

RAPPORT DE SYNTHÈSE

Référence du projet : MICROSOILSYSTEM

Titre du projet : Réduction d'intrants par application de consortia microbiens formulés à finalité bio-stimulante et de bio-contrôle adaptés au fonctionnement des sols en agriculture conventionnelle et de conservation.

Date de démarrage et de fin du projet :

du 01/03/2018 au 29/02/2024

Durée du projet : 72 mois

Organismes partenaires du projet

Partenaire n°1 Coordinateur	Organisation	Université catholique de Louvain	Type	UNIV
	Adresse	Croix du Sud, 3, L7.05.06, 1348 Louvain-la-Neuve		
	Nom/Prénom du responsable	DECLERCK STEPHANE		
	Numéro de téléphone du responsable	010 47 46 44		
	E-mail du responsable	stephan.declerck@uclouvain.be		
	Intervention dans projet le 1et/ou le projet 2	☒ P1 ☒ P2		

Partenaire n°2	Organisation	Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech	Type	UNIV
	Adresse	Passage des déportés, 2, 5030 Gembloux		
	Nom/Prénom du responsable	ONGENA MARC		
	Numéro de téléphone du responsable	081 622311		
	E-mail du responsable	Marc.ongena@ulg.ac.be		
	Intervention dans projet le 1et/ou le projet 2	☒ P1 ☒ P2		

Partenaire n°3	Organisation	Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech	Type	UNIV
	Adresse	Avenue Maréchal Juin 27, 5030 GEMBOUX		
	Nom/Prénom du responsable	CORNELIS JEAN-THOMAS		
	Numéro de téléphone du responsable	081 62 25 38		
	E-mail du responsable	jtcornelis@ulg.ac.be		
	Intervention dans projet le 1et/ou le projet 2	☒ P1 ☐ P2		

Partenaire n°4*	Organisation	CRAW – Cellule transversale de Recherches en Agriculture biologique	Type	CRA-W
	Adresse	9, rue de Liroux – 5030 GEMBOUX		
	Nom/Prénom du responsable	VAN DAMME JULIE		
	Numéro de téléphone du responsable	081626543		
	E-mail du responsable	j.vandamme@cra.wallonie.be		
	Intervention dans projet le 1et/ou le projet 2	☒ P1 ☒ P2		

* Le partenaire 4 initialement impliqué dans le projet a changé au cours de la première triennale du projet pour être remplacé par le partenaire suivant :

Partenaire n°4	Organisation *	CRAW – Unité de recherches Sols, Eaux et Productions intégrées	Type	CRA-W
	Adresse	4, rue du bordia – 5030 GEMBOUX		
	Nom/Prénom du responsable *	HUYGHEBAERT, BRUNO		
	Numéro de téléphone du responsable	+32 81 87 42 00		
	E-mail du responsable	b.huyghebaert@cra.wallonie.be		
	Intervention dans le projet 1et/ou le projet 2	☒ P1 ☒ P2		

1. Contexte

La dépendance à l'égard des produits phytopharmaceutiques entraîne des risques pour la santé humaine et des problèmes importants de pollution de l'environnement et de résistance des agents phytopathogènes. Les réglementations européennes relatives à l'utilisation des pesticides et fertilisants sont de plus en plus strictes pour garantir la qualité des aliments et protéger la santé des écosystèmes. Il existe donc une demande croissante pour trouver des alternatives efficaces pour réduire l'utilisation des intrants de synthèse. Dans ce contexte, l'utilisation de biostimulants microbiens permettant d'améliorer le prélèvement des nutriments et d'augmenter la résistance des plantes aux maladies est une solution d'avenir. Néanmoins, l'utilisation de micro-organismes en agriculture ne peut être envisagée sans l'adoption de pratiques favorables aux micro-organismes bénéfiques naturellement présents dans les sols. Actuellement, la plupart des produits microbiens destinés à promouvoir la croissance des plantes ou à les protéger contre les maladies et ravageurs sont généralement basés sur un seul microorganisme dont l'efficacité peut varier en fonction des conditions locales. En effet, ces produits ne prennent généralement pas en compte les propriétés physico-chimiques du sol, le contexte climatique et les pratiques agricoles. Il en résulte une efficacité variable et bien souvent une absence de reproductibilité des résultats d'un agroécosystème à l'autre et d'un itinéraire phytotechnique à l'autre. Dans ce contexte, MicroSoilSystem avait pour objectif i) de développer des consortia microbiens formulés à finalité bio-stimulante et de biocontrôle adaptés au fonctionnement des sols en agriculture biologique, conventionnelle et de conservation des sols, et ii) d'identifier les pratiques agricoles favorables aux microorganismes bénéfiques naturellement présents dans les parcelles, dans un but de réduction des intrants de synthèse.

