

**Mesures utilisables pour évaluer la
« qualité biologique » des sols**

Rachida NOUAÏM et Rémi CHAUSSOD (SEMSE)

2020

S.E.M.S.E. Sarl

Services et Etudes en Microbiologie des Sols et de l'Environnement
2 Chemin du Lavoir 21310 VEVIGNE

Tel : 06 04 04 35 59 mail : contact@semse.fr site : www.semse.fr
SIRET n° 791 059 827 00018 APE 7490 B

Mesures utilisables pour évaluer la « qualité biologique » des sols

Ce document présente les paramètres les plus adaptés à l'évaluation de la qualité biologique des sols, à la lumière de l'expertise du SEMSE.

Le SEMSE possède en effet une longue expérience en matière de mesures biologiques de la qualité des sols, dans toutes ses dimensions : état de l'art, méthodes, applications, interprétations (c.f. biblio : Chaussod, 1996 ; Chaussod *et al.*, 2000 ; Chaussod & Nouaïm 2011 ; Nouaïm & Chaussod, 2012, Nouaïm & Chaussod 2015 ; Chaussod & Nouaïm 2019).

Pour des applications agronomiques, nous avons développé des indicateurs biologiques opérationnels ces 20 dernières années, l'objectif étant de mesurer des paramètres qui soient à la fois :

- Pertinents au plan agronomique (faire référence à une fonction ou une qualité du sol),
- Interprétables, à la lumière de notre expérience des divers contextes agro-pédo-climatiques,
- Fiables au plan technique (reproductibles et aussi précis que possible pour être capables de mettre en évidence des différences significatives entre les modalités comparées dans le cas d'expérimentations),
- Abordables au plan économique (en visant le meilleur rapport performances/coût).

Nous disposons aujourd'hui d'un ensemble de paramètres qui répondent à ces critères et qui sont donc « opérationnels » pour aborder la qualité des sols sous les trois aspects complémentaires de la microflore (quantité, activité, diversité) et prenant en compte également les compartiments labiles de la matière organique. Ces paramètres ont été validés dans diverses études régionales, dont de multiples expérimentations agronomiques que nous avons menées en collaboration avec des Instituts Techniques, des Chambres d'Agriculture ou des Organisations Professionnelles.

Sur la base de notre expérience, les indicateurs suivants sont à envisager :

1) Caractérisation de la microflore sous ses 3 aspects (abondance, activité, diversité) :

- pour l'**abondance microbienne** : Biomasse Microbienne.

C'est certainement l'indicateur biologique le plus pertinent pour des applications agronomiques et c'est aujourd'hui le paramètre biologique le plus couramment utilisé en France et dans le monde. Techniquement, on mesure la « Matière Organique Vivante » (MOV) par la technique de fumigation des sols au chloroforme (Jenkinson & Powlson, 1976 ; Chaussod *et al.*, 1988 ; Wu *et al.* 1990). Cette mesure est aujourd'hui normalisée (ISO, 1997, norme ISO14.240-2).

Ce compartiment vivant de la matière organique est directement en lien avec le « statut organique » du sol (Chaussod & Nouaïm, 2001) et avec la fourniture potentielle en azote (Chaussod et Houot, 1993). Il est significativement affecté par les pratiques culturales (Crozier *et al.*, 2004 ; Morlat & Chaussod, 2008 ; Valé *et al.*, 2011).

- pour l'**activité globale de la microflore** : Activité Respiratoire ou Activité FDA-hydrolase ou Activité d'Ammonification de l'Arginine.

Mesure de l'activité respiratoire : il s'agit du test classique de minéralisation du carbone en incubation en conditions contrôlées. Praticqué à une humidité du sol proche de l'optimum, il mesure

surtout la disponibilité de composés organiques facilement biodégradables (matières organiques fraîches ou moins humifiées) – voir point 2 ci-après.

Mesure de l'activité FDA-hydrolase : il s'agit d'un test enzymatique non spécifique, intégrant l'activité de nombreuses enzymes du sol : estérases, lipases, protéases... Il est mesuré en temps court et en conditions standards, selon un protocole dérivé de Schnürer & Rosswall (1982) et adapté par le SEMSE pour une utilisation sans biais sur tout type de sol. Sur un large échantillonnage de sols cultivés, l'activité FDA-hydrolase s'est avérée bien corrélée à la biomasse microbienne (Valé *et al.*, 2011).

