité des organismes

<sup>1</sup> Utilisation (du territoire) : « fonction ou usage d'un type d'occupation du sol (par ex. une occupation de type « pelouse » peut correspondre à une utilisation « jardin résidentiel » ou « pâturage »). » Rapport sur l'état de l'environnement wallon (EEW) (2017). Cinq utilisations sont définies dans le rapport de l'EEW (2017) : (1) terrain artificialisés, (2) terrains de nature inconnues/non cadastrés, (3) terrains agricoles, (4) terrains boisés et (5) autres terrains non artificialisés.

du sol (principalement micro-organismes, micro- et mésofaune) fournissent des informations complémentaires aux mesures physico-chimiques sur le fonctionnement<sup>2</sup> des sols. De plus, les paramètres biologiques réagissent plus rapidement aux changements que le COT et ils permettent donc d'établir un diagnostic précoce des effets de modifications de l'environnement.

En Wallonie, un réseau de laboratoires provinciaux (<http://www.requasud.be/presentation/>) fournit des analyses de sol pour les agriculteurs. Jusqu'à présent, l'évaluation des sols comprend des paramètres chimiques et physiques (Genot *et al.*, 2011), mais une demande croissante concerne des mesures liées à l'activité biologique des sols. Le projet de recherche CARBIOSOL (financement SPW-DGO3; juillet 2013-janvier 2019) répond à ce besoin par l'étude de nouveaux indicateurs (fractions de carbone et indicateurs biologiques) et par l'évaluation de leur capacité à mesurer la qualité des sols agricoles en Wallonie.

Cette brochure vise à informer le personnel des laboratoires d'analyse et d'autres utilisateurs potentiels sur les opportunités et les perspectives que nous offrent ces nouveaux indicateurs de la qualité du sol. Les possibilités de leur utilisation sont détaillées et des protocoles de mesure, adaptés aux caractéristiques des sols agricoles en Wallonie, sont présentés.

## 2 La qualité biologique des sols

### 2.1 Fertilité, santé et qualité des sols

Plusieurs concepts sont utilisés pour décrire les caractéristiques globales des sols. En agriculture, la fonction essentielle d'un sol est sa capacité à supporter la croissance végétale (Gil-Sotres *et al.*, 2005). Cette fonction se réfère à la **fertilité du sol**, qui peut être définie comme « la capacité du sol à répondre aux besoins physiques, chimiques et biologiques nécessaires à la croissance des plantes, pour leur productivité, leur reproduction et leur qualité (considérée en termes de bien-être humain et animal dans les cas des plantes utilisées comme nourriture ou comme fourrage), de manière adaptée au type de plante, au type de sol, à l'usage des sols et aux conditions climatiques » (Abbott and Murphy, 2003). L'évaluation de la fertilité des sols est principalement basée sur des analyses physico-chimiques, y compris le contenu et la disponibilité en éléments nutritifs.

Depuis les années 1970, l'intérêt pour le fonctionnement du sol, au-delà de la production agricole, a gagné de l'importance (Lal, 2016). Ainsi, la notion de **qualité des sols** tient compte de l'interaction hommes-sols, en particulier, du type d'usage, des priorités et des exigences de la société (Wartekin et Fletcher, 1977; Bispo *et al.*, 2016). La qualité d'un sol a été définie comme « la capacité continue à fonctionner comme un système vivant, au sein d'écosystèmes naturels ou gérés, dans le but de maintenir la productivité biologique, de maintenir ou d'augmenter la qualité de l'eau et de l'air et de promouvoir la santé des animaux,

<sup>2</sup> Fonction (écosystémique) ou fonction écologique : processus lié à des flux de matières et d'énergies dans un écosystème (Wallace, 2007).

des végétaux et des humains » (Doran *et al.*, 1994) et « **la capacité du sol à remplir ses fonctions** » (Karlen *et al.*, 1997). Le concept a évolué par l'intégration de la biodiversité des sols : « *la qualité des sols est leur capacité à maintenir un fonctionnement correct grâce à une biodiversité de processus et d'organismes qui réalisent ces processus* » (Eijsackers, 2004). Le Centre commun de recherche de la commission européenne propose de définir la qualité du sol par « *une mesure de l'aptitude d'un sol à fournir des services écosystémiques et sociaux par sa capacité à maintenir ses fonctions sous des conditions changeantes* » (Tóth *et al.*, 2007). L'évaluation de la qualité des sols est donc basée sur leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques.

Le terme **santé du sol** trouve son origine dans le lien entre la qualité du sol et la santé des animaux, humains et la qualité des cultures (Warkentin, 1995). Aussi, ce concept se veut plus holistique : « *la capacité du sol à maintenir à long terme l'ensemble de ses propriétés et de ses fonctions, indépendamment d'un usage particulier* » (Acton et Gregorich, 1995 dans Bispo *et al.*, 2016). Cependant, ce concept reste difficile à concrétiser, car, contrairement au système médical, disposant d'indicateurs et de gammes de valeurs précises, la grande variation en termes de types et caractéristiques des sols rend le choix des indicateurs et la définition de gammes de valeurs de référence difficile. Certains notent encore que les scientifiques préfèrent le terme qualité, alors que les agriculteurs préfèrent le terme « santé » (Romig *et al.*, 1996 dans Bünemann *et al.*, 2018) et considèrent les deux termes comme équivalents (Bünemann *et al.*, 2018).

**En résumé, le terme fertilité se réfère plus spécifiquement au lien avec la croissance des plantes, le terme qualité tient compte de l'utilisation des sols, et le terme santé englobe une qualité à long terme, indépendamment de l'usage des sols. Comme nous nous intéressons aux caractéristiques des sols influencées par les pratiques agricoles, nous utiliserons alors le terme « qualité des sols ».**

L'évaluation de la qualité d'un sol peut s'effectuer par l'utilisation d'indicateurs. Ces indicateurs sont liés aux propriétés physiques, chimiques ou biologiques des sols et doivent répondre à un certain nombre d'exigences et de critères (Doran and Safley, 1997 dans Pankhurst *et al.*, 1997). Ces critères peuvent être d'ordre conceptuel (p.ex. lien avec une menace pesant sur le sol), liés aux pratiques (p.ex. coût), ou liés à la sensibilité des indicateurs pour répondre à un changement (p.ex. à la gestion) ou à la facilité d'interprétation des résultats. Il n'existe pas de consensus par rapport aux types d'indicateurs à utiliser et, par conséquent, les indicateurs diffèrent grandement entre les réseaux de mesure, provenant de différents pays, en fonction des objectifs du suivi. Par exemple, le programme « Bioindicateur 2 » de l'ADEME (Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie) en France se base sur le coût, la normalisation de la mesure, la facilité d'acquisition de la donnée et la facilité d'interpréter la donnée pour sélectionner les indicateurs.

## 2.2 Mesurer la qualité biologique des sols

La qualité biologique des sols fait référence à l'abondance, la diversité et l'activité<sup>3</sup> des organismes vivants qui interviennent dans le fonctionnement des sols, permettant de remplir des fonctions essentielles comme la production de biomasse, le stockage de carbone (C), la régulation d'espèces nuisibles, la dégradation de polluants, les cycles biogéochimiques (Chaussod, 1996 ; EEW, 2017). Alors que l'importance de l'activité des micro-organismes comme indicateur précoce de la fertilité permanente d'un sol est reconnue depuis les années 1920 (Waksman et Starkey, 1924 dans Wood *et al.*, 2016), leur utilisation comme indicateur dans les réseaux de surveillance de la qualité des sols est récente.

L'étude des indicateurs biologiques de la qualité des sols est pourtant d'un grand intérêt (Krüger *et al.*, 2016) puisque ces indicateurs vont à la fois (i) dépendre des conditions physico-chimiques du sol, des pratiques agricoles, (ii) intervenir directement dans les fonctions de l'écosystème et (iii) répondre plus rapidement aux changements environnementaux que le COT. Ces indicateurs biologiques permettent d'acquérir des informations complémentaires aux indicateurs chimiques, et d'évaluer plus précisément certaines fonctions liées à la qualité du sol comme le cycle des nutriments (minéralisation nette de l'azote), l'activité microbienne (potentiel de respiration) ou la transformation de la matière organique (biomasse microbienne).

La qualité du sol dépend également de caractéristiques inhérentes au sol (géologie, relief, texture etc.) et de caractéristiques dynamiques (météorologie, perturbations physiques ou chimiques etc.) (Karlen *et al.*, 2003), qui doivent donc être pris en compte dans l'évaluation de la qualité des sols. Le mode de gestion du sol influence également certaines caractéristiques dynamiques, et il peut ainsi influencer la qualité biologique du sol.

## 3 Le réseau de surveillance des sols (RSS) CARBIOSOL

En Wallonie, le réseau de surveillance des sols (RSS) CARBOSOL a été établi pour suivre l'évolution des stocks de Carbone organique des sols (COT) agricoles (Goidts *et al.*, 2009). Le COT est une mesure fondamentale, car associée à différents processus physiques, chimiques et biologiques des sols. Se basant sur ~700 sites, ce réseau a permis de produire des gammes et des cartes de référence, importantes en tant qu'outils d'aide à la décision pour les gestionnaires et décideurs politiques (Chartin *et al.*, 2016; Chartin *et al.*, 2017). Toutefois, comme le COT a une dynamique lente, mesurée en dizaines d'années, il ne peut pas servir comme indicateur précoce de l'évolution de la qualité du sol (Schrumpf *et al.*, 2008).

Afin d'étudier plus précisément la dynamique du carbone, le COT peut être séparé en deux fractions carbonées pour étudier la stabilisation de la matière organique dans le sol

<sup>3</sup> Activité (des organismes) ou fonction biologique: action qui influence la performance d'un organisme et par conséquent sa valeur sélective (Violle *et al.*, 2007).

(fraction stable) et les processus liés à la transformation de la matière organique, impliqués dans la fertilité actuelle des sols (fraction labile) (Trigalet *et al.*, 2017).

En vue de fournir des informations complémentaires sur les différents aspects de la qualité du sol, des indicateurs relatifs à des processus biologiques ont été introduits dans le réseau. Ces indicateurs biologiques ont été sélectionnés grâce à une recherche bibliographique en fonction des besoins en Wallonie (Malchair *et al.*, 2010). Les critères de sélection étaient basés sur la pertinence des indicateurs biologiques (lien avec des services écosystémiques), l'applicabilité à différents écosystèmes, leur sensibilité à détecter des changements, leur utilisation dans des réseaux existants, ainsi que des critères méthodologiques.

Les points d'échantillonnages pour les fractions du carbone et/ou les indicateurs biologiques sont cartographiés dans la figure 1.

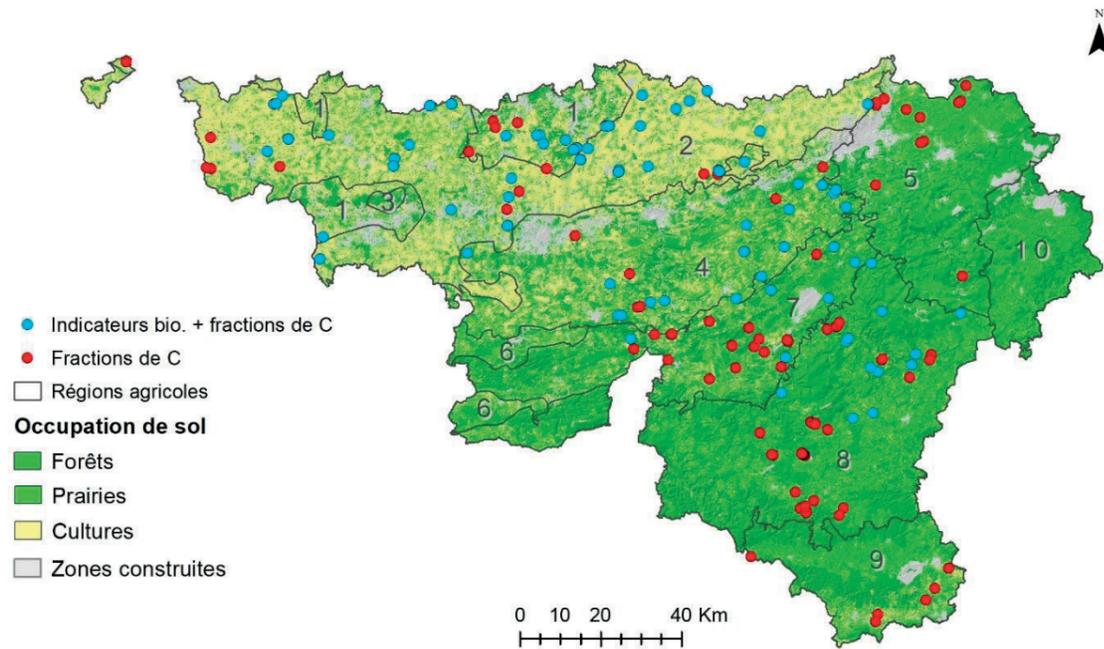


Figure 1: Sites ayant servi à l'établissement de gammes de valeurs tenant compte de la variabilité spatiale et saisonnière des paramètres biologiques. Régions agricoles: 1-Sablo-limoneuse, 2-Limoneuse, 3-Campine Hennuyère, 4-Condruz, 5-Herbagère Liège, 6-Herbagère Fagnes, 7-Famenne, 8-Ardenne, 9-Jurassique, et 10-Haute Ardenne.

En tout, les mesures effectuées via le RSS CARBIOSOL concernent 19 indicateurs de la qualité des sols (hors les mesures du pH). Ces indicateurs sont (i) des indicateurs biologiques mesurant directement l'abondance, la diversité et/ou l'activité d'organismes du sol, (ii) des indicateurs chimiques interagissant fortement avec l'activité biologique des sols.

Le tableau 1 présente succinctement les indicateurs du RSS CARBIOSOL avec leurs définitions et leurs principes de mesure. Des informations précises sont disponibles dans la partie suivante (§4), présentant une fiche descriptive pour chaque indicateur détaillant leur

principe de mesure, le matériel nécessaire, les gammes de valeurs en Wallonie et l'interprétation de ces indicateurs.

Tableau 1 : Présentation des indicateurs de la qualité biologique des sols mesurés dans le RSS CARBIOSOL. La variabilité saisonnière a été étudiée par comparaison de données prises tous les deux mois entre avril et octobre 2016.

Indicateur	Définition	Principe	Variabilité saisonnière	
Indicateurs chimiques	Carbone organique total	L'ensemble du carbone organique présent dans le sol.	Analyses séparées du Carbone Total (CT) et du Carbone Inorganique (CI), puis soustraction du CI au CT afin d'obtenir le carbone organique total (COT).	aucune
	Fraction fine de carbone	Particules libres d'argiles et limons fins et des micro-agrégats - le carbone organique y est stable sous forme de complexes organo-minéraux (<20µm).	Un échantillon de sol est fractionné physiquement par tamisage humide à 20µm. La teneur en carbone organique de la fraction fine < 20µm est mesurée selon le même protocole que le COT.	aucune
	Fraction grossière de carbone	Mélange de micro agrégats, de petits macro agrégats et de matière organique particulaire (>20µm).	Un échantillon de sol est fractionné physiquement par tamisage humide à 20µm. La teneur en carbone organique de la fraction fine > 20µm est mesurée selon le même protocole que le COT.	aucune
Indicateurs biologiques	Carbone extrait à l'eau froide	Le carbone extrait à l'eau froide est le carbone disponible pour les micro-organismes.	Extraction d'un échantillon de sol avec de l'eau froide (20°C) et analyse du carbone organique total dans l'extrait..	octobre<avril=jui n= août.
	Carbone extrait à l'eau chaude	Le carbone extrait à l'eau chaude présente une fraction active qui inclut le carbone microbien, mais n'est pas limité à celui-ci.	L'extraction consécutive à l'extraction à l'eau froide d'un échantillon de sol avec de l'eau chaude (80°C) permet la mesure de deux propriétés du sol liées au cycle de carbone.	Juin<avril< août=octobre
	Azote extrait à l'eau froide	Mesure permettant le calcul d'indice comme les rapports eau chaude/eau froide ou azote/carbone	Il s'agit d'une extraction d'un échantillon de sol avec de l'eau froide (20°C), suivi de l'analyse de l'azote total dans l'extrait..	juin=août< avril=octobre
	Azote extrait à l'eau chaude	Mesure de la quantité d'azote inorganique et organique (minéralisable) potentiellement disponible pour les plantes.	Il s'agit d'une extraction consécutive à l'extraction à l'eau froide d'un échantillon de sol avec de l'eau chaude (80°C).	juin<août< avril<octobre
	Biomasse microbienne	La biomasse microbienne est la composante vivante de la matière organique à l'exclusion des macro-organismes et des racines.	Obtenu par fumigation au chloroforme. Le carbone microbien est calculé à partir de la différence entre le carbone organique extrait d'un sol fumigé et celui d'un sol non-fumigé.	aucun
Rapport Cmic/Nmic	Donne des informations sur la composition relative de la	Rapport entre le carbone microbien et l'azote microbien.	octobres≤avril= juins=août	

	communauté microbienne en bactéries et en champignons		
Potentiel métabolique	Mesure de la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne du sol. Elle mesure la capacité des bactéries du sol à dégrader différents substrats carbonés.	Un extrait de sol est incubé dans une plaque contenant des puits avec 31 substrats carbonés différents. Les puits deviennent mauve lorsque le substrat est décomposé.	avril≤août=octobres≤juin
Respiration potentielle	Mesure de la vitesse de la minéralisation du carbone organique en CO <sub>2</sub> lors de la décomposition de la matière organique par les micro-organismes.	La respiration potentielle est mesurée comme production de CO <sub>2</sub> d'un échantillon de sol frais dans une bouteille hermétiquement fermée dans des conditions définies.	octobre<avril<juin=août
Minéralisation nette de l'azote	Transformation de l'azote sous forme organique en azote minéral (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ). Elle donne des informations sur la disponibilité de l'azote pour les plantes, indispensable à leur croissance.	Différence entre la quantité d'azote minéral (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) avant et après une incubation de 28 jours à 25°C en absence de racines et de lessivage.	avril≤août=octobres≤juin
Densité des vers de terre	Nombre de vers de terre échantillonné par mètre carré.	Le contact avec une solution de moutarde cause des irritations aux vers de terre qui les font remonter à la surface du sol. Les vers de terre peuvent alors être échantillonnés de manière non-destructive pour le sol.	octobre ≤ avril=juin≤août
Quotient métabolique	Quotient éco-physiologique correspondant au rapport entre la respiration potentielle et le carbone microbien. Il représente la quantité de CO <sub>2</sub> respiré par unité de biomasse microbienne.	Calculé à partir des mesures du carbone microbien et de la respiration potentielle.	aucune
Quotient microbien	Quotient éco-physiologique correspondant au rapport entre le carbone microbien et le carbone organique total. Il donne des renseignements sur la disponibilité de substrat pour les micro-organismes.	Calculé à partir des mesures de carbone microbien et de carbone organique total.	aucune

Ces indicateurs ont été mesurés sur des sites du réseau CARBOSOL, sur des 'Essais à Long Terme (ELT) du CRAW (Centre wallon de recherches agronomiques), ainsi que sur des sites chez des agriculteurs volontaires. L'ensemble de ces sites forme le RSS CARBIOSOL. Le caractère discriminatoire des indicateurs biologiques choisis a été démontré par une comparaison des gammes de valeurs en Région Limoneuse et en Ardenne (Chartin *et al.*, 2015). Ensuite, la variabilité spatiale et temporelle (notamment saisonnière) a été étudiée (Chartin *et al.*, 2016). Des gammes de valeurs de référence, tenant compte de la variabilité spatiale et saisonnière, ont été établies pour la Wallonie (Krüger *et al.*, 2018). Il s'agit de gammes théoriques, calculées sur base de la variation des valeurs due aux saisons et due à la localisation des sites (addition des variances). Ces données sont essentielles pour la mise en routine d'un outil de diagnostic. La mesure de ces indicateurs sur des ELT et des parcelles agricoles de particuliers a permis d'évaluer l'effet de pratiques de gestion (Krüger *et al.*, 2018; §6 du document).

#### 4 Les indicateurs du RSS CARBIOSOL - mesures et gammes de référence

Les mesures effectuées au sein du RSS CARBIOSOL ont pour but de permettre une évaluation de la qualité des sols wallons en utilisant des indicateurs biologiques. Cette évaluation peut se faire à différentes échelles. Pour les agriculteurs, l'étude à l'échelle de la parcelle est la plus pertinente. La qualité du sol y est évaluée de manière comparative, grâce aux gammes de valeurs servant de référence. Grâce au RSS CARBIOSOL, des gammes de valeurs ont été établies pour tous les indicateurs de la qualité du sol choisis. Ces gammes de valeurs sont définies à l'échelle de la Wallonie pour les sols de culture. Comme les gammes de valeurs tiennent compte de la variabilité saisonnière (Krüger *et al.*, 2018b), elles peuvent être utilisées pendant toute la période de végétation. En dehors de la période de végétation, un échantillonnage pour mesurer la qualité du sol via les indicateurs développés ici n'est pas pertinent.

Des gammes de référence ont été déterminées à partir des données récoltées sur les sites agricoles (54 sites échantillonnés en 2015 et 2016). Pour chaque indicateur, une distribution des valeurs a été calculée à partir de la médiane et de la somme de la variabilité spatiale (données de 2015) et saisonnière (données de 2016). Il s'agit de la racine carré de la somme des variances spatiale et saisonnière. Ensuite, cinq catégories ont été déterminées sur base de la distribution de ces valeurs calculées (5<sup>ème</sup> quantile<sup>4</sup>, 25<sup>ème</sup> quantile, 75<sup>ème</sup> quantile et 95<sup>ème</sup> quantile) (Krüger *et al.*, 2018b). Afin de faciliter l'interprétation de ces gammes de référence, elles sont chacune séparée en cinq catégories « valeurs très faibles », « valeurs faibles », « valeurs moyennes », « valeurs élevées » et « valeurs très élevées ».