2. Objectifs

L'objectif de MicroSoilSystem était de mettre au point des consortia de microorganismes formulés à finalité bio-stimulante et de biocontrôle adaptés au fonctionnement des sols en agriculture conventionnelle, biologique et de conservation des sols. Il s'agissait d'exploiter les potentialités complémentaires des bactéries bénéfiques de la rhizosphère (PGPR, Plant Growth Promoting Rhizobia) et des champignons mycorhiziens (CMA, Champignons Mycorhiziens à Arbuscules) en les formulant en un produit unique adapté à la machinerie agricole. Cette combinaison visait à la fois la biostimulation des cultures via un prélèvement accru des éléments nutritifs du sol et le biocontrôle des maladies fongiques du froment (fusariose, septoriose).

De manière tout à fait novatrice, MicroSoilSystem visait à mieux comprendre les relations entre l'écosystème microbien, les propriétés physico-chimiques des sols et les pratiques agricoles, afin d'une part d'optimiser le prélèvement d'eau et de nutriments par les cultures et d'autre part d'accroître la résistance de ces dernières aux ravageurs et maladies dans un contexte d'agriculture biologique, conventionnelle ou de conservation des sols.

Les actions menées se déclinent en cinq grands axes de recherche:

- l'effet des bactéries PGPR et des pyoverdines qu'elles produisent sur la physico-chimie du sol, notamment sur la disponibilité du fer et du phosphore,
- la compatibilité des bactéries PGPR et des CMA dans la rhizosphère des plantes,

- la formulation des microorganismes bénéfiques pour une application au champ,
- l'effet des microorganismes sur la bio-stimulation et la bio-protection des cultures,
- l'impact des pratiques culturales sur les CMA indigènes au sol de la parcelle ou introduits via les consortia.

3. Conclusions synthétiques d'interprétation des résultats des travaux

MicroSoilSystem a généré de nombreux résultats pour répondre aux questions posées:

1- Impact des micro-organismes bénéfiques sur la disponibilité en nutriments :

Les résultats ont montré que la pyoverdine purifiée de *Pseudomonas putida* permet une dissolution efficace de la goethite, montrant une plus grande efficacité que les acides organiques. La pyoverdine permet également la co-solubilisation du P. De plus, les résultats obtenus montrent un effet de la pyoverdine sur la dissolution des oxydes de fer naturellement présents dans les sols de nos régions. Il a été montré que la pyoverdine solubilise le fer mais permet également la co-solubilisation du P associé aux oxydes de Fer. Les résultats ont montré également un contraste en fonction de l'acidité des deux milieux d'étude (pH 6 et pH 8) et représentatifs des sols agricoles analysés. Malgré une meilleure libération des nutriments, aucun effet biostimulant n'a pu être démontré sur le froment d'hiver carencé ou non en oxydes de fer.