Mesure de l'activité d'ammonification de l'arginine : dans ce test, tout à fait comparable au précédent dans son principe, on mesure l'ammonium libéré par la désamination ou la dégradation de cet acide aminé. On utilise pour cela un protocole dérivé des travaux d'Alef & Kleiner (1987) et de Barajas (2005). Cette activité globale est bien corrélée à la biomasse microbienne (Alef *et al.*, 1988) et est suffisamment robuste pour être mise en œuvre dans des sols pollués.

- pour la **diversité microbienne** : Indice de Biodiversité Fonctionnelle (IBF)

Ce test de biodiversité fonctionnelle (test BioDiF) est basé sur l'aptitude de la microflore à utiliser différents types de substrats biochimiques (Garland & Mills, 1991 ; Degens & Harris, 1997 ; Calbrix *et al.*, 2005). Adapté par le SEMSE, ce test utilisant des plaques Biolog® Eco-plates™ permet de quantifier les « aptitudes métaboliques » de la microflore du sol, en renvoyant trois niveaux de résultats : une activité métabolique globale (AWCD), des profils métaboliques par famille biochimique de substrats, et enfin un indice de biodiversité fonctionnelle (IBF) calculé par un algorithme spécifique (Nouaïm & Chaussod, 2013). Cette approche « fonctionnelle » présente l'intérêt de répondre de façon simple et plus économique que d'autres approches à de légitimes préoccupations concernant les effets des pratiques agronomiques sur la « biodiversité » microbienne du sol (Nouaïm et Chaussod, 2015).

2) Caractérisation des pools labiles de la matière organique

De nombreuses propriétés du sol dépendent de la matière organique, aussi bien des stocks que du régime des apports (ce que l'on appelle le « statut organique »). Les déterminations classiques de l'analyse de terre ne donnent que la Matière Organique Totale (MOT). Or, il est possible d'aller plus loin et de donner une représentation analytique plus fine du statut organique :

- la biomasse microbienne donne la quantité de Matière Organique Vivante (MOV)
- des méthodes physico-chimiques, dont l'une utilisée en routine par le SEMSE (voir ci-dessous) permettent d'accéder à un pool de Matière Organique Labile (MOL).
- la fraction stable de la matière organique (MOS) est obtenue par le calcul :

$$MOS = MOT - (MOV + MOL) \quad \text{On a en effet } MOT = MOV + MOL + MOS.$$

La matière organique d'un échantillon de sol est ainsi caractérisée par ses proportions relatives des pools vivant, labile et stable (Chaussod et Nouaïm 2004).

- pour déterminer la quantité de **matières organiques labiles**, on mesure le carbone (ou l'azote) solubilisable par l'eau chaude sous pression équilibrante (autoclavage), selon un protocole dérivé des travaux de Lemaître *et al.* (1995) ; une désorption et une hydrolyse partielle affectent les matières organiques les moins condensées et les moins insolubles, principalement d'origine microbienne, que nous appelons aussi « métabolites ». Le SEMSE a mis au point et propose actuellement en routine une approche plus simple (et moins coûteuse) de ce pool labile de la matière organique, basée sur l'oxydabilité chimique, désignée par MOL-ox.

- pour accéder plus directement à une **fourniture potentielle en azote** du sol, on peut déterminer l'azote minéralisable en incubation de laboratoire, soit par la méthode classique d'incubation aérobie (28 jours à 28°C), soit par le test ABM (Azote Biologiquement Minéralisable). Ce test est plus rapide (7

jours) et moins coûteux que l'incubation aérobie classique. Il est par ailleurs indépendant de l'humidité du sol et, contrairement à la méthode classique, il ne nécessite pas la détermination préalable de l'humidité optimale pour l'incubation. Une étude en collaboration avec l'INRA-Quimper et la Chambre Régionale d'Agriculture de Bretagne (Morvan *et al.*, 2013, 2016) a montré que les résultats de notre test sont bien corrélés à l'estimation de la fourniture en azote au champ par la méthode des témoins non fertilisés.