Il s'agit donc d'une gamme de valeurs **calculées**, pour les sols de culture en Wallonie dans le cadre de ce projet. La gamme ne représente pas le potentiel maximal que

<sup>4</sup> Quantile : valeur qui divise un jeu de données en intervalles contenant le même nombre de données. Par exemple, le 25<sup>ème</sup> quantile partage l'échantillon en 25% des données sous lui, et les 75% restant au-dessus de lui.

l'indicateur pourrait atteindre sous conditions environnementales optimales. À l'avenir, ces gammes de valeurs seront susceptibles d'évoluer, si l'analyse des indicateurs est adoptée par des laboratoires provinciaux affiliés au réseau REQUASUD (cf. §5).

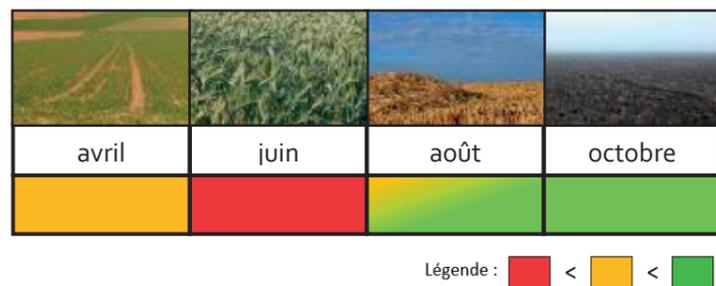
De plus, une comparaison entre les pratiques agricoles des sols (agriculture conventionnelle, de conservation et biologique) est située en dessous du graphique de chaque gamme de référence (figure 2). Ces données représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quartile des valeurs mesurées de l'indicateur en 2016.



Figure 2 : Schéma général d'une gamme de référence et de la comparaison des pratiques agricoles. Ce graphique a été réalisé pour chaque indicateur.

La variabilité saisonnière est représentée par un pictogramme indiquant si les valeurs mesurées en avril, juin, août et octobre 2016 dans des sites sous gestion conventionnelle étaient significativement différentes entre elles. La saison avec les valeurs les plus élevées est représentée en vert, celle avec les valeurs les plus faibles en rouge, et des valeurs intermédiaires en orange. Les saisons avec des codes couleurs identiques (ou deux couleurs) ne sont pas significativement différentes.

Tableau 2 : Tableau général illustrant la variabilité saisonnière d'un indicateur dans des sols sous agriculture conventionnelle. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



#### 4.1 Prélèvement, préparation et stockage des échantillons

La majorité des indicateurs chimiques et biologiques présentés dans cette brochure sont mesurés en laboratoire via l'analyse d'échantillons de sol.

**Pour les indicateurs chimiques** - ces indicateurs concernent le carbone organique total, la fraction grossière et la fraction fine du carbone organique du sol. Des échantillons composites sont prélevés sur la profondeur de 0-20 cm lorsque le sol est en culture et de 0-10 cm lorsqu'il est en prairie (profondeurs moyennes utilisées pour les avis de fumures). Le prélèvement s'est effectué de manière à intégrer le moins possible d'épaisseur transitionnelle entre l'horizon de surface et le sous-jacent. Le sol frais est séché à l'air libre (plusieurs jours) ou à l'étuve (maximum 40°C) puis tamisé à 2 mm. Dès lors, l'échantillon peut être conservé dans un contenant hermétique à température ambiante et à l'abri de la lumière avant les diverses analyses. Pour la mesure des fractions de carbone organique, environ 10 à 15 g est nécessaire pour les analyses en laboratoire. Il faut prévoir environ 120 g supplémentaires dans le cas d'une mesure via Spectrométrie Proche Infra-Rouge (SPIR).

**Pour les indicateurs biologiques** - ces indicateurs concernent le carbone et l'azote extraits à l'eau froide et chaude, la biomasse microbienne, le rapport Cmic/Nmic, le potentiel métabolique, la respiration potentielle, la minéralisation nette de l'azote, la densité des vers de terre et le quotient métabolique et microbien. L'échantillonnage pour l'analyse des indicateurs biologiques doit s'effectuer dans des conditions 'moyennes', c.à.d. lorsque le sol est ni trop sec, ni trop humide. Aussi l'échantillonnage ne s'effectuera pas en période de gel. Des échantillons composites sont prélevés sur la profondeur de 0-10 cm. Cette profondeur correspond à la couche ayant l'activité biologique la plus élevée. Pour la mesure de tous les indicateurs biologiques (sauf les vers de terre, prélevés sur le terrain), environ 300 g de sol frais sont nécessaires. Le sol frais est tamisé à 4 mm et, si nécessaire, l'humidité est ajustée à 50-60% de la capacité au champ (WHC : water holding capacity) (Priha et Smolander, 1999, modifié) avec de l'eau distillée ou en séchant le sol à 20°C. Dans ce cas, un dessèchement complet du sol doit être évité. L'ajustement de l'humidité est nécessaire pour les indicateurs dont la mesure nécessite une incubation du sol (minéralisation nette de l'azote, respiration potentielle), car en dessous de 55-60% de la WHC les organismes souffrent de sécheresse et au-dessus de 80% WHC ils souffrent d'un manque d'oxygène. Les échantillons frais sont conservés à 4°C jusqu'aux analyses. Comme un stockage prolongé peut biaiser les résultats, il est conseillé d'effectuer les analyses dans les trois mois qui suivent l'échantillonnage (NF ISO 18512 (2007-10-01)). Un stockage des échantillons à long terme n'est pas possible.

La mesure de l'humidité se réalise après séchage à l'étuve à 105±5°C jusqu'à masse constante. Une nuit, soit environ 15 heures, suffisent généralement (NF ISO 11 464). Pour mesurer l'humidité du sol, peser environ 10g de sol frais et faites-le sécher à l'étuve comme précisé précédemment. Ensuite, peser le sol sec. Le calcul de l'humidité est le suivant

$$\text{Teneur en matière sèche (MS\%)} = (\text{poids sec du sol} / \text{poids frais du sol}) \times 100\%$$

$$\text{Humidité (HUM\%)} = 100 - \text{MS}$$

La WHC peut être déterminée par une méthode volumétrique :

Mesurer le contenu en eau du sol (voir avant). Préparer des entonnoirs, attacher un tuyau en caoutchouc, et fermer avec un clip. Placer des portions de laine de verre de 0.30 g dans le fond des entonnoirs. Peser 50 g de sol dans chaque entonnoir. Préparer 3 entonnoirs sans sol (avec laine de verre). Ajouter 50 ml d'eau, et laisser reposer 30 minutes. On peut couvrir l'entonnoir avec un film plastique dans lequel on a percé de petits trous, afin d'éviter l'évapotranspiration. Ouvrir le clip, récolter l'eau dans un cylindre gradué et noter le volume.

Calculer :

- La quantité d'eau retenue par le sol :  
 $A = 50 - (\text{volume d'eau retenue par la laine de verre} + \text{volume d'eau collectée})$  (ml)
- La capacité au champs (WHC) (ml d'eau contenu à 100% de la WHC par 100 g de sol sec) :  $B$  (ml) = WHC (ml par 100g de sol frais) =  $2A + \text{HUM}\%$   
 Puis :  $C = \text{ml contenu par 100 g de sol sec à 100\% de la WHC} = (B \text{ ml/MS}) \times 100$
- La quantité d'eau retenue par 100 g de sol sec à 60% de la WHC  
 $D = C/100 \times 60$  (ml)

## 4.2 Carbone organique total du sol

### Qu'est-ce que c'est ?

Le carbone organique total du sol (ou COT) constitue ~57% de la matière organique du sol. Le taux de COT est systématiquement mesuré par les laboratoires du réseau REQUASUD lors des analyses de terres agricoles.

### Principe de mesure

Il existe différents principes chimiques pour mesurer le COT, et donc différentes méthodes. Dans le réseau REQUASUD, le COT est obtenu soit i/ par oxydation au bichromate de potassium (Walkley & Black, 1934 – ISO 14235-1998) ou ii/ par dosage du carbone total par analyse élémentaire par combustion sèche (Méthode Dumas – ISO 10694-1995) auquel est ensuite soustrait le dosage du carbone inorganique.

L'analyse par Spectroscopie Proche Infra-Rouge est également utilisée comme méthode de mesure indirecte du COT (Minet *et al.*, 2016; ISO 17184-2014).

### Gammes de valeurs en Wallonie

La teneur en COT dépend de l'utilisation principale du sol (culture ou prairie) et du climat, du type de sol (notamment la texture et le drainage), ainsi que des grands types de pratiques agricoles appliqués (Goidts *et al.*, 2009; Meersmans *et al.*, 2011; Chartin *et al.*, 2017). Les gammes de valeurs sont déterminées pour les cultures et les prairies, puis détaillées par région agricole, chacune présentant une relative homogénéité en termes de variabilité climatique, pédologique et de pratiques agricoles (figure 3).

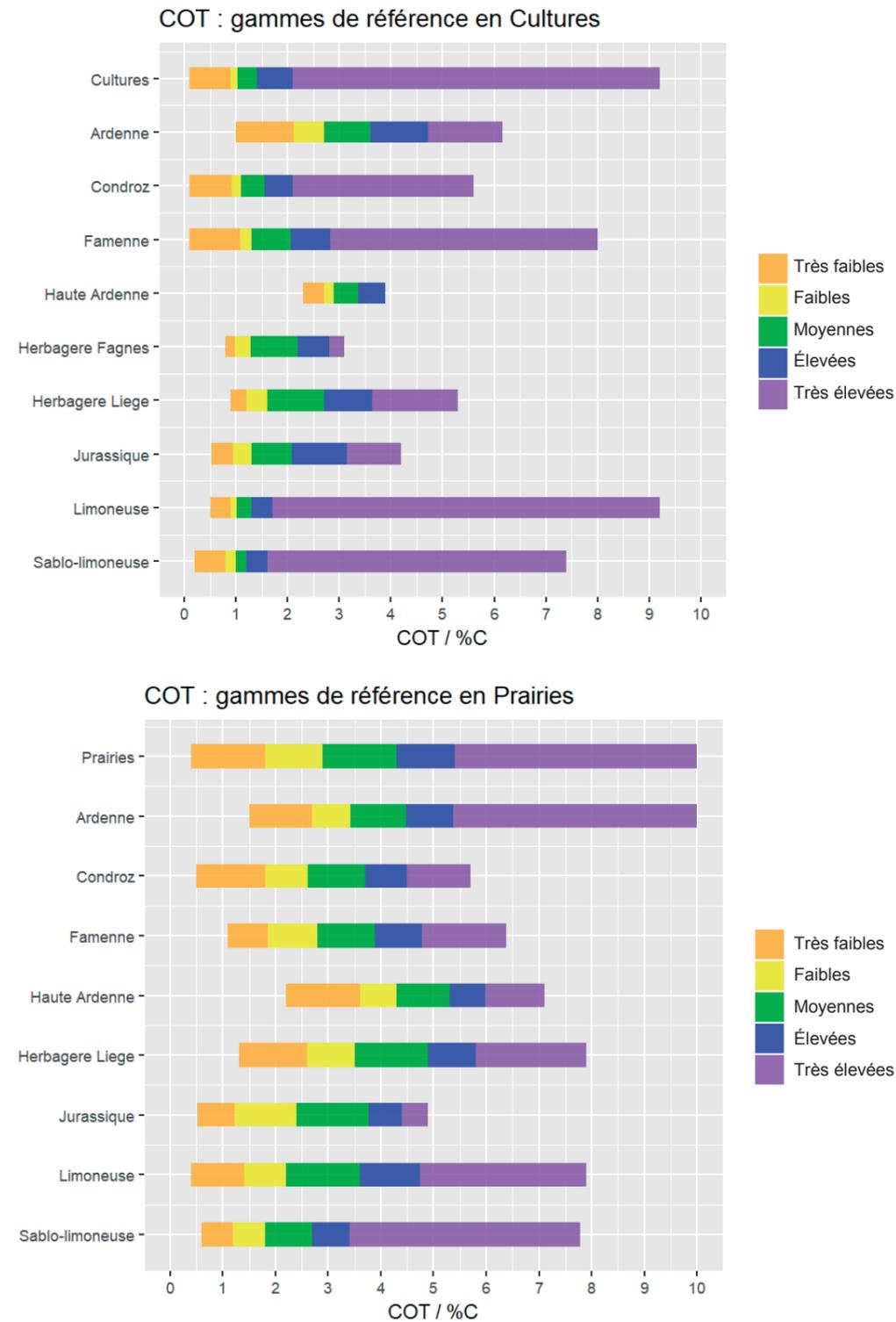


Figure 3 : Gammes de valeurs des teneurs en COT des sols (%C) sous cultures (en haut) et prairies (en bas) en Wallonie. Les gammes sont produites à partir de la base de données centralisée de REQUASUD (période 2004-2014 ; licence n° A06/2017). Les couleurs montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (orange), 'faibles' (jaune), 'moyennes' (vert), 'élevée' (bleu) et 'très élevées' (violet).

**Protocole de mesure**

Le COT étant déjà mesuré en routine dans les laboratoires du réseau REQUASUD, le protocole de mesure n'est pas détaillé ici. Veuillez-vous référer au protocole de votre laboratoire d'intérêt.

*Expression des résultats*

Le taux de COT d'un échantillon de sol est exprimé en g / 100g de terre sèche ou en %C m.s. (matière sèche).

**Interprétation**

La teneur en COT donne une indication de la teneur en matière organique du sol (MOS); le COT représentant ~57% de la MOS. Ces dernières jouent un rôle central dans la qualité des sols et dans le maintien de leurs fonctions clés. Les matières organiques ont un rôle essentiel en tant que moteur de l'activité biologique dans les sols car elles constituent une source nutritive importante. Elles favorisent l'action des organismes vivants et ainsi la création d'un milieu structuré dont les pores permettent une meilleure circulation de l'air et de l'eau. Elles améliorent la stabilité de la structure du sol et favorisent la rétention de l'eau par leurs propriétés colloïdales. Les groupements fonctionnels des molécules organiques augmentent la capacité d'échange cationique et donc la rétention des éléments nutritifs et des polluants. Les matières organiques améliorent également la capacité de résistance du sol aux processus d'érosion.

En culture, une teneur en COT de 1.15% (soit ~2%C de MOS) est considérée comme le seuil minimum à respecter pour que le sol soit à même d'assurer ses principales fonctions agronomiques. En effet, en dessous de cette valeur de 1.15% de COT, les agrégats deviennent instables (Van-Camp *et al.*, 2004). À noter que Le Villio *et al.* (2001) fixent le seuil à 1,5 % de COT.

En Wallonie, les sols sous cultures échantillonnés sur la période 2004 - 2014 présentaient une teneur moyenne en COT de 1,3 %. La part de superficie wallonne cultivée concernée par des faibles teneurs en carbone, entraînant des risques de dégradation de la structure des sols était estimée pour cette période à 22 %. Par rapport à la période 1949 - 1972, les sols ont subi une diminution moyenne de 20 % de leurs teneurs en COT, tandis que la superficie de sols carencés a presque triplé. Les sols sous prairies présentaient quant à eux une teneur moyenne en COT de 3,6 % sur la période 2004 - 2014, teneur globalement en hausse (+ 11 %) par rapport à la période 1949 - 1972, malgré des disparités entre régions agricoles (rapport sur l'état de l'environnement wallon, 2017).

### 4.3 Fraction grossière de carbone organique du sol

#### Qu'est-ce que c'est ?

La fraction grossière de carbone organique correspond à la teneur en carbone organique du mélange de micro-agrégats, de petits macro-agrégats et de matière organique particulaire (MOP) de diamètre > 20µm. La teneur en MOP est relativement faible dans les sols agricoles, inférieur à 10% du COT (Wiesmeier *et al.*, 2014). La fraction grossière contient majoritairement du carbone organique labile, disponible pour les micro-organismes, et une proportion moindre de C stabilisé dans les micro-agrégats.

#### Principe de mesure

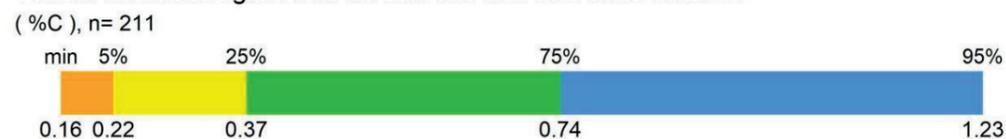
Un échantillon de sol est fractionné physiquement par tamisage humide à 20 µm. La teneur en carbone organique de la fraction grossière > 20µm, recueillie sur le tamis, est calculée à partir des mesures du carbone organique total (COT ; § 4.2) et du carbone dans la fraction fine de (C<20µm ; § 4.4) -

$$C > 20\mu m = COT - C < 20\mu m$$

L'analyse par Spectroscopie Proche Infra-Rouge est également envisageable comme méthode de mesure indirecte de la fraction grossière de carbone organique du sol.

#### Gammes de valeurs en Wallonie

##### Teneur en fraction grossière de carbone des sols sous cultures



##### Teneur en fraction grossière de carbone des sols sous prairies

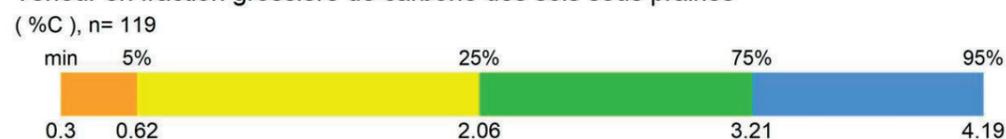


Figure 4 : Gammes de valeurs de la fraction grossière de carbone organique des sols (%C) sous cultures (en haut) et prairies (en bas) en Wallonie (agriculture conventionnelle). Les couleurs montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (orange), 'faibles' (jaune), 'moyennes' (vert), 'élevées' (bleu) et très élevées (violet).

#### Variabilité saisonnière :

Les mesures effectuées au cours du projet CARBIOSOL et la variabilité spatiale de cette fraction n'ont pas permis de mettre en avant des tendances selon les saisons.

#### Protocole de mesure

##### Matériel, appareillage, réactifs

- Balance d'une exactitude minimum de 0,1 g (min.)
- Une table d'agitation
- Une centrifugeuse pouvant gérer un volume supérieur à 1.5L (pas obligatoire)
- Une étuve
- Un analyseur carbone
- 1 bouteille hermétique de 250mL minimum pour agitation
- 1 tamis de maille de 50µm\* (Ø 10cm est le plus pratique).
- 1 tamis de maille de 20µm (Ø 10cm est le plus pratique)
- 3 béchers de 2L
- 1 entonnoir adaptable sur un bécher de 2L pouvant accueillir un tamis de Ø 10cm
- 1 pissette
- 1 vaporisateur
- Eau distillée (2.5L minimum)
- 2 petites barquettes résistantes à la chaleur
- 1 barquette résistante à la chaleur de grande contenance (2L min. si vous ne disposez pas de centrifugeuse)

\* L'échantillon est d'abord tamisé à 50µm afin de faciliter le tamisage ensuite à 20µm et éviter l'encombrement rapide du tamis.

##### Mode opératoire

**ATTENTION** - Avant toute manipulation, s'assurer que l'ensemble de la vaisselle, barquettes et outils ont été bien rincés à l'eau déminéralisée et séchés !!

Agiter pendant 15 min à 250 rpm, 10g d'échantillon de sol dans 100mL d'eau désionisée. Déverser la totalité du mélange sur le tamis de 50µm superposé à un entonnoir et un bécher de 2 L.

Tamiser le contenu du tamis à l'aide d'une pissette d'eau désionisée. Si l'eau s'écoule mal, utiliser **avec parcimonie** un vaporisateur d'eau désionisée. Une fois que l'écoulement est clair, arrêter le tamisage. Recueillir le refus de tamis dans une barquette préalablement étiquetée et pesée, et mettre à l'étuve à 60°C.

Répéter l'opération ci-dessus afin de tamiser à 20µm le filtrat que vous venez d'obtenir au premier tamisage\*. **ATTENTION** - deux autres béchers de 2 L pourront être nécessaires pour recevoir l'ensemble du filtrat à 20µm. Le filtrat final (eau + particules <20µm) ne devrait pas représenter plus de 2 L-. Recueillir le refus de tamis dans une barquette préalablement étiquetée et pesée, et mettre à l'étuve à 60 °C.

\*Une astuce - agiter le contenu du premier bécher, laisser le décanter quelques minutes et verser petit à petit sur le tamis de 20µm.

Centrifuger le filtrat à 20µm 25 minutes à 3600 rpm et évacuer le maximum d'eau. Si vous n'avez pas de centrifugeuse, verser directement le filtrat dans la grande barquette préalablement étiquetée et pesée, et mettre à l'étuve à 60°C.

Après séchage complet, peser les 3 barquettes, récupérer le contenu de chacune dans des contenants adaptés (type petites coupelles plastiques avec couvercles) et les entreposer au sec. **ATTENTION**- Vérifier que la masse totale des particules contenues dans les 3 barquettes correspond au moins à 95% du poids de départ de l'échantillon fractionné.

Analyser la teneur en carbone organique ( $C_{<20}$ ; Norme ISO 10694) de la fraction 0-20µm (les autres peuvent être analysées pour information complémentaire), et rapporter cette teneur à la masse totale de l'échantillon, i.e. -

$$C_{<20\mu m} = C_{<20} \cdot p_{<20}$$

Avec  $C_{<20}$  la teneur en carbone mesurée dans la fraction 0-20µm, et  $p_{<20}$  la proportion massique en particules < à 20µm dans l'échantillon total de sol (chiffre allant de 0 à 1). Analyser la teneur en COT de l'échantillon total, et en déduire la teneur en  $C_{>20\mu m}$  par soustraction de  $C_{<20\mu m}$ .

**ATTENTION** - Ne pas oublier de tester l'échantillon de sol à l'HCl (5 ou 10%). En cas d'effervescence, mesure le carbone inorganique sur l'échantillon total et sur la fraction 0-20µm, et corriger les concentrations en conséquence.

#### Expression des résultats

Le taux de carbone de la fraction grossière d'un échantillon de sol, i.e.  $C_{>20\mu m}$ , est exprimé en g / 100g de terre sèche ou en %C m.s.