2- L'interaction bactérie – CMA

Au démarrage du projet, peu d'informations étaient disponibles sur les interactions entre CMA et bactéries PGPR. Dans ce projet, des interactions entre les CMA et la PGPR *Bacillus velezensis* ont été étudiées en conditions *in vitro*, en pots et au champ. Les principaux enseignements sont les suivants :

- La bactérie *B. velezensis* GA1 ou ses exsudats entraînent un effet retard sur la germination des spores de CMA. Il en est de même des lipopeptides (molécules antifongiques) produits par la bactérie.
- Au contraire, *B. velezensis* GA1 n'impacte pas l'intégrité des hyphes du CMA en croissance, ni les flux métaboliques, c'est-à-dire la vitalité du champignon. Une augmentation du flux a même été quantifiée, suggérant une accélération du métabolisme fongique en présence de la bactérie.
- Dans un milieu de culture dépourvu de carbone soluble, la croissance et la formation d'un amas de colonies multicellulaires de *B. velezensis* GA1 a été observée autour des hyphes du CMA, suggérant que les composés exsudés par le champignon peuvent servir à la croissance bactérienne.
- *Bacillus velezensis* GA1 diminue la production de lipopeptides autour du mycélium du champignon. Cela suggère que la bactérie reconnaît le champignon comme organisme 'ami' et module sa production de lipopeptides pour ne pas l'impacter.
- Les interactions multiples entre la plante, la bactérie et le champignon dépendent à la fois du contexte environnemental, du stade phénologique de la plante, des souches microbiennes et variétés de blé.

3- Formulation d'un produit basé sur l'encapsulation et l'enrobage des CMA et bactéries

Les résultats obtenus *in vitro* ont montré une capacité des microorganismes *R. irregularis* (CMA) et *B. velezensis* (bactérie PGPR) encapsulés ensemble dans des billes d'alginate à (1) survivre et à se développer ensemble hors des billes et (2) à coloniser les racines de froment d'hiver. En revanche, les méthodes d'enrobage des graines avec les microorganismes n'ont pas permis d'aboutir à des résultats concluants. Un problème de survie des microorganismes dans la formulation a été observé, sans doute lié aux matériaux d'enrobage.

4- Biostimulation et biocontrôle des pathogènes :

En conditions de laboratoire, les résultats ont montré une résistance plus importante du blé vis-à-vis de la fusariose (*Fusarium graminearum* MUCL 42825) en présence d'une souche bactérienne *B. velezensis* et des CMA *R. intraradices* et *R. irregularis*. Au niveau de la recherche des mécanismes impliqués, les souches bactériennes sélectionnées ont montré une action inhibitrice sur la croissance mycélienne des souches de *Fusarium tricinctum* et de *F. graminearum*, provoquant la fusariose. La comparaison avec des bactéries mutantes incapables de produire des lipopeptides a permis de mettre en avant le rôle des lipopeptides dans l'action antifongique.

5- L'impact des pratiques culturales sur les champignons mycorhiziens

L'analyse des taux de mycorhization de racines de froment d'hiver au sein d'un réseau de 48 parcelles en ferme a permis de tirer les conclusions suivantes :