L'appréciation du potentiel de fourniture en azote des sols est un paramètre bien connu en grandes cultures car c'est un point clé de la fertilisation azotée. En revanche, il est encore peu utilisé en viticulture et en arboriculture, où il mériterait pourtant davantage d'attention : d'une part pour ses effets directs au niveau de la production, d'autre part indirectement pour les effets secondaires au plan sanitaire. En tous cas, ce paramètre simple offre des perspectives intéressantes pour la caractérisation et la gestion fine du « statut organique » des sols cultivés.

3) Caractérisation de populations microbiennes d'intérêt agronomique

- Champignons endomycorhiziens

Le rôle positif de la mycorhization dans la nutrition minérale et hydrique des plantes comme dans leur état sanitaire n'est plus à démontrer. Les pratiques culturales qui affectent les champignons endo-mycorhiziens sont donc susceptibles d'affecter la croissance et la vigueur des plantes.

Le SEMSE maîtrise toutes les méthodes d'étude de la symbiose mycorhizienne : quantification de l'intensité de mycorhization des racines de plantes prélevées *in situ*, évaluation de l'abondance et de la diversité des spores de champignons mycorhiziens, la détermination du potentiel mycorhizogène d'un sol (Nouaïm & Chaussod, 1996). L'évaluation du nombre et de la diversité des champignons mycorhiziens (à travers la diversité morphologique de leurs spores) peut être utilisée comme indicateur biologique de la qualité d'un sol (Nouaïm *et al.*, 2015).

- Bactéries fixatrices d'azote

Les populations de bactéries fixatrices d'azote, soit libres (*Azotobacter*, etc.), soit symbiotiques (*Rhizobium*, etc.) sont potentiellement utilisables comme indicateur biologique, notamment dans le cas de l'agriculture biologique. Toutefois, les mesures à mettre en œuvre sont à adapter au cas par cas, en fonction de la problématique (Laguerre *et al.*, 2006). Par exemple, le SEMSE a mis au point un test biologique simple pour identifier les facteurs limitant la production de luzerne (Battegay *et al.*, 2016).

Conclusion :

Ce document présente rapidement les différentes mesures biologiques pouvant être utilisées en complément des analyses de terre classiques. Bien entendu, il n'est pas nécessaire de faire « tout sur tout ». Une combinaison de quelques paramètres judicieusement choisis en fonction des objectifs pourra apporter un maximum d'informations avec un coût limité. En routine, pour des applications agronomiques courantes, il est possible de se limiter à quelques paramètres, choisis en fonction de la problématique : Biomasse microbienne (MOV), Matières organiques labiles (ex : MOL-ox), Activité globale (FDA), Azote biologiquement minéralisable (ABM)...

Ce « minimum data set » peut le cas échéant être complété par d'autres paramètres, comme la mesure de biodiversité fonctionnelle (test BioDiF) pour caractériser des parcelles « représentatives » ou des situations contrastées, ou pour comparer différentes modalités sur un même site (essais agronomiques).

Les déterminations relatives aux champignons mycorhiziens ne prennent tout leur sens que dans les parcelles où se posent des problèmes de fertilisation ou de disponibilité du phosphore (Nouaïm *et al.*, 2015). De même, les déterminations relatives aux populations de micro-organismes fixateurs d'azote ne sont à envisager que pour répondre à des questions précises, sur la gestion de la fertilité azotée en agriculture biologique par exemple ou sur la réhabilitation de sols pollués.

Le SEMSE reste à votre disposition pour tout conseil personnalisé, en fonction de vos préoccupations. e-mail : contact@semse.fr site web : www.semse.fr

Bibliographie :