#### Remarques méthodologiques

Ces dernières années, de nombreuses méthodologies de fractionnement ont été développées (<https://www.somfractionation.org/>). Cette méthodologie est une version modifiée d'une méthode de fractionnement physique type 'aggregate size fractionation' de Six *et al.* (1999) ; ici les micro-agrégats ne sont pas détruits par l'analyse.

#### Interprétation et conseils

La fraction grossière,  $C_{>20\mu m}$ , contient le carbone organique labile du sol. Il est composé de débris de plantes, incluant les résidus frais de cultures et des racines entre 0.02 et 2mm de diamètre, d'organismes vivants et des restes d'organismes morts. Cette fraction labile se décompose relativement rapidement, c'est-à-dire de quelques jours à quelques années. C'est une source d'énergie facilement assimilable par les organismes - on observe d'ailleurs en Wallonie que la variabilité de la fraction grossière de carbone est corrélée au carbone et à l'azote microbien, ainsi qu'à la respiration potentielle (van Wesemael *et al.*, 2019). La fraction grossière de carbone est donc directement liée à l'amélioration de la qualité biologique du sol. Cette fraction favorise également la formation d'agrégats du sol, améliorant ainsi la structure du sol pour une meilleure infiltration et rétention de l'eau.

L'étude du carbone et de ses fractions sur des essais à long terme (CRA-w) et des parcelles chez des agriculteurs volontaires a montré que la fraction grossière de carbone organique ( $C_{>20\mu m}$ ) est plus sensible que la fraction stable, et que le COT, aux changements de managements. En effet, un changement significatif peut être ressenti dans la fraction grossière en ~ 5ans, alors que parfois plus de 10ans sont nécessaires pour détecter ce changement via le COT (van Wesemael *et al.*, 2019). De plus, le maintien d'une proportion de fraction grossière par rapport à la fraction fine ( $C_{>20\mu m} / C_{<20\mu m}$ ) de ~0.5-1 assure le maintien du niveau de COT dans le sol (Fig. 5). Au-dessus de ces valeurs de rapport, la teneur en COT de la parcelle augmentera significativement dans les années à venir, alors qu'elle baissera significativement dans le cas contraire.

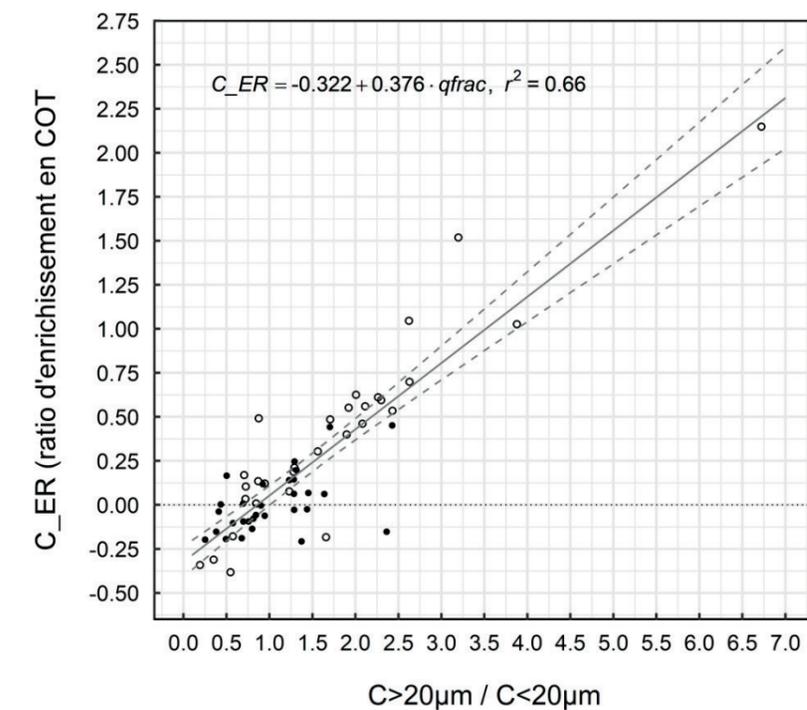


Figure 5 : Relation entre le ratio d'enrichissement en COT (2005-2015) et le rapport  $C_{>20\mu m} / C_{<20\mu m}$  pour les sols agricoles en Wallonie (Cercles noirs pleins - sols sous cultures; cercles noirs - sols sous prairies). Pour exemple, un ratio d'enrichissement de 0.1 signifie que la teneur en COT d'un sol mesurée en 2015 est 10% plus élevée relativement à la teneur mesurée en 2005. Adaptée de van Wesemael *et al.* (2019).

La fraction grossière  $C_{>20\mu m}$  est donc cruciale pour le maintien et la restauration des niveaux de carbone organique dans les sols agricoles car - i/ elle est la fraction la plus réactive d'un point de vue biologique ; ii/ à long terme elle permet d'alimenter la fraction fine ( $C_{<20\mu m}$ ; §4.4) assurant ainsi le stockage de carbone stable ; et iii/ cette fraction reflète l'effet intégré des pratiques culturales sur les 10 dernières années et plus encore (van Wesemael *et al.*, 2019).

#### 4.4 Fraction fine de carbone organique du sol

##### Qu'est-ce que c'est ?

La fraction fine de carbone organique correspond à la teneur en carbone organique des particules libres des fractions texturales d'argiles et de limons fins et des micro-agrégats inférieurs à 20µm de diamètre. Le carbone organique y est stable sous forme de complexes organo-minéraux (Hassink, 1997; Six *et al.*, 2002; Feng *et al.*, 2013).

##### Principe de mesure

Un échantillon de sol est fractionné physiquement par tamisage humide à 20 µm. La teneur en carbone organique de la fraction < 20 µm est mesurée selon le même protocole que celui du COT (§ 6.2). La teneur mesurée dans la fraction < 20µm est ensuite ramenée à une teneur par rapport au COT, telle que -

$$COT = C < 20\mu m + C > 20\mu m$$

L'analyse par Spectroscopie Proche Infra-Rouge est également envisageable comme méthode de mesure indirecte de la fraction fine de carbone organique du sol.

##### Gammes de valeurs en Wallonie

La fraction fine C<20µm dépend de l'utilisation principale du sol sur les dernières décennies (cultures, prairies, forêts, etc...) et de sa texture, notamment des argiles et limons fins (rapport CARBIOSOL 4 – Krüger *et al.*, 2018). Les gammes de valeurs pour C<20µm sont donc déterminées, par occupation de sols, dépendamment des teneurs en particules libres < 20µm mesurées en laboratoires.

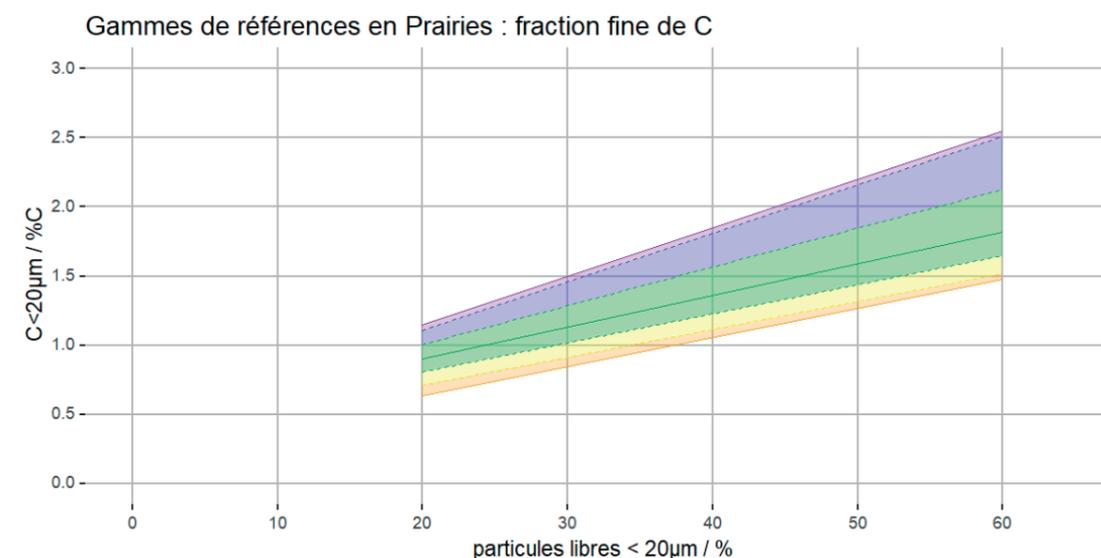
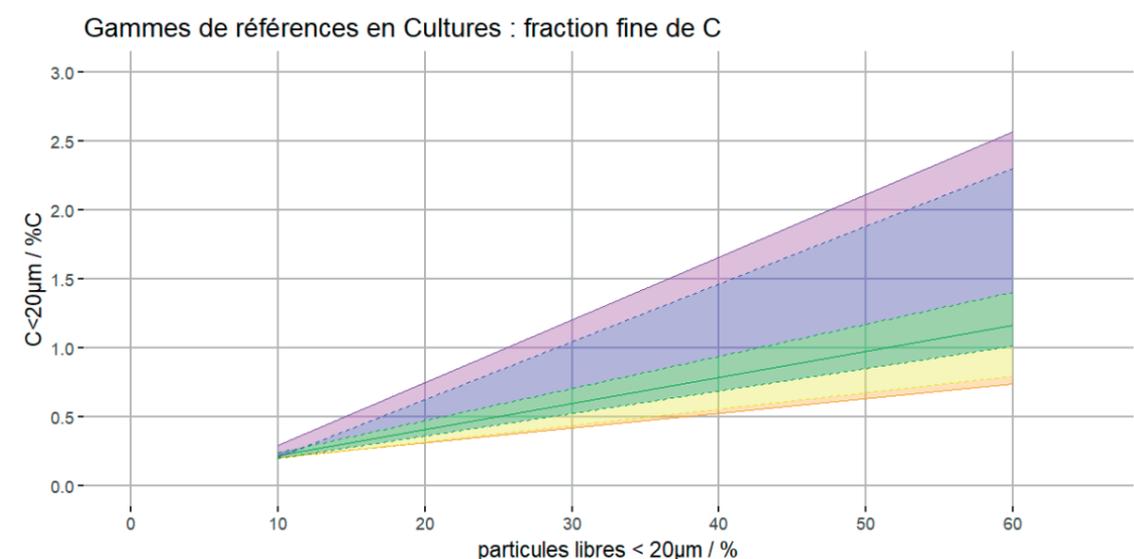


Figure 6 : Gammes de valeurs de la fraction fine de carbone organique des sols sous cultures (en haut) et prairies (en bas) en Wallonie (agriculture conventionnelle). Les aplats de couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (orange), 'faibles' (jaune), 'moyennes' (vert), 'élevées' (bleu) et très élevées (violet).

##### Variabilité saisonnière :

Tableau 3 : Variabilité saisonnière de la fraction fine de carbone organique des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'. Ici, aucune différence significative n'est observée.

avril	juin	août	octobre

Légende : ■ < ■ < ■

##### Protocole de mesure

###### Matériel, appareillage, réactifs

Voire §4.3 'la fraction grossière de carbone organique'.

###### Mode opératoire

Voire §4.3 'la fraction grossière de carbone organique'.

###### Expression des résultats

Le taux de carbone de la fraction fine d'un échantillon de sol, i.e. C<20µm, est exprimé en g / 100g de terre sèche ou en %C m.s.

Remarques méthodologiques

Voire §4.3 'la fraction grossière de carbone organique'.

Interprétation et conseils

La fraction fine de carbone organique (C<20µm) est considérée comme la fraction de carbone organique stable du sol. Cette fraction organique de très petite taille se compose de matières organiques stabilisées chimiquement en association à des minéraux d'argile et/ou physiquement au sein de micro-agrégats, et des matières organiques récalcitrantes (humus). Le carbone contenu dans cette fraction est plus difficilement décomposable, de quelques années à siècles, et il a donc moins d'impact sur la fertilité du sol que la fraction grossière C>20µm. Une des fonctions importantes de la fraction stable est sa capacité d'adsorption et de rétention de nutriments sous formes bio-disponibles. De plus, la présence de matières organiques stables de type 'humus' favorise le stockage d'eau et la séquestration de carbone.

La fraction fine de carbone d'un sol dépend de sa texture, les particules <20µm notamment. De ce fait, chaque sol possède une capacité maximale de stockage de C stable. La stabilisation de carbone ne peut s'effectuer que par un apport régulier et suffisamment conséquent en MO fraîches sur une période supérieure à ~10ans et plus (van Wesemael *et al.*, 2019). En effet, la proportion de carbone organique labile (C>20µm) issue de ces MO fraîches qui n'aura pas été minéralisée via l'activité des microorganismes pourra, à terme, via différentes réactions physico-chimiques être stabilisée dans la fraction de C<20µm. Comme les apports en MO fraîches sont plus importants et réguliers en prairies, leurs sols sont plus à même d'arriver à saturation en carbone stable (C<20µm) qu'un sol de cultures - ceci explique les différences observées entre les gammes de valeurs proposées dans cette fiche plus haut.

4.5 Carbone extrait à l'eau froide et à l'eau chaude

Qu'est-ce que c'est ?

Le carbone extrait à l'eau froide représente le carbone organique soluble dans l'eau à température ambiante. Le carbone extrait à l'eau chaude présente carbone organique soluble dans un extrait chauffé pendant 16H à 80°C.

Principe de mesure

L'extraction consécutive d'un échantillon de sol avec de l'eau froide (20°C) et de l'eau chaude (80°C) permet la mesure de deux propriétés du sol liées au cycle de carbone.

Gammes de valeurs en Wallonie

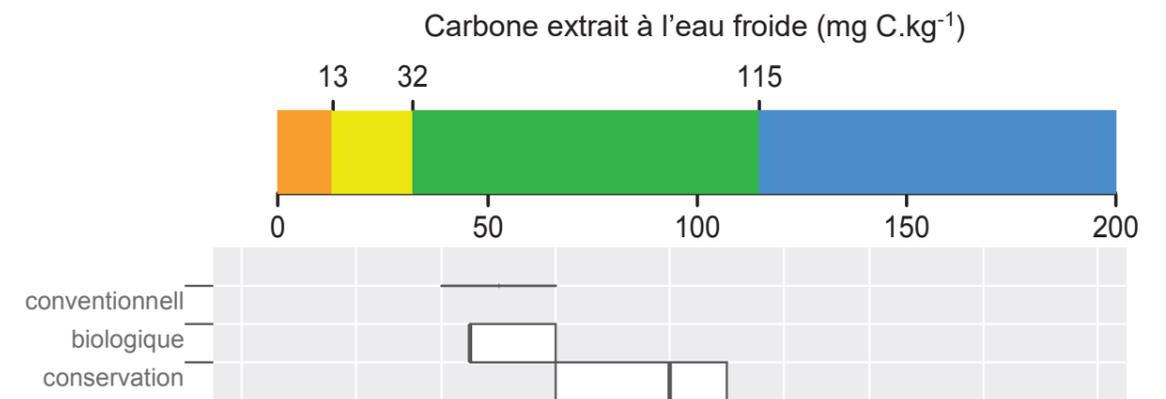


Figure 7 : Gammes de valeurs calculées du carbone extrait à l'eau froide (mg C.kg<sup>-1</sup>) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert) et 'élevées' (droite, bleu). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quantile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

Variabilité saisonnière :

Tableau 4 : Variabilité saisonnière du carbone extrait à l'eau froide des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



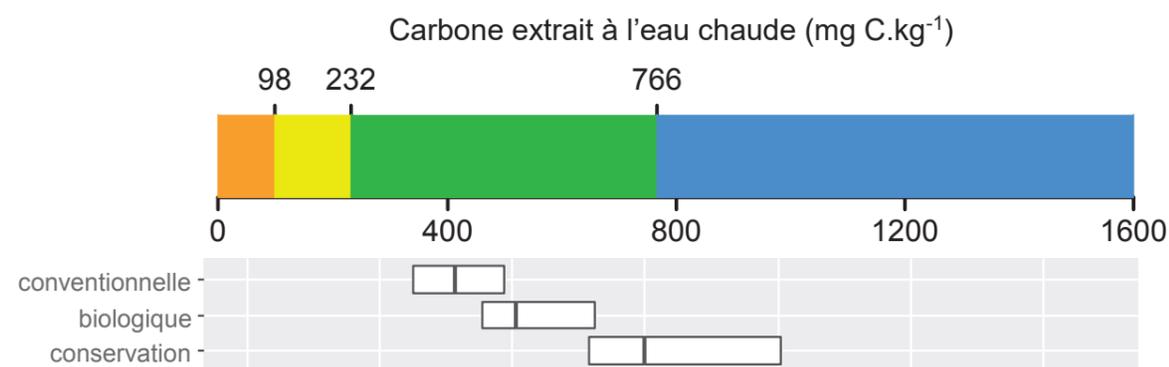
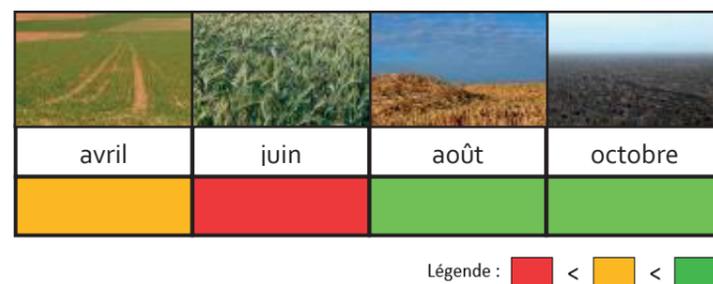


Figure 8 : Gammes de valeurs calculées du carbone extrait à l'eau chaude (mg C.kg<sup>-1</sup>) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert) et 'élevées' (droite, bleu). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1er quartile, la médiane et le 3ème quantile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

#### Variabilité saisonnière :

Tableau 5: Variabilité saisonnière du carbone extrait à l'eau chaude des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



#### Protocole de mesure

##### Matériel, appareillage, réactifs

- Balance d'une exactitude de minimum 0,1 g
- Centrifugeuse et tubes à centrifuger de 250 ml
- Pompe à vide
- Système de filtration en verre borosilicé
- Filtre plat (45 µm)
- Four ou bain-marie à température constante (80°C)
- Agitateur horizontal
- Tubes en verre
- Eau distillée
- Analyseur de TOC (pour liquides)
- Acide phosphorique (85%)

##### Mode opératoire

Peser 10 g de sol frais dans un tube à centrifuger de 250 ml. Ajouter 60 ml d'eau distillée et placer le tube sur un agitateur horizontal (120 rpm) pendant 30 minutes. Centrifuger les échantillons à 3000 rpm pendant 10 minutes. Filtrer le surnageant à travers un filtre de 45 µm, garder le tube. La concentration de carbone extrait à l'eau froide est mesurée dans le surnageant à l'aide de l'analyseur TOC.

Ajouter 60 ml d'eau distillée dans le tube avec le sol restant et le placer sur un agitateur horizontal pendant 30 minutes afin de mélanger l'eau distillée avec le précipité. Placer le tube dans une étuve préchauffée à 80°C pour 16 heures. Placer le tube sur un agitateur horizontal pendant 30 minutes. Centrifuger les échantillons à 3000 rpm pendant 10 minutes. Filtrer le surnageant à travers un filtre de 45 µm. La concentration de carbone extrait à l'eau chaude est mesurée dans le surnageant à l'aide de l'analyseur TOC.

##### Expression des résultats

Le carbone extrait à l'eau froide/chaude est exprimé en milligramme de carbone par kilogramme de sol sec (voir dernier paragraphe de la partie 4.1).

##### Remarques méthodologiques

Pour la conservation des échantillons avant analyse et enlever le carbone inorganique, il convient d'acidifier les échantillons avec de l'acide phosphorique (selon le mode opératoire de l'appareil utilisé).

Cette mesure présente l'avantage qu'un seul sous-échantillon de sol est nécessaire pour la mesure de carbone extrait à l'eau froide et à l'eau chaude contre deux (non-fumigé et fumigé) sous-échantillons nécessaires pour mesurer la biomasse microbienne (carbone microbien, voir ci-dessous).

Le carbone et l'azote extrait à l'eau froide et à l'eau chaude peuvent être mesurés sur les mêmes extraits.

Dans la littérature scientifique, le carbone extrait à l'eau froide est généralement appelé « carbone soluble » et le carbone extrait à l'eau chaude « carbone labile ». Le terme « carbone labile » est utilisé pour différentes fractions dont le temps de renouvellement et la disponibilité microbienne diffèrent. L'utilisation du terme « carbone extrait à l'eau chaude » peut éviter des malentendus.

##### Interprétation et conseils

Le carbone extrait à l'eau froide représente le carbone accessible aux micro-organismes et par conséquent, leur source d'énergie principale (Haynes, 2000). Cette mesure s'approche du carbone organique dissous, mesuré dans l'eau du sol.

Le carbone extrait à l'eau chaude a été proposé comme approximation pour la biomasse microbienne (Sparling, 1998), c.à.d la quantité de micro-organismes présents dans le sol. L'incubation du sol à 80°C en anaérobiose cause une lyse des cellules et la

libération du carbone des cellules microbiennes. Cette fraction de carbone contient également des composés organiques d'origine non microbienne. Elle représente une réserve accessible de nutriments et d'énergie pour les plantes et les micro-organismes. Les valeurs du carbone extrait à l'eau chaude sont en moyenne 40% plus élevées que le carbone microbien.

L'application d'un amendement organique augmente les teneurs en carbone extrait à l'eau chaude et à l'eau froide (Lavaud, 2010). Par contre, l'application d'un amendement azoté diminue légèrement les teneurs en carbone extrait à l'eau chaude, ce qui n'est pas le cas d'un amendement phosphaté (Anwar *et al.*, 2002).

#### 4.6 Azote extrait à l'eau froide et l'eau chaude

##### Qu'est-ce que c'est ?

L'azote extrait à l'eau froide représente l'azote organique et minéral soluble dans l'eau à température ambiante. L'azote extrait à l'eau chaude présente l'azote organique et minéral soluble dans un extrait chauffé pendant 16 h à 80°C. L'azote extrait à l'eau chaude mesure la quantité d'azote potentiellement disponible pour les plantes (Braos *et al.*, 2016).