- L'abondance des CMA dans les racines de froment semble être gouvernée en grande partie par la succession culturale. Les principales cultures améliorantes sont la prairie temporaire de deux ans ou plus et le maïs. Cela peut s'expliquer par i) la haute affinité de la plupart des graminées (et des légumineuses) pour les champignons mycorhiziens ; ii) l'application limitée de produits phytosanitaires sur ces cultures et iii) le cycle végétatif de ces cultures, qui couvre bien la période utile au développement mycorhizien (de la mi-avril à la mi-octobre environ, lorsque la température du sol est > 10 °C). Les principales cultures affaiblissantes sont les cultures qui ne mycorhizent pas (chénopodiacées : betterave, épinard, quinoa ; crucifères : colza, moutarde, radis et probablement la phacélie, une hydrophyllacée). Les engrais verts multi-espèces ainsi que les plantes compagnes dans les cultures de betterave ou de colza peuvent faire office de « relais mycorhize ».
- Les parcelles cultivées en agriculture biologique ont montré en moyenne un niveau de mycorhization supérieur à celui des terres conventionnelles. Cela peut être le reflet i) de rotations plus favorables et ii) de l'exclusion de la plupart des intrants de synthèse (pesticides, fertilisants minéraux) qui remplacent les services rendus par la symbiose mycorhizienne au détriment de la symbiose.
- Par rapport à la rotation, l'intensité de travail du sol et la concentration en P disponible apparaissent comme des facteurs largement secondaires pour expliquer les taux de mycorhization des racines.
- Des endophytes fins des racines ont été détectés fréquemment dans les racines de froment d'hiver. Ce sont des champignons mycorhiziens particuliers qui remplacent ou cohabitent avec les CMA classiques lorsque ces derniers sont fortement mis à l'épreuve, par exemple par un historique cultural défavorable.
- Un herbicide total comme un labour rompt le cycle des plantes hôtes. La symbiose mycorhizienne s'installera dans la culture d'après si les propagules champignons rencontrent les conditions requises, notamment une température du sol suffisante (> 10°C). D'une année à l'autre en fonction des dates et des conditions de semis, la culture de froment d'hiver pourra ainsi mycorhizer avant la période hivernale ou non. Cela peut fortement influencer les chances de succès d'un biostimulant microbien appliqué en enrobage de semence.

Des essais en serre et au champ sur l'effet des traitements de semence sur la mycorhization du froment d'hiver ont également été menés. A l'exception du Cerall (produit microbien à base de *Pseudomonas chlororaphis* MA342, agréé en agriculture biologique), tous les traitements de semences testés ont entraîné un retard de mycorhization du froment d'hiver à au moins une date au cours de l'essai en serre. Un phénomène de rattrapage partiel ou complet a été observé pour les produits composés d'un seul principe actif (Difend, Redigo, Celest, vinaigre, Cerall). En revanche, l'effet des produits combinés peut soit empêcher le rattrapage (Kinto Duo, Difend Extra) soit le favoriser (vibrance duo). Puisque les traitements de semence agréés en agriculture biologique (vinaigre, Cerall) tendent à retarder la mycorhization malgré une protection partielle contre les

maladies de la semence, la recherche de méthodes d'assainissement des semences alternatives (ex. traitement vapeur) nous semble nécessaire.

Des essais de biostimulation du froment par inoculation avec des champignons mycorhiziens multipliés en laboratoire ont eu lieu au cours de la saison culturale 2022-2023. Malheureusement, ces essais n'ont pas été concluant en raison d'un problème de viabilité des microorganismes dans la formulation. Néanmoins, nous avons observé à travers les essais que les pourcentages de mycorhization étaient inversement proportionnels à la disponibilité en azote du sol, ce qui suggère que la plante modulerait l'intensité de la symbiose en fonction de ses besoins. La symbiose mycorhizienne aurait ainsi un statut d'assurance pour la plante.

4. Impact actuel sur l'agriculture wallonne et perspectives futures de cet impact

- Développement de nouveaux moyens biologiques de biostimulation et bioprotection des cultures

Même si l'efficacité des consortia microbiens n'a pas pu être démontrée au champ, le projet a permis de démontrer la compatibilité entre certaines bactéries PGPR productrices de lipopeptides antifongiques et des champignons mycorhiziens dans un biostimulant formulé. Le projet a permis d'identifier différentes souches bactériennes et fongiques prometteuses dans une optique de biostimulation et bioprotection, et d'identifier les principes actifs derrière l'action antifongique des bactéries PGPR sélectionnées. Les échecs concernant la formulation des consortia pour l'application au champ sont une source d'information importante qui ouvre la voie vers d'autres matériaux d'enrobage et d'autres techniques, telles que le trempage, l'inoculation d'un substrat (terreau, biochar) ou l'encapsulation dans des billes d'alginate. L'analyse du cycle de vie des champignons mycorhiziens suggère que certaines cultures de printemps (maïs, pomme de terre, ...) ont plus de chances de répondre positivement aux consortia microbiens que les cultures d'hiver, implantées dans des conditions froides. Par exemple, le maïs semble être une plante modèle intéressante, notamment en raison de ses besoins en phosphore au début de son développement. Le projet a ainsi ouvert de nouvelles perspectives prometteuses concernant l'utilisation de consortia microbiens en agriculture dans une stratégie de réduction d'intrants.