- Alef K. and Kleiner D. 1987. Applicability of arginine ammonification as indicator of microbial activity in different soils. *Biology and Fertility of Soils*, **5**, pp 148-151.
- Alef K., Beck T., Zelles L. and Kleiner D. 1988. A comparison of methods to estimate microbial biomass and N-mineralization in agricultural and grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **20**, pp 561-565.
- Barajas-Aceves M. 2005. Comparison of different microbial biomass and activity measurement methods in metal-contaminated soils. *Bioresource Technology*, **96**, pp 1404-1414.
- Battegay S., Chaussod R. et Touppet A.L. 2016. Luzerne : mise en œuvre d'une démarche de diagnostic de nutrition. *In* : Colloque AFPP, Paris, 21-22/03/2016 (poster).
- Calbrix R., Laval K. and Barray S. 2005. Analysis of the potential functional diversity of the bacterial community in soil: a reproducible procedure using sole-carbon-source utilization profiles. *European Journal of Soil Biology*, **41**, pp 11-20.
- Chaussod R. 1996. La qualité biologique des sols : évaluation et implications. *Etude et Gestion des Sols*, **3**, pp 261-277.
- Chaussod R., Houot S., Guiraud G. and Hétier J.M. 1988. Size and turnover of the microbial biomass in agricultural soils: laboratory and field measurements. *In* : Nitrogen efficiency in agricultural soils and the efficient use of fertilizer nitrogen, Jenkinson & Smith, Eds., Elsevier Applied Science (London), pp 312-326.
- Chaussod R. et Houot S. 1993. La Biomasse Microbienne des sols : perspectives d'utilisation de cette mesure pour l'estimation de la fourniture d'azote par les sols. *In* : *Matières organiques et agricultures*, Actes des 4èmes Journées de l'Analyse de Terre (GEMAS) et 5ème Forum de la Fertilisation Raisonnée (COMIFER), Blois, 16-18/11/93, J. Decroux et J.C. Ignazi, Eds., 17-26.
- Chaussod R., Breuil M.C., Nouaïm R., Lévêque J. et Andreux F. 2000. Des mesures biologiques pour évaluer la fertilité des sols viticoles. *Revue des Oenologues*, **91**, pp 19-22.
- Chaussod R. et Nouaïm R. 2001. Matières organiques et activités biologiques des sols cultivés : des indicateurs d'intérêt agronomique. *Perspectives Agricoles*, **272**, pp 46-48.
- Chaussod R. 2002. La qualité biologique des sols : des concepts aux applications. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, **88** (2), pp 61-68.
- Chaussod R. et Nouaïm R. 2004. Evaluation au champ de la valeur « amendement organique » de matières organiques exogènes : quelques aspects méthodologiques. *Echo-M.O.*, **46**, pp 3-6.