##### Principe de mesure

L'extraction consécutive d'un échantillon de sol avec de l'eau froide (20°C) et de l'eau chaude (80°C) permet la mesure de fractions d'azote disponibles pour les micro-organismes.

##### Gammes de valeurs en Wallonie

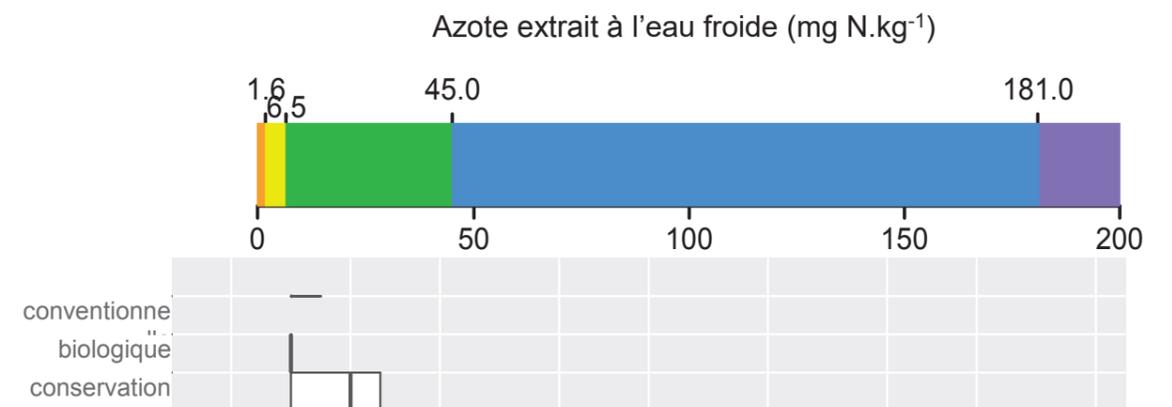


Figure 9 : Gammes de valeurs calculées de l'azote extrait à l'eau froide (mg N.kg<sup>-1</sup>) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert), 'élevées' (droite, bleu) et 'très élevées' (droite, violet). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quantile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

##### Variabilité saisonnière :

Tableau 6 : Variabilité saisonnière de l'azote extrait à l'eau froide des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.

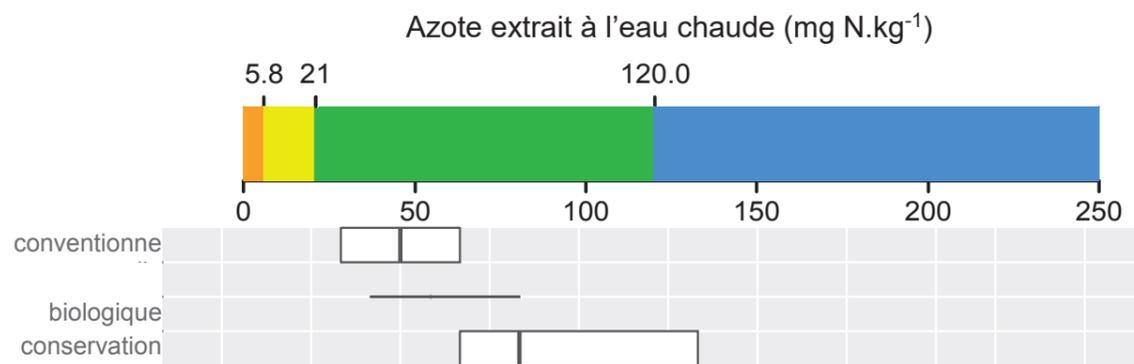
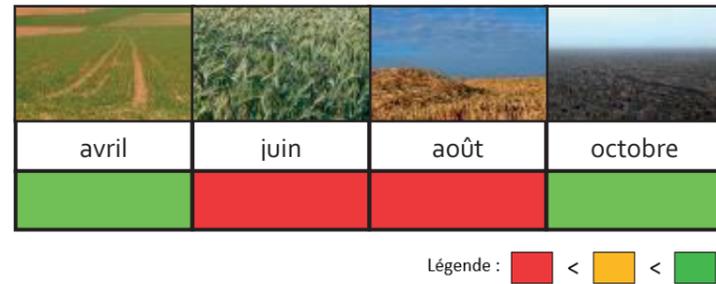
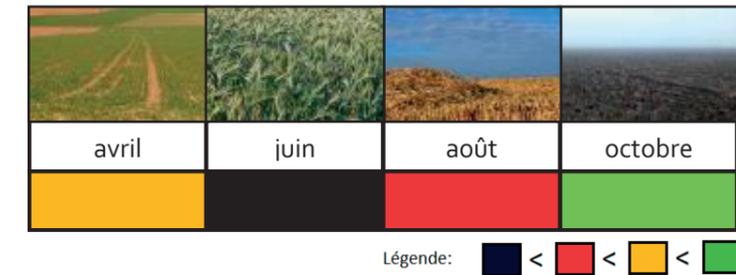


Figure 10 : Gammes de valeurs calculées de l'azote extrait à l'eau chaude dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert) et 'élevées' (droite, bleu). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1er quartile, la médiane et le 3ème quantile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

#### Variabilité saisonnière :

Tableau 7 : Variabilité saisonnière de l'azote extrait à l'eau chaude des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'noir' est significativement plus faible que 'rouge' qui est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



#### Protocole de mesure

##### Matériel, appareillage, réactifs

- Balance d'une exactitude de minimum 0,1 g
- Centrifugeuse et tube à centrifuger de 250 ml
- Pompe à vide
- Système de filtration en verre borosilicaté
- Filtre plat (45 µm)
- Four ou bain-marie à température constante (80°C)
- Agitateur horizontal
- Fioles en PE
- Congélateur
- Eau distillée
- Dispositif et réactifs pour l'analyse de l'azote total (pour liquides)

##### Mode opératoire

Peser 10 g de sol frais dans un tube à centrifuger de 250 ml. Ajouter 60 ml d'eau distillée et placer le tube sur un agitateur horizontal (120 rpm) pendant 30 minutes. Centrifuger les échantillons à 3000 rpm pendant 10 minutes. Filtrer le surnageant à travers un filtre de 45 µm. La concentration d'azote extrait à l'eau froide (azote total) est mesurée dans le surnageant. En complément, le contenu en azote minéral peut aussi être mesuré séparément.

Si les concentrations d'azote dans l'extrait ne peuvent pas être mesurées immédiatement, transvaser le surnageant dans des fioles en PE et les congeler jusqu'à l'analyse.

Ajouter 60 ml d'eau distillée dans le tube avec le sol restant et le placer sur un agitateur horizontal pendant 30 minutes afin de mélanger l'eau distillée avec le précipité. Placer le tube dans une étuve préchauffée à 80°C pour 16 heures. Placer le tube sur un agitateur horizontal pendant 30 minutes. Centrifuger les échantillons à 3000 rpm pour 10 minutes. Filtrer le surnageant à travers un filtre de 45 µm. La concentration d'azote extrait à l'eau chaude (azote total) est mesurée dans le surnageant. En complément, le contenu en azote minéral peut aussi être mesuré séparément.

##### Expression des résultats

L'azote (organique) extrait à l'eau froide/chaude est exprimé en milligramme d'azote par kilogramme de sol sec (voir dernier paragraphe de la partie 4.1).

*Remarques méthodologiques*

Cette mesure présente l'avantage qu'un seul sous-échantillon de sol est nécessaire pour la mesure de l'azote extrait à l'eau froide et l'azote extrait à l'eau chaude contre deux (non-fumigé et fumigé) sous-échantillons nécessaires pour mesurer l'azote microbien (voir ci-dessous).

Le carbone et l'azote extrait à l'eau froide et à l'eau chaude peuvent être mesurés sur les mêmes extraits.

**NB - Le rapport C/N**

Le carbone et l'azote extrait à l'eau chaude sont positivement corrélés. Le rapport C/N de l'extrait à l'eau chaude est de 8,5 en moyenne. Le rapport C/N de l'extrait à l'eau froide est plus variable. En moyenne, le rapport C/N de l'extrait à l'eau froide est de 5,3.

**Interprétation et conseils -**

L'azote extrait à l'eau froide et l'azote à l'eau chaude présentent des mesures de l'azote dans les fractions actives du sol. Elles peuvent donner des informations sur la quantité d'azote disponible pour les micro-organismes et elles offrent des informations complémentaires sur la minéralisation nette de l'azote. L'azote extrait à l'eau chaude est fortement lié à l'azote microbien et permet d'estimer la fraction de l'azote organique disponible (Ghani *et al.*, 2003).

4.7 La biomasse microbienne (carbone microbien) et l'azote microbien

**Qu'est-ce que c'est ?**

La biomasse microbienne (carbone microbien) est la composante vivante de la matière organique à l'exclusion des macro-organismes et des racines (Jenkinson et Ladd, 1981). Elle est surtout constituée de bactéries et de champignons, mais il y a également des protozoaires et des algues. Elle est exprimée en carbone microbien, et obtenue par fumigation au chloroforme. Les cellules microbiennes du sol éclatent lors de l'exposition au chloroforme et le carbone des cellules ainsi libéré est extrait. Le carbone microbien est calculé à partir de la différence entre le carbone organique d'un sol fumigé et celui du même sol non-fumigé. De la même façon, on peut estimer le contenu en azote des cellules microbiennes (azote microbien).

**Gammes de valeurs en Wallonie**

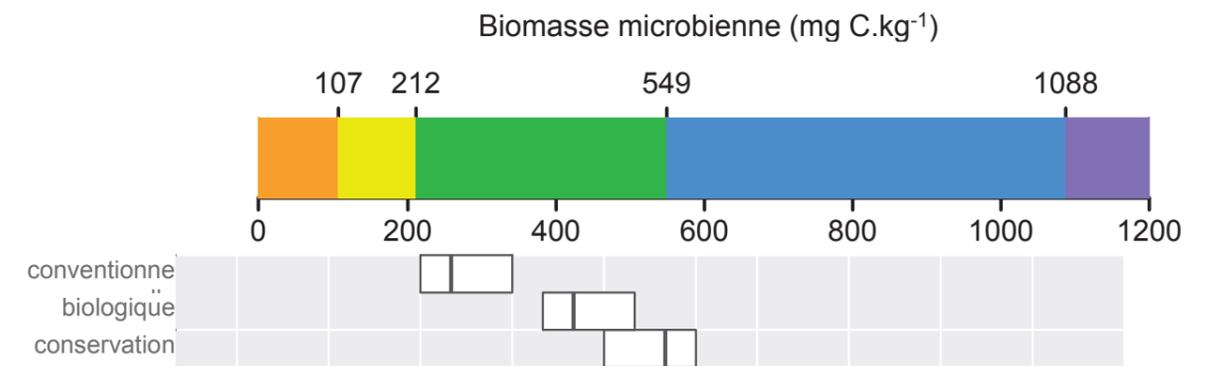
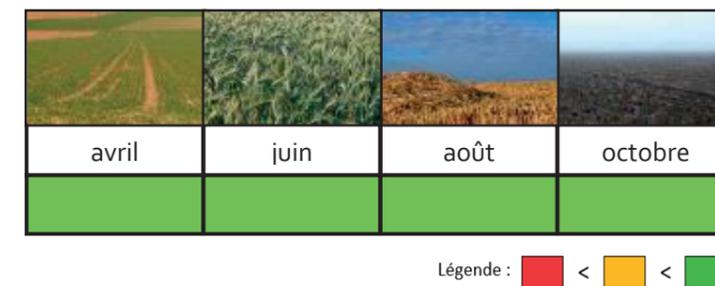


Figure 11 : Gammes de valeurs calculées de la biomasse microbienne (mg C.kg<sup>-1</sup>) dans les sols en culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert), 'élevées' (droite, bleu) et 'très élevées' (droite, violet). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quantile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

*Variabilité saisonnière :*

Tableau 8 : Variabilité saisonnière de la biomasse microbienne des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'. Ici, aucune différence significative n'est observée.



**Protocole de mesure***Matériel, appareillage, réactifs*

- Berlins (50 ml)
- Erlenmeyers (250 ml)
- Entonnoir
- Filtres (Whatman 42)
- Tube en verre
- Dessiccateur
- Hotte d'extraction et masque à gaz pour travail avec chloroforme
- Agitateur horizontal
- Analyseur de TOC (pour liquides)
- Chloroforme sans éthanol
- $K_2SO_4$  (0,5 M)
- Acide phosphorique (85%)
- Dispositif et réactifs pour l'analyse de l'azote total (pour liquides)

*Mode opératoire*

20 g de sol frais sont pesés dans un erlenmeyer. Ajouter 100 ml de  $K_2SO_4$  et agiter pendant une heure sur un agitateur horizontal à 180 rpm. Filtrer le surnageant et transvaser une aliquote dans un tube en plastique. Garder les échantillons au réfrigérateur jusqu'à l'analyse avec un analyseur TOC. Pour la conservation des échantillons avant analyse et pour enlever le carbone inorganique, il convient d'acidifier les échantillons avec de l'acide phosphorique (selon le mode opératoire de l'appareil utilisé).

Peser un deuxième échantillon de 20 g de sol frais dans un berlin. Placer le berlin dans un dessiccateur. Placer un papier essuie-tout mouillé dans le fond du dessiccateur et un berlin avec des pierres de zéolithes et 50 ml de chloroforme au milieu du dessiccateur. Enlever l'air du dessiccateur pendant quelques minutes (pompe à vide ou trompe à eau), puis faites entrer doucement de l'air. Répéter cette opération trois fois, en rajoutant quelques pierres de zéolithes entre chaque purge. Incuber le sol dans le dessiccateur sous dépression en présence de chloroforme dans le noir pendant 72 heures. Évacuer le gaz du dessiccateur jusqu'à ce que tout le chloroforme soit purgé (au moins sept fois). Transvaser les échantillons de sol fumigé dans des erlenmeyers. Extraire les échantillons de manière identique aux échantillons non-fumigés.

La concentration de carbone dans les extraits est mesurée à l'aide de l'analyseur TOC.

Le carbone libéré lors de la fumigation est calculé en faisant la différence entre carbone extrait dans les échantillons fumigés et non-fumigés. Le carbone libéré est converti en carbone microbien (Cmic) en divisant par un facteur de conversion de 0,45 (Joergensen, 1996).

Si la concentration en azote total des extraits n'est pas mesurée immédiatement, transvaser un aliquote dans un flacon en PE et congeler l'échantillon jusqu'aux analyses. L'azote libéré est converti en azote microbien (Nmic) en le divisant par un facteur de conversion de 0,54 (Joergensen et Mueller, 1995).

*Expression des résultats*

Le carbone microbien est exprimé en milligramme de carbone par kilogramme de sol sec.

*Remarques méthodologiques*

La méthode présentée propose une période d'incubation plus longue (72 heures contre 24 heures) que dans la norme ISO14240-2 pour garantir une fumigation entière de la biomasse microbienne. Vu la concentration en sel élevée des extraits, il convient de les diluer (au moins 3 fois) avant analyse. Jenkinson *et al.* (2004) mentionnent la possibilité d'utiliser une concentration en  $K_2SO_4$  inférieure à 0.5 M, ce qui pourrait être appliqué après des tests adéquats. L'humidité du sol doit être au minimum à 30% de la WHC, afin d'assurer une diffusion adéquate du chloroforme dans le sol et une fumigation efficace (ISO 14240-2: 1997).

**Interprétation et conseils -**

Les micro-organismes du sol sont les acteurs essentiels de la décomposition de la matière organique. Ainsi, la biomasse microbienne renseigne sur de nombreuses fonctions du sol et notamment sur les cycles du carbone, de l'azote et des autres nutriments (Dalal, 1998). Cette biomasse microbienne peut être à la fois source et puits de nutriments. Elle joue un rôle dans la formation de micro-agrégats, et elle est donc essentielle pour l'aération et la dynamique de l'eau dans le sol (Robert et Chenu, 1992).

La biomasse microbienne dépend de la quantité et de la qualité des substrats organiques (Smith et Paul, 1990). De ce fait, elle constitue un indicateur précoce des changements de la disponibilité de substrats.

La biomasse microbienne reflète la quantité et l'activité des micro-organismes présents dans le sol. Ainsi, une biomasse microbienne faible est généralement associée à une faible activité de décomposition. Un amendement organique peut augmenter la biomasse microbienne (Lechevallier *et al.*, 2004). Par exemple, un travail du sol type labour diminue la biomasse microbienne (Mangalassery *et al.*, 2015).

Pour augmenter la quantité de biomasse microbienne, il est conseillé de -

- réaliser des apports de matières organiques assimilables par les micro-organismes, comme des engrais verts, fumier, paille, matières animales ou engrais organiques, afin d'améliorer les réserves énergétiques et fournir un substrat aux micro-organismes ;
- décompacter, limiter le labour et préférer les techniques simplifiées de préparation de sol, drainer, chauler, apporter des amendements organiques (structurant du sol), *etc.*, afin d'améliorer l'état physique ;
- augmenter le pH si nécessaire, limiter l'usage du cuivre et des pesticides afin d'améliorer l'état chimique (Lechevallier *et al.*, 2004).

Les facteurs édaphiques de variation de la biomasse microbienne sont la température, l'humidité, les réserves en matières organiques, particulièrement les matières organiques facilement dégradables, l'environnement physique (structure et porosité) et chimique (CEC, pH, calcium) (Lechevallier *et al.*, 2004).

#### 4.8 Rapport C<sub>mic</sub>/N<sub>mic</sub>

##### Qu'est-ce que c'est ?

Le rapport entre le carbone microbien et l'azote microbien (C<sub>mic</sub>/N<sub>mic</sub>) donne des informations sur la composition relative de la communauté microbienne en bactéries et en champignons.

##### Principe de mesure

Le rapport C<sub>mic</sub>/N<sub>mic</sub> est calculé à base des mesures de carbone microbien et d'azote microbien obtenues par fumigation-extraction (voir carbone et azote microbien).

##### Gammes de valeurs en Wallonie

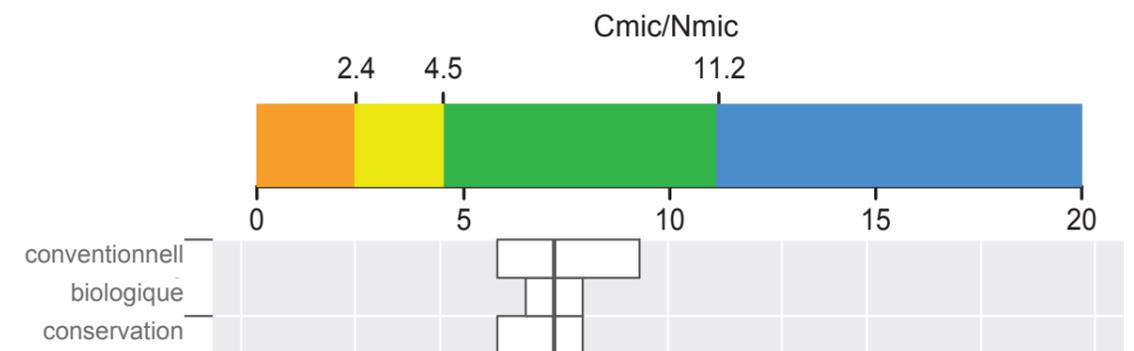
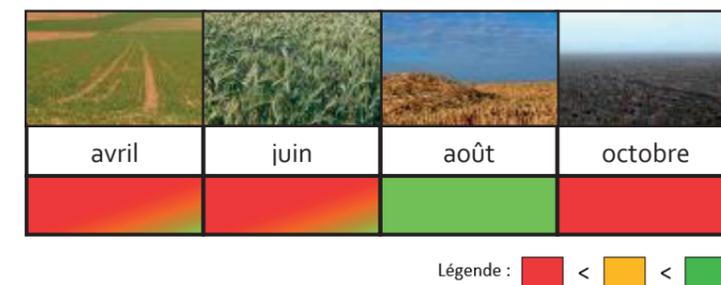


Figure 12 : Gammes de valeurs calculées du rapport C<sub>mic</sub>/N<sub>mic</sub> dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert) et 'élevées' (droite, bleu). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quartile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

##### Variabilité saisonnière :

Tableau 9 : Variabilité saisonnière du rapport C<sub>mic</sub>/N<sub>mic</sub> des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



**Protocole de mesure***Matériel, appareillage, réactifs*

- Berlins (50 ml)
- Erlenmeyers (250 ml)
- Entonnoir
- Filtres (Whatman 42)
- Tube en verre
- Flacons en PE
- Dessiccateur
- Hotte d'extraction et masque à gaz pour travail avec chloroforme
- Agitateur horizontal
- Analyseur de TOC
- Chloroforme sans éthanol
- $K_2SO_4$  (0,5M)
- Acide phosphorique (85%)
- Dispositif et réactifs pour l'analyse de l'azote total (pour liquides)

*Mode opératoire*

Le rapport  $C_{mic}/N_{mic}$  est calculé à partir du carbone microbien et de l'azote microbien. Les deux valeurs sont calculées à partir des mesures effectuées dans les mêmes extraits de sol (fumigé et non-fumigé). Le protocole de mesure exact pour la fumigation-extraction avec du chloroforme est expliqué dans la section sur le carbone microbien.

*Expression des résultats*

Le rapport  $C_{mic}/N_{mic}$  est exprimé en gramme de carbone microbien par gramme d'azote microbien.

*Remarques méthodologiques*

Des rapports  $C_{mic}/N_{mic}$  atomiques (mol par mol) sont également retrouvés dans la littérature.

**Interprétation et conseils -**

Les rapports en éléments, notamment C, N et P sont spécifiques des cellules bactériennes et fongiques (Cleveland et Liptzin, 2007). Le rapport C/N des bactéries se situe entre 3 et 6, alors que le rapport C/N des champignons est entre 5 et 15 (McGill *et al.*, 1981). Ainsi, un rapport  $C_{mic}/N_{mic}$  élevé indique que la communauté microbienne est dominée par des champignons alors qu'un rapport  $C_{mic}/N_{mic}$  plus faible indique une communauté microbienne dominée par des bactéries. Ce paramètre donne donc une indication d'un éventuel changement d'organismes dans la communauté (Hu *et al.*, 2001; Carney *et al.*, 2007; Güsewell and Gessner, 2009). En effet, les besoins en nutriments de bactéries sont estimés comme étant moins élevés que ceux des champignons (Strickland et Rousk, 2010).

