

# **Activités biologiques et fertilité des sols**

Intérêts et limites des méthodes analytiques disponibles

**Première édition, octobre 2002**

Document à l'usage des agents de développement

réalisé par le groupe de travail

**« état et activités biologiques des sols »**

de la commission « **agronomie – systèmes de production** » de l'ITAB

## REMERCIEMENTS

Ce document est le fruit du travail des membres du groupe « état et activités biologiques des sols », dont la liste figure ci-dessous. Nous tenons à remercier plus particulièrement toutes celles et tous ceux qui ont apporté des données scientifiques ou une contribution écrite pour ce travail : Gaël Alvarez, Rémi Chaussod, Daniel Cluzeau, Bernard Godden, Christine Lemarié, Laure Metzger, Bernard Nicolardot, Jean Parat, Xavier Salducci.

Membres du groupe de travail « état et activités biologiques des sols » :

- Gaël ALVAREZ (ENITA de Clermont-Ferrand)
- Claude AUBERT (GAB Ile-de-France)
- Alain BASSON (Confédération Paysanne)
- Dominique BERRY (SERAIL)
- Jean-Marie BODET (ITCF)
- Eric CHANTELOT (ITV Nîmes)
- Rémi CHAUSSOD (INRA Dijon)
- Michel CHEROUX (CAS / BNSCAO)
- Daniel CLUZEAU (CNRS, GEPAB)
- Xavier CRETE (CEHM)
- Daniel JAMAR (Centre d'Essais en Agriculture Biologique, Belgique)
- Blaise LECLERC (ITAB)
- Gérard L'HOMME (ENITA de Clermont-Ferrand)
- Yvan GAUTRONNEAU (ISARA)
- Bernard GODDEN (Université Libre de Bruxelles)
- Sabine HOUOT (INA-PG)
- Christine LEMARIE (CAB Pays-de-Loire)
- François LHOPITEAU (ITAB)
- Yves MATHIEU (GABNOR)
- Laure METZGER (SADEF)
- Patrice MORAND Chambre d'Agriculture de la Drôme)
- Alain MOUCHART (ACTA)
- Bernard NICOLARDOT (INRA Reims)
- Jean PARAT (Biorize)
- Xavier SALDUCCI (Alma Terra)
- Didier STILMANT (Centre de Recherches Agronomiques Section Systèmes Agricoles, Belgique)

## TABLE DES MATIERES

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUCTION GENERALE.....</b>  | <b>4</b>  |
| 1.1 LES QUESTIONS POSEES .....  | 4         |
| 1.2 NIVEAUX D'APPROCHES POSSIBLES.....  | 5         |
| <b>2. LES METHODES D'ANALYSES UTILISABLES, INTERETS ET LIMITES .....</b>                          | <b>7</b>  |
| 2.1 LES TROIS CRITERES D'UN PARAMETRE BIOLOGIQUE : ETRE PERTINENT, MESURABLE, INTERPRETABLE       | 7         |
| 2.2 ECHANTILLONNAGE ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS DE SOLS AVANT ANALYSES.....                  | 7         |
| 2.2.1 <i>Epoque d'échantillonnage</i> .....   | 7         |
| 2.2.2 <i>Conservation des échantillons</i> .....  | 7         |
| 2.2.3 <i>Horizon de prélèvement</i> .....   | 7         |
| 2.3 LES PRINCIPALES METHODES, INTERETS ET LIMITES.....  | 8         |
| 2.3.1 <i>Approche globale (biomasse microbienne, lien avec la matière organique du sol)</i> ..... | 8         |
| 2.3.1.1 Biomasse microbienne .....  | 8         |
| 2.3.1.2 Lien avec la matière organique du sol .....   | 8         |
| 2.3.1.3 Pool de matière organique labile .....  | 9         |
| 2.3.2 <i>Minéralisation du carbone (respiration) et de l'azote</i> .....                          | 9         |
| 2.3.3 <i>Les activités enzymatiques du sol</i> .....  | 9         |
| 2.3.4 <i>Fonctions particulières d'intérêt agronomique</i> .....                                  | 10        |
| 2.3.4.1 Nitrification.....  | 10        |
| 2.3.4.2 Dégradation de la cellulose .....   | 10        |
| 2.3.4.3 Aptitudes métaboliques .....  | 10        |
| 2.3.5 <i>Mesures de populations microbiennes particulières</i> .....                              | 11        |
| 2.3.5.1 Généralités .....   | 11        |
| 2.3.5.2 Les mycorhizes.....   | 11        |
| 2.3.6 <i>Fonctionnement macrobiologique des sols</i> .....  | 12        |
| 2.3.6.1 Les lombriciens.....  | 12        |
| 2.3.6.2 Autres animaux.....   | 17        |
| <b>3. L'INTERPRETATION DES RESULTATS.....</b>   | <b>18</b> |
| 3.1 ORGANISMES SAPROPHYTES .....  | 18        |
| 3.1.1 <i>Paramètres physico-chimiques du sol</i> .....  | 18        |
| 3.1.1.1 Teneur en carbone .....   | 18        |
| 3.1.1.2 pH.....   | 19        |
| 3.1.1.3 Texture .....   | 19        |
| 3.1.2 <i>Système de culture</i> .....   | 19        |
| 3.1.3 <i>Conduite des cultures</i> .....  | 21        |
| 3.1.4 <i>Nécessité d'un référentiel</i> .....   | 21        |
| 3.1.4.1 Comparaisons chronologiques ou suivi dans le temps.....                                   | 21        |
| 3.1.4.2 Interprétation de données isolées.....  | 21        |
| 3.2 MICRO-ORGANISMES SYMBIOTIQUES .....   | 23        |
| 3.2.1 <i>Exemples de résultats concernant les mycorhizes</i> : .....                              | 23        |
| 3.2.2 <i>Interprétation</i> .....   | 24        |
| 3.2.3 <i>Nécessité d'un référentiel</i> .....   | 24        |
| <b>CONCLUSION .....</b>   | <b>25</b> |
| <b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>   | <b>26</b> |
| <b>INDEX.....</b>   | <b>28</b> |

## 1. Introduction générale

Les sols renferment de très nombreux êtres vivants (microflore, micro-, méso- et macrofaune) dont l'activité est en lien plus ou moins direct avec leur " fonctionnement " en général et certaines de leurs propriétés agronomiques en particulier. Il est donc tout à fait légitime, surtout en agriculture biologique, de chercher à utiliser des mesures biologiques pour mieux connaître les sols et les gérer au mieux 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 ?

Ce document ne concerne pas exclusivement l'agriculture biologique. En effet il n'y a pas de différence fondamentale de fonctionnement des activités biologiques entre agriculture biologique et agriculture conventionnelle. De plus, c'est souvent en période de conversion à l'agriculture biologique qu'apparaissent des questions sur les activités biologiques des sols. L'un des principaux facteurs limitant la production en agriculture biologique étant l'azote, nous abordons les activités biologiques des sols sous l'angle de la fertilité. En effet les fournitures d'azote, et par d'autres mécanismes, du phosphore, dans les systèmes agrobiologiques, sont beaucoup plus liées aux activités biologiques que dans les systèmes avec apports d'engrais minéraux solubles. De même, une attention particulière est portée au statut organique des sols, avec une présentation des approches analytiques permettant de mieux l'appréhender.

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 ce document 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.

Le document traite aussi bien des activités microbiologiques que " macrobiologiques " (lombriciens en particulier). Son intérêt est en effet de replacer les mesures d'activités biologiques existantes dans le contexte global de la parcelle et de l'exploitation agricole.

Les mesures biologiques complètent les mesures classiques. Elles ne peuvent s'y substituer. Au contraire, 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.

### 1.1 Les questions posées

Il importe avant tout de bien définir l'objectif " agronomique ", c'est-à-dire l'usage attendu des résultats des mesures. Ensuite seulement pourra être fait le choix des méthodes sur lesquelles s'appuyer pour juger des propriétés biologiques des sols cultivés. En effet, de très nombreuses déterminations biologiques peuvent être mises en œuvre, mais leur intérêt pratique dépend en premier lieu de leur pertinence par rapport à la question posée.

Les attentes des agriculteurs biologiques peuvent être résumées comme suit :

- s'assurer du bon fonctionnement biologique des sols,
- vérifier que les pratiques culturales appliquées sont bénéfiques,
- essayer de quantifier ces effets en terme de fertilité.

Ce dernier point est particulièrement important car il concerne les relations entre le " statut organique " du sol et son pouvoir alimentaire en azote et en phosphore.

Remarque : c'est la fertilité optimale de la parcelle qui devra être recherchée, et non la fertilité maximale, un excès de fertilisation étant souvent préjudiciable au bon déroulement ou à la qualité de la culture, et pouvant entraîner des impacts environnementaux.

Face à ces besoins, les indicateurs biologiques potentiellement utilisables peuvent être regroupés de la façon suivante :

- L'approche globale : détermination de compartiments " actifs " de la M.O. : biomasse microbienne et " métabolites " (§ 2.3.1).

- L'activité globale de la microflore : minéralisation du carbone (respiration) et de l'azote (§ 2.3.2).
- Les activités enzymatiques du sol (§ 2.3.3).
- Les fonctions particulières d'intérêt agronomique (nitrification, autres activités enzymatiques) (§ 2.3.4).
- Les populations particulières, d'intérêt agronomique (dont les mycorhizes) ou utilisables en tant que bio-indicateurs (§ 2.3.5).
- Le fonctionnement macrobiologique des sols, parmi lequel l'activité des lombriciens (§ 2.3.6).

## 1.2 Niveaux d'approches possibles

Beaucoup de problèmes d'ordre agronomique peuvent être mis en évidence par simple observation (de la parcelle, d'un profil de sol, etc.) ou par des analyses plus courantes (analyse de terre physico-chimique classique).

Afin d'illustrer la nécessité d'une approche globale pour la mise en évidence de problèmes agronomiques, nous avons croisé dans le tableau 1 les différents paramètres concernés avec trois niveaux d'échelles d'observations :

- 1) l'unité de paysage,
- 2) la parcelle,
- 3) une unité pédologique homogène dans la parcelle (= la placette).

A chaque indicateur correspond une échelle d'observation plus pertinente qu'une autre. Ainsi par exemple l'observation de la flore prend toute son importance au niveau de la parcelle, alors que la détermination des paramètres qui nécessitent un prélèvement pour une analyse au laboratoire (paramètres physiques, chimiques, biologiques) n'est valable que pour la zone homogène considérée. Pour une interprétation agronomique à l'échelle de la parcelle, les résultats d'analyses de ces paramètres devront prendre en compte les observations réalisées au niveau de cette parcelle (hétérogénéité constatée au niveau de la population végétale, du sol, de l'hydrologie, etc.).

Ce tableau peut également servir de guide pour hiérarchiser les observations à réaliser en fonction d'une question posée, et éviter ainsi d'aller directement vers une analyse très ponctuelle qui sera difficile voir impossible à interpréter, et qui n'est peut-être pas nécessaire (*exemple : il n'est pas toujours nécessaire de réaliser des prélèvements pour analyser des paramètres physico-chimiques ou biologiques dans une zone homogène sur laquelle les rendements seraient plus faibles que dans le reste de la parcelle ; cette zone homogène peut par exemple se trouver en bordure d'une parcelle voisine hydromorphe et dont ce dernier caractère empiète de manière saisonnière sur la parcelle étudiée : une simple observation des parcelles voisines (niveau 1 : échelle de l'unité de paysage) suffit dans ce cas pour mettre en évidence le problème*).

