

L'activité biologique des sols • Méthodes d'évaluation¹

TECHNITAB
viticulture

L'activité biologique des sols

Qu'est-ce que l'activité biologique?

La plupart des transformations d'intérêt agronomique dans le sol sont d'origine biochimique. Leur déroulement est conditionné par la présence d'êtres vivants et par leurs enzymes. Ces réactions sont aussi impliquées dans les processus de formation du sol (pédogenèse) et de la nutrition des plantes.

Un sol n'existe que lorsque des organismes vivants et des matières organiques s'ajoutent aux minéraux issus de la décomposition de la roche. Ce système complexe (organismes vivants, matières organiques, minéraux) contribue activement aux processus d'altération des roches, de formation des agrégats, de migrations, autrement dit à la pédogenèse.

La nutrition des plantes dépend aussi de réactions biochimiques. En effet, les microorganismes, loin d'être répartis de manière homogène dans le sol, forment autour des moindres racines une sorte de film continu (la rhizosphère). C'est à ce niveau qu'ont lieu les échanges entre les matières organiques et minérales du sol et la plante.

La connaissance de l'activité biologique d'un sol permet donc d'approcher la dynamique d'évolution du sol et les capacités d'échanges entre le sol et la plante.

Quelles approches possibles?

Le fonctionnement général des sols ainsi que certaines de leurs propriétés agronomiques, sont liés plus ou moins directement à l'activité des très nombreux êtres vivants qu'ils contiennent. Il est donc tout à fait légitime, surtout en agriculture biologique, de chercher à utiliser des mesures biologiques pour



Prélèvement d'échantillons de sol dans une vigne biologique (essai sur les effets du cuivre sur les microorganismes du sol)

mieux connaître et gérer les sols dans une perspective agronomique.

Quelles sont les mesures biologiques et biochimiques opérationnelles, c'est-à-dire véritablement utilisables pour juger des effets des pratiques agricoles sur la qualité des sols et de l'environnement ? Ces mesures peuvent-elles être utilisées en agriculture biologique comme outil d'aide à la décision, pour évaluer les potentialités des sols ou aider à gérer la fertilisation ?

Il faut reconnaître qu'aujourd'hui encore très peu de grandeurs biologiques ou biochimiques sont à la fois mesurables aisément et interprétables en termes agronomiques. Nous présentons dans cette fiche les principales méthodes de laboratoire, applicables à des échantillons de sols et susceptibles d'apporter des informations utiles sur certaines propriétés agronomiques des parcelles dont les échantillons sont issus.

Cette démarche analytique est complémentaire de l'observation agro-pédologique de terrain. Les mesures biologiques complètent les mesures classiques, elles ne peuvent s'y substituer.

En effet, pour interpréter correctement les résultats des déterminations biologiques, il est nécessaire de disposer des résultats de l'analyse de terre classique, sur le même prélèvement.

Les indicateurs de l'activité biologique

Les approches globales indicatrices de l'activité biologique

■ La biomasse microbienne

La notion de biomasse microbienne recouvre l'ensemble des microorganismes du sol : bactéries, champignons, etc. La méthode utilisée pour évaluer la biomasse microbienne du sol consiste à mesurer le carbone (ou l'azote) qu'elle contient. La technique la plus utilisée est la fumigation-extraction, qui fait appel aux vapeurs de chloroforme et au dosage du carbone solubilisé par ce traite-

¹ Fiche rédigée à partir du document sur les méthodes d'évaluation de l'activité biologique de l'ITAB, consultable sur le site de l'ITAB : www.itab.asso.fr à la rubrique agronomie.

ment. La différence du carbone organique soluble entre les échantillons fumigés et non fumigés donne la quantité de carbone extractible d'origine microbienne.

Cette quantité est directement proportionnelle à la biomasse. La biomasse microbienne est donc une mesure globale, représentant une quantité de carbone vivant dans le sol. Le résultat peut être exprimé en valeur absolue (mg de C par kg de sol), mais également en pourcentage du carbone organique total du sol.

Cette méthode présente l'avantage d'être universelle (applicable à tous types de sol), pratiquement "normalisée" et relativement facile à mettre en œuvre. Elle donne des résultats parfaitement reproductibles et avec une précision rarement atteinte en biologie. Grâce à cela, elle a détrôné les numérations de germes qui étaient autrefois utilisées.

■ Le pool de matières organiques du sol

La matière organique du sol ne forme pas un ensemble homogène : il s'agit au contraire d'un mélange de différents composés, plus ou moins complexes au

Qu'est-ce qu'un bon indicateur ?

Dans la pratique, pour être véritablement opérationnel, un paramètre biologique doit répondre à au moins trois critères.