*NB : Il est important de distinguer entre le rapport  $C_{mic}/N_{mic}$  et le rapport C/N de la matière organique du sol. Ce dernier permet d'estimer le degré d'évolution de la matière organique du sol.*

#### 4.9 Potentiel métabolique

##### Qu'est-ce que c'est ?

Le potentiel métabolique est une mesure de la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne du sol par CLPP (Community level physiological profiling). Elle mesure la capacité des bactéries du sol à dégrader différents substrats carbonés.

##### Principe de mesure

Un extrait de sol est incubé dans une plaque contenant des puits avec 31 substrats carbonés différents. Un indicateur coloré, contenu dans les puits, devient mauve lorsque les bactéries décomposent le substrat carboné.

##### Gammes de valeurs en Wallonie

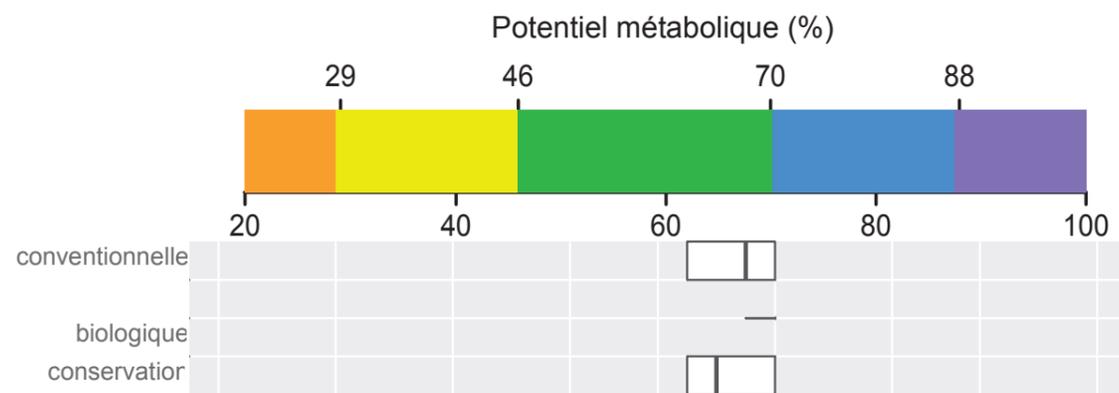
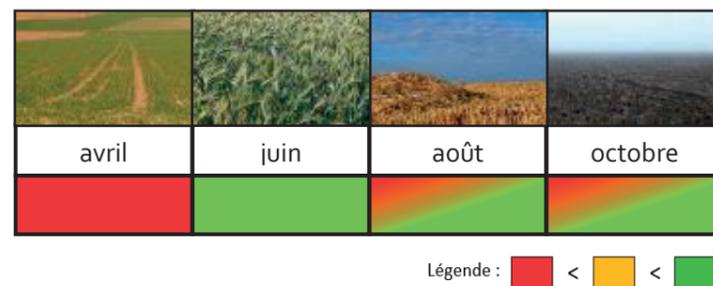


Figure 13 : Gammes de valeurs calculées du potentiel métabolique (%) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert), 'élevées' (droite, bleu) et 'très élevées' (droite, violet). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1er quartile, la médiane et le 3ème quartile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservatoire.

##### Variabilité saisonnière :

Tableau 10 : Variabilité saisonnière du potentiel métabolique des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



#### Protocole de mesure

##### Matériel, appareillage, réactifs

- Balance d'une exactitude de 0,1 g
- Une hotte à flux laminaire
- Un incubateur
- Pipettes de 100µl et de 10ml
- Boîte de Pétri, avec le milieu de culture R2A
- Ecoplate de BIOLOG (31 substrats carbonés)
- Tubes à essai
- Vortex
- Solution de cholate de sodium (0,1%)
- Solution de NaCl (0,85%)
- Ethanol
- OPTION : lecteur de microplaques à la longueur d'onde de 590 nm

##### Mode opératoire

1 g de sol frais est pesé dans un tube à essai. Ajouter 9 ml de cholate de sodium. Agiter vigoureusement pendant une minute à l'aide d'un vortex de paillasse. Transvaser 1 ml de la suspension d'extrait dans un autre tube et ajouter 9 ml de solution de NaCl. Répéter la dernière étape encore deux fois pour effectuer trois dilutions ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$ ). Transvaser 100 µl de chaque dilution sur une boîte de Pétri. Incuber les boîtes de Pétri pendant 72 heures à 20°C. Compter ensuite le nombre de colonies. Travailler sous une hotte à flux laminaire.

Peser 1 g de sol frais dans un tube d'essai et extraire avec du cholate de sodium de manière analogue à celle décrite ci-dessus. Réaliser une dilution avec la solution de NaCl qui correspond à 1000 à 2000 UFC (unité formant une colonie). Transvaser 100 µl de cette solution dans chacun des 32 puits uniques sur une Ecoplate de BIOLOG. Incuber les Ecoplates de BIOLOG™ pendant 72 heures à 20°C. Après l'incubation, identifier et compter les puits devenus mauve ou lire les plaques dans un lecteur de microplaques à la longueur d'onde de 590 nm.

##### Expression des résultats

La diversité fonctionnelle des bactéries du sol est exprimée en % de substrats utilisés.

##### Remarques méthodologiques

L'extraction du sol est optimisée pour atteindre un nombre de CFU élevé.

**Interprétation et conseils -**

Le potentiel métabolique permet de caractériser la communauté microbienne au niveau de ses fonctions. Il s'agit d'une mesure de la diversité des fonctions (de minéralisation de différents substrats carbonés) que la communauté peut réaliser. La diversité fonctionnelle peut être facilement reliée à des services écosystémiques (Pankhurst *et al.*, 1996). Ainsi, le potentiel métabolique peut renseigner sur la capacité de la communauté microbienne à s'adapter aux changements environnementaux.

Si le potentiel métabolique est faible, cela signifie que les bactéries ne peuvent dégrader qu'un nombre limité de substrats carbonés, ce qui peut limiter le fonctionnement global du sol. De plus, un faible potentiel métabolique est signe d'une fragilité de l'écosystème. En effet, en cas de perturbation, le fonctionnement du sol sera d'autant plus affecté que la diversité fonctionnelle est faible. Ainsi, un potentiel métabolique élevé est signe d'une meilleure résistance de l'écosystème. Il est important de noter que les variables pédologiques, notamment la texture du sol, le pH, la teneur en matière organique, influencent la diversité fonctionnelle des bactéries.

L'application d'amendements organiques comme du vermicompost, du fumier ou des boues de stations d'épuration, peut accroître le potentiel métabolique du sol (Gomez *et al.*, 2006; Frac *et al.*, 2012), ce qui n'est pas le cas des amendements minéraux (Islam *et al.*, 2011; Frac *et al.*, 2012). Le travail du sol et la rotation des cultures ne semblent pas avoir d'effet sur le potentiel métabolique (Gałązka *et al.*, 2017). En revanche, le potentiel métabolique est plus élevé dans des sols gérés selon une agriculture biologique comparé à une agriculture conventionnelle (Bending *et al.*, 2004).

**4.10 Respiration potentielle**

**Qu'est-ce que c'est ?**

La respiration potentielle est une mesure de la vitesse de la minéralisation du carbone organique en CO<sub>2</sub> lors de la décomposition de la matière organique du sol par les micro-organismes.

**Principe de mesure**

La respiration potentielle est mesurée comme production de CO<sub>2</sub> d'un échantillon de sol frais dans une bouteille hermétiquement fermée dans des conditions définies. Pour cette mesure, il convient d'ajuster l'humidité du sol à 60% de la capacité au champs (voir avant).

**Gammes de valeurs en Wallonie**

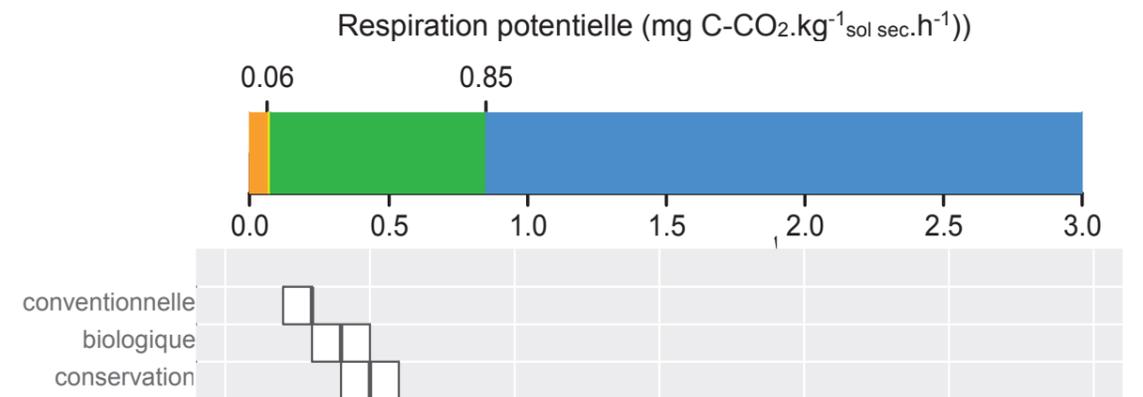


Figure 14 : Gammes de valeurs calculées de la respiration potentielle (mg C-CO<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>sol sec.h<sup>-1</sup>) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert) et 'élevées' (droite, bleu). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quartile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

**Variabilité saisonnière :**

Tableau 11 : Variabilité saisonnière du la respiration potentielle des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



**Protocole de mesure***Matériel, appareillage, réactifs*

- Balance avec exactitude de 0,1 g
- Bouteille opaque de 250 ml avec bouchons équipés de septa en silicone
- Seringue pour gaz d'un volume de 5 ml
- Analyseur de CO<sub>2</sub>
- Chambre/incubateur à température constante (15°C)

*Mode opératoire*

20 g de sol frais sont pesés dans une bouteille de 250 ml. Placer la bouteille dans une chambre à l'abri de la lumière à 15°C pendant 12 heures pour conditionner l'échantillon. Fermer la bouteille avec un bouchon équipé d'un septum en silicone. Prendre immédiatement 4 ml de l'air dans la bouteille avec la seringue et mesurer la concentration de CO<sub>2</sub> par absorption d'infrarouge (temps 0 min). Répéter la mesure de la concentration de CO<sub>2</sub> à 120, 150 et 180 minutes. La bouteille est placée à l'abri de la lumière entre les mesures. Calculer la respiration potentielle par régression linéaire des quatre points.

*Expression des résultats*

La respiration potentielle est exprimée en milligramme de carbone (C-CO<sub>2</sub>) par kilogramme de sol sec et par heure.

*Remarques méthodologiques*

Mesurer la concentration de CO<sub>2</sub> quatre fois permet de contrôler si la production de CO<sub>2</sub> est linéaire. La régression linéaire donne des R<sup>2</sup> proche de 1 ce qui démontre la bonne qualité de la méthode utilisée. La température de 15°C correspond à la température moyenne en Wallonie en juillet. Une incubation à cette température permet donc de mesurer la respiration dans des conditions auxquelles la communauté microbienne est adaptée. Cependant, différentes normes préconisent différentes températures d'incubation. Celle-ci pourrait être définie en fonction des besoins et possibilités (incubateur) en concertation avec les autres laboratoires d'analyse. Comme la respiration dépend fortement de la température, il faudra par la suite utiliser la même température pour toutes les mesures.

La respiration potentielle présente une alternative à la respiration basale, qui mesure la production de CO<sub>2</sub> d'un sol dans un état stable (après une pré-incubation et une incubation d'une à trois semaines). Toutefois les mesures après 12 heures sont fortement corrélées avec des mesures effectuées après des incubations plus longues et sont donc aussi pertinentes pour l'évaluation de la qualité du sol que les mesures de la respiration basale.

**Interprétation et conseils -**

La respiration potentielle est une mesure de l'activité de la communauté microbienne au moment de l'échantillonnage. Pendant la décomposition de la matière organique, la communauté microbienne transforme les composants organiques de la matière organique en composants inorganiques, pouvant être assimilés par les plantes. Il s'agit de la principale fonction des micro-organismes. Ainsi, la respiration du sol est souvent mise en avant en tant qu'indicateur de la qualité du sol (Bispo *et al.*, 2009; Wood and Litterick, 2017).

Pour certains sites agricoles, on peut observer une respiration élevée du sol sans toutefois qu'il soit très riche en carbone organique total. Cela peut être expliqué par la disponibilité différente des fractions carbonées et/ou par des apports exogènes récents de carbone qui ont provoqué un accroissement de l'activité des micro-organismes. A l'inverse, s'il y a peu de respiration par rapport au carbone organique, cela signifie que la matière organique est vieille et très stable.

La respiration potentielle des sols gérés en agriculture biologique est plus élevée que les sols gérés en agriculture conventionnelle (van Diepeningen *et al.*, 2006), mais cela dépend de la texture du sol (argileux, sableux *etc.*).

Pour augmenter la respiration potentielle d'un sol agricole, le paillage ou l'amendement d'un compost semble efficace selon García-Orenes *et al.* (2010) et Carpenter-Boggs *et al.* (2000). En revanche, la fertilisation minérale n'a pas d'effet sur la respiration potentielle (Carpenter-Boggs *et al.*, 2000).

#### 4.11 Minéralisation nette de l'azote

##### Qu'est-ce que c'est ?

La minéralisation nette de l'azote est la transformation de l'azote sous forme organique en azote minéral ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ). Elle donne des informations sur la disponibilité de l'azote pour les plantes, indispensable à leur croissance.

##### Principe de mesure

La minéralisation nette de l'azote est calculée par la différence entre la quantité d'azote minéral ( $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_3^-$ ) avant et après une incubation de 28 jours à 25°C en absence de racines et de lessivage. Pour cette mesure, il convient d'ajuster l'humidité du sol à 60% de la capacité au champ (voir avant).

##### Gammes de valeurs en Wallonie

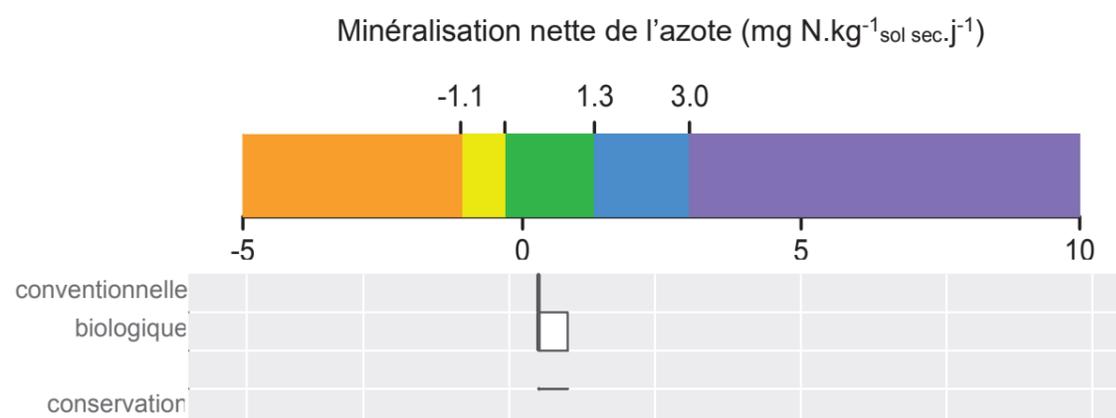


Figure 15 : Gammes de valeurs calculées de la minéralisation nette de l'azote ( $\text{mg N.kg}^{-1} \text{sol sec.j}^{-1}$ ) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert), 'élevées' (droite, bleu) et 'très élevées' (droite, violet). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quartile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

##### Variabilité saisonnière :

Tableau 12 : Variabilité saisonnière de la minéralisation nette de l'azote des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



Légende : ■ < ■ < ■

#### Protocole de mesure

##### Matériel, appareillage, réactifs

- Balance d'une exactitude de minimum 0,1 g
- Berlins de 100 ml
- Parafilm
- Incubateur ou chambre noire avec température constante (25°C)
- Agitateur horizontal
- Centrifugeuse et tube à centrifuger de 250 ml
- Fioles en PE
- Congélateur
- KCl (1 M)
- Eau distillée
- Dispositif et réactifs pour l'analyse de l'azote minéral

##### Mode opératoire

20 g de sol frais sont pesés dans un tube à centrifuger de 250 ml. Ajouter 40 ml de KCl (1M) et placer le tube sur un agitateur horizontal pendant une heure à 180 rpm. Centrifuger les échantillons à 3000 rpm pour 10 minutes. Les concentrations d'azote minéral sont mesurées dans le surnageant.

Si les concentrations d'azote minéral dans l'extrait ne peuvent pas être mesurées immédiatement, transvaser le surnageant dans des fioles en PE et les congeler jusqu'à l'analyse.

Peser un deuxième sous-échantillon de 20 g de sol frais dans un berlin. Mesurer la masse totale de l'échantillon avec le berlin. Recouvrir le berlin avec du parafilm percé à deux ou trois points pour permettre l'aération. Incuber le berlin à l'abri de lumière à une température constante (25°C) pendant 28 jours. Peser le berlin au moins une fois par semaine et ajuster l'humidité avec de l'eau distillée. Après l'incubation, extraire le sol de façon analogue aux échantillons non-incubés.

##### Expression des résultats

La minéralisation nette de l'azote est calculée par la différence entre la quantité d'azote minéral ( $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_3^-$ ) avant et après l'incubation, exprimée en milligramme d'azote par kilogramme de sol sec par jour.

##### Remarques méthodologiques

Différentes normes préconisent différentes températures d'incubation. Celle-ci pourrait être définie en fonction des besoins et possibilités (incubateur par ex.) en concertation avec les autres laboratoires d'analyse. Ensuite, il faudra utiliser la même température pour toutes les mesures.

**Interprétation et conseils -**

La minéralisation nette de l'azote est un processus important dans le cycle de l'azote. La majorité de l'azote du sol se trouve en forme organique, donc indisponible pour les plantes. La transformation de l'azote en forme minérale par les micro-organismes rend l'azote disponible. La minéralisation nette de l'azote est donc un indicateur de la disponibilité de l'azote pour les plantes. De plus, elle donne des informations sur l'activité des micro-organismes, le cycle de l'azote, et le risque de lessivage des nitrates.

Si la quantité d'azote minéralisée est très faible, cela indique que l'azote n'est pas disponible pour la plante durant deux à trois mois (minimum) suivant le prélèvement car il y a une immobilisation de l'azote par la biomasse microbienne (N'Dayegamiye, 2007). Il faudra intégrer cette « faim d'azote » dans l'itinéraire cultural.

L'apport d'amendements organiques, riches en azote, est indispensable pour améliorer la minéralisation. La minéralisation nette de l'azote sera élevée pour les matières organiques fraîches à rapport C/N faible. Les matières organiques à C/N très élevé peuvent provoquer une «faim d'azote» car, les micro-organismes du sol utilisent l'azote (en l'immobilisant dans leurs cellules), le rendant indisponible pour les plantes. Les matières organiques d'origine animale libèrent plus rapidement leurs éléments minéraux, dont l'azote, et stimulent momentanément l'activité microbienne mais n'enrichissent pas durablement le sol en humus.

Le travail réduit (par exemple, le semis direct) permet de conserver la matière organique du sol, car celle-ci ainsi que les résidus organiques se minéralisent plus lentement. Cependant, les taux de minéralisation d'azote sont plus faibles sous semis direct, et on peut alors parfois retrouver une immobilisation d'azote par les micro-organismes sous ce mode de culture, ce qui peut exiger un apport supplémentaire d'engrais azoté pour combler les besoins des plantes (N'Dayegamiye, 2007). Germon *et al.* (1994) ont démontré que le travail conventionnel du sol (labour) peut permettre une plus grande minéralisation de l'azote à cause des températures généralement plus élevées au printemps, contrairement au travail réduit (semis direct).

Il est à noter que la minéralisation de l'azote est notamment sous la dépendance des taux d'argile et de calcaire, de la température et de l'humidité du sol (Mary *et al.*, 1999).

**4.12 Densité en vers de terre**

**Qu'est-ce que c'est ?**

Les lombricidés sont un sous-ordre des annélides, qui regroupe tous les vers de terre. Parmi la macrofaune, les vers de terre sont considérés comme des organismes « clés » dans le fonctionnement du sol.

**Principe de mesure**

Le contact avec une solution de moutarde irrite les vers de terre qui remontent à la surface du sol. Les vers de terre peuvent alors être échantillonnés de manière non-destructive pour le sol.

**Gammes de valeurs en Wallonie**

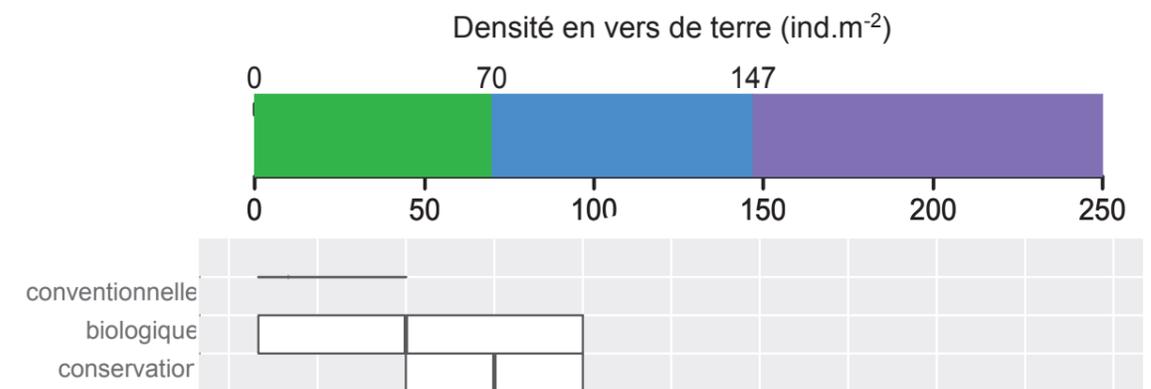
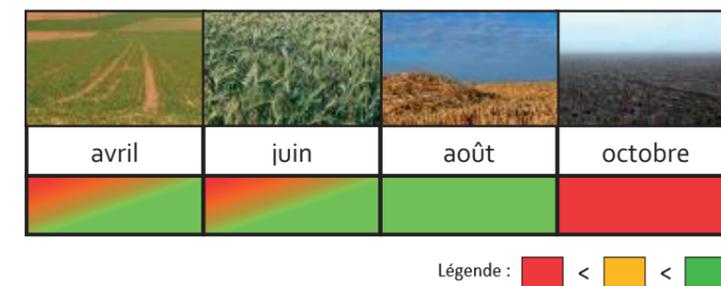


Figure 16 : Gammes de valeurs calculées de la densité en vers de terre (individus .m<sup>-2</sup>, ind.m<sup>-2</sup>) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'moyennes' (gauche, vert), 'élevées' (centre, bleu) et 'très élevées' (droite, violet). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quantile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

**Variabilité saisonnière :**

Tableau 13 : Variabilité saisonnière de la densité en vers de terre des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'.