**Tableau 1** : Indicateurs des activités biologiques des sols en fonction des échelles d'observations

| échelles d'observations | unité de paysage<br>(ex. : bassin versant)   | parcelle<br>(une culture)  | placette = zone réputée homogène dans la parcelle   |
|-------------------------|--|--|---|
| Indicateurs             | <p><b>cadre général</b></p> <p>climat, géologie, topographie, hydrologie, système de cultures</p> <p>importance des parcelles avoisinantes : vents dominants, drainage, érosion</p> <p><b>flore</b></p> <p>importance de la flore (aux niveaux quantitatif et qualitatif) des parcelles avoisinantes et des bordures, haies, bois.</p> <p><b>faune</b></p> <p>oiseaux, mammifères, mollusques, insectes, arthropodes, lombriciens...</p> | <p><b>cadre général</b></p> <p>antécédents (amendements, travail du sol, rotations)</p> <p><b>flore</b></p> <p>plantes cultivées : état sanitaire, vigueur, stade de développement, rendement,...</p> <p>plantes non cultivées : espèces, envahissement,...</p> <p>Le peuplement végétal, cultivé ou non, est l'un des moyens servant à délimiter une zone homogène.</p> <p><b>faune</b></p> <p>oiseaux, mammifères, mollusques, insectes, arthropodes, lombriciens...</p> | <p><b>Prélèvements d'échantillons de terre pour déterminer :</b></p> <p><b>les paramètres physiques</b></p> <p>état de surface, hétérogénéité des horizons, type de sol, hydromorphie, profondeur, structure, texture,...</p> <p><b>la matière organique</b></p> <p>carbone organique, fractionnement granulométrique, fractionnement chimique,...</p> <p><b>les paramètres chimiques</b></p> <p>fer, cuivre, phosphore, etc.</p> <p><b>les paramètres biologiques</b></p> <p>mesures globales de la biomasse microbienne, mesures d'activités/fonctions, mesures de populations lombriciennes.</p> |

A ces trois échelles d'observations correspondent des outils spécifiques :

### 1) Unité de paysage :

- observations visuelles,
- cartographie (cartes géologiques, pédologiques, hydrologiques, topographiques, etc.),
- photographies aériennes,
- enquêtes, archives (historique des pratiques, du paysage)

### 2) Parcelle

- les mêmes outils que pour l'unité de paysage, en fonction de la localisation et de la taille de la parcelle,
- comptages (faune, flore),
- examen de profil de sol,
- prélèvements de terre, dans le but de réaliser plusieurs échantillons afin de déterminer l'hétérogénéité de la parcelle (à distinguer des prélèvements réalisés dans une zone homogène, voir point suivant).

### 3) Zone " homogène "

L'observation de la parcelle permet de définir des zones homogènes dont on suppose que les paramètres qu'on veut mesurer varient peu sur l'ensemble de la zone considérée. Par zone homogène il faut entendre une superficie mais également une profondeur, puisque la majorité des paramètres qui nous intéressent sont mesurés après prélèvement de terre. L'homogénéité de la zone retenue peut être confirmée ou infirmée en analysant séparément plusieurs prélèvements effectués sur la zone retenue.

Il faut distinguer les prélèvements réalisés dans une zone définie comme homogène, qui sont mélangés pour donner un échantillon (les résultats des différentes analyses effectuées à partir de cet échantillon ne se rapporteront qu'à cette zone homogène), des prélèvements effectués sur l'ensemble d'une parcelle. Dans ce dernier cas si les prélèvements réalisés donnent lieu à plusieurs échantillons, ils peuvent permettre de déterminer l'hétérogénéité de la parcelle ; s'ils sont tous mélangés, ils donnent une valeur moyenne des paramètres analysés pour la parcelle, avec le risque que cette moyenne masque des situations très différentes dans la parcelle considérée (bas de parcelle hydromorphe / haut de parcelle sec, zone alcaline / zone acide, etc.).

A cette approche spatiale des activités biologiques des sols, au niveau de différentes échelles d'observations, se superpose une variation temporelle très importante, qui se traduit sous nos climats par des activités biologiques beaucoup plus faibles en hiver, et en été lorsque le sol est sec.

## 2. Les méthodes d'analyses utilisables, intérêts et limites

### 2.1 Les trois critères d'un paramètre biologique : être pertinent, mesurable, interprétable

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

- Etre **pertinent** par rapport à une composante identifiée de la qualité biologique des sols et y faire explicitement référence.
- Etre **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.

### 2.2 Echantillonnage et conservation des échantillons de sols avant analyses

#### 2.2.1 Epoque d'échantillonnage

Pour des mesures en routine (annuelle 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).

#### 2.2.2 Conservation des échantillons

Les déterminations biologiques s'appliquent obligatoirement à des échantillons de sol "frais". Il convient donc de considérer l'échantillon de sol comme un être vivant, avec toutes les contraintes que cela suppose, en matière de transport et de stockage. Après le prélèvement, l'échantillon de sol doit être entouré de soins afin que les mesures biologiques qui seront réalisées au laboratoire soient aussi proches que possible de l'état *in situ*. Pratiquement, les mesures doivent être effectuées dans les 48 à 72 heures qui suivent le prélèvement, les échantillons de sols devant être conservés au frais (environ 4°C) et en aérobiose si un délai supplémentaire s'avère nécessaire. Ces contraintes sont du même ordre (et plutôt moins lourdes) que lors de la détermination des reliquats d'azote en sortie d'hiver.

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.

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

#### 2.2.3 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.

## 2.3 Les principales méthodes, intérêts et limites

### 2.3.1 Approche globale (biomasse microbienne, lien avec la matière organique du sol)

#### 2.3.1.1 Biomasse microbienne

La notion de biomasse microbienne recouvre l'ensemble des micro-organismes du sol (bactéries, champignons, etc.). Cette notion a été définie expérimentalement par Jenkinson & Powlson (1976) : il s'agit d'une méthode " biocidale ", consistant à mesurer le carbone (ou l'azote) contenu dans les êtres vivants du sol. La technique la plus utilisée est la **fumigation-extraction** (Wu *et al.*, 1990), faisant appel aux vapeurs de chloroforme et au dosage des composés carbonés solubilisés par ce traitement. 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 les types de sols), 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. Toutefois, la mesure ne peut pas être appliquée sur n'importe quel échantillon ; plus exactement, pour être interprétable, la mesure doit porter sur un échantillon de sol " frais ", prélevé de préférence en dehors de périodes de stress hydrique ou thermique et autres perturbations (apports d'amendements, travail du sol, ...). Le sol doit être suffisamment ressuyé pour permettre une diffusion correcte du chloroforme.

#### 2.3.1.2 Lien avec la matière organique 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 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. De nombreux auteurs ont proposé de définir un pool de M.O. "active" (Parton *et al.*, 1987) ou M.O. "labile" (Biederbeck *et al.*, 1994). Cette nécessité de séparer M.O. très stable et M.O. réactive apparaît de façon évidente lorsqu'on aborde la dynamique de la matière organique : les modèles mathématiques ne peuvent tourner que si on identifie une fraction réactive (Molina *et al.*, 1993).

Pour quantifier ce pool labile, de nombreux auteurs ont fait appel à une extraction à l'eau chaude. Juma et Paul (1984) ont proposé cette technique pour évaluer la fourniture potentielle d'azote d'échantillons de sol. Lemaître *et al.* (1995a,b) ont montré l'origine essentiellement microbienne de la matière organique solubilisée par l'eau chaude sous pression équilibrante (autoclavage de 16 heures à 120°C) et qu'il existe, pour un type de sol donné, une relation entre la taille de ce compartiment et la taille de la biomasse microbienne. Ceci a été confirmé par Sparling *et al.* (1998). Enfin, tout récemment, Anwar Ghani *et al.* (2000) ont rapporté que les quantités de carbone soluble à l'eau chaude (16 heures à 80°C) sont corrélées à la biomasse microbienne, à l'azote minéralisable en anaérobiose et à la stabilité structurale d'une série de sols néo-zélandais.

Ce pool de matière organique, d'ailleurs généralement bien corrélé à la taille de la biomasse microbienne dans des systèmes à l'équilibre, représente surtout 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. Il s'agit ici d'une approche " biochimique " en cohérence avec l'approche biologique préalable. D'ailleurs, ce pool de matières organiques labiles est aussi appelé " métabolites " car il a été montré qu'il est formé en grande partie de molécules issues du métabolisme microbien (Lemaître *et al.*, 1995b).

#### 2.3.1.3 Pool de matière organique labile

Une approche complémentaire, de type physique, consiste à évaluer les stocks de carbone et d'azote organique associés aux différentes fractions granulométriques du sol (Feller, 1979 ; Balesdent *et al.*,



1991). Les fractions grossières ( $> 50 \mu\text{m}$ ) sont formées de matières organiques reconnaissables dites figurées (résidus d'origine végétale ou provenant d'amendements organiques non décomposés ou en cours de décomposition, parfois partiellement humifiés, débris racinaires...) alors que les fractions fines ( $< 50 \mu\text{m}$ ) contiennent une matière organique non reconnaissable liée aux limons et argiles qui inclut 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 nature différente qui ont une signification fonctionnelle en terme d'effets sur les propriétés physiques, chimiques ou biologiques des sols.

### 2.3.2 Minéralisation du carbone (respiration) et de l'azote

La méthode la plus ancienne et la plus simple pour évaluer l'activité globale de la microflore consiste à mesurer la minéralisation du carbone et de l'azote en conditions contrôlées, proches de l'optimum biologique. Dans la pratique, les échantillons de sol sont généralement incubés durant 28 jours à  $28^\circ\text{C}$  et à une teneur en eau voisine de la capacité au champ. On parle alors de respiration potentielle.

La minéralisation du carbone lors d'une incubation en conditions contrôlées, encore appelée "**respiration**" du sol, donne une information très intéressante lorsqu'elle est rapportée à la taille de la biomasse microbienne. En considérant que le flux de C-CO<sub>2</sub> respiré provient de l'ensemble des micro-organismes, on peut exprimer ce flux par unité de biomasse. Le résultat, appelé "**respiration spécifique**" (Chaussod *et al.*, 1986) a la dimension d'un taux de renouvellement (unité :  $\text{j}^{-1}$ ). Cette mesure très simple complète donc utilement la détermination de la biomasse : on accède à la fois à la taille du compartiment vivant du sol et à son taux de renouvellement apparent.

Ces déterminations très simples, voire rustiques, 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. On peut également effectuer ces déterminations sur un grand nombre de parcelles et "caler" les résultats sur quelques parcelles de référence. 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  $\text{mg N/kg/jour}$  en  $\text{kg N/ha}$  produit pendant une période donnée) en utilisant un calcul de jours normalisés qui prend en compte les effets de la température et de l'humidité sur la minéralisation de l'azote du sol (Recous, 1995 ; Rodrigo *et al.*, 1997) et qui permet ainsi de convertir des jours d'incubation à température et humidité constantes en *jours in situ* à humidité et températures variables (ou vice versa). A titre d'exemple et indépendamment de l'effet de l'humidité, les résultats obtenus au cours de l'incubation d'un sol pendant 46 jours à  $28^\circ\text{C}$  correspondraient à la minéralisation annuelle d'un sol dont la température moyenne annuelle serait de  $10^\circ\text{C}$ . Des incubations plus longues permettent de mieux cerner les différents compartiments de la MO du sol, en fonction de leur dégradabilité.