- Identification des opportunités, des enjeux, des freins et des risques autour de l'utilisation de microorganismes en agriculture

A travers un débat avec différents acteurs du secteur agricole, l'évènement de clôture du projet a permis d'identifier les opportunités, les enjeux, les freins et les risques inféodés à l'utilisation des microorganismes en agriculture. Au cours du débat, il a été souligné que les intrants microbiens peuvent jouer un rôle important pour atteindre les objectifs de réduction d'intrants du Green Deal. Néanmoins, aujourd'hui l'intérêt qu'on leur porte est largement conjoncturel et lié au coût des engrais classiques. Un enjeu de taille est la viabilité des microorganismes dans les formulations. Ce problème peut expliquer en partie la difficulté d'obtenir des résultats stables avec l'application d'agents microbiens. Le succès sera aussi nettement tributaire des bonnes conditions d'application. Pour généraliser l'usage de ce type de produits, il est nécessaire que l'agriculteur ait un retour sur investissement garanti lors de l'usage. La rentabilité économique des applications de produits microbiens est très difficile à mesurer et à documenter, ce qui peut diminuer la confiance des agriculteurs. La question du risque lié à l'introduction d'espèces exogènes à la parcelle a été abordé. Comment les microorganismes vont-ils interagir avec les populations locales ? Quel est le risque d'introduction d'espèces invasives ? A priori, ces risques sont infondés pour la plupart des produits qui contiennent des bactéries ou des champignons naturellement présents dans les sols de nos régions.

- Identification des pratiques agricoles favorables à la microflore fonctionnelle

De nombreux enseignements ont pu être tirés concernant l'effet des pratiques agricoles sur les CMA. En effet, l'étude sur la mycorhization du froment dans un réseau de parcelles en ferme a permis de hiérarchiser les principaux facteurs agronomiques favorables ou défavorables aux CMA naturellement présents dans les sols agricoles de Wallonie. Les résultats ont montré que les propriétés du sol (teneur en P assimilable et matière organique) et le labour n'influencent pas la colonisation du froment. Au contraire, la conduite en AB, mais plus encore la succession culturale avec des cultures hautement mycorhizogènes (maïs, prairies temporaires) influencent positivement les pourcentages de colonisation du froment.

Ces résultats contribuent à promouvoir les pratiques agricoles permettant de préserver les microorganismes bénéfiques naturellement présents dans les sols wallons, et contribuent ainsi à augmenter la durabilité des systèmes de production alimentaires.

- Diffusion des résultats de recherche

Les résultats ont été principalement diffusés au travers des associations d'agriculteurs, des structures d'encadrement du secteur agricole ou de la presse spécialisée du domaine. Le CRA-W a été responsable de cette diffusion en particulier vers l'agriculture biologique. Les résultats ont été diffusés dans des revues de presse agricole, notamment Itinéraires BIO, le Livre Blanc Céréales 2023 ou encore Pleinchamp, qui a écrit un article sur l'évènement de restitution du projet. Les principales références à destination du secteur agricole sont les suivantes :

