

Evaluation au champ de la valeur « amendement organique » de matières organiques exogènes : quelques aspects méthodologiques

Rémi CHAUSSOD⁽¹⁾ et Rachida NOUAÏM⁽²⁾

(1) UMR Microbiologie et Géochimie des Sols, INRA-Dijon - Université de Bourgogne

(2) Service d'Etudes en Microbiologie des Sols et de l'Environnement, INRA-Bourgogne Technologies

Introduction

Depuis quelques années, on constate un regain d'intérêt pour tout ce qui touche à la « qualité des sols » en général et à leur « entretien organique » en particulier. Ceci est motivé par l'observation fréquente de la diminution des teneurs des sols en matière organique, ou de problèmes agronomiques qui y sont plus ou moins directement liés (dégradation de la structure du sol, érosion, etc.).

On peut tenter de remédier à ces problèmes en modifiant les itinéraires techniques, d'où par exemple la vogue actuelle des techniques culturales simplifiées, ou en se posant plus simplement des questions sur l'utilisation de matières organiques exogènes : quel produit apporter ? à quelle dose et avec quelle fréquence ? Ces questions se posent aussi bien en grandes cultures qu'en maraîchage ou en viticulture. Bien entendu, les réponses dépendront du contexte agronomique et pédoclimatique, des effets attendus et des caractéristiques des produits.

Parallèlement, les producteurs de matières organiques sont soucieux de proposer des produits aussi bien « caractérisés » que possible au plan de leur composition et de leur comportement. Pour être commercialisés en tant que produits homologués, les amendements organiques doivent répondre à trois critères : constance de composition, innocuité, efficacité. Ce dernier point impose de démontrer expérimentalement les effets revendiqués, aux doses agronomiques préconisées.

Finalement, aussi bien les producteurs que les utilisateurs de matières organiques attendent beaucoup d'expérimentations précisant et quantifiant les effets des divers amendements organiques disponibles (Chaussod, 1999). De telles expérimentations, pour évaluer au champ le devenir et les effets de matières organiques exogènes, reposent sur un principe *a priori* très simple : il s'agit d'apporter une quantité connue de matière organique (ou de carbone organique) et de suivre l'évolution au champ de cette matière organique ou de propriétés qui en dépendent. Le plus souvent, il s'agit d'évaluer la capacité des matières organiques à fournir de « l'humus »... ou à résister à la minéralisation (voir Echo-MO n°15 et 16).

L'approche semble simple, voire triviale, mais elle ne l'est pas, pour de nombreuses raisons. Elle implique notamment de pouvoir mesurer avec précision des grandeurs affectées d'une importante variabilité. Pour mettre en évidence les principales difficultés méthodologiques, passons en revue quelques-unes des étapes-clé de la démarche expérimentale :

1) Détermination des quantités de matière organique apportées

La première difficulté consiste à obtenir un échantillon parfaitement représentatif des produits à étudier, qui se distinguent souvent par une grande hétérogénéité. Des protocoles standard (et normalisés) ont été proposés pour cet « échantillonnage » et on supposera qu'ils peuvent être mis en œuvre de façon pratique. L'étape suivante consiste à déterminer la teneur en matière sèche et en matière organique (ou en carbone organique) des produits. En fonction de la granulométrie et de l'hétérogénéité du produit, on travaille sur un échantillon de 1 à 2 kg de matière sèche. L'échantillon déshydraté est broyé à 5 mm, puis une aliquote est rebroyée à 1 mm pour déterminer la teneur en matière organique par « perte au feu », ou à 0,25 mm pour une détermination du carbone élémentaire. La méthode de dosage doit impérativement être précisée.

La perte au feu est la méthode la plus anciennement utilisée. Elle consiste, après séchage du produit à 105°C, à calciner l'échantillon puis à déterminer les cendres résiduelles (matière minérale), la fraction perdue étant assimilée à la matière organique. Il s'agit donc d'une gravimétrie : on détermine le poids sec de l'échantillon avant puis après passage au four. La température et la durée de calcination varient selon les laboratoires. Les températures généralement utilisées vont de 450 à 600°C. La norme NF U 44-160 préconise une température de 480°C. Mais au dessous de 500°C, la combustion est souvent incomplète (résidus charbonneux) ; au dessus, et notamment au delà de 600°C, on risque de décomposer des sels minéraux (certains carbonates et des sels d'ammonium). Pour les produits utilisables comme amendements organiques, une calcination de 4 heures à 550°C

semble être le meilleur compromis d'efficacité et de fiabilité. Ces conditions opératoires sont celles utilisées en routine par le Laboratoire d'Analyse des Sols de l'INRA-Arras.

La détermination du carbone élémentaire est basée sur une oxydation totale à haute température (> 1000°C) transformant tout le carbone en gaz carbonique CO₂. Ce gaz est alors dosé par chromatographie en phase gazeuse avec détection d'une variation de conductivité thermique (catharomètre) dans les analyseurs de type CHN ou bien dosé par des méthodes conductimétriques ou coulométriques. La détermination du carbone organique est susceptible d'être affectée par deux sources d'erreur : i) dans le cas où l'échantillon contient des résidus charbonneux, le carbone correspondant (graphite) n'est pas différenciable de celui provenant de la matière organique ; ii) dans le cas où l'échantillon contient des carbonates, il convient de soustraire le carbone minéral, qui doit être déterminé par ailleurs. La décarbonatation par acidification n'est pas conseillée en raison des risques de pertes de carbone organique (une partie est solubilisée par l'acide).