### 2.3.3 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 d'enzymes de toutes sortes, localisées à l'intérieur des cellules (intracellulaires) ou extracellulaires, adsorbées sur les parois des microbes ou sur les minéraux argileux, ou encore formant des copolymères avec des substances humiques (Burns, 1982).

Les mesures d'activités enzymatiques, relativement simples et généralement peu coûteuses, sont utilisées depuis un demi-siècle pour évaluer la "fertilité" des sols (Hoffmann et Seegerer, 1951). Les activités les plus couramment mesurées sont les suivantes :

**Oxydo-réductases** : il s'agit d'enzymes de type "respiratoire", dont le plus courant est la déshydrogénase. Cette mesure est parfois incluse dans des tests écotoxicologiques (Rossel & Tarradellas, 1991) pour une estimation rapide de l'activité globale du sol ; toutefois les résultats sont assez variables en fonction des conditions opératoires (Merlin & Rossel, 1992). L'activité catalase a été parfois aussi déterminée sur des échantillons de sol ; la mesure consiste à enregistrer la formation d'oxygène gazeux lors de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée). Mais des réactions abiotiques sont fréquentes et peuvent sérieusement biaiser les résultats (activité physico-chimique des oxydes de manganèse). Les polyphénol-oxydases interviennent dans les processus d'humification à travers la dégradation de la lignine. Cette famille d'enzymes comprend les laccases.

**Hydrolases** : la plupart des enzymes du sol appartiennent à ce groupe et les activités qui s'y rattachent correspondent fréquemment à des transformations d'intérêt agronomique. Les cellulases sont en lien avec la dégradation des résidus de récolte, de nature essentiellement ligno-cellulosique. Les activités phosphatase (phosphatase acide, phosphatase alcaline, phosphodiesterases) séparent

l'ion ortho-phosphate d'une molécule organique. La synthèse de l'enzyme est inhibée par l'ion orthophosphate ; l'activité est donc dépendante de la concentration en ions  $\text{PO}_4^-$  dans le sol. Un apport d'engrais phosphatés par exemple entraînera une diminution de cette activité, indépendamment de l'abondance et des autres activités des populations microbiennes présentes. Les aryl-sulfatases séparent l'ion sulfate d'une molécule organique, selon le même principe que les phosphatases.

La méthode consistant à mesurer l'hydrolyse du FDA (Schnürer & Rosswall, 1982) présente l'avantage de concerner plusieurs groupes d'enzymes différentes, le diacétate de fluorescéine étant en effet hydrolysé par des lipases, des protéases, des estérases, etc. Cette activité enzymatique connaît actuellement un vif intérêt. 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 " (notamment de pH) 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.

Enfin, rappelons qu'historiquement les mesures d'activités enzymatiques se pratiquaient sur des échantillons de sol séchés à l'air. Mais le séchage et les modalités de conservation des échantillons entre prélèvement au champ et mesure au laboratoire peuvent affecter les résultats (Bergstrom *et al.*, 1998).

## 2.3.4 Fonctions particulières d'intérêt agronomique

### 2.3.4.1 Nitrification

Les germes nitrifiants sont réputés sensibles à divers contaminants (pesticides, " métaux lourds " ) ; il peut donc être utile de s'assurer que cette fonction importante du cycle de l'azote est bien active. Pour cela, un test mesurant en temps court la vitesse d'oxydation de l'ammonium en nitrites est utilisable en routine. Aujourd'hui la présence de bactéries nitrifiantes peut se faire par les techniques de PCR (voir plus loin) beaucoup plus spécifiques que ce test pas toujours très fiable.

### 2.3.4.2 Dégradation de la cellulose

Ce test est parfois utilisé pour s'assurer qu'une pollution n'a pas d'effets décelables sur cette activité agronomiquement importante (Segal & Mancinelli, 1987). Il a peu d'intérêt dans la pratique courante pour les sols ; par contre il est utile pour suivre le processus de compostage.

### 2.3.4.3 Aptitudes métaboliques

Les plaques Biolog® mises au point initialement pour la taxonomie bactérienne sont désormais utilisées pour des évaluations environnementales. Il s'agit de plaques formées de 96 puits et contenant 95 substrats différents et un indicateur red-ox (INT-formazan). L'inoculation de ces puits à l'aide d'une suspension-dilution de sol se traduit par l'apparition en quelques jours d'une coloration dans les puits ayant donné lieu à une croissance microbienne (consommation d'oxygène). En fait, cette méthode souffre de divers biais et n'est au mieux utilisable que pour comparer deux traitements contrastés d'un même sol. Sur un principe comparable, des plaques API-zym permettent d'évaluer la présence / absence d'une série d'activités enzymatiques à partir d'une suspension de sol.

## 2.3.5 Mesures de populations microbiennes particulières

### 2.3.5.1 Généralités

Les classiques numérations de germes " totaux " par la méthode du nombre le plus probable (NPP, ou MPN en anglais), à l'aide de suspensions-dilutions de sol et ensemencement de tubes ou de boîtes de Pétri, ne sont plus utilisées. De même, les déterminations de " groupes physiologiques " par les méthodes MPN ont été abandonnées au profit de mesures plus performantes.

En revanche, les méthodes MPN sont toujours pratiquées pour évaluer l'abondance de micro-organismes particuliers, comme les fixateurs libres ou symbiotiques de l'azote, tel les *Rhizobium*, capables de noduler telle ou telle légumineuse, ou les endomycorhizes.

D'autres méthodes existent mais restent pour l'instant réservées au domaine de la recherche. A ce niveau, d'importants efforts sont consacrés à l'estimation de la biodiversité. Cette dernière peut être abordée au niveau génotypique ou bien au niveau phénotypique. Ceci recouvre des études allant depuis le niveau moléculaire jusqu'au fonctionnement du sol, en passant par les communautés microbiennes. On suppose qu'une grande diversité serait plutôt bénéfique à un écosystème car elle permettrait une meilleure adaptation à des conditions changeantes de l'environnement (capacité d'évolution sous l'effet d'actions anthropiques notamment). Mais on est encore très loin de tout connaître sur les relations entre biodiversité microbienne et fonctionnement des agrosystèmes (Kennedy & Smith, 1995).

Au cours des dernières années, l'utilisation conjointe de données sur les séquences d'ADNr ou ARNr 16S et les progrès accomplis dans le domaine de la biologie moléculaire (amplification par réaction en chaîne de la polymérase (PCR), clonage, séquençage, ...) ont permis le développement de méthodologies occultant les étapes d'isolement et de culture des bactéries. Ces nouvelles méthodes d'analyse ayant pour objectifs d'utiliser ces techniques *in situ* permettent d'affiner nos connaissances sur la structure des communautés bactériennes telluriques (Nalin *et al.*, 1998), en particulier pour déceler la présence de bactéries spécifiques tels que les nitrifiants, ou des phytopathogènes.

### 2.3.5.2 Les mycorhizes

#### 1) Généralités sur les mycorhizes

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques entre certains champignons du sol et des racines de plantes. Il en existe deux principaux morphotypes, les ectomycorhizes, et les endomycorhizes. Les mycorhizes qui concernent les plantes cultivées sont les endomycorhizes à vésicules et à arbuscules. Ces endomycorhizes VA<sup>1</sup> sont des symbiotes strictes, c'est-à-dire qu'elles ne se développent qu'en association avec une racine vivante. Leur développement ne nécessite pas la présence d'une source de carbone organique dans le sol, elles sont donc très différentes de la plupart des autres micro-organismes du sol qui sont saprophytes.

##### La base de la symbiose :

L'endomycorhize développe son mycélium à la fois à l'intérieur et à l'extérieur de la racine. La partie externe constitue un prolongement du système racinaire et puise dans le sol des minéraux (principalement du phosphore et des oligo-éléments) et de l'eau. Ces nutriments sont ensuite transportés jusqu'à la racine où ils sont apportés à la plante contre des composés carbonés et des vitamines. **Le premier bénéfice de la symbiose est donc d'ordre nutritif.**

##### Les endomycorhizes VA ont d'autres effets :

- Permettre à la plante hôte de mieux résister aux attaques de nombreux pathogènes racinaires.
- Augmenter la ramification racinaire.
- Améliorer la structure du sol.
- Augmenter la tolérance au calcaire et aux métaux lourds .

##### La notion de dépendance mycorhizienne

Plus de 90 % des plantes acceptent des mycorhizes mais certaines espèces sont plus dépendantes que d'autres vis-à-vis de ces champignons. Cela signifie que, dans des conditions de culture données leurs racines seront plus colonisées que d'autres par les mycorhizes, ce qui traduit le fait qu'elles ont plus besoin des mycorhizes que d'autres. La dépendance mycorhizienne est donc une notion relative. Elle peut jouer un rôle important dans les relations de compétition entre espèces végétales, notamment entre plantes cultivées et adventices.

#### 2) Les analyses

Deux types d'analyses peuvent être distinguées :

- la mesure du taux d'endomycorhization des racines,
- l'analyse du pouvoir endomycorhizogène du sol : le PEM.

##### 2a) Mesure du taux d'endomycorhization des racines

Le niveau de mycorhization des racines des plantes est mesuré durant la culture. Il est exprimé en % de longueur de racine où la mycorhize est présente. Ce taux de mycorhization est fonction des

---

<sup>1</sup> V pour vésicules, A pour arbuscules

plantes, des variétés, des conditions de culture (fertilisation, fongicides, travail du sol,...) (Viaux *et al.*, 2002) et de la richesse en mycorhizes du sol de départ.

**Intérêts :** Il peut servir d'indicateur pour mettre en évidence l'effet de certaines pratiques culturales sur la mycorhization ou suivre la mycorhization d'une culture. Il permet aussi de comprendre certains problèmes rencontrés durant la culture ou lors de la transplantation de jeunes plants : reprise difficile, mauvaise croissance, grande sensibilité aux pathogènes racinaires, etc.

**Période de l'analyse :** Le stade de référence est en général le stade où la plante a des besoins maximum en phosphore. Pour chaque culture, selon sa dépendance, il existe un niveau "normal" de mycorhization à ce stade. Par exemple, pour le blé, un niveau normal de mycorhization à la montaison est de l'ordre de 40 %. L'analyse du taux de mycorhization dans les premières semaines de la culture peut toutefois être intéressant dans le cas de l'étude des effets des pesticides sur la mycorhization.

**Echantillonnage :**

5 échantillons individuels de racines fines prélevées à différents endroits de la parcelle.

C'est une mesure rapide car elle est basée sur une réaction colorimétrique.

**2b) Analyse du pouvoir endomycorhizogène du sol : le PEM**

Elle consiste à estimer la richesse en champignons endomycorhiziens du sol c'est-à-dire le nombre de propagules de champignons par kg de sol, capables d'engendrer une mycorhization des racines. 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.

**Période de l'analyse :** Le prélèvement doit être effectué avant le semis ou la plantation, après préparation de la parcelle.

**Echantillonnage :** Faire plusieurs prélèvements à différents endroits dans les 30 premiers centimètres pour constituer un échantillon moyen de 3,5 à 4 kg (éviter le sol trop mouillé ou trop sec).

La mesure implique la croissance d'une plante-test, donc un délai important pour l'obtention des résultats (6 à 7 semaines).

**2.3.6 Fonctionnement microbiologique 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, d'espèces différentes) mais elles ne sont pas encore disponibles en routine. Elles sont cependant de plus en plus utilisées au niveau expérimental.