- Chaussod R. et Nouaïm R. 2011. La microbiologie des sols a-t-elle une utilité ? *Revue des Œnologues*, **141** spécial, pp 28-29.
- Chaussod R., Letessier I., Marion J., Moncomble D., Descôtes A., Meurgues O., Trarieux C., Cahurel J.Y., Chatelet B., et Nouaïm R. 2018. Connaissance et suivi de la qualité des sols en vignobles septentrionaux. Partie 1 / 2 : Pédologie et résilience des sols viticoles. *La Revue des Œnologues*, **169**, pp 15-17.
- Chaussod R. et Nouaïm R. 2019. « Qualité biologique » des sols cultivés : évolution des concepts et des outils de diagnostic. *In* : 14èmes rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse. COMFER GEMAS, Dijon, 20-21/11/2019. Communication orale + actes. (7p.)
- Crozier P., Pérès G., Lévêque J., Cluzeau D., Dousset S., Nouaïm R., Sauvage D., Andreux F. et Chaussod R. 2004. Entretien des sols viticoles en Bourgogne : comparaison de différents itinéraires techniques pendant 10 ans. In : AFPP 19^{ème} conférence du COLUMA, Dijon 8-10/12/2004, 8 p.
- Crozier P., Bidaut F., Dubus C., Pérès G., Cluzeau D. et Chaussod R. 2010. Trois modes de production comparés en Bourgogne viticole. *Phytoma*, 638, pp 30-34.
- Degens B.P. and Harris J.A. 1997. Development of a physiological approach to measuring the metabolic diversity of microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, **29**, pp 1309-1320.
- Forel E., Nouaïm R., Mathieu P. et Chaussod R. 2011. Approche de la valeur agronomique de composts sur prairie de moyenne montagne (Ardèche). *ECHO-MO*, 91, PP 3-6.
- Garland J.L. and Mills A.L. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, **57**, pp 2351-2359.
- ISO 1997. Norme 14240-2 Qualité du sol - Détermination de la biomasse microbienne du sol. Partie 2 : Méthode par fumigation-extraction. 11 p.
- Jenkinson D.S. and Powlson D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, **8**, pp 209-213.
- Laguerre G., Courde L., Nouaïm R., Lamy I., Revellin C., Breuil M.C. and Chaussod R. 2006. Response of rhizobial populations to moderate copper stress applied to an agricultural soil. *FEMS Microbial Ecology*, 52, pp 426-435.
- Lemaitre A., Tavant Y., Chaussod R., and Andreux F., 1995. Characterization of microbial components and metabolites isolated from a humic calcic soil. *European Journal of Soil Biology*, **31**, pp 127-133.
- Morlat R. and Chaussod R. 2008. Long-term additions of organic amendments in a Loire valley vineyard (France). I) effects on properties of a calcareous sandy soil. *American Journal of Enology and Viticulture*, **59**, pp 353-363.
- Morvan T., Lambert Y., Fouad Y., Beaudoin N., Mary B., Cohan J.P., Germain P., Valé M. et Chaussod R. 2013. Réseau Mh : premiers résultats sur les variables explicatives de la minéralisation de l'azote des MO humifiées du sol. *In* : 11èmes rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse. COMIFER GEMAS, Reims, Nov. 2013.
- Morvan T., Germain P., Chaussod R., Valé M., Moreira M., Lemerrier B. et Lambert Y. 2016. Synthèse des données sur les sols et les indicateurs de minéralisation. *In* : Journée de synthèse scientifique « Réseau Mh vers un nouveau raisonnement de la fertilisation azotée en Bretagne », Locminé (56), 23/02/2016, pp 45-53.
- Nouaïm R. et Chaussod R. 1996. Rôle des mycorhizes dans l'alimentation hydrique et minérale des plantes, notamment des ligneux de zones arides. *Options Méditerranéennes*, **20**, pp 9-26.

- Nouaïm R. et Chaussod R. 2012. La microbiologie des sols a-t-elle une utilité ? Partie 2 : Champignons endomycorhiziens et levures, deux populations d'intérêt agro-viticole. *Revue des Œnologues*, **142**, pp 20-22.
- Nouaïm R. et Chaussod R. 2013. Mise au point d'un indice de biodiversité microbienne dans les sols : Indice de Biodiversité Fonctionnelle (IBF). Document INPI, 7 p.
- Nouaïm R., Chaussod R., Duron B. et Garcia O. 2015. Fertilisation phosphatée de la vigne en Champagne. On peut compter sur les mycorhizes ! (Partie 2). *Le Vigneron Champenois*, Février 2015, pp 42-56.
- Nouaïm R. et Chaussod R. 2015. Biodiversité microbienne et qualité du sol : des indicateurs biologiques à portée agronomique. *In* : 12èmes rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse. *In* : COMFER GEMAS, 12èmes rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse, Lyon, 18-19 Nov. 2015.
- Nouaïm R., Chaussod R. et Duron B. 2015. Fertilisation phosphatée de la vigne en Champagne : on peut compter sur les mycorhizes ! *Le Vigneron Champenois*, Février 2015, pp 42-56.
- Nouaïm R., Cahurel J.Y., Crozier P., Bidaut F., Sauvage D., Descôtes A., Moncomble D., Letessier I. et Chaussod R. 2019. Connaissance et suivi de la qualité des sols en vignobles septentrionaux. Partie 2/2 : Pratiques culturales et durabilité de la viticulture. *La Revue des Œnologues*, **170** pp 19-21.
- Schnürer J. and 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.
- Valé M., Bouthier A., Trochard R., Chaussod R. et Nouaïm-Chaussod R. 2011. Pertinence de nouveaux indicateurs pour évaluer l'impact des pratiques culturales sur le fonctionnement biologique des sols *In* : 10èmes rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse. COMFER GEMAS, Reims, 23-24 Nov. 2011.
- Wu J., Joergensen R.G., Pommerening B., Chaussod R. and Brookes P.C., 1990. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction: an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry*, **22**, pp 1167-1169.