- Hardy, B., Calonne-Salmon, M., Motet, A., Declerck, S. & Huyghebaert, B. (2024) La symbiose mycorhizienne de la culture de froment d'hiver : les principaux acquis du projet MicroSoilSystem. Itinéraires BIO (74), 49-52 (disponible sur : https://www.biowallonie.com/wp-content/uploads/2024/01/Brochure_A4_Itineraires-BIO74_V6-DEF-web.pdf)
- Hardy, B., Calonne-Salmon, M., Declerck, S., Huyghebaert, B. (2023) L'effet des pratiques agricoles sur la mycorhization du froment d'hiver. Itinéraires BIO, 70, mai-juin, 47-53 (disponible sur : https://www.biowallonie.com/wp-content/uploads/2023/05/Brochure-A4-Itineraires-BIO-70_web.pdf)
- Hardy, B., Belvaux, E., Calonne-Salmon, M., Huyghebaert, B., Declerck, S. (2023) L'effet des traitements de semence sur la mycorhization du froment d'hiver. Livre Blanc Céréales février 2023 – p. 222-226 (disponible sur : <https://www.livre-blanc-cereales.be/wp-content/uploads/2023/03/2023-02-4.-Perspectives.pdf>)
- Hardy, B., Vanwindekens, M., Morelle, M., Huyghebaert, B., 2021. Le sol en agriculture biologique ou de conservation: critères diagnostiques de son état de santé et effets des changements de pratiques. Itinéraires BIO, 57, p. 52-57 (disponible sur : https://www.biowallonie.com/wp-content/uploads/2021/03/Brochure-A4-Itineraire-BIO_web.pdf)
- Hardy, B., Vanwindekens, F., Morelle, M., Huyghebaert, B., 2021. La conversion à l'agriculture biologique en Wallonie : moteurs, contraintes et enjeux. Itinéraires BIO, 56, p. 57-62 (disponible sur : https://www.biowallonie.com/wp-content/uploads/2021/01/Brochure-A4-Itineraire-BIO-56_WEB.pdf).

Les résultats ont aussi été diffusés oralement (présentations orales ou posters) lors de divers évènements :

- Hardy, B. (2022) L'effet des pratiques agricoles sur la colonisation du froment d'hiver par les champignons mycorhiziens à arbuscules en région wallonne. Présentation orale, Journée d'échange dans le cadre du projet Générations Terres 20/01/2022

- Hardy, B. (2022) L'effet des pratiques agricoles sur la colonisation du froment d'hiver par les champignons mycorhiziens à arbuscules en région wallonne. Présentation orale, Festival de l'Agroécologie et de l'Agriculture de Conservation – 3ième édition, 22-23/06/2022
- Hardy, B., Calonne, M., Huyghebaert, B. & Declerck, S. (2022). Identification des facteurs agronomiques favorables ou défavorables aux champignons mycorhiziens à arbuscules dans les sols agricoles en région wallonne (projet MicroSoilSystem). Poster, Foire Agricole de Libramont, 29 juillet – 1er août 2022.
- Hardy, B., Motet, A., & Huyghebaert, B (2023). L'effet des pratiques agricoles sur la mycorhization du froment d'hiver : les acquis d'une étude dans un réseau de parcelles (MicroSoilSystem). Poster présenté dans le cadre de la semaine BIO.
- Visite de l'essai d'Assesse le 9 juin 2023 dans le cadre de la semaine BIO.
- Hardy, B., Calonne-Salmon, M., Motet, A., Ongena, M., Jacques, P., Declerck, S. & Huyghebaert, B. MicroSoilSystem (2023). Présentation des principaux acquis des expériences au champ. Journée thématique "restaurer la fertilité des sols: un des grands défis de la transition agroécologique !", 12 octobre 2023

L'évènement de restitution des résultats du projet à destination du secteur agricole (agriculteurs, encadrement, recherche, administration, ...) qui s'est tenu le 28 février 2024, s'est clôturé par un débat sur l'utilisation des microorganismes en agriculture, au cours duquel différents représentants du secteur ont été invités à prendre la parole.

Ces échanges, ainsi que les supports de présentations et l'enregistrement de l'évènement sont disponibles sur <https://www.cra.wallonie.be/fr/cloture-du-projet-microsoilssystem>.