**2.3.6.1 Les lombriciens**

Le rôle de la diversité sur le fonctionnement des sols 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. Actuellement, les quelques 200 espèces et sous-espèces inventoriées sur le territoire métropolitain par Bouché (1972) occupent des fonctions différentes avec des préférences alimentaires ainsi que des impacts sur la structure du sol et le cycle de divers nutriments. Trois à six groupes fonctionnels ont été définis par différents auteurs, chacun de ces groupes comprenant plusieurs espèces.

Les trois groupes fonctionnels que l'on cite le plus souvent sont déterminés selon l'endroit où ils vivent par rapport à la surface :

- ceux qui vivent sur le sol : les épigés ;
- ceux qui creusent des galeries verticales pour venir chercher leur nourriture à la surface du sol : les anéciques ;
- ceux qui vivent en profondeur et se nourrissent de matière organique déjà incorporée au sol : les endogés.

Les vers que nous voyons le plus souvent sont ceux des deux premiers groupes. Nous rencontrons les premiers – les épigés – sous les feuilles de la litière en forêt, dans les tas de fumiers (les « vers de fumier ») ou de déchets de cuisine ; ils sont rouge orangé, très vifs, très fins. Mais ce sont les deuxièmes – les anéciques – qui sont les plus importants du point de vue agronomique.

Les lombriciens développent des relations mutualistes avec la microflore lors du passage dans leur transit intestinal et seraient par la même occasion des régulateurs importants de l'activité microbienne (Lee, 1985).

Ces organismes ingèrent et brassent de la matière organique et de la matière minérale du sol. Les boulettes fécales ainsi créées sont des composants importants de la structure des macroagrégats qui permettent la formation de structures stables. Ces organismes sont à l'origine de grandes structures, comme les réseaux de galeries ou de chambres qui ont un impact sur la porosité, l'agrégation et la densité du sol.

Les déjections lombriciennes présentent des caractéristiques biologiques, physiques et chimiques différentes du sol environnant. Cependant, ces caractéristiques dépendent fortement des espèces lombriciennes étudiées ainsi que des conditions environnementales (texture du sol, disponibilité et qualité de la matière organique).

D'autre part, les lombriciens modifient le transfert des nutriments dans le sol. Les structures formées par les vers de terre (périphérie et lumière des galeries, turricules) sont plus enrichies en azote et en carbone. Les macropores du sol, principalement créés par le réseau de galerie des lombriciens, contribuent fortement en milieu tempéré à l'aération et au drainage du sol.

D'après Bouché & Aliaga (1986), 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 "le bon grain de l'ivraie", 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 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 pour comparer avec d'autres méthodes de prélèvement (Bouché & Gardner, 1984). A noter que Fayolle et Gautronneau (1998) ont proposé un protocole d'observation permettant de rendre compte du peuplement et de l'activité des vers de terre, à inclure dans la procédure de description du profil cultural (Gautronneau & Manichon, 1987). Cette procédure est décrite dans l'encart n° 1.

- L'extraction par arrosage du sol avec une substance chimique. Elle est basée sur la réaction des vers de terre à une agression épidermique à une substance chimique. Afin de se soustraire à celle-ci, les lombriciens fuient vers la surface, où ils sont alors collectés. Raw (1959) utilise pour la première fois du formol pour l'extraction des lombriciens du sol.

L'extraction chimique au formol (actuellement sont testés d'autres répulsifs tels que la moutarde) 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 endogées) capté par cette méthode est très variable. Cette méthode présente un avantage en terme de coût financier et de temps de prélèvement. Cependant, il existerait des variations saisonnières du taux de capture des espèces lombriciennes. Les variations saisonnières du taux de capture sont liées aux cycles d'activité biologique des lombriciens (Bouché & Gardner, 1984). Les lombriciens sont en inactivité lorsque les conditions climatiques sont les plus contraignantes (sécheresse en été et température trop froide en hiver, Lee 1985) ; et cela rend donc plus difficile leurs extractions sous les climats méditerranéens ou continentaux.

Le lavage - tamisage. C'est un prélèvement de sol qui, après un traitement chimique, est lavé pour éliminer tous les argiles, limons et 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.

### Encart 1

#### Détermination des peuplements et de l'activité lombricienne à l'aide du profil cultural

Fayolle et Gautronneau (1998)

Cette procédure se veut légère afin de pouvoir l'inclure dans la procédure de description du profil cultural, sans en augmenter considérablement le temps de mise en oeuvre sur le terrain. Le profil est "mis à nu" par le creusement au tractopelle d'une fosse de 3 à 4 m de long et 1,30 à 1,40 m de profondeur lorsque le sous-sol le permet. La première étape du protocole « vers de terre » consiste à prélever très rapidement (la lumière les fait fuir) les vers à 3 profondeurs différentes : de la surface au fond de labour (P1), de 25 à 40 cm (P2) et de 40 cm à 1,20 m (P3). Au moment du prélèvement, la face d'observation est rafraîchie sur quelques centimètres. Le fond de labour FL est repéré

(généralement situé aux alentours de 25 cm) et deux traits verticaux sont tracés, séparés de 1 m pour le 3<sup>e</sup> prélèvement et de 2 m pour P1 et P2. A chaque niveau de prélèvement, la terre est recueillie dans un récipient puis étalée sur un film plastique. Le tri se fait manuellement en émiettant la terre : les animaux sont mis dans un flacon renfermant une solution de conservation (formol du commerce à 4 %). Les vers sont identifiés au laboratoire, pesés et classés par stade. Le comptage des orifices de galeries lombriciennes sur deux plans horizontaux constitue la deuxième étape. La terre de surface est prélevée à la bêche jusqu'au fond de labour pour dégager un plan horizontal de 0,20 m<sup>2</sup> (1 m x 0,20 m) en fond de labour (FL). Sur ce plan rafraîchi au couteau, les orifices des galeries sont comptés et classés en deux catégories d'après leur diamètre ( $\varnothing < 3$  mm et  $\varnothing > 3$  mm). Un second comptage des galeries est effectué plus en profondeur sur un plan horizontal situé à FL + 15 cm. La dernière étape du protocole repose sur le dénombrement des turricules en surface (lorsqu'ils existent) sur une aire de 0,4 m<sup>2</sup> (2 m x 0,2 m) parallèle à la face d'observation.

Les avantages et inconvénients de ces trois techniques sont différents selon les facteurs incriminés (Bouché, 1969 ; tableau 2).

**Tableau 2** : Facteurs influents et valeurs du rendement relatif des méthodes de prélèvement de lombriciens (*in* Bouché, 1969).

|  | Tri de sol | Lavage | Formol |
|--|------------|--------|--------|
| (1) Influence du facteur humain (qualité)                | XXX        | X      | XX     |
| (2) Importance des moyens humains nécessaires (quantité) | XXX        | XX     | X      |
| (3) Importance des moyens matériels nécessaires          | X          | XXX    | XX     |
| (4) Influence des conditions climatiques saisonnières    | XX         | XX     | XXX    |
| (5) Influence des conditions climatiques instantanées    | X          | 0      | XXX    |
| (6) Influence du type de sol                             | XXX        | X      | XX     |
| (7) Influence de la pente du sol                         | 0          | 0      | XX     |
| (8) Influence du couvert végétal                         | X          | 0      | XXX    |
| (9) Influence du chevelu racinaire                       | XXX        | X      | 0      |
| (10) Influence des grosses racines                       | XX         | XX     | 0      |
| (11) Influence de l'enrochement                          | XXX        | XXX    | X      |
| (12) Imprécision dans le volume traité                   | X          | X      | XXX    |
| (13) Mortalité des animaux capturés                      | XX         | XXX    | X      |
| (14) Inefficacité vis-à-vis des stades immobiles         | X          | 0      | XXX    |
| (15) Inefficacité vis-à-vis des petites formes           | XXX        | 0      | XX     |

Très important : XXX Important : XX Faible : X Nul : 0

L'étude des communautés lombriciennes doit permettre d'apprécier différents paramètres spécifiques tels que la richesse, la densité, la biomasse et la structure du peuplement et la variabilité de la distribution (si nécessaire). Divers indices de diversité et d'équitabilité peuvent ensuite être calculés.

Pour pouvoir assurer une meilleure qualité à l'information obtenue à partir de prélèvements lombriciens en zone tempérée, il convient de se contraindre à répondre aux 5 étapes suivantes (Cluzeau *et al.*, 1999) :

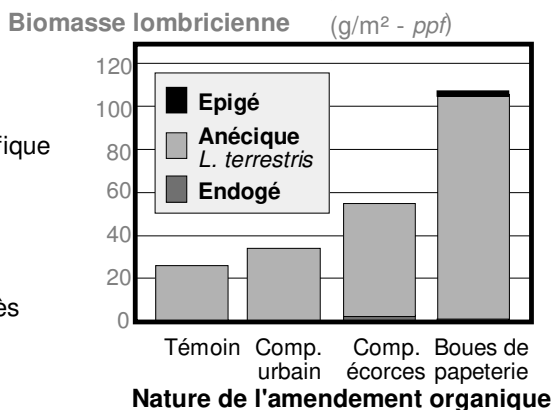
- Connaître au préalable des informations détaillées sur la parcelle inventoriée.
- Choisir la méthode de prélèvement conciliant les contraintes de temps et financières aux objectifs.
- Choisir la période de prélèvement (au cours de l'année et de la journée).
- Définir la surface minimale du quadrat de prélèvement.
- Définir le nombre et la disposition de ces quadrats.

## Encart 2

### LOMBRICIENS, REGULATEURS dans les PROCESSUS de STRUCTURATION

#### Interactions Matière organique / Activités biologiques dans une parcelle du vignoble de Champagne

Dans ces milieux à fortes contraintes anthropiques, la simplification de la diversité lombricienne entraîne une diminution de la compétition interspécifique vis-à-vis des ressources trophiques. Ainsi, *in situ*, l'apport de matières organiques sous forme de différents composts ne profite qu'à l'espèce dominante, *Lumbricus terrestris* ; les espèces marginales ne profitent que très faiblement de ces amendements organiques.



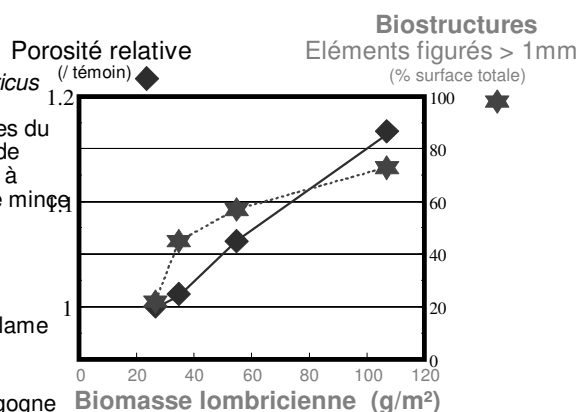
#### Conséquences sur la porosité surfacique et l'importance de la bioturbation

Ce plus ou moins grand développement de *Lumbricus terrestris* en relation avec la nature des composts épandus, interagit avec les composantes physiques du sol, que sont la porosité du sol, mesurée à la sonde gamma-neutronique et les biostructures mesurées à l'analyse d'images micromorphologiques sur lame mince sur l'horizon 0-10 cm :

- La porosité du sol augmente en relation avec l'augmentation de la biomasse lombricienne;
- la bioturbation qui est traduite par la surface d'éléments figurés (relative à la surface de la lame mince) suit la même progression.