**NB : Masse de vers de terre**

L'abondance des vers de terre est positivement corrélée avec la masse des vers de terre. Toutefois, la masse moyenne des vers de terre varie entre sites échantillonnés (valeurs entre 0,1 et 3,6 grammes de vers de terre saturés en éthanol).

**Protocole de mesure***Matériel, appareillage, réactifs*

- Balance d'une exactitude de minimum 0,1 g
- Cadre en bois (60 × 30 cm)
- Cisaille à herbes
- Arrosoir de 10 l
- Seau de 10 l
- Bidon de 10 l
- Bouteille en plastique
- Papier essuie-tout
- Pincette
- Farine de moutarde
- Ethanol à 70%
- Eau

*Mode opératoire*

Une surface est délimitée avec le cadre en bois (60 × 30 cm). Verser 4 l d'eau dans un seau, ajouter 12 g de farine de moutarde et mélanger la solution. Couper toute la végétation du sol sur la parcelle pour augmenter la visibilité lors de l'apparition des vers de terre. Transvaser la solution de moutarde dans l'arrosoir. Préparer une deuxième solution de farine de moutarde (4 l d'eau et 24 g de farine de moutarde) dans le seau. Distribuer la solution de moutarde avec l'arrosoir sur la parcelle de manière homogène. Collecter tous les vers de terre qui sortent du sol et les conserver dans une bouteille en plastique remplie à moitié avec de l'éthanol à 70%. Verser la deuxième solution de farine de moutarde sur la parcelle après environ 10 minutes. Observer la parcelle pendant quelques minutes après la sortie du dernier vers de terre.

Les vers de terre sont comptés et pesés au laboratoire. Enlever les vers de terre de la solution d'éthanol avec une pincette. Si nécessaire, nettoyer les vers de terre avec de l'éthanol frais. Poser les vers de terre sur un essuie-tout. Compter les vers de terre. Peser l'essuie-tout avec les vers de terre, puis sans les vers de terre. Calculez la masse de vers de terre en faisant la différence. Les vers de terre sont remis dans la bouteille en plastique pour conservation.

*Expression des résultats*

La densité de vers de terre est exprimée en individus par m<sup>2</sup> et la masse de vers de terre est exprimée en g de vers de terre saturé en éthanol par m<sup>2</sup>.

*Remarques méthodologiques*

La densité de vers de terre dépend de la saison et des conditions climatiques. Pour cette raison, un échantillonnage au printemps ou à l'automne est préférable. De plus, des périodes de sécheresse ou lorsque le sol est saturé en eau sont à éviter car la solution de farine de moutarde ne peut pas infiltrer le sol.

La méthode d'extraction avec la farine de moutarde a été choisie en faveur de la norme ISO qui propose une extraction avec du formol et un triage à la main. L'extraction avec une solution de farine de moutarde au lieu de la technique proposée par la norme ISO est, d'une part, plus rapide et d'autre part, moins nocive pour le sol. Toutefois, un biais méthodologique est à noter lorsque l'on utilise l'extraction à la moutarde. Cette méthode est surtout efficace pour les vers anéciques (vers creusant des galeries verticales) mais moins pour les espèces endogées (vers qui construisent des galeries horizontales en profondeur) (Pérès *et al.*, 2011).

**Interprétation et conseils -**

Le ver de terre est l'animal le plus connu du sol (Edwards, 1969) et est considéré comme un organisme « clé » dans le fonctionnement du sol. En effet, les vers de terre sont à la fois des décomposeurs, car ils se nourrissent de matières organiques mortes, et des ingénieurs du sol car ils modifient la structure et la texture du sol en créant des galeries. Les vers de terre favorisent également le transfert d'éléments nutritifs dans le sol (phénomène de bioturbation). De plus, les lombrics accroissent grandement la diversité (Lawton, 1994; Eisenhauer, 2010) et l'activité (Maraun, M; Scheu, 1999; Tiunov and Scheu, 1999) des micro-organismes au sein des galeries et dans les turricules<sup>5</sup> (Lavelle *et al.*, 1995). Grâce à leurs différents rôles dans l'écosystème, les vers de terre favorisent la fertilité du sol.

Les vers de terre sont sensibles à de nombreuses perturbations du sol comme la compaction, la dégradation ou la pollution. La densité de ces organismes représente donc un indicateur précoce de perturbation.

Une densité élevée de vers témoigne d'une faible perturbation de l'écosystème, d'un faible risque d'érosion, d'un accès à l'eau et aux nutriments par les plantes plus efficace, une meilleure dissémination des micro-organismes, ce qui améliore la minéralisation des éléments et leurs absorptions par les plantes (notamment grâce aux micro-organismes symbiotiques) et d'une meilleure régulation des pathogènes comme les nématodes (Boyer *et al.*, 2013).

Pour améliorer la densité en vers de terre dans les parcelles agricoles, il convient de leur apporter de la nourriture en surface. Ainsi, le fait de laisser des résidus de culture et de

<sup>5</sup> Turricule (de vers de terre) : rejet des vers de terre anéciques visibles à la surface du sol (par opposition à d'autres déjections déposées sur les parois des galeries) (Bouché, 1972).

favoriser les apports de matières organiques permettront aux vers de s'installer sur les parcelles (Ménard, 2005). Le semis direct, le couvert végétal comme le paillis (Pelosi *et al.*, 2009), l'utilisation d'amendements organiques (Thomson and Hoffmann, 2007) et des stratégies phytosanitaires raisonnées (Pelosi *et al.*, 2013) sont considérés comme des pratiques agricoles favorables à l'installation des vers de terre. En revanche, le labour et le compactage ont un impact négatif considérable sur les populations de lombrics, même en présence d'un paillis et/ou d'amendement organique (Hole *et al.*, 2005; van Capelle *et al.*, 2012).

#### 4.13 Quotient métabolique

##### Qu'est-ce que c'est ?

Le quotient métabolique est un quotient éco-physiologique correspondant au rapport entre la respiration potentielle et le carbone microbien. Il donne une indication sur la quantité relative de carbone utilisé pour la croissance (biomasse microbienne) et pour l'énergie de maintenance de la cellule (respiration) (Anderson *et al.*, 1990).

##### Principe de mesure

Le quotient métabolique est calculé à partir des mesures du carbone microbien et de la respiration potentielle.

##### Gammes de valeurs en Wallonie

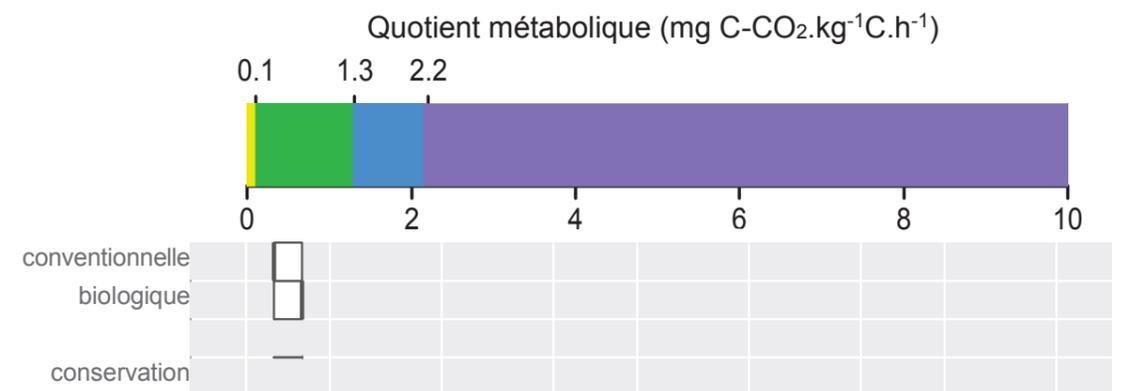


Figure 17 : Gammes de valeurs calculées du quotient métabolique (mg C-CO<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>C. h<sup>-1</sup>) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert), 'élevées' (droite, bleu) et 'très élevées' (droite, violet). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quartile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

##### Variabilité saisonnière :

Tableau 12 : Variabilité saisonnière du quotient métabolique des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'. Ici, aucune différence significative n'est observée.



**Protocole de mesure**

*Matériel, appareillage, réactifs*

Voir carbone microbien et respiration potentielle.

*Mode opératoire*

Le quotient métabolique est le rapport entre le carbone microbien et la respiration potentielle. Des analyses de laboratoires supplémentaires ne sont pas nécessaires.

*Expression des résultats*

Le quotient métabolique est exprimé en milligramme carbone (C-CO<sub>2</sub>) par kilogramme carbone microbien par heure.

*Remarques méthodologiques*

Tout comme les mesures de respiration, les valeurs du quotient métabolique dépendent des conditions d'incubation (température).

**Interprétation et conseils -**

Des valeurs plus élevées du quotient métabolique sont considérées comme un indicateur de stress, indiquant un besoin d'énergie de maintenance plus élevé des micro-organismes (Anderson and Domsch, 1985). Les valeurs dépendent de la communauté microbienne ainsi que des substrats disponibles.

Un quotient métabolique normal est le signe d'un bon équilibre physiologique de la biomasse microbienne (pas de stress nutritionnels ou environnementaux), bénéfique aux cultures. Un quotient métabolique faible signifie un taux de renouvellement faible de la biomasse, avec tendance à l'accumulation, voire à une stabilisation de la matière organique. Cette faiblesse peut être liée à des facteurs défavorables à l'activité de la biomasse comme le pH, ou l'hydromorphie. La minéralisation de la matière organique diminuant, la nutrition minérale de la plante en sera affectée. Un quotient métabolique élevée est un indicateur de stress.

Un travail du sol (style labour) augmente le quotient métabolique (Mangalassery *et al.*, 2015) pouvant être lié à une augmentation de la porosité, de la disponibilité de nutriments ce qui semble réduire le stress chez les micro-organismes (Giller *et al.*, 1997).

4.14 Quotient microbien

**Qu'est-ce que c'est ?**

Le quotient microbien est un quotient éco-physiologique correspondant au rapport entre le carbone microbien et le carbone organique total, exprimé en pourcentage. Il donne des renseignements sur la disponibilité du substrat carboné pour les micro-organismes.

**Principe de mesure**

Le quotient microbien est calculé à partir des mesures de carbone microbien et de carbone organique total.

**Gammes de valeurs en Wallonie**

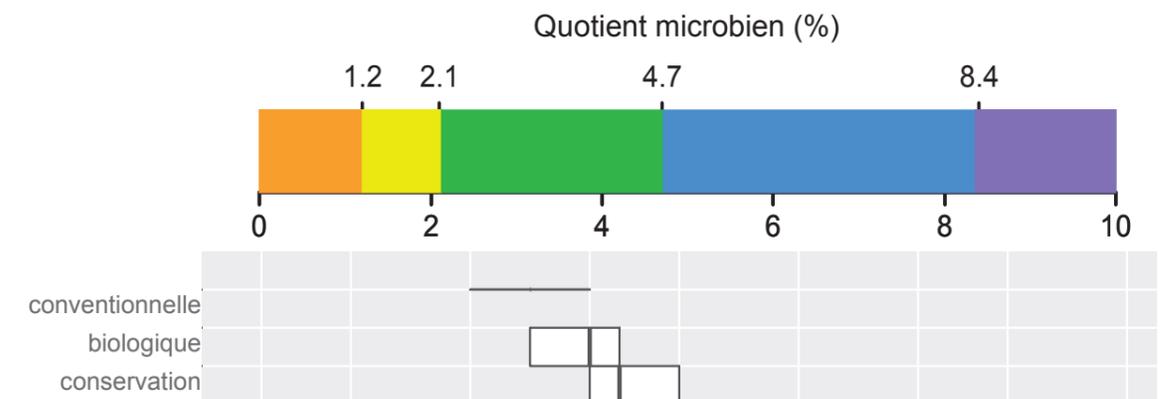


Figure 18 : Gammes de valeurs calculées du quotient microbien (%) dans les sols de culture en Wallonie. Les barres en couleur montrent les limites des gammes de valeurs 'très faibles' (gauche, orange), 'faibles' (gauche, jaune), 'moyennes' (centre, vert), 'élevées' (droite, bleu) et 'très élevées' (droite, violet). Les boîtes de Tukey (en dessous de la gamme) représentent le 1<sup>er</sup> quartile, la médiane et le 3<sup>ème</sup> quartile des valeurs de l'indicateur mesurées en 2016 selon les pratiques agricoles - conventionnelle, biologique et conservation.

*Variabilité saisonnière :*

Tableau 15 : Variabilité saisonnière du quotient microbien des parcelles en agriculture conventionnelle en 2016 en 2016. Les couleurs indiquent des différences significatives entre les moyennes (test de l'ANOVA); 'rouge' est significativement plus faible que 'jaune' qui est significativement plus faible que 'vert'. Ici, aucune différence significative n'est observée.



## Protocole de mesure

### Matériel, appareillage, réactifs

Voir carbone microbien et carbone organique total.

### Mode opératoire

Le quotient microbien est le rapport entre le carbone microbien et le carbone organique total, multiplié par 100 pour l'exprimer en %. Des analyses de laboratoires supplémentaires ne sont pas nécessaires.

### Expression des résultats

Le quotient microbien est exprimé en % de carbone microbien dans le carbone organique totale.

## Interprétation et conseils -

Le quotient microbien est un indice de la disponibilité du carbone. Habituellement, la biomasse microbienne représente moins de 5% de la matière organique totale du sol (Dalal, 1998). Des quotients microbiens autour de 2,2 % sont attendus dans des sols agricoles en équilibre (Anderson et Domsch, 1989). Le quotient microbien peut être utilisé comme indicateur précoce de l'évolution du carbone organique. Une augmentation ou une diminution du carbone microbien est censée être suivie par une évolution similaire du carbone organique total (Anderson et Domsch, 1989).

Selon van Capelle *et al.* (2012), le quotient microbien est plus élevé lorsque l'intensité du travail du sol est réduite, ce qui indique une amélioration de l'approvisionnement des nutriments (par rapport à une gestion conventionnelle avec labour). Ceci est probablement dû à la qualité supérieure de la matière organique, qui fournit des quantités plus élevées de glucides et d'acides aminés disponibles, accompagnés d'une proportion accrue de racines plus proches de la surface du sol. De plus, la fertilisation minérale (N,P,K) augmente le quotient microbien par rapport à un sol non labouré (Juan *et al.*, 2008). La fertilisation organique par du compost augmente le quotient microbien par rapport à un sol non fertilisé (Leifeld *et al.*, 2002).

## 5 Base de données et outils associés

### 5.1 Les bases de données 'CARBIOSOL' et 'REFERENTIEL'

La base de données (BDD) « **CARBIOSOL – indicateurs biologiques et carbone organique des sols agricoles wallons** » comprend les valeurs des indicateurs biologiques et des fractions de carbone mesurées au cours des subventions CARBIOSOL I à IV. Cette BDD est constituée de 415 échantillons de sols (124 provenant de sols sous cultures et 66 de sols de prairies), prélevés sous deux occupations différentes (en 2013 et 2014), dans cinq régions agricoles (en 2015), pendant quatre périodes d'échantillonnage (en 2016), sous sept types de cultures (en 2017) et sous quatre types d'exploitations agricoles (en 2013, 2014, 2015, 2016 et 2017). Les sols sous cultures appartiennent à des agriculteurs volontaires et les sols sous prairies proviennent du réseau de mesure BioEcoSys. La BDD est disponible avec un mot de passe sur le site [www.carbiosol.uliege.be](http://www.carbiosol.uliege.be). Etant des parcelles expérimentales, les données issues des essais à long terme de LongTours, Gentinnes et de Libramont du CRA-W n'ont pas été intégrées à cette BDD. Les résultats obtenus sur les essais à long terme sont présentés dans le §6.

La base de données « **RÉFÉRENTIEL wallon de la qualité biologique des sols agricoles** » a été construite comme **partie intégrante de la BDD centralisée REQUASUD**, et est de ce fait hébergée, gérée et alimentée par l'asbl REQUASUD. Elle est directement issue de la BDD 'CARBIOSOL', mise au format de la BDD centralisée de REQUASUD. Cette initiative s'intègre dans le processus de mise à disposition, pour les agriculteurs, de la mesure des indicateurs biologiques et des fractions de carbone par les laboratoires du réseau REQUASUD. Les données obtenues lors du projet de recherche CARBIOSOL concernent donc les indicateurs présentés dans cette brochure.

L'ensemble des mesures issues du RSS CARBIOSOL seront les premières données implémentées dans la BDD RÉFÉRENTIEL. Les gammes de valeurs de références issues de l'analyse de ces données, et présentées en §4, permettront de valider les mesures obtenues par la suite par les laboratoires souhaitant mettre en routine un ou plusieurs des indicateurs de la qualité biologique des sols. Ces nouvelles mesures viendront ensuite alimenter le RÉFÉRENTIEL, et à terme, les gammes de valeurs de références pourront être mises à jour et affinées.

### 5.2 Corrélogramme

Dans le but d'évaluer les relations entre les indicateurs, un corrélogramme est présenté en figure 19. Il s'agit d'un tableau reprenant les corrélations entre tous les indicateurs. Ce corrélogramme permet de choisir des indicateurs indépendants, afin d'obtenir un maximum d'informations différentes possibles, avec un minimum de mesures. Ainsi, ce corrélogramme permet de choisir des indicateurs non-corrélés afin d'avoir des informations différentes sur le fonctionnement des sols.

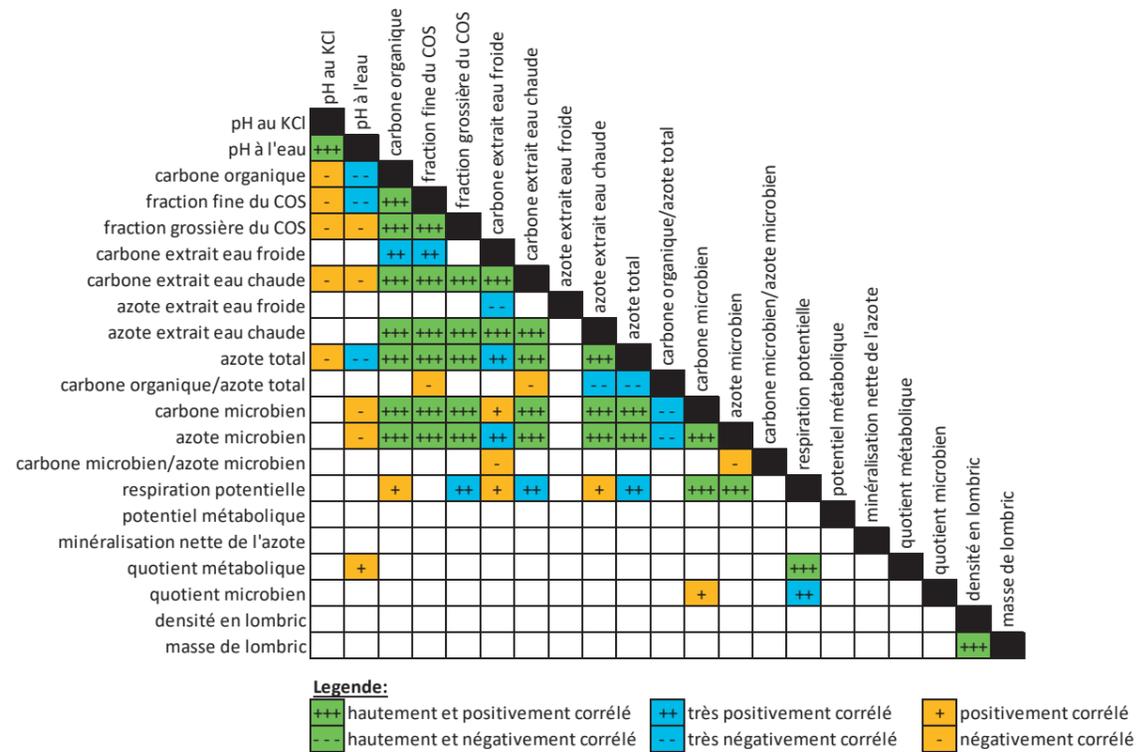


Figure 19 : Corrélogramme des indicateurs mesurés dans le RSS CARBIOSOL dans des sols cultivés dont l'échantillonnage a eu lieu en 2013, 2014 (carbioso 1), 2015 (carbioso 2), 2016 (carbioso 3) et 2017 (carbioso 4). n minimal=120 et n maximal=366. Jaune - p<0,05 ; Bleu - p<0,01 ; Vert - p<0,001 ; Blanc - p>0,05. Test rho de Spearman.

### 5.3 Outils graphiques et cartographiques

Des scripts informatiques pour le logiciel 'R' ont été élaborés afin de produire aisément différents graphiques et cartes. Ces documents sont des supports pour exploiter les résultats des indicateurs présentés dans cette brochure. L'utilisation de scripts informatiques facilite également la mise à jour de ces graphiques et cartes au fur et à mesure de l'alimentation de la BDD 'RÉFÉRENTIEL'. Le package de scripts est disponible dans le rapport final « CARBIOSOL 5 ».