- Être **pertinent** par rapport à une composante identifiée de la qualité biologique des sols et faire explicitement référence.
- Être **mesurable** de façon fiable, reproductible et accessible à un coût abordable.
- Le résultat doit être **interprétable**, ce qui sous-entend de disposer d'un référentiel d'interprétation. A défaut, seule une comparaison en valeurs relatives est possible, pour comparer des traitements d'un même essai par exemple. L'interprétation des résultats peut donner des indications pour modifier les pratiques culturales afin de corriger le dysfonctionnement ou de s'adapter au type de fonctionnement particulier du sol de la parcelle, en fonction des objectifs de l'agriculteur.

plan biochimique et plus ou moins biodégradables au plan biologique.

La majeure partie de la matière organique du sol est très stable et ne participe pratiquement pas aux cycles biogéochimiques. La fraction vivante (la biomasse microbienne) a un taux de renouvellement important mais ne représente qu'un faible pourcentage (1 à 3 %) de la matière organique totale.

Entre la biomasse microbienne et l'humus très stable, on peut imaginer l'existence d'une fraction organique intermédiaire dite "pool labile", qui va jouer un rôle important dans les cycles biogéochimiques.

Pour quantifier cette fraction organique (pool labile), plusieurs approches complémentaires sont possibles.

• Extraction à l'eau chaude

Il s'agit d'une approche biochimique en cohérence avec l'approche biologique préalable.

Les matières organiques extraites (16 heures à 80°C minimum) correspondent à des matières organiques de genèse récente, mal définies chimiquement, mais qui semblent jouer un rôle dans l'agrégation des particules de sol et la stabilité des agrégats. Pour un type de sol donné, ce pool de matière organique est généralement bien corrélé à la taille de la biomasse microbienne dans des systèmes à l'équilibre.

• Fractionnement granulométrique

Cette approche, de type physique, consiste à évaluer les stocks de carbone et d'azote organique associés aux différentes fractions granulométriques du sol. Les fractions grossières (> 50 µm) sont formées de matières organiques reconnaissables : résidus d'origine végétale ou provenant d'amendements organiques non décomposés ou en cours de décomposition, parfois partiellement humifiés, débris racinaires ...

Les fractions fines (<50 µm) contiennent une matière organique non reconnaissable liée aux limons et aux argiles, incluant la matière organique humifiée ou en voie d'humification et une partie de la biomasse microbienne. Le fractionnement granulométrique du sol permet donc l'accès à des fractions de matières organiques de natures différentes qui ont une signification fonctionnelle en terme d'effets sur les

propriétés physiques, chimiques ou biologiques des sols.

• Méthode Hérody

Cette méthode d'analyse consiste à identifier la fraction non humifiée des matières organiques. Il s'agit d'une fraction constituée de molécules subissant uniquement des phénomènes de minéralisation. Ces molécules sont facilement utilisables par les micro-organismes. En tant que nourriture pour les organismes vivants du sol, elles participent et sont indispensables à l'humification.

■ La minéralisation du carbone et de l'azote

Cette méthode consiste à mesurer la minéralisation du carbone et de l'azote en conditions contrôlées, (proches de l'optimum biologique) : les échantillons de sol sont incubés durant 28 jours à 28°C et à une teneur en eau voisine de la capacité au champ.

Lors de cette incubation, la minéralisation du carbone lorsqu'elle est rapportée à la taille de la biomasse microbienne donne la "respiration spécifique". Cette mesure très simple complète utilement la détermination de la biomasse, puisqu'elle permet d'évaluer le renouvellement de celle-ci.

Parallèlement, l'azote minéral présent dans l'échantillon de sol peut être déterminé avant et après l'incubation. Ces déterminations s'avèrent très utiles pour caractériser des échantillons de sol. Elles prennent tout leur intérêt lorsqu'il s'agit de comparer des traitements différents sur un même type de sol.

Il est par ailleurs possible d'extrapoler au champ les observations de laboratoire, c'est-à-dire de transformer des vitesses de minéralisation exprimées en mg N/kg/jour en kg N/ha produit pendant une période donnée.

Les activités enzymatiques du sol

Les déterminations quantitatives de nombreuses activités enzymatiques sont possibles sur des échantillons de sol. La présence et l'activité d'êtres vivants dans le sol se traduit par la synthèse de toutes sortes d'enzymes :

- localisées à l'intérieur des cellules (intracellulaires) ou à l'extérieur (extracellulaires),

- adsorbées sur des matières organiques ou minérales (argiles, etc.),
- formant des co-polymères avec des substances humiques.

Les activités les plus couramment mesurées sont les suivantes.