(Cluzeau *et al.*, 1994)

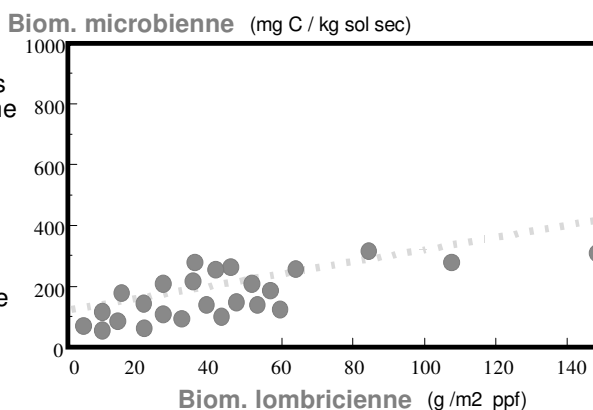
Des résultats similaires ont été observés en Bourgogne (Peres *et al.*, 1998)



#### Interactions biomasse microbienne et biomasse lombricienne

D'après divers auteurs, les lombriciens développent des relations mutualistes avec la microflore lors du passage dans leur transit intestinal et sont par la même occasion des régulateurs importants de l'activité microbienne (Lee, 1985).

Nous avons montré avec Rémi Chaussod, en 1989, qu'il existait une relation entre les biomasses lombriciennes et les biomasses microbiennes mesurées dans plus d'une trentaine de parcelles de vignes (Cluzeau *et al.*, 1990).



### 2.3.6.2 Autres animaux

Comme les lombriciens, de nombreux autres groupes d'animaux interviennent dans les transferts de matière et d'énergie du sol. Gobat *et al.* (1998) notent que leur relative méconnaissance vient surtout du manque de spécialistes en systématique : seule la détermination correcte des organismes permet de franchir le pas suivant, celui de leur écologie et du rôle joué par chacun dans le sol. Les estimations d'abondance trouvées dans la littérature varient considérablement selon les sols étudiés (Gobat *et al.*, 1998, tableau 2).

**Tableau 2** : Abondance de la pédofaune en régions tempérées

| Groupe                | Individus/m <sup>2</sup>           | Biomasse (g/m <sup>2</sup> ) |
|-----------------------|------------------------------------|------------------------------|
| Protozoaires          | 10 <sup>9</sup> – 10 <sup>11</sup> | 6 à > 30                     |
| Nématodes             | 1 à 30 millions                    | 1 à 30                       |
| Vers de terre         | 50 à 400                           | 20 à 400                     |
| Acariens              | 20 000 à 400 000                   | 0,2 à 4                      |
| Collemboles           | 20 000 à 400 000                   | 0,2 à 4                      |
| Larves d'insectes     | jusqu'à 500                        | 4,5                          |
| Myriapodes diplopodes | 20 à 700                           | 0,5 à 12,5                   |
| Myriapodes chilopodes | 100 à 400                          | 1 à 10                       |
| Isopodes              | jusqu'à 1 800                      | jusqu'à 4                    |

Source : Gobat *et al.*, 1998

En Suisse, sur le domaine de Changins, une typologie des peuplements de **carabes** et d'**araignées** a été établie sur quatre types d'habitats (forêt, prairie, jachère, culture) (Derron et Blandenier, 2002). Parmi les principales conclusions de cette typologie, les auteurs rapportent que « *les carabes et araignées amènent des informations complémentaires* :

- *Les carabes semblent plus fidèles au type d'habitat que les araignées et sont, par conséquent, de bons descripteurs d'état des différents milieux.*

- *La grande sensibilité des araignées aux changements de structure en fait des indicatrices fines de l'évolution des milieux. Elles semblent donc particulièrement indiquées pour les études consacrées à cette évolution. Elles ne sont en revanche pas de bonnes indicatrices pour des milieux fréquemment remaniés comme les cultures.*

- *Les surfaces de compensation écologique (prairie, haie de croissance et jachère florale) possèdent des peuplements de carabes et d'araignées distincts de ceux de la culture. Elles possèdent des espèces intéressantes du point de vue faunistique, tant sur le plan local que régional. Elles permettent à des espèces nouvelles de s'installer et contribuent ainsi à l'amélioration de la diversité des peuplements de l'ensemble du site. »*



### 3. L'interprétation des résultats

L'interprétation des résultats est incontestablement la partie la plus délicate des mesures. Pour pouvoir apporter un commentaire aux grandeurs mesurées, il faut donc non seulement se servir d'analyses complémentaires (l'analyse physico-chimique est, rappelons-le, incontournable), mais également se baser sur des référentiels, régionaux en particulier. La difficulté actuelle est l'absence de ces référentiels. Il faut les construire petit à petit, en mutualisant les efforts, c'est-à-dire en prenant soin d'accompagner chaque analyse du maximum d'informations nécessaire à son interprétation, et en créant des bases de données régionales à partir des analyses réalisées avec soin.

#### 3.1 Organismes saprophytes

Les caractéristiques biologiques des sols dépendent de trois facteurs qui sont, par ordre décroissant d'importance : la nature du sol (paramètres physico-chimiques), le système de culture, la conduite des cultures. Nous donnons ci-dessous des exemples de résultats pour chacun de ces facteurs.

##### 3.1.1 Paramètres physico-chimiques du sol

Les caractéristiques physico-chimiques influencent fortement les propriétés biologiques des sols. Des relations étroites ont d'ailleurs été mises en évidence entre les caractéristiques physico-chimiques et biologiques, et ceci aussi bien pour la microflore (Chaussod *et al.*, 1986, Vekemans *et al.* 1989) que pour la faune, par exemple les populations de nématodes (Cadet *et al.*, 1994). Ce rappel est important car, quels que soient les paramètres biologiques mesurés, les résultats devront être analysés en tenant compte de cette source de variation. En d'autres termes, des différences liées aux pratiques culturales ne peuvent être mises en évidence de façon simple, sur un dispositif agronomique, que si les autres caractéristiques des parcelles sont rigoureusement identiques.

Plus généralement, la mise en œuvre des mesures biologiques doit s'accompagner de la détermination des principales caractéristiques des échantillons de sol correspondants : analyse granulométrique (dont teneur en argile), pH, C.E.C., teneur en matière organique, etc.

Ceci est indispensable même pour des échantillons de sol *a priori* semblables : les sols ne sont jamais parfaitement homogènes et la variabilité spatiale naturelle de certaines caractéristiques peut se traduire de façon significative sur des paramètres biologiques.

###### 3.1.1.1 Teneur en carbone

Effets de 20 années de gestion différenciées des résidus de récolte (enfouis ou exportés) dans un sol limoneux des landes sous monoculture de maïs (INRA-Bordeaux & INRA-Dijon) :

| Traitement       | Biomasse microbienne<br>en mg C / kg sol | Biomasse microbienne<br>en % du C total |
|------------------|--|---|
| Tiges enlevées   | 66                                       | 0,64                                    |
| Tiges restituées | 78                                       | 0,70                                    |

Effets de 20 années de gestion différenciée des résidus de récolte (pailles brûlées / pailles enfouies) dans un sol argilo-calcaire superficiel (INRA-Châteauroux & INRA-Dijon) :

| Traitement       | Biomasse microbienne<br>en mg C / kg sol | Biomasse microbienne<br>en % du C total |
|------------------|--|---|
| Pailles brûlées  | 357                                      | 2,66                                    |
| Pailles enfouies | 454                                      | 2,87                                    |

Dans les systèmes de culture, on a toujours observé que les systèmes incluant des entrées de carbone par l'utilisation d'engrais verts, de fumiers, de rotation de cultures, montrent une plus grande richesse en biomasse microbienne totale que les systèmes n'utilisant que des intrants minéraux (Fraser *et al.*, 1988, Kirchner *et al.*, 1993). Suite à 80 ans de la même rotation blé-betterave conduite avec différents types et niveaux de fertilisation, Houot et Chaussod (1995) ont trouvé une relation positive entre la biomasse microbienne et la teneur en C du sol. Ils ont également noté des valeurs de

biomasse décroissantes selon les types de fertilisation dans l'ordre suivant : engrais de ferme > fertilisation minérale > aucune fertilisation. D'autres auteurs ont confirmé ces résultats (Schnürer *et al.*, 1985, Witter *et al.*, 1993). Ainsi, toute pratique qui augmente l'accumulation de C dans le sol doit également accroître la taille de la biomasse microbienne.

### 3.1.1.2 pH

Plus le sol est acide, moins la biomasse microbienne est importante. Des auteurs ont constaté par exemple que sous prairie pâturée composée de ray-grass anglais, une diminution du pH de 5,4 à 4,7, survenue suite à l'interruption pendant deux ans de toute fertilisation et de chaulage, conduisait à une baisse de 18 % de la biomasse microbienne (Bardgett et Leemans, 1995). En revanche, l'apport de chaux en sol acide peut conduire à une augmentation de la biomasse microbienne. Le pH du sol influence également le type de populations microbiennes, ainsi dans les sols acides, on trouve plus de champignons.

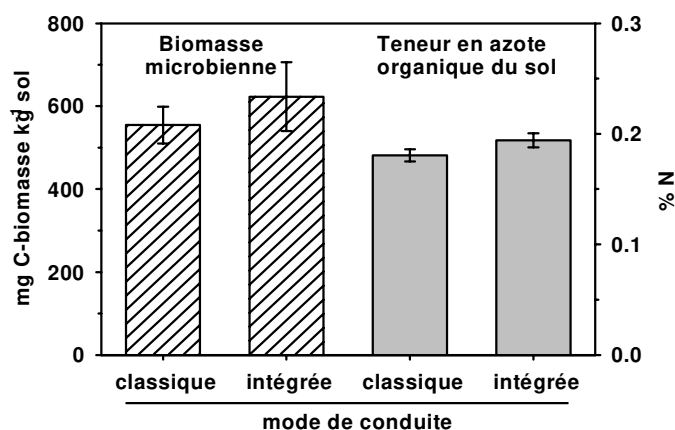
### 3.1.1.3 Texture

Quelques pour-cent d'argile en plus ou en moins peut avoir davantage de conséquences que des années de traitements différenciés.

La texture fine du sol (< 50  $\mu\text{m}$ ) aurait un effet de protection sur la biomasse microbienne totale, due à la plus forte proportion de micropores par rapport à un sol sableux et par la limitation du développement des prédateurs de microorganismes (mésafaune).