#### À l'échelle régionale - Cartographie du COT

Une méthode se basant sur les principes de la cartographie numérique des sols a été développée au cours du projet CARBIOSOL (rapport final CARBIOSOL I - Chartin *et al.*, 2015), et adaptée à la base de données centralisée de REQUASUD (rapport final CARBIOSOL III - Chartin *et al.*, 2016). Elle a permis la production de différentes cartes de la série CARBIOSOL consultables sur le géoportail de la région wallonne (geoportail.wallonie.be), et de contribuer à la mise à jour du rapport sur l'état de l'environnement wallon 2017 (figure 20).

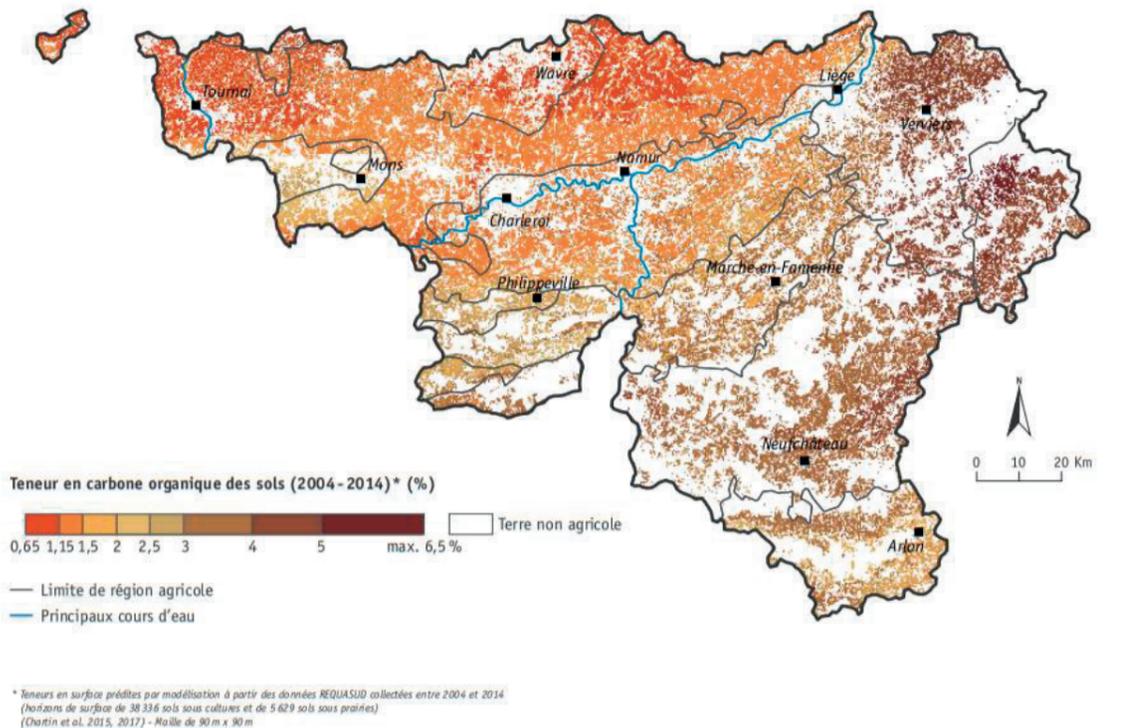


Figure 20 - Teneurs en carbone organique des sols agricoles wallons. REEW 2017 – source - UCL-ELI-TECLIM ; REQUASUD (licence Aog/2016).

Les scripts informatiques 'R' associés, ainsi qu'une notice d'utilisation, ont été fournis à l'équipe de REQUASUD qui pourra les utiliser dès qu'une mise à jour de la carte de COT des sols agricoles wallons sera nécessaire. Celle-ci sera ensuite disponible au public sur le géoportail du SPW. En complément de la cartographie du COT, un autre script sera fourni pour calculer des statistiques par occupation de sols et régions agricoles, et de les comparer d'une période à une autre afin de détecter les éventuelles évolutions spatio-temporelles du COT en Wallonie.

### À l'échelle parcellaire

Afin de **comparer les pratiques agricoles** (conventionnelle, conservation et biologique), des représentations graphiques en boîtes de Tukey ont été utilisés pour chaque indicateur. Ces graphiques sont présents dans chaque fiche, sous la gamme de référence. Les scripts R pour produire ces graphiques sont présentés dans le rapport final « CARBIOSOL 5 ».

Pour **comparer l'occupation du sol** (culture ou prairie), des représentations graphiques en plots radar (Figure 21) ont été utilisées pour montrer l'ensemble des indicateurs biologiques dans une seule figure. Chaque indicateur biologique est montré sur un axe du plot radar ; les axes vont du centre (5<sup>ème</sup> quantile, 5%) à l'extrémité du plot (95<sup>ème</sup> quantile, 95%) et contiennent donc 90% des valeurs attendues sous culture ou sous prairie en Wallonie.

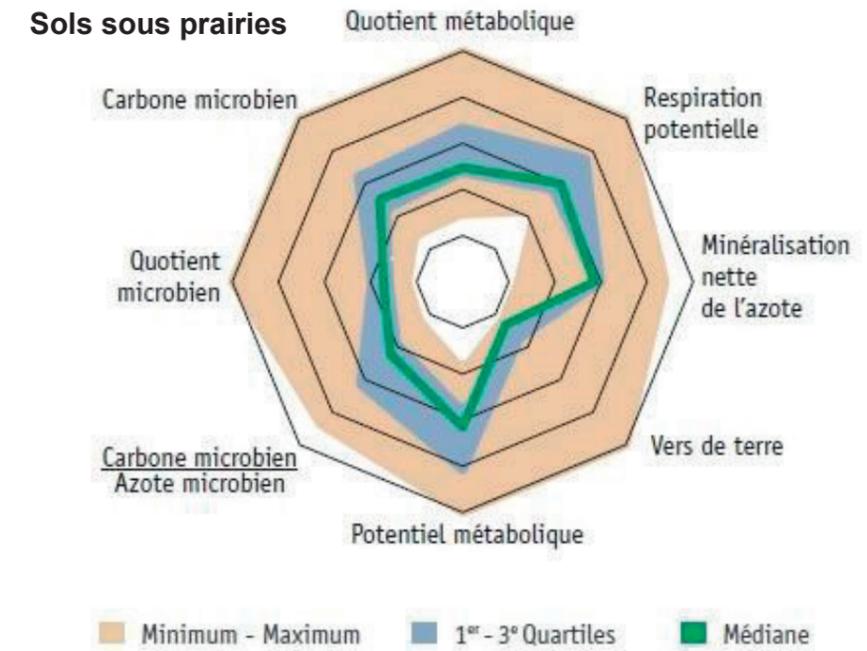
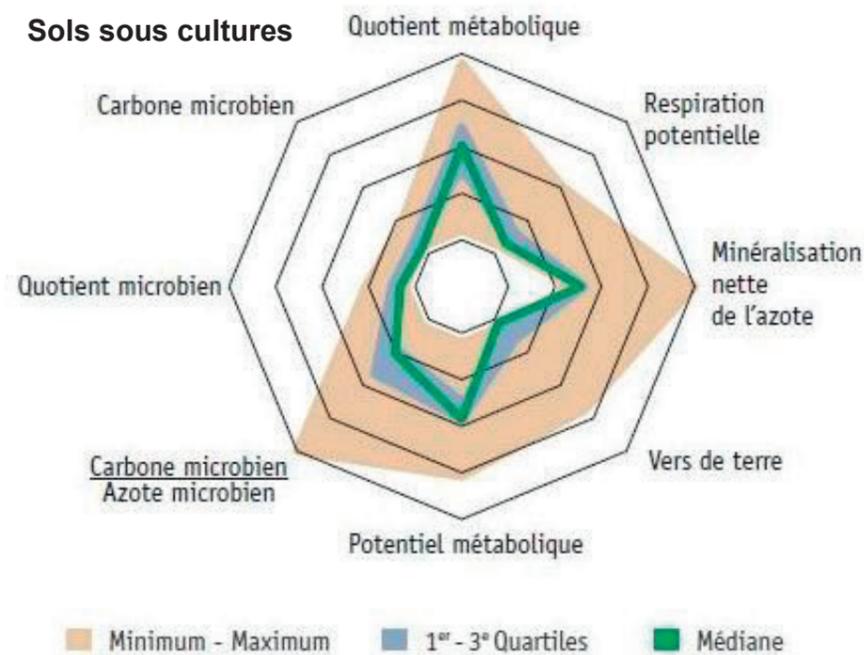


Figure 21 : Plot radar des gammes définies des sols sous cultures ou sous prairies de la Wallonie tenant compte de la variabilité saisonnière et spatiale (Krüger *et al.*, 2015).

## 6 Exemple d'application des indicateurs - Effets de l'exploitation et des pratiques agricoles.

### Effets du type d'exploitation

L'exploitation agricole des sols comprend souvent des pratiques ayant une influence négative sur le sol et ses organismes (Baudron and Giller, 2014). Notamment, Ainsi, des alternatives à l'agriculture dite 'conventionnelle' ont été proposées comme plus durables et ayant moins d'impacts négatifs sur le fonctionnement du sol (Wezel *et al.*, 2014). Les deux grands types d'agricultures alternatives pratiquées en Wallonie sont l'agriculture biologique et l'agriculture de conservation. Certaines parcelles sont en cours de « conversion biologique » (parcelles converties à l'agriculture biologique il y a moins de 3 ans). Il est à noter que les agriculteurs gérant leurs parcelles selon une agriculture alternative (conservation ou biologique) pratiquent tous des TCS.

Un effet des pratiques d'agriculture alternative par rapport à l'agriculture 'conventionnelle' a été observé sur 12 des indicateurs du RSS CARBIOSOL sur les sols prélevés en 2016. Les résultats sont présentées en figure 22.

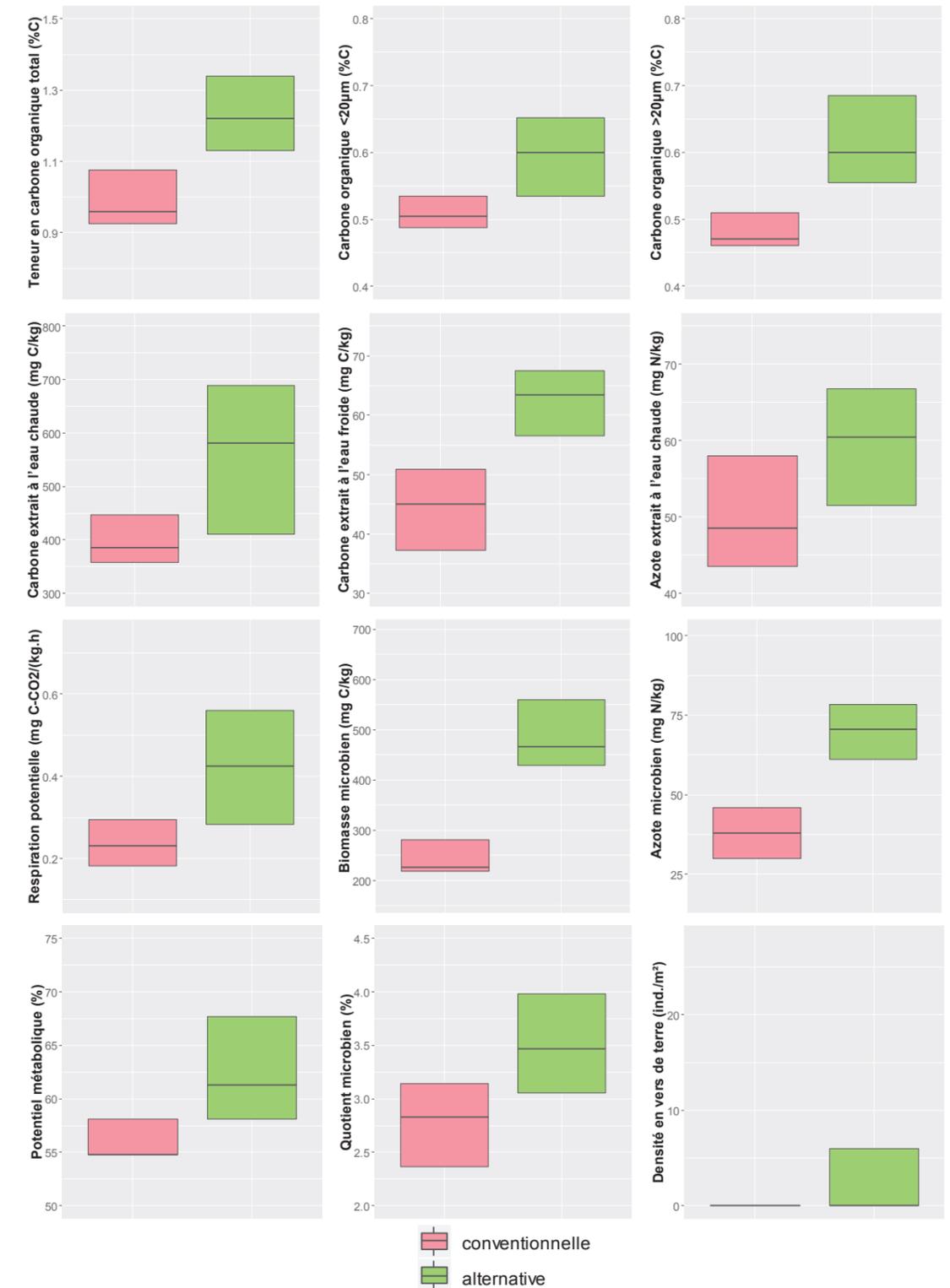


Figure 22 : Boîtes de Tukey des indicateurs présentant une différence significative entre les sols prélevés (en 2016) sous agriculture conventionnelle (en rose) et sous agriculture alternative (en vert).

Les teneurs en COT et en fraction grossière de carbone sont toujours plus élevées dans les sols sous agriculture alternative par rapport à l'agriculture conventionnelle. Sur les sites étudiés, l'agriculture biologique a montré des teneurs en COT et fraction grossière de carbone un peu plus élevées que l'agriculture de conservation, et ce en quelques années. La teneur en fraction fine de carbone organique augmente significativement dans le cas de l'agriculture de conservation et de l'agriculture biologique après ~10 années d'application.

Les valeurs des indicateurs sont toujours plus élevées pour les sols sous agriculture alternative par rapport à l'agriculture conventionnelle. Cet effet du type d'exploitation est plus important pour les indicateurs liés au renouvellement de la matière organique dans le sol (biomasse microbienne, respiration potentielle, quotient microbien). Il est à noter que le renouvellement de la matière organique est un processus important pour la fertilité du sol car il permet la libération des nutriments pour la croissance des plantes (Janzen, 2006).

Pour la minéralisation nette de l'azote, le quotient métabolique et le rapport  $C_{mic}/N_{mic}$ , il n'y a pas d'effet significatif du type d'exploitation dans les sites étudiés.

Globalement, ces premiers résultats indiquent une activité biologique plus importante dans les sols sous agriculture alternative (biologique et de conservation), comparés aux sols sous agriculture conventionnelle. Ceci pourrait être lié à une meilleure gestion de matières organiques (rétention/apport), menant potentiellement, à terme, à une meilleure fertilité du sol.

## Effets des pratiques agricoles : études sur les essais à long terme du CRA-W

Afin de mesurer les effets de quelques pratiques agricoles sur les indicateurs biologiques et le carbone, des essais à long termes du CRA-W ont été choisis comme sites d'étude. Ainsi, la gestion des résidus de culture, le travail du sol et la fertilisation (en prairie) ont été étudiés en 2016 et 2017.

**La gestion des résidus de culture** est étudiée sur le site de Long-Tours depuis 1959 (Buysse *et al.*, 2013). La rotation historique depuis 1984 est une rotation triennale betterave sucrière, froment d'hiver et escourgeon à l'exception d'une culture d'épeautre qui a remplacé le froment en 2010. Les différents traitements reçoivent les mêmes apports en fertilisants et sont labourés à une profondeur de 27 cm. Deux traitements ont été comparés ici. (1) Le traitement « **paille-CIPAN** » où les résidus de culture sont annuellement restitués dans la parcelle, ainsi que des feuilles et des collets de betterave depuis 2006, tous les 3 ans, et une interculture d'hiver est introduite avant la tête de rotation (betteraves). (2) Le traitement de « **contrôle** » où seule les feuilles et les collets de betterave sont laissés au champ depuis 2010 (tous les 3 ans), et aucune interculture n'est introduite.

**Le travail du sol** est étudié sur le site de Gentinnes depuis 2006 grâce à trois traitements différents. (1) Sur la parcelle « **labour** » est appliqué un labour annuel de 25-28 cm de profondeur. (2) La parcelle « **décompactage** » correspond à une alternance décompactage (de 30-32 cm) et l'utilisation d'un vibroculteur (12-13 cm de profondeur) une année sur deux. (3) La parcelle « **TCS** » correspond à un travail superficiel réduit grâce à l'utilisation d'un vibroculteur tous les ans sur 12-13 cm de profondeur. Pour tous les traitements, le lit de semence est préparé avec une herse à disques à 5-8cm, et la rotation est de deux ans (betterave – céréales d'hiver). Une culture de moutarde en septembre entre la récolte des céréales et le semis de betteraves (avril de l'année suivante) et laissée pour se décomposer en surface. Les pailles de céréales sont broyées et incorporées dans le sol (Jonard *et al.*, 2013).

Différents schémas de **fertilisation en prairies** sont étudiés sur le site de Libramont. Depuis 1996, quatre blocs de 1.3 ha (sous-divisés en deux parcelles de 65 ares) ont été soumis chacun à un schéma de fertilisation contrasté, avec depuis 2010 une conversion à l'agriculture biologique. La prairie est composée de ray-grass anglais (50 %) et de trèfle blanc (40 %). Le pâturage annuel s'effectue en rotation avec un chargement moyen de 5 à 7 UGB ha<sup>-1</sup>. L'excédent de production printanier est valorisé chaque année par la fauche et l'ensilage d'une parcelle dans chaque bloc. Les traitements sont, par bloc - (1) fumure organique (10 mg.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>) jusqu'en 2010, aucun amendement ou fertilisant depuis, (2) fertilisant minéral jusque 2010, aucun amendement ou fertilisant depuis, (3) fumure organique jusqu'en 2016 (10 Mg ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>) année du prélèvement, et (4) fertilisant minéral jusqu'en 2010, et fumure organique (10 Mg ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>) depuis.

**Résultats et interprétations**

Les indicateurs pour lesquels il y a un effet significatif de la pratique agricole dans les sites d'essais à long terme sont présentés dans le tableau 16.

Tableau 16- Effets des pratiques agricoles sur les indicateurs biologiques et le carbone des sites d'étude à long terme du CRA-W. Les sites de Long-Tours et de Libramont ont été échantillonnés en 2016 et celui de Gentinnes en 2017. Pour chaque modalité (pratique agricole), 4 échantillons ont été prélevés. Les moyennes sont représentées et des lettres différentes dans une colonne indiquent des différences significatives.

Sites d'étude à long terme	Pratique agricole	COT %	C<20µm %	C>20µm %	Cmic/Nmic sans unité	Qmic %	Test statistique
Long-Tours	Contrôle	0,84 b	0,61 a	0,23 b	7,26 a	2,66 a	Mann-Whitney
	paille-CIPAN	0,99 a	0,63 a	0,36 a	5,96 a	2,72 a	
Gentinnes	Labour	1,04 a	0,70 a	0,34 b	7,50 a	3,57 a	Kruskal-Wallis
	Decompactage	1,17 b	0,67 a	0,50 ab	8,55 a	3,45 a	
	TCS	1,23 b	0,68 a	0,56 a	5,91 b	2,77 b	
Libramont	fumure orga 2010	4,03 b	1,62 a	2,41 b	ND	ND	Kruskal-Wallis
	fertilisant min 2012	4,05 b	1,57 a	2,48 b	ND	ND	
	fumure orga 2016	4,66 a	1,61 a	3,06 a	ND	ND	
	fertilisant min 2012 et fumure orga 2016	4,32 b	1,84 a	2,48 b	ND	ND	

Corg=teneur en carbone organique total; Corg<20µm=teneur en carbone organique dans la fraction fine, inférieure à 20µm; Corg>20µm=teneur en carbone organique dans la fraction grossière, supérieure à 20µm; Cmic/Nmic=ratio de la teneur en carbone et en azote microbien; Qmic= quotient microbien; CIPAN - culture intermédiaire piège à nitrates (CIPAN); TCS=technique cultural simplifiée (vibrocolteur); fumure orga 2010 (ou 2016)=amendement de fumure organique jusqu'en 2010 (ou 2016); fertilisant min 2010 (ou 2016)=amendement de fertilisant minérale jusqu'en 2012 (ou 2016). ND=non disponible, ces indicateurs n'ont pas été mesurés.

Une restitution des résidus de culture associée à une CIPAN augmente significativement la teneur en carbone organique total. Cette augmentation est due en majeure partie à une augmentation de la fraction grossière C>20µm, et donc à l'apport régulier de carbone grossier (c'est-à-dire via la matière organique fraîche). La fraction fine a très peu augmenté malgré l'application du traitement depuis plusieurs décennies. Cette pratique seule ne semble donc pas suffisante afin d'améliorer de façon pérenne et efficace la matière organique dans un sol cultivé.

Les parcelles sous traitement de décompactage et de TCS sur l'essai de Gentinnes montrent des teneurs en COT significativement plus élevées que la parcelle sous labour conventionnel; plus le traitement est superficiel et simplifié, plus les teneurs en COT sont importantes. Il en est de même pour la fraction grossière de carbone (C>20µm), avec une différence significative entre les sols labourés et ceux en TCS. La fraction fine de carbone (C<20µm) ne montre pas de différence significative entre traitements; le processus de stabilisation d'une partie des apports excédentaires à l'origine labile n'est sûrement pas encore assez conséquent. On observe ici que la pratique de TCS sur ~10ans a permis une augmentation des taux de COT et de C>20µm plus importants que la restitution des résidus de cultures associés à une CIPAN sur le site de Longs-Tours depuis plusieurs décennies.

Le rapport Cmic/Nmic des bactéries, champignons et actinomycètes se situe de 5 à 10, avec des rapports plus faibles pour les bactéries (4-8) que pour les champignons (8-29). Le Qmic, ratio de la biomasse microbienne et du carbone organique total du sol, est un indicateur de la disponibilité de ce carbone pour les micro-organismes. Des valeurs plus élevées indiquant une meilleure disponibilité. Sous TCS, nous observons un changement vers une dominance de bactéries (diminution significative du Cmic/Nmic) et une disponibilité de carbone moindre (diminution du Qmic).