Oxydo-réductases

Il s'agit d'enzymes de type respiratoire, dont la plus courante est la déshydrogénase. Cette mesure est parfois incluse dans des tests écotoxicologiques pour une estimation rapide de l'activité globale du sol ; toutefois les résultats sont assez variables en fonction des conditions opératoires.

Hydrolases

La plupart des enzymes du sol (estérases, phosphatases, sulfatases...) appartiennent à ce groupe et les activités qui s'y rattachent correspondent fréquemment à des transformations d'intérêt agronomique.

La méthode consistant à mesurer l'hydrolyse du FDA (di-acétate de fluorescéine), présente l'avantage de concerner plusieurs groupes d'enzymes différentes (protéases, lipases, etc.). Elle permet une mesure plus globale de l'activité enzymatique microbienne.

Deux inconvénients majeurs affectent les mesures d'activités enzymatiques.

- D'une part, elles sont souvent pratiquées dans des conditions standard qui ne sont pas forcément celles régnant *in situ*. Par exemple, l'hydrolyse du FDA est pratiquée à pH 7.6, quel que soit le pH initial du sol étudié.
- D'autre part, leur spécificité très étroite rend difficile l'interprétation des mesures et leur utilisation pratique lorsque plusieurs activités enzymatiques différentes sont utilisées pour comparer deux échantillons de sol différents, il est souvent difficile de conclure.

Au total, malgré la grande diversité des déterminations enzymatiques possibles, il s'avère difficile de traduire ces mesures en termes de fertilité.

Mesures de populations microbiennes particulières

Ces méthodes sont pratiquées pour évaluer l'abondance de microorganismes particuliers, comme les fixateurs libres ou symbiotiques de l'azote.

Les populations de *Rhizobium*, capables de noduler telle ou telle Légumineuse, peuvent être dénombrées de cette façon. Le cas particulier des champignons mycorhiziens est développé cidessous. D'autres méthodes de caractérisation des populations microbiennes existent mais restent pour l'instant réservées au domaine de la recherche. Elles concernent notamment l'estimation de la diversité génotypique ou phénotypique. Mais on est encore très loin de tout connaître sur les relations entre biodiversité microbienne et fonctionnement des agrosystèmes !

Les mycorhizes

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques entre des champignons du sol et les racines des plantes. Il en existe deux principaux types, les ectomycorhizes (externes aux racines) et les endomycorhizes (internes aux racines).

Les mycorhizes qui concernent les plantes cultivées sont les endomycorhizes à vésicules et à arbuscules. Seules les Crucifères (comme le colza) et les Chénopodiacées (comme la betterave) en sont dépourvues.

La mycorhization des racines améliore l'alimentation hydrique et minérale de la plante. Le premier bénéfice de la symbiose est donc d'ordre nutritif. On peut utiliser l'évaluation de la mycorhization comme un indicateur de fertilité biologique du sol. Il existe deux types d'analyses.

■ Mesure du taux d'endomycorhization des racines

On mesure le niveau de mycorhization des racines des plantes durant la culture. Il est exprimé en % de longueur de racine où la symbiose mycorhizienne est présente. Ce taux de mycorhization est fonction des plantes, des variétés, des conditions de culture (fertilisation, fongicides, travail du sol, ...) et de la richesse en mycorhizes du sol de départ.

■ Analyse du Pouvoir Endomycorhizogène du sol : le PEM

Elle consiste à estimer la richesse en champignons endomycorhiziens du sol (nombre de propagules de champignon capables d'engendrer une mycorhization des racines par kilogramme de sol). Le PEM permet de mettre en évidence un

état biologique de la parcelle et peut servir d'indicateur biologique pour gérer la parcelle. Un PEM élevé est le reflet d'un bon état biologique du sol. Le PEM est jugé acceptable autour de 1500, et trop faible en dessous de 500.

Il est bien entendu plus faible après une culture non mycotrophe (colza, betterave) qu'après une culture mycotrophe.

En vigne, compte tenu du caractère pérenne de la plante et de la difficulté à prélever des racines, il est difficile d'évaluer le taux d'endomycorhization.

L'analyse du PEM est possible mais son interprétation agronomique reste délicate.

Comment réaliser l'échantillonnage ?

Chaque analyse nécessite un contact préalable avec le laboratoire pour bien réaliser la prise d'échantillon (nombre, répartition) qui convient à l'analyse en question.

Horizon de prélèvement

Sauf cas particuliers, les échantillons sont prélevés dans la couche superficielle du sol (0-20 cm). L'activité biologique est maximale dans l'horizon de surface et décroît plus ou moins rapidement avec la profondeur.

Epoque

Pour des mesures en routine (annuelles par exemple), il faut choisir un moment de référence indépendant des perturbations liées aux pratiques culturales (labour, fertilisation, semis, binages) et des aléas climatiques (par exemple une sécheresse marquée).