## 3.1.2 Système de culture

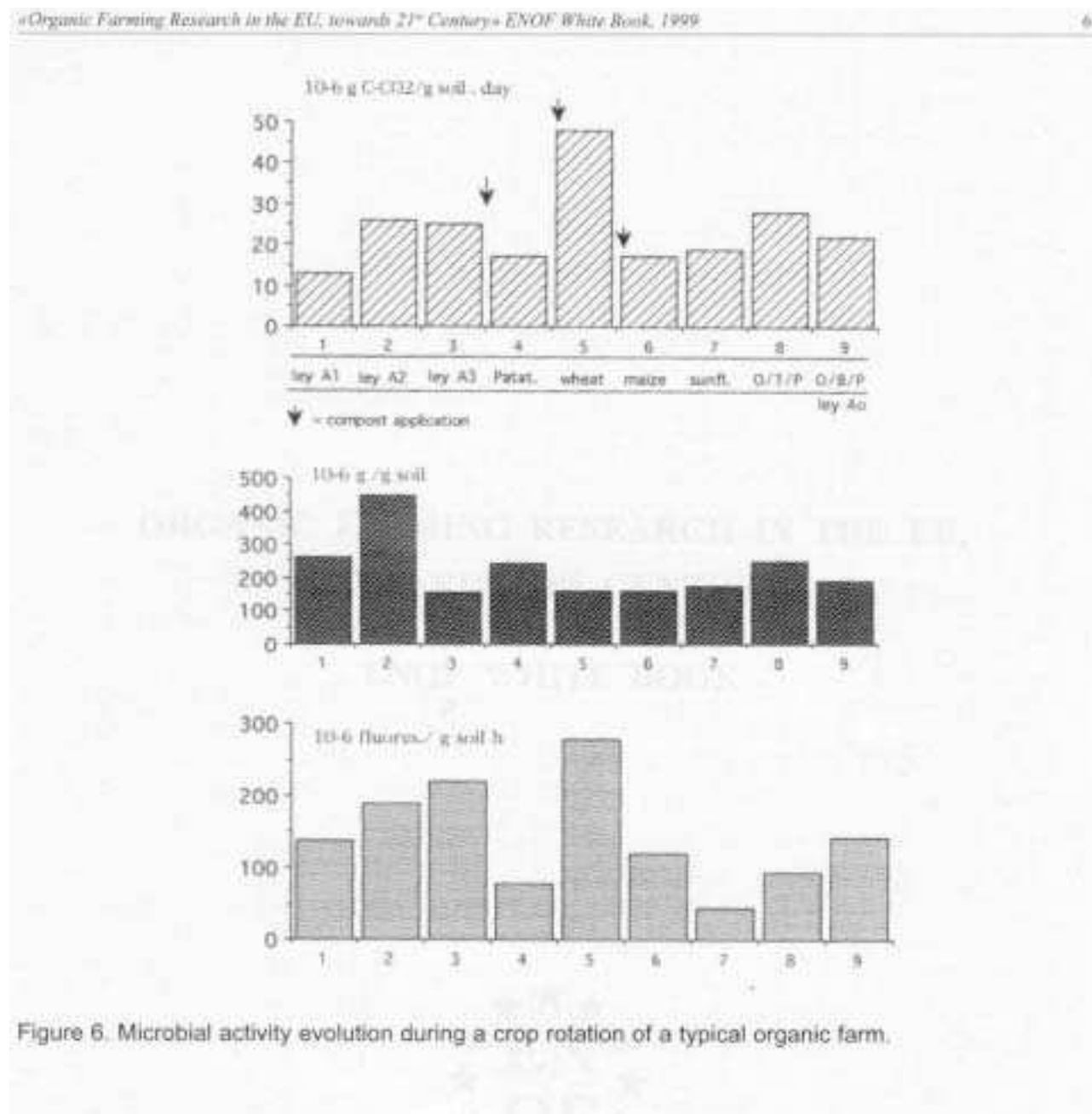
La quasi-totalité des micro-organismes du sol sont hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils utilisent des matières organiques comme substrats énergétiques. Plus les entrées de carbone organique seront importantes, à l'échelle de la parcelle, plus les populations microbiennes (et leurs activités) seront importantes. Ainsi, il est naturel de trouver une plus grande abondance de microbes sous prairie permanente (où les rhizodépôts apportent toute l'année des substrats énergétiques) que sous des cultures annuelles n'occupant le sol que quelques mois. Ainsi, Loiseau *et al.* (1994) ont montré qu'après 20 années de cultures différentes sur un même sol, la biomasse microbienne variait du simple au double selon la rotation appliquée. Les valeurs les plus élevées sont bien entendu observées sous prairie permanente, mais l'introduction d'une prairie temporaire assure déjà un niveau d'activité biologique bien supérieur à ce qui est observé sous cultures annuelles.



**Figure 1 :** Teneurs en azote organique et en biomasse microbienne du sol (horizon 0-30 cm) mesurées en 1999 pour les parcelles conduites classiquement ou de façon intégrée (avec cultures intermédiaires) pendant 3 rotations (blé, pois, betterave). Les parcelles font partie du dispositif de l'AREP à Thibie (51) qui a été mis en place par l'ITCF (Source : Nicolardot *et al.*, INRA Reims, non publié).

L'activité biologique (voir figure 2) - mesurée par la biomasse microbienne (graphique du haut), la respiration potentielle (graphique du milieu) ou l'activité enzymatique (graphique du bas) - varie fortement au cours de la rotation culturale en agriculture biologique (B.Godden & M. Penninckx 1999).

L'activité biologique (voir figure 2 ci-dessous) - mesurée par la biomasse microbienne (graphique du haut), la respiration potentielle (graphique du milieu) ou l'activité enzymatique (graphique du bas) - varie fortement au cours de la rotation culturale en agriculture biologique (B.Godden & M. Penninckx 1999). La taille des histogrammes est en effet très différente d'une année à l'autre, quel que soit le type de mesure réalisé (un histogramme représente une année de culture).



**Figure 2** : Evolution de l'activité microbienne au cours d'une rotation en agriculture biologique (B. Godden & M. Penninckx, 1999)

### 3.1.3 Conduite des cultures

Alors que le type de sol et le système de culture peuvent être considérés comme des données "fixes", les pratiques culturales peuvent être modulées par l'agriculteur. Des déterminations biologiques peuvent éventuellement contribuer au choix de ces pratiques. On peut souhaiter vérifier les effets d'un apport de matières organiques ou d'un itinéraire technique tel que le travail plus ou moins intensif du sol, ou la comparaison de fertilisation minérale / organique par exemple (Houot & Chaussod, 1995) ; on peut enfin s'intéresser aux effets négatifs de produits potentiellement toxiques tels que les pesticides (en période de reconversion) ou le cuivre (encore très utilisé en agriculture biologique).

Dans le cas général, on cherche à s'assurer que les pratiques culturales n'altèrent pas les propriétés des sols (normalement, on cherche plutôt à les améliorer). Le problème peut alors se réduire à trouver et utiliser des indicateurs suffisamment fiables et sensibles pour mettre en évidence des modifications, somme toutes minimales, de propriétés. Le plus utile, au plan agronomique, consiste à évaluer le potentiel de fourniture d'azote en relation avec le "statut organique" du sol. Sous réserve de bien maîtriser les effets du type de sol et du système de culture, il est possible d'envisager d'utiliser des mesures biologiques (comme la détermination de la biomasse microbienne et des métabolites) pour apprécier un potentiel de fourniture d'azote (Menasseri *et al.*, 1994).

Outre la caractérisation à un instant "t" d'échantillons de sol, les mesures biologiques peuvent être utiles pour évaluer les effets de divers traitements. Ceci revient soit à comparer des parcelles différentes, soit à suivre dans le temps l'évolution de certains paramètres sur une même parcelle. Dans le premier cas, il s'agit d'une comparaison synchronique : à une date donnée, par exemple, on compare un "témoin" et un "traité". Il est fondamental de s'assurer que les deux parcelles sont rigoureusement comparables et que d'éventuelles différences ne sont dues qu'à l'effet du traitement. Dans le second cas, il s'agit d'une comparaison diachronique. Dans ce cas, il faut être certain que les variations naturelles (saisonnnières ou inter-annuelles) ne sont pas la cause des modifications observées. On peut déduire de ces remarques que l'approche la plus fiable est de s'assurer qu'il n'y a aucune différence entre les parcelles avant l'application du traitement, puis à les étudier ensemble après différentes durées. Ceci revient à mettre en oeuvre une étude diachronique permettant des comparaisons synchroniques fiables. On voit donc que l'appréciation au champ des effets de pratiques culturales différenciées exige des moyens finalement assez lourds.

### 3.1.4 Nécessité d'un référentiel

Les mesures biologiques dépendent de nombreux paramètres notamment du climat, du type de sol et de la conduite agronomique.

Dans le cadre d'essais comparatifs au champ, les dispositifs sont mis en oeuvre sur un même sol, et les prélèvements des différentes parcelles, correspondant aux différents traitements, sont réalisés le même jour, dans les mêmes conditions climatiques.

Il est ainsi possible de comparer les différents traitements entre eux.

Lorsque l'analyse est faite sur la parcelle d'un agriculteur, il ne dispose pas d'un dispositif complet comprenant des témoins et plusieurs répétitions. Pourtant, ces analyses ne lui seront utiles que si elles sont accompagnées d'une interprétation. Il faut donc pouvoir comparer la valeur mesurée à d'autres valeurs mesurées dans des conditions comparables.

#### 3.1.4.1 Comparaisons chronologiques ou suivi dans le temps

Si l'agriculteur a déjà fait faire ce type d'analyses sur la même parcelle, il peut utiliser les résultats précédents comme référence et suivre l'évolution du paramètre en fonction des modifications apportées à sa conduite agronomique.

#### 3.1.4.2 Interprétation de données isolées

##### La banque de données

Si l'agriculteur ne dispose pas de résultats d'analyses antérieures réalisées sur la même parcelle, il faut alors baser l'interprétation sur un groupe de plusieurs analyses réalisées sur des parcelles différentes, mais ayant des caractéristiques proches. En effet, on compense le fait que les résultats de référence ne proviennent pas exactement de la même parcelle, en multipliant le nombre de références provenant de terre ayant des caractéristiques proches.

En première approche, pour que le groupe de référence soit valable, un minimum de 20 échantillons doit être considéré. Des groupes de référence ayant un nombre plus faible d'échantillons ne peuvent être considérés qu'après une validation statistique sérieuse.

On voit ainsi que pour fournir une interprétation fiable pour plusieurs groupes de sols, il faut disposer d'un grand nombre de données de référence, contenant des informations sur le type de sol (analyses physiques et chimiques), sur les paramètres biologiques et sur les conduites agronomiques (culture, fertilisation, travail du sol etc.). C'est ce qu'on appelle LA BANQUE DE DONNEES. Elle servira de base à la construction du référentiel d'interprétation.

### Le référentiel d'interprétation

A partir de la banque de données, des groupes doivent être créés, regroupant des échantillons ayant des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques proches.

Etant donné que ce travail se fait sur un très grand nombre de données (1 000 références X 15 paramètres = 15 000 données !) il ne peut être réalisé objectivement qu'en utilisant des outils statistiques puissants.

L'analyse en composantes principales (A.C.P.) permet de désigner selon quels paramètres la banque de données sera découpée *a priori* en groupes de référence primaires.

Par la suite, les analyses factorielles discriminantes (A.F.D.) permettent de reclasser progressivement tous les échantillons dans les groupes leur correspondant le mieux, jusqu'à ce que 100 % des échantillons soient classés dans le bon groupe. On a ainsi défini des groupes de référence *a posteriori*, validés statistiquement.

Pour chacun de ces groupes, il est possible de déterminer où se situe la valeur moyenne pour le paramètre biologique et quelle est la variabilité statistiquement acceptable autour de cette moyenne (écart type).

En considérant les informations agronomiques également collectées dans la banque de données, il est ainsi possible de mettre en évidence que sur tel ou tel type de sol, certaines cultures auront systématiquement des valeurs élevées et d'autres des valeurs faibles pour le paramètre biologique. De telles considérations peuvent aussi être faites en fonction du type de fertilisation ou de travail du sol.

Le regroupement par type de sol et le traitement de l'ensemble de ces données chimiques, physiques, biologiques et agronomiques constitue ce qu'on appelle le REFERENTIEL D'INTERPRETATION.