Sur le site de Libramont, consacré à l'étude des effets des amendements en prairies, les teneurs en COT et en fraction grossière de carbone s'avèrent significativement différentes entre traitements, ce qui n'est pas le cas pour la fraction fine de carbone. Ainsi, on observe que les teneurs en carbone de la fraction grossière (et également du COT) sont les plus élevées dans la parcelle amendée en fumure organique l'année du prélèvement, alors qu'elles sont les plus faibles pour la parcelle qui ne reçoit plus d'amendement depuis 2010. Malgré l'application de différents traitements depuis plus de 10 ans, la fraction fine n'évolue pas mais montre des teneurs importantes pour ce type de sol (Krüger *et al.*, 2018b). Cette importante et relativement constante teneur en fraction fine de carbone ainsi que cette haute proportion en fraction grossière de carbone pour ces sols ardennais argileux suggèrent qu'ils sont riches en C labile et qu'ils seraient proches de la saturation en C stable (Hassink, 1997; §4.4).

## 7 Références bibliographiques

- Abbott, L.K., Murphy, D. V., 2003. Soil biological fertility: a key to sustainable land use in agriculture. *Soil Biol. Fertil. a key to Sustain. L. use Agric.*
- Acton, D.F., Gregorich, L.J., 1995. Health of our soils. Centre for Land and Biological Resources Research.
- Anderson, J., Domsch, K., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*
- Anderson, T.-H., Domsch, K.H., 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO<sub>2</sub> and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.* 22, 251–255.
- Anderson, T.-H., Domsch, K.H., 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biol. Biochem.* 21, 471–479.
- Anderson, T.-H., Domsch, K.H., 1985. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biol. Fertil. Soils* 1, 81–89.
- Baudron, F., Giller, K., 2014. Agriculture and nature: Trouble and strife? *Biol. Conserv.*
- Bending, G.D., Turner, M.K., Rayns, F., Marx, M.-C., Wood, M., 2004. Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. *Soil Biol. Biochem.* 36, 1785–1792.
- Bispo, A., Cluzeau, D., Creamer, R., Dombos, M., Graefe, U., Krogh, P.P.H.H., Sousa, J.J.P., Peres, G., Rutgers, M., Winding, A., Römbke, J., Roembke, J., Bispo, A., Cluzeau, D., Creamer, R., Graefe, U., Krogh, P.P.H.H., Sousa, J.J.P., Peres, G., Rutgers, M., Winding, A., 2009. Indicators for Monitoring Soil Biodiversity. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 5, 717.
- Bispo, A., Guellier, C., Martin, É., Sapijanskas, J., Soubelet, H., Chenu, C., 2016. Les sols: Intégrer leur multifonctionnalité pour une gestion durable. Editions Quae.
- Bouché, M.B., 1972. Lombriciens de France: écologie et systématique, *Annales de Zoologie-Écologie animale*. Institut National de la Recherche Agronomique.
- Boyer, J., Reversat, G., Lavelle, P., Chabanne, A., 2013. Interactions between earthworms and plant-parasitic nematodes. *Eur. J. Soil Biol.* 59, 43–47.
- Braos, B.B., Ferreira, M.E., da Cruz, M.C.P., Braos, L.B., Barbosa, J.C., 2016. Mild and moderate extraction methods to assess potentially available soil organic nitrogen. *Rev. Bras. Cienc. do Solo* 40, 1–13.
- Bünemann, E.K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R.E., De Deyn, G., de Goede, R., Fleskens, L., Geissen, V., Kuyper, T.W., Mäder, P., 2018. Soil quality—A critical review. *Soil Biol. Biochem.* 120, 105–125.
- Buysse, P., Schnepf-Kiss, A.-C., Carnol, M., Malchair, S., Roisin, C., Aubinet, M., 2013. Fifty years of crop residue management have a limited impact on soil heterotrophic respiration. *Agric. For. Meteorol.* 180, 102–111.
- Carney, K.M., Hungate, B.A., Drake, B.G., Megonigal, J.P., 2007. Altered soil microbial community at elevated CO<sub>2</sub> leads to loss of soil carbon. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 4990–4995.
- Carpenter-Boggs, L., Kennedy, A.C., Reganold, J.P., 2000. Organic and Biodynamic Management : Effects on Soil Biology. *Soil Sci. Soc. Am.* 64, 1651–1659.
- Chartin, C., Krüger, I., Stevens, A., van Wesemael, B., Carnol, M., 2015. Carbone organique, biomasse et activité microbienne des sols: vers un indicateur de la qualité des sols en Wallonie.
- Chartin, C., Krüger, I., van Wesemael, B., Carnol, M., 2016. Carbone organique, biomasse et activité microbienne des sols: vers un indicateur de la qualité des sols en Wallonie.
- Chartin, C., Stevens, A., Goidts, E., Krüger, I., Carnol, M., van Wesemael, B., 2017. Mapping Soil Organic Carbon stocks and estimating uncertainties at the regional scale following a legacy sampling strategy (Southern Belgium, Wallonia). *Geoderma Reg.* 9, 73–86.
- Cleveland, C.C., Liptzin, D., 2007. C:N:P stoichiometry in soil: Is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? *Biogeochemistry* 85, 235–252.
- Cuvelier, C., Généreux, C., Renard, V., Thiry, V., Wéning, M., Zaros, S., 2017. Rapport sur l'état de l'environnement wallon 2017.
- Dalal, R., 1998. Soil microbial biomass—what do the numbers really mean? *Anim. Prod. Sci.*
- DGO3, 2017. Rapport sur l'état de l'environnement Wallon 2017.
- Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicsek, D.F., Stewart, B.A., Doran, J.W., Parkin, T.B., 1994. Defining and Assessing Soil Quality, in: *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, pp. 1–21.
- Doran, J.W., Safley, M., 1997. Defining and assessing soil health and sustainable productivity. In "Biological Indicators of Soil Health", in: *Biological Indicators of Soil Health*. pp. 1–28.
- Edwards, C.A., 1969. Soil Pollutants and Soil Animals. *Sci. Am.*
- Eijsackers, H., 2004. Leading concepts towards vital soil, in: *Developments in Soil Science*. Elsevier, pp. 1–20.
- Eisenhauer, N., 2010. The action of an animal ecosystem engineer: Identification of the main mechanisms of earthworm impacts on soil microarthropods. *Pedobiologia (Jena)*. 53, 343–352.
- Feng, W., Plante, A.F., Six, J., 2013. Improving estimates of maximal organic carbon stabilization by fine soil particles. *Biogeochemistry* 112, 81–93.
- Frąc, M., Oszust, K., Lipiec, J., 2012. Community Level Physiological Profiles (CLPP), Characterization and Microbial Activity of Soil Amended with Dairy Sewage Sludge. *Sensors (Basel)*. 12, 3253–3268.
- Gałązka, A., Gawryjółek, K., Grządziel, J., Frąc, M., Książak, J., 2017. Microbial community diversity and the interaction of soil under maize growth in different cultivation techniques. *Plant, Soil Environ.* 63, 264–270.
- García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Campoy, M., Zornoza, R., Bárcenas, G., Caravaca, F., 2010. Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. *Soil Tillage Res.* 109, 110–115.
- Genot, V., Colinet, G., Bock, L., Vanvyve, D., Reusen, Y., Dardenne, P., 2011. Near infrared reflectance spectroscopy for estimating soil characteristics valuable in the diagnosis of soil fertility. *J. Near Infrared Spectrosc.* 19, 117–138.
- Germon, J.C., Taureau, J.C., Thomas, J.M., 1994. Effets des méthodes simplifiées de travail du sol sur les transformations de l'azote et leurs conséquences sur le lessivage des nitrates. *COLLOQUES-INRA* 125.
- Ghani, A., Dexter, M., Perrott, K.W., 2003. Hot-water extractable carbon in soils: A sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biol. Biochem.* 35, 1231–1243.
- Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S., 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biol. Biochem.*
- Giller, K.E., Beare, M.H., Lavelle, P., Izac, A.-M., Swift, M.J., 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Appl. Soil Ecol.* 6, 3–16.
- Goidts, E., van Wesemael, B., 2007. Regional assessment of soil organic carbon changes under agriculture in Southern Belgium (1955-2005). *Geoderma* 141, 341–354.
- Goidts, E., Van Wesemael, B., Crucifix, M., 2009. Magnitude and sources of uncertainties in soil organic carbon (SOC) stock assessments at various scales. *Eur. J. Soil Sci.* 60, 723–739.
- Gomez, E., Ferreras, L., Toresani, S., 2006. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. *Bioresour. Technol.* 97, 1484–1489.
- Gregorich, E.G., Monreal, C.M., Carter, M.R., Angers, D.A., Ellert, B.H., 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Can. J. Soil Sci.* 74, 367–385.
- Güsewell, S., Gessner, M.O., 2009. N: P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. *Funct. Ecol.* 23, 211–219.
- Hassink, J., 1997. The capacity of soils to preserve organic C and N by their association with clay and silt particles. *Plant Soil* 191, 77–87.
- Haynes, R.J., 2000. Interactions between soil organic matter status, cropping history, method of quantification and sample pretreatment and their effects on measured aggregate stability. *Biol. Fertil. Soils* 30, 270–275.
- Hole, D.G., Perkins, A.J., Wilson, J.D., Alexander, I.H., Grice, P. V., Evans, A.D., 2005. Does organic farming benefit biodiversity? *Biol. Conserv.* 122, 113–130.
- Hu, S., Chapin III, F.S., Firestone, M.K., Field, C.B., Chiariello, N.R., 2001. Nitrogen limitation of microbial decomposition in a grassland under elevated CO<sub>2</sub>. *Nature* 409, 188.
- Islam, M.R., Chauhan, P.S., Kim, Y., Kim, M., Sa, T., 2011. Community level functional diversity and enzyme activities in paddy soils under different long-term fertilizer management practices. *Biol. Fertil. Soils* 47, 599–604.
- ISO 10694, 1995. Qualité du sol -- Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire).
- Janzen, H.H., 2006. The soil carbon dilemma: Shall we hoard it or use it? *Soil Biol. Biochem.* 38, 419–424.
- Jenkinson, D.S., Brookes, P.C., Powlson, D.S., 2004. Measuring soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 36.
- Jenkinson, D.S., Ladd, J.N., 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. *Soil Biochem.* 5, 415–471.
- Joergensen, R., Mueller, T., 1995. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEN value. *Soil Biol. Fertil. a key to Sustain. L. use Agric.* 0717, 33–37.
- Joergensen, R.G., 1996. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEC value. *Soil Biol. Biochem.* 28, 25–31.

- Jonard, F., Mahmoudzadeh, M., Roisin, C., Weihermüller, L., André, F., Minet, J., Vereecken, H., Lambot, S., 2013. Characterization of tillage effects on the spatial variation of soil properties using ground-penetrating radar and electromagnetic induction. *Geoderma* 207, 310–322.
- Juan, L.I., Zhao, B., Li, X., Jiang, R., Bing, S.H., 2008. Effects of long-term combined application of organic and mineral fertilizers on microbial biomass, soil enzyme activities and soil fertility. *Agric. Sci. China* 7, 336–343.
- Karlen, D.L., Ditzler, C.A., Andrews, S.S., 2003. Soil quality: Why and how? *Geoderma* 114, 145–156.
- 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. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 4–10.
- Koch, A., Mcbratney, A., Adams, M., Field, D., Hill, R., Crawford, J., Minasny, B., Lal, R., Abbott, L., O'Donnell, A., Angers, D., Baldock, J., Barbier, E., Binkley, D., Parton, W., Wall, D.H., Bird, M., Bouma, J., Chenu, C., Flora, C.B., Goulding, K., Grunwald, S., Hempel, J., Jastrow, J., Lehmann, J., Lorenz, K., Morgan, C.L., Rice, C.W., Whitehead, D., Young, I., Zimmermann, M., 2013. Soil Security: Solving the Global Soil Crisis. *Glob. Policy* 4, 434–441.
- Krüger, I., Chartin, C., Carnol, M., van Wesemael, B., 2018a. Développement d'indicateurs de la qualité biologique et du carbone organique du sol pour l'évaluation de l'état des sols en Wallonie. Liège.
- Krüger, I., Chartin, C., Carnol, M., van Wesemael, B., 2015. Carbone organique, biomasse et activité microbienne des sols: vers un indicateur de la qualité des sols en Wallonie.
- Krüger, I., Chartin, C., van Wesemael, B., Carnol, M., 2018b. Defining a reference system for biological indicators of agricultural soil quality in Wallonia, Belgium. *Biol. Indic.* 95, 568–578.
- Krüger, I., Chartin, C., van Wesemael, B., Malchair, S., Carnol, M., 2017. Integrating biological indicators in a Soil Monitoring Network (SMN) to improve soil quality diagnosis – a case study in Southern Belgium (Wallonia). *Biotechnol. Agron. Soc. Env.* 21, 219–230.
- Lal, R., 2016. Soil health and carbon management. *Food Energy Secur.* 5, 212–222.
- Larson, W., Pierce, F., 1994. The dynamics of soil quality as a measure of sustainable management. [dl.sciencesocieties.org](http://dl.sciencesocieties.org).
- Lavaud, A., 2010. Extraction et caractérisation de la matière organique soluble des horizons profonds d'un sol arable.
- Lavelle, P., Lattaud, C., Trigo, D., Barois, I., 1995. Mutualism and biodiversity in soils. *Plant Soil* 170, 23–33.
- Lawton, J.H., 1994. What Do Species Do in Ecosystems? *Oikos* 71, 367.
- Le Villio, M., Arrouays, D., Deslais, W., Daroussin, J., Bissonais, Y. Le, 2001. Estimation des quantités de matière organique exogène nécessaires pour restaurer et entretenir les sols limoneux français à un niveau organique donné.
- Lechevallier, C., Planques, B., Salducci, X., 2004. Évaluer la dynamique biologique des sols.
- Leifeld, J., Siebert, S., Kögel-Knabner, I., 2002. Biological activity and organic matter mineralization of soils amended with biowaste composts. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 165, 151–159.
- Malchair, S., Halen, H., Moutier, M., Carnol, M., 2010. Appreciation of biological indicators as tools for evaluating soil quality.
- Mangalassery, S., Mooney, S.J., Sparkes, D.L., Fraser, W.T., Sjögersten, S., 2015. Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. *Eur. J. Soil Biol.* 68, 9–17.
- Maraun, M.; Scheu, S., 1999. Middens of the earthworm *Lumbricus terrestris* (Lumbricidae): microhabitats for micro- and mesofauna in forest soils. *Pedobiologia* (Jena). 43, 276–287.
- Mary, B., Beaudoin, N., Justes, E., Machet, J.M., 1999. Calculation of nitrogen mineralization and leaching in fallow soil using a simple dynamic model. *Eur. J. Soil Sci.* 50, 549–566.
- McGill, W.B., Hunt, H.W., Woodmansee, R.G., Reuss, J.O., 1981. Phoenix, a model of the dynamics of carbon and nitrogen in grassland soils, *Ecological Bulletins* (Sweden). Swedish Natural Science Research Council.
- Meersmans, J., van Wesemael, B., Goidts, E., Van Molle, M., De Baets, S., De Ridder, F., 2011. Spatial analysis of soil organic carbon evolution in Belgian croplands and grasslands, 1960–2006. *Glob. Chang. Biol.* 17, 466–479.
- Ménard, O., 2005. Les ouvriers du sol et les pratiques agricoles de conservation. CRAAQ.
- Minet, O., Ferber, F., Jacob, L., Lecler, B., Agneessens, R., Cugnon, T., Decruyenaere, V., Genot, V., Gofflot, S., Pitchugina, E., Planchon, V., Renneson, M., Sinnaeve, G., Wavreille, B., Dardenne, P., Baeten, V., 2016. REQUASUD - La spectroscopie proche infrarouge : une technologie rapide, précise et écologique pour déterminer la composition et la qualité des produits agricoles et alimentaires.
- Morvan, X., Saby, N.P.A., Arrouays, D., Le Bas, C., Jones, R.J.A., Verheijen, F.G.A., Bellamy, P.H., Stephens, M., Kibblewhite, M.G., 2008. Soil monitoring in Europe: A review of existing systems and requirements for harmonisation. *Sci. Total Environ.*
- N'Dayegamiye, A., 2007. La contribution en azote du sol reliée à la minéralisation de la MO: facteur climatique et régies agricoles influençant les taux de minéralisation de l'azote. CRAAQ - Colloq. sur l'azote.
- Pankhurst, C., Doube, B.M., Gupta, V., 1997. Biological indicators of soil health. Cab International Wallingford.
- Pankhurst, C.E., Ophel-Keller, K., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R., 1996. Biodiversity of soil microbial communities in agricultural systems. *Biodivers. Conserv.* 5, 197–209.
- Pelosi, C., Bertrand, M., Roger-Estrade, J., 2009. Earthworm community in conventional, organic and direct seeding with living mulch cropping systems. *Agron. Sustain. Dev.* 29, 287–295.
- Pelosi, C., Toutous, L., Chiron, F., Dubs, F., Hedde, M., Muratet, A., Ponge, J.F., Salmon, S., Makowski, D., 2013. Reduction of pesticide use can increase earthworm populations in wheat crops in a European temperate region. *Agric. Ecosyst. Environ.* 181, 223–230.
- Pérès, G., Vandenbulcke, F., Guernion, M., Hedde, M., Beguiristain, T., Douay, F., Houot, S., Piron, D., Richard, A., Bispo, A., Grand, C., Galsomies, L., Cluzeau, D., 2011. Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment: An example from the national Bioindicator programme. *Pedobiologia - Int. J. Soil Biol.* 54, S77–S87.
- Priha, O., Smolander, A., 1999. Nitrogen transformations in soil under *Pinus sylvestris*, *Picea abies* and *Betula pendula* at two forest sites. *Soil Biol. Biochem.* 31, 965–977.
- Robert, M., Chenu, C., 1992. Interactions between soil minerals and microorganisms, in: *Soil Biochemistry*. pp. 307–404.
- Romig, D.E., Garlynd, M.J., Harris, R.F., 1996. Farmer-Based Assessment of Soil Quality: A Soil Health Scorecard 1. *Methods Assess. Soil Qual.* 39–60.
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56.
- Schrumpf, M., Schumacher, J., Schöning, I., Schulze, E.-D., 2008. Monitoring Carbon Stock Changes in European Soils: Process Understanding and Sampling Strategies, in: Dolman, A.J., Valentini, R., Freibauer, A. (Eds.), *Ecological Studies*. Springer New York, pp. 153–189.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Deneff, K., 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Res.* 79, 7–31.
- Six, J., Callewaert, P., Lenders, S., De Gryze, S., Morris, S.J., Gregorich, E.G., Paul, E.A., Paustian, K., 2002. Measuring and understanding carbon storage in afforested soils by physical fractionation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66, 1981–1987.
- Six, J., Elliott, E.T., Paustian, K., 1999. Aggregate and soil organic matter dynamics under conventional and no-tillage systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 1350–1358.
- Smith, J.L., Paul, E.A., 1990. The significance of soil microbial biomass estimations. *Soil Biochem. Vol. 6.* 357–396.
- Sparling, G., 1998. Hot-water-soluble C as a simple measure of labile soil organic matter: the relationship with microbial biomass C. *Soil Biol. ....*
- Strickland, M.S., Rousk, J., 2010. Considering fungal:bacterial dominance in soils – Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1385–1395.
- Thomson, L.J., Hoffmann, A.A., 2007. Effects of ground cover (straw and compost) on the abundance of natural enemies and soil macro invertebrates in vineyards. *Agric. For. Entomol.* 9, 173–179.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*.
- Tiunov, A. V., Scheu, S., 1999. Microbial respiration, biomass, biovolume and nutrient status in burrow walls of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae). *Soil Biol. Biochem.* 31, 2039–2048.
- Tóth, G., Stolbovoy, V., Montanarella, L., European Commission. Joint Research Centre. Institute for Environment and Sustainability., 2007. Soil quality and sustainability evaluation : an integrated approach to support soil-related policies in the European Union: a JRC position paper. Publications Office.
- Trigalet, S., Chartin, C., Krüger, I., Carnol, M., Oost, K. Van, Van Wesemael, B., 2017. Soil organic carbon fractionation for improving agricultural soil quality assessment – a case study in Southern Belgium (Wallonia). *Biotechnol. Agron. Soc. Env.* 21, 191–200.
- Van-Camp, L., Bujarrabal, B., Gentile, A.R., Jones, R.J.A., Montanarella, L., Olazabal, C., Selvaradjou, S.K., 2004. Organic Matter and Biodiversity. Reports Tech. Work. groups Establ. under Themat. Strateg. soil Prot. 3, 311–496.
- van Capelle, C., Schrader, S., Brunotte, J., 2012. Tillage-induced changes in the functional diversity of soil biota

- A review with a focus on German data. *Eur. J. Soil Biol.* 50, 165–181.
- van Diepeningen, A.D., de Vos, O.J., Korthals, G.W., van Bruggen, A.H.C., 2006. Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils. *Appl. Soil Ecol.* 31, 120–135.
- Violle, C., Navas, M.L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., Garnier, E., 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116, 882–892.
- von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E., Marschner, B., 2007. SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2183–2207.
- Wallace, K.J., 2007. Classification of ecosystem services: Problems and solutions. *Biol. Conserv.* 139, 235–246.
- Warkentin, B.P., 1995. The changing concept of soil quality, *Journal of soil and water conservation*. Soil and Water Conservation Society.
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., Peigné, J., 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 1–20.
- Wiesmeier, M., Hübner, R., Spörlein, P., Geuß, U., Hangen, E., Reischl, A., Schilling, B., Von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., 2014. Carbon sequestration potential of soils in southeast Germany derived from stable soil organic carbon saturation. *Glob. Chang. Biol.* 20, 653–665.
- Wood, M., Litterick, A.M., 2017. Soil health - What should the doctor order? *Soil Use Manag.* 33, 339–345.