Conservation des échantillons

L'idéal est de travailler sur sol frais ou conservé au réfrigérateur (3 à 4°C). Le séchage des échantillons tue une partie de la microflore et rend impossible la détermination de la biomasse par fumigation-incubation (voir plus loin), même après réhumectation des sols avant analyse.

Il devient très difficile sinon impossible de comparer des échantillons frais et séchés.

Il faut s'assurer que l'échantillon est transporté dans des délais rapides au laboratoire.

Fonctionnement macro-biologique des sols

Des méthodes de mesure des activités microbiologiques des sols existent, notamment pour déterminer l'importance et la diversité des populations de lombriciens (masse, nombre d'individus, espèces) mais elles sont assez lourdes et donc difficilement envisageables en routine. Elles sont cependant de plus en plus utilisées au niveau expérimental.

■ Les lombrics

Le rôle de la diversité sur le fonctionnement des agrosystèmes peut être abordé au travers des communautés lombriciennes. En effet, les peuplements de vers de terre ont la particularité de présenter une diversité fonctionnelle importante et relativement bien caractérisée sur le plan écologique et biologique.

Ces organismes ingèrent et brassent de la matière organique et de la matière minérale du sol. Les boulettes fécales ainsi créées participent à la formation de macro-agrégats qui permettent la création de structures stables. Les lombrics sont à l'origine de grandes structures, comme les réseaux de galeries ou de chambres qui ont un impact sur la porosité et la densité du sol.



Ver de terre

Il existe trois techniques classiquement utilisées pour le prélèvement des lombriciens.

• Le tri manuel du sol

Cette technique consiste à creuser le sol et à séparer les lombriciens tout en oubliant généralement les individus de plus petite taille et tous les cocons. Cette méthode est difficile à utiliser en sol humide ou argileux et de surcroît est coûteuse en temps. Elle est pratiquement inutilisable pour de grands échantillons.

Pourtant, le tri manuel de sol effectué sur une profondeur de 60 cm est considéré comme étant la méthode la plus exhaustive et sert de référence.

• L'extraction par arrosage du sol avec une substance chimique

Elle est basée sur la réaction des vers de terre à une agression épidermique par une substance chimique. Afin de se soustraire à celle-ci, les lombriciens fuient vers la surface, où ils sont alors collectés.

L'extraction chimique au formol présente une bonne efficacité pour les espèces de surface (les épigées et certains anéciques). Le pourcentage d'individus des couches profondes du sol (certains anéciques et les endogés) captés par cette méthode est très variable. Cette méthode présente un avantage en terme de temps de prélèvement et donc de coût. Cependant, il existerait des variations saisonnières du taux de capture des espèces lombriciennes.

• Le lavage - tamisage

C'est un prélèvement de sol qui, après un traitement chimique, est lavé pour éliminer la terre fine (argiles, limons, sables). Il ne reste plus qu'à trier au laboratoire les vers de terre et leurs cocons parmi les cailloux et les racines. Cette méthode a l'avantage d'un tri de bonne qualité et permet de corriger efficacement les estimations des densités et biomasses lombriciennes. Toutefois, elle est pratiquement inutilisable pour de grands échantillons.

Quelles utilisations ?

Pour le moment, les indicateurs d'activités biologiques des sols sont principalement utilisés dans le cadre d'expérimentations.

En effet, l'absence de référentiel incite à une grande prudence quant à leur utilisation pour le diagnostic et le conseil parcellaire.

Toutefois, les résultats expérimentaux acquis depuis plusieurs années sont encourageants. Il est possible d'identifier l'effet des pratiques culturales viticoles sur les caractéristiques du sol.

Pour aller plus loin, vous trouverez sur le site de l'ITAB (www.itab.asso.fr), à la rubrique "agronomie" une liste de liens avec des laboratoires proposant des analyses d'activités biologiques.



Motte de ver de terre



ITAB : 149, rue de Bercy
75595 PARIS CEDEX 12
Tél : 01 40 04 50 64 - Fax : 01 40 04 50 66
eMail : itab@itab.asso.fr
www.itab.asso.fr

Synthèse de Eric Chantelot (ITV) à partir du "Guide des Matières Organiques" (Blaise Leclerc, ITAB) - **Relecteurs** : Rémi Chaussod (INRA Dijon), Richard Doughty (Vigneron en Bergeracois), Olivier Durand (Vigneron en Languedoc), Nathalie Goma-Fortin (Chambre d'Agriculture de l'Hérault), Monique Jonis (ITAB), Blaise Leclerc (ITAB), Alain Réaut (Vigneron en Champagne)



Prix :
3€
octobre 2003