### L'interprétation avec le référentiel

Pour un échantillon isolé, l'interprétation avec le référentiel nécessite :

- Le classement de l'échantillon dans le groupe qui lui correspond. Pour que cette étape soit réalisée de façon objective, elle doit être réalisée au moyen d'outils statistiques tels que l'analyse factorielle discriminante.
- La comparaison avec les valeurs déjà observées sur les échantillons de référence du groupe :
  - ✓ Si la valeur de l'échantillon est supérieure à la moyenne du groupe + l'écart type, elle est considérée comme élevée,
  - ✓ Si la valeur de l'échantillon est inférieure à la moyenne du groupe - l'écart type, elle est considérée comme faible,
  - ✓ Si la valeur de l'échantillon est comprise entre à la moyenne du groupe + l'écart type et à la moyenne du groupe - l'écart type, elle est considérée comme moyenne.

**Remarque** : attention, ces indications sont uniquement des repères ; elles ne sont pas des critères de qualité. En effet, une valeur élevée peut être mauvaise ou bonne selon l'objectif et les conditions.

*Considérons l'exemple d'une activité microbiologique élevée dans un sol bien pourvu en matière organique, cela signifie qu'une minéralisation intense de la matière organique peut avoir lieu.*

*Contexte 1 : s'il s'agit d'une culture céréalière en agriculture biologique, la minéralisation de la matière organique peut contribuer de façon bénéfique à la nutrition des cultures, avec un risque faible de diminution des stocks de matière organique du sol puisque celui-ci est régulièrement amendé en matière organique.*

*Contexte 2 : s'il s'agit d'un verger désherbé d'arbres fruitiers à noyaux, la minéralisation peut induire une trop grande fourniture d'azote au printemps et, par la suite, des problèmes de coulure important.*

Elle peut en outre entraîner une diminution des stocks de matière organique pour des sols déjà sensibles au problème de déstructuration, compactage, érosion...

- L'interprétation agronomique

Si la valeur observée n'est pas moyenne, on peut vérifier si les données agronomiques disponibles sur l'échantillon (culture en place, fertilisation, travail du sol...) correspondent à des situations agronomiques associées systématiquement à des valeurs non moyennes des paramètres biologiques pour les sols de référence du groupe. Il est ainsi possible de dire si les valeurs non normales s'expliquent par la culture en place, la fertilisation ou le travail du sol et, éventuellement, de proposer un conseil.

La construction d'un tel référentiel d'interprétation a été réalisée par la SADEF, sur une banque de données comportant plus de 1 000 références pour les mesures de carbone microbien extrait des sols par la méthode de fumigation extraction et pour l'indicateur du statut organique des sols, qui rapporte ce carbone microbien au carbone total du sol.

### 3.2 Micro-organismes symbiotiques

#### 3.2.1 Exemples de résultats concernant les mycorhizes :

##### - En fonction du niveau d'intrants :

Résultats obtenus sur culture de blé avec Philippe Viaux de l'ITCF sur le dispositif des micro-fermes de Boigneville (Viaux *et al.*, 2002).

Sur des micro-fermes, différents itinéraires techniques plus ou moins intensifs sont pratiqués :

Mesures des taux de mycorhization :

| Caractéristiques de l'itinéraire technique | décembre 1996 | mars 1997 | juin 1997 | PEM* |
|--|---------------|-----------|-----------|------|
| Monoculture de blé                         | 0 %           | 0 %       | 1 %       | 46   |
| Réduction des intrants de 35 %             | 2 %           | 5 %       | 15 %      | 98   |
| Agriculture biologique                     | 5 %           | 15 %      | 40 %      | nd** |

\* pouvoir endomycorhizogène

\*\* nd : non déterminé

##### - Influence de la désinfection

Mesures réalisées avec le GRAB dans le cadre du programme "agriculture 2000"

PEM d'un sol cultivé en agriculture biologique avant et après solarisation :

Avant solarisation : PEM = 660

Après solarisation : PEM = 0

##### - Influence de la mycorhization contrôlée

Plants de poireaux mycorhizés en mottes et plantés dans une parcelle d'agriculture biologique :

Taux de mycorhization des plants :

|                  | mycorhizés | non mycorhizés |
|------------------|------------|----------------|
| Avant plantation | 25 %       | 0 %            |
| A la récolte     | 5 %        | 5 %            |

Plants de poireaux mycorhizés en mottes et plantés dans une parcelle d'agriculture conventionnelle (résultats obtenus par Christian Porteneuve à la station SCEL/CTIFL de Pleumeur Gauthier)

Taux de mycorhization des plants à la récolte :

|                  | mycorhizés | non mycorhizés |
|------------------|------------|----------------|
| Avant plantation | 35 %       | 0 %            |
| A la récolte     | 75 %       | 43 %           |

#### 3.2.2 Interprétation

Les exemples ci-dessus montrent que les pratiques agronomiques utilisées en agriculture biologique ne sont pas toujours plus favorables aux mycorhizes que celles de l'agriculture conventionnelle.

Contrairement à la plupart des saprophytes, le niveau de mycorhization dépend surtout des techniques culturales employées, même si des interactions existent avec les caractéristiques physico-chimiques de la parcelle.

Le principal facteur limitant la mycorhization est un niveau excessif de phosphore soluble dans le sol. La forte disponibilité du phosphore dans ce sol amène la plante à se passer du champignon et donc à réduire le taux de mycorhization.

D'autres facteurs interviennent : le tassement excessif du sol, l'excès de la fertilisation azotée, l'emploi de fongicides dont le cuivre et bien sûr la désinfection du sol. De plus, certaines plantes ne mycorhizent pas comme les crucifères (colza) et les chénopodiacées (betterave) : ces cultures entraînent donc une baisse du potentiel mycorhizien de la parcelle.

Les mauvaises mycorhizations souvent rencontrées en maraîchage biologique sont attribuables aux fertilisants et amendements organiques qui peuvent être apportés en grandes quantités et qui, en se dégradant, libèrent beaucoup de phosphore soluble. En plus des risques de pollution des eaux, cela favorise les plantes peu dépendantes, dont font partie de nombreuses adventices, et fragilise la culture face aux pathogènes racinaires et aux stress hydriques.

En grandes cultures biologiques, il est rare que les apports de fertilisants entraînent une inhibition de la mycorhization car les quantités de fertilisants et amendements apportées sont moindres par rapport aux cultures maraîchères.

Enfin, il faut retenir que, **dans la plupart des sols cultivés en France, il y a une réserve de phosphore suffisante pour alimenter des plantes à condition qu'elles soient bien mycorhizées.**

### 3.2.3 Nécessité d'un référentiel

Chaque espèce étant plus ou moins dépendante des mycorhizes, les résultats seront à interpréter culture par culture. Par exemple un taux de mycorhization favorable en cours de culture sera pour un blé de 35 à 40%, pour un pois de 45 à 55%, et pour un maïs de 65 à 75%.

Exemples de mesures correctives :

- Un rééquilibrage de la fertilisation et des amendements vers moins d'apports phosphatés ,
- Une réduction du travail du sol,
- La modification de l'assolement,
- L'utilisation de plantes dépendantes comme engrais vert,
- Modification des traitements fongicides,
- La mycorhization contrôlée avec un inoculum du commerce, soit en utilisant des plants en mottes mycorhizés, soit en mycorhizant au moment de la plantation pour les cultures spécialisées (horticulture, arboriculture, viticulture). Cette opération est particulièrement recommandée lorsqu'une désinfection a été pratiquée ou dans le cas de plantations en sol calcaire.

## Conclusion

Il existe une grande diversité de mesures biologiques possibles techniquement. Mais en fait assez peu sont utilisables dans la pratique. En effet, pour être véritablement utiles, les déterminations biologiques doivent être pertinentes, fiables, posséder un rapport signal / bruit satisfaisant (suffisamment sensibles mais pas trop), et bien sûr d'un coût modéré. Il faut aussi que les grandeurs mesurées soient interprétables.

Quelques méthodes simples existent, qui peuvent être utilisées en complément des analyses de terre classiques.

Pour les micro-organismes saprophytes, l'ensemble formé par la détermination de la biomasse microbienne, des métabolites et des activités globales de minéralisation du carbone et de l'azote représente actuellement le meilleur rapport performances / coût. Cet ensemble de mesures cohérentes entre elles est particulièrement adapté à la caractérisation du "statut organique" du sol (Chaussod *et al.*, 1992) et à ses conséquences en termes de fourniture d'azote.

Pour les symbiotes, l'étude des mycorhizes est assez facile et permet d'envisager des mesures correctives simples. La gestion de la mycorhization joue un rôle important dans la nutrition phosphatée mais touche aussi à de nombreuses autres composantes du rendement.

Des recherches se poursuivent pour définir et mettre au point d'autres mesures biologiques capables de compléter les déterminations présentées dans ce document, ainsi que pour établir des référentiels tenant compte du "type de sol" et des principaux systèmes de culture.

En tout état de cause, il serait illusoire d'attendre monts et merveilles de ces approches. A ce jour, il n'existe pas de test simple, "bord de champ", rapide, pas cher, et expliquant tout !

Les analyses biologiques sont coûteuses et difficiles à interpréter. Leur interprétation nécessite d'ailleurs de connaître d'autres paramètres. De plus il n'est pas forcément nécessaire de réaliser de telles analyses. Rappelons que le nombre d'analyses de terre effectués en France est très réduit, et qu'avant de se lancer dans des analyses d'activités biologiques, il y a déjà beaucoup à tirer des analyses de terre classique.

Il est important de choisir les outils d'analyses d'activité biologique les mieux adaptés aux questions posées. Par exemple Doledec *et al.* (2002) ont montré que l'effet *terroir* pouvait être mis en évidence par les analyses de la microflore alors que les effets *pratiques culturales* pouvaient l'être par les analyses des communautés lombriciennes.

### Que peut-on attendre (ou ne pas attendre) des mesures biologiques ?

Les mesures biologiques complètent les mesures classiques. Elles ne peuvent s'y substituer. Au contraire, 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.

Aujourd'hui, les mesures biologiques commencent à être opérationnelles pour répondre à trois grands types de questions :

#### 1) Evaluation des conséquences des apports organiques

La quasi-totalité des organismes vivants du sol étant saprophytes, les niveaux de populations et activités biologiques sont très liés au régime d'apports organiques. Pour un type de sol donné, les mesures de biomasse microbienne et de "métabolites" donnent une bonne image du statut organique de la parcelle, avec les implications au niveau des fournitures du sol en azote, et celles concernant la stabilité de la structure.

Cependant, il ne faut pas oublier que certains symbiotes jouent un rôle très important dans la nutrition azotée (*Rhizobium*, *Frankia*) et phosphatée (Mycorhizes). La mesure des populations de ces symbiotes permet également dans certains cas, de mieux comprendre les problèmes de compétition entre espèces végétales (plante cultivée/adventices).

#### 2) Evaluation des effets de produits potentiellement toxiques

Il existe une palette assez complète de tests, mais dont la mise en oeuvre est très lourde.

#### 3) Evaluation des effets globaux d'itinéraires techniques, de pratiques culturales, voire de modes de production différents

Le principal intérêt des mesures biologiques est la comparaison de traitements mis en place dans le cadre d'essais agronomiques, sur un même site (choisi pour son homogénéité).