La relation entre la "perte au feu" (calcination à 500°C) et la teneur en carbone (dosé par analyse élémentaire) a été étudiée par Robin *et al.* (1997) sur 56 produits organiques, dont quelques boues résiduelles. La relation s'avère assez étroite pour une utilisation agronomique courante, bien que quelques points s'écartent notablement de la régression ($MV_{500} = 1,89.C_{CHN}$ $R^2 = 0,94$).

2) Mise en place de l'expérimentation

Compte tenu de la variabilité spatiale naturelle des sols, l'idéal est de travailler sur des parcelles de petite taille et de mettre en place un minimum de 3 répétitions par traitement (et si possible 4 ou 5) selon un dispositif en blocs. Les produits sont pesés parcelle par parcelle et épandus de façon aussi homogène que possible. Dans le cas d'essais « en vraie grandeur » et épandage à la machine, on peut mettre en place des bandes avec et sans amendements organiques, en vérifiant l'homogénéité des apports par des mesures adaptées. La comparaison des traitements porte alors sur des couples de prélèvements de sol (témoin / traité) tout au long des parcelles en bandes.

Si les produits sont enfouis par un travail du sol, ce dernier sera appliqué également et dans les mêmes conditions aux parcelles témoin sans apports.

3) Prélèvement des échantillons de sol

Dans tous les cas, il est indispensable d'effectuer un premier échantillonnage avant l'apport des amendements à étudier, selon un protocole identique à celui qui sera utilisé après. Ceci permet d'une part de connaître la variabilité spatiale naturelle du dispositif expérimental, d'autre part d'autoriser l'étude de l'évolution dans le temps de chacune des parcelles expérimentales. En d'autres termes, il s'agit de se donner les moyens d'une étude diachronique, permettant la mise en évidence d'un effet traitement faible par rapport à la variabilité spatiale du site expérimental.

La stratégie d'échantillonnage a donc pour but de fournir des échantillons de sol représentatifs des parcelles d'essai, selon une procédure standard répétable, afin d'être en mesure de comparer des échantillons prélevés à différents endroits et à différents moments. Pour cela, il est recommandé de suivre ou de s'inspirer des méthodes normalisées. Au niveau français, une norme expérimentale a été proposée en 1984 puis révisée et précisée en 1990 (norme X 31-100 "Méthode de prélèvement d'échantillons de terre en vue d'évaluer la fertilité"). L'arrêté ministériel relatif à l'épandage agricole des boues résiduelles prévoit que les prélèvements de sol pour contrôles seront effectués selon cette norme NF X 31-100. Au niveau européen, la directive n°278 de 1986 donne également quelques indications sur l'échantillonnage des sols.

Le principe de base consiste à effectuer un nombre suffisant de prélèvements élémentaires, à les mélanger soigneusement et à en tirer un échantillon composite qui sera analysé. Pour chaque parcelle expérimentale, un échantillon composite moyen est constitué à partir d'un nombre de prélèvements élémentaires fonction de la surface à échantillonner et de la variabilité spatiale du site. Pour les expérimentations qui nous intéressent, compter 12 à 16 carottes élémentaires pour une surface de l'ordre de 100 m² en grandes cultures. En zone hétérogène, comme en vigne par exemple, compter un prélèvement élémentaire pour 3 à 4 m², avec un minimum de 12 carottes par placette, chaque prélèvement élémentaire étant très précisément repéré.

Un point particulièrement important concerne la profondeur d'échantillonnage. Si le sol est travaillé, on peut faire le choix de se limiter à l'étude de la couche travaillée et aux analyses en termes de concentration. Si l'on souhaite davantage de rigueur et raisonner sur des stocks, il est nécessaire d'échantillonner sur 2 ou 3 couches et de mesurer la densité apparente de chacune de ces couches, lors du prélèvement des échantillons de sol. Les mesures de densités apparentes doivent être effectuées avec un nombre de répétitions suffisant pour que l'incertitude associée à cette mesure n'affecte pas trop gravement les résultats finaux.

4) Détermination des teneurs en matière organique (ou C organique) des échantillons de sol

La méthode par perte au feu ne peut donner de résultats précis pour des échantillons de sol contenant moins de 10% de M.O. et elle est inapplicable en dessous de 5% de M.O., car le résultat est obtenu par des différences portant sur 3 pesées (tare, tare + poids sec, tare + cendres), d'où des incertitudes relatives trop importantes.

Les méthodes les plus utilisées jusqu'ici étaient basées sur l'oxydation du carbone organique en CO_2 par un oxydant en milieu acide. La méthode normalisée par l'AFNOR (NF X 31-109) fait appel à une oxydation sulfochromique de 30 mn à 135°C , utilisant une