## BIBLIOGRAPHIE

- Anwar Ghani, Perrot K.W. and Dexter M.** (2000). Hot water C : a sensitive, stable and inexpensive measurement of soil quality. *In* : Euro 2000, Reading (U.K.)
- Balesdent J., Pétraud J.P., Feller C.** (1991). Effets des ultrasons sur la distribution granulométrique des matières organique des sols. *Science du Sol*, 29 : 95-106.
- Bardgett R.D. & Leemans D.K.** (1995). The short term effects of cessation of fertiliser applications, liming, and grazing on microbial biomass and activity in reseeded upland. *Biol. Fert. Soils*, 19, 148-154.
- Bergstrom D.W., Monreal C.M. and King D.J.** (1998). Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. *Soil Science Society of America Journal*, 62, pp 1286-1295.
- Biederbeck V.O., Janzen H.H., Campbell C.A. and Zentner R.P.** (1994). Labile soil organic matter as influenced by cropping practices in an arid environment. *Soil Biology and Biochemistry*, 26, pp 1647-1656.
- Bouché M. B.** (1969) Comparaison critique de méthodes d'évaluation des populations de Lombricidés. *Pedobiologia*, 9 : 26-34.
- Bouché M.B.** (1972). Lombriciens de France. Ecologie et Systématique. *I.N.R.A., Annales de Zoologie-Ecologie Animale (numéro hors série)*
- Bouché M. B.** (1977). Stratégies lombriciennes. *Bulletin d'Ecologie*, 25 : 122-132.
- Bouché M.B., & Gardner R.H.** (1984). Earthworm functions VIII, - Population estimation techniques. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 21(1) : p 37-63.
- Bouché M.B., & Aliaga R.** (1986). L'échantillonnage des lombriciens : une urgente nécessité. *La défense des végétaux*, 242 : p 30-36.
- Burns R.G.** (1982). Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry*, 14, pp 423-428.
- Cadet P., Thioulouse J. and Albrecht A.** (1994). Relationships between ferrisol properties and the structure of plant parasitic nematode communities on sugarcane in Martinique (French West Indies). *Acta Oecologica*, 15, pp 797-780.
- Chaussod R., Nicolardot B., Catroux G. et Chrétien J.** (1986). Relations entre les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques de quelques sols cultivés. *Science du Sol*, 24 : 213-226.
- Chaussod R., Zuvai M., Breuil M.C. et Hetier J.M.** (1992). Biomasse microbienne et "statut organique" des sols tropicaux : exemple d'un sol vénézuélien des Laonas sous différents systèmes de culture. *Cahiers de l'ORSTOM, série Pédologie*, 27 (1) : 59-67.
- Cluzeau D., Lebouvier M., Trehen P., Bouché M.B., Badour C. & Perraud A.** (1987). Relations between earthworms and agricultural practices in the vineyards of Champagne. Preliminary results. In 'On earthworms' (Eds. Omodeo P.) Selected Symposia and Monographs U.Z.I., Modena (Italie), pp 465-484.
- Cluzeau D., Guo Z.T., Chaussod R., Fedoroff N., Normand M., Perraud A., Valentin G.** (1994). Interactions between soil, biological activities and organic matter enrichments in Champagne soils. In *Transactions of the 15 World Congress of Soil Science* (Eds Etchevers J.D. & Aguilar A.), INEGI & CNA Publishing, Mexico, Mex. Vol. 4b, p.149-150.
- Cluzeau D., Cannavaciolo M. & Peres G.** (1999). - Indicateurs microbiologiques des sols : les lombriciens - Méthode d'échantillonnage dans les agrosystèmes en zone tempérée. In *Euroviti 99, 12<sup>ème</sup> Colloque Viticole et Oenologique* Nov 99, Montpellier (Eds. ITV France, Paris), pp. 25-38.
- Derron J.O. & Blandenier G.** (2002). Typologie des carabes et des araignées du domaine de Changins. *Revue Suisse Agric.*, 34 (4) : 177-186.
- Doledec A.F., Descotes A., Moncomble D., Cluzeau D., Peres G. & Chaussod R.** (2002). Viticulture raisonnée et préservation des terroirs en Champagne. *Phytoma* 546 : 39-40.
- Fayolle L. & Gautronneau Y.** (1998). Détermination des peuplements et de l'activité lombricienne en grandes cultures, à l'aide du profil cultural. *Echo-MO n° 14*, pp 3-4.
- Feller C.** (1979). Une approche de fractionnement granulométrique de la matière organique des sols : application aux sols tropicaux à texture grossière, très pauvre en humus. *Cahiers ORSTOM, série Pédologie*, 17 : 339-346.
- Fraser D.G., Doran J.W., Sahs W.W., Lesoing G.W.** (1988). Soil microbial populations and activities under conventional and organic management. *J. Environ. Qual.*, 17 : 585-590.
- Gautronneau Y. & Manichon M.** (1987). Guide méthodique du profil cultural, CEREF-ISARA, Lyon, 71 pages.
- Gobat J.-M., Aragno M., Matthey W.** (1998). Le Sol vivant, bases de pédologie biologie des sols. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 519 pages.
- Godden B. & Penninckx M.** (1999). Soil fertility in organic farming. ENOF White Book, chap 4, p 44-61 J. Isart & J.J. Llerena Eds, p 19-28. Barcelona.
- Hoffmann E. & Seegerer A.** (1951). Soil enzymes as factors of fertility. *Naturwissenschaften*, 38, pp 141-142.
- Huot S. & Chaussod R.** (1995). Impact of Agricultural Practices on the size and activity of the microbial biomass in a long-term field experiment. *Biol. Fert. Soil*, 19 : 309-316.
- Jenkinson, D.S. & Powelson, D.S** (1976). The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V) A

- method for measuring biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 8 : 209-213.
- Juma & Paul E.A.** (1984). Mineralizable soil nitrogen : amounts and extractability ratios. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, pp 76-80.
- Kennedy A.C. & Smith K.L.** (1995). Microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant & Soil*, 170, pp 75-86.
- Kirchner M.J., Wollum II A.G., King L.D.** (1993). Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 57 : 1289-1295.
- Lee K. E.** (1985). Earthworms : their Ecology and relationships with Soils and Land Use. Academic Press, Australia. 411 p.
- Lemaître A., Chaussod R., Tavant Y. and Bruckert S.** (1995a). An attempt to determine a pool of labile organic matter related to the soil microbial biomass. *European Journal of Soil Biology*, 31 (3) : 121-125.
- Lemaître A., Tavant Y., Chaussod R. and Andreux F.** (1995b). Characterisation of microbial compounds and metabolites isolated from a humic calcic soil. *European Journal of Soil Biology*, 31 (3) : 127-133.
- Loiseau P., Chaussod R. and Delpy R.** (1994). Soil microbial biomass and in situ nitrogen mineralization after 20 years of different nitrogen fertilization and forage cropping systems. *European Journal of Agronomy*, 3, pp 327-332.
- Menasseri S., Houot S. and Chaussod R.** (1994). Field test methods to estimate the soil nitrogen supply. *European Journal of Agronomy*, 3, pp 273-279.
- Molina J.A.E., Nicolardot B., Houot S., Chaussod R. and Cheng H.H.** (1993). Biologically active soil organics : a case of double identity. In : "Defining Soil Quality for a sustainable environment", *Soil Science Society of America Journal*, special publication n°35, pp 169-177.
- Nalin R., Ranjard L., Nazaret S., Simonet W. P.** (1998). La biologie moléculaire en écologie microbienne du sol : application à l'analyse de la structure des communautés bactériennes. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 13 (1), pp 21-26.
- Parton W.J., Schimel D.S., Cole C.V. and Ojima D.S.** (1987). Analysis of factors controlling soil organic matter levels in Great Plains grasslands. *Soil Science Society of America Journal*, 51, pp 1173-1179.
- Peres G., Cluzeau D., Curmi P. & Hallaire V.** (1998). The influence of the relationships between organic matter and functional structure of earthworm's community, on soil structure in vineyard soils. *Soil Biology & Fertility*, 27:417-424
- Raw F.** (1959). Estimating earthworm population by using formaline. *Nature*, 184 : 1661-1662.
- Recous S.** (1995). Réponse des matières organiques des sols aux changements atmosphériques globaux. II - Effet de la température sur la minéralisation d'un résidu végétal (maïs) et de la matière organique des sols. In "Ecosystèmes et changements globaux". Les dossiers de l'Environnement de l'INRA, 8 : 81-85.
- Rodrigo A., Recous S, Neel C. & Mary B.** (1997). Modelling temperature and moisture effects on C-N transformations in soils: comparison of nine models. *Ecol. Model.* 102 : 325-339.
- Segal W. & Mancinelli R.L.** (1987). Extent of regeneration of the microbial community in reclaimed spent oil shale land. *Journal of Environmental Quality*, 16, pp 44-48.
- Schnürer J. & Rosswall T.** (1982). Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology*, 43, pp 1256-1261.
- Schnürer J., Clarholm M., Rosswall T.** (1985). Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents. *Soil. Bio l. Biochem.*, 17 : 611-618.
- Sparling G., Vojvodic-Vukovic M. and Schipper L.A.** (1998). Hot-water-soluble C as a simple measure of labile soil organic matter: the relationship with microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, pp 1469-1472.
- Vekemans X., Godden B. & Penninckx M.** (1989). Factor analysis of the relationships between several physico-chemical and microbiological characteristics of some Belgian agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 21, 53-58.
- Viaux Ph., Parat J. & Blal B.** (2002). Les endomycorhizes, indicateurs de la qualité des sols ? *Perspectives Agricoles*, 277: 50-54.
- Witter E., Martensson A.M., Garcia F.V.** (1993). Size of the soil microbial biomass in a long term field experiment as affected by different N-fertilizers and organic manures. *Soil Biol. Biochem.*, 25 : 659-669.
- Wu J., Joergensen R.G., Pommerening B., Chaussod R. & Brookes P.C.** (1990). Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction - An automated procedure. *Soil Biol. Biochem.*, 22 : 1167-1169.

## INDEX

### A

activités enzymatiques, 9  
 araignées, 16  
 argile, 17  
 aryl-sulfatases, 10  
 autoclavage, 8

### B

betterave, 23  
 biodiversité, 11  
 biomasse microbienne, 8  
 boîtes de Pétri, 11

### C

C.E.C., 17  
 calcaire, 11  
 carabes, 16  
 catalase, 9  
 cellulases, 10  
 cellulose, 10  
 chaux, 18  
 chénopodiacées, 23  
 colza, 23  
 crucifères, 23  
 cuivre, 23

### D

déshydrogénase, 9

### E

échantillonnage, 7  
 ectomycorhizes, 11  
 endomycorhization, 12  
 endomycorhizes, 11

engrais vert, 23

### F

FDA, 10  
 fumigation-extraction, 8

### G

grandes cultures, 23

### H

Horizon de prélèvement, 7  
 humification, 10  
 Hydrolases, 10

### L

laccases, 10  
 lignine, 10  
 lombriciens, 13

### M

macroagrégats, 13  
 maraîchage, 23  
 métaux lourds, 11  
 MPN, 11  
 mycorhizes, 11

### N

*nématodes*, 17  
 Nitrification, 10  
 NPP, 11

### O

oligo-éléments, 11  
 Oxydo-réductases, 9

### P

parcelle, 5  
 PCR, 11  
 pH, 10, 17, 18  
 phosphatase, 10  
 phosphore, 11, 23  
 phosphore soluble, 23  
 poireaux, 22  
 polyphénol-oxydases, 10  
 Pool de matière organique  
   labile, 8  
 pratiques culturales, 20

### R

résidus de récolte, 10  
 respiration, 9  
 respiration spécifique, 9  
*Rhizobium*, 11  
 rhizodépositions, 18

### S

séchage, 10  
 solarisation, 22

### T

tassement, 23  
 tests écotoxicologiques, 9  
 texture, 18  
 travail du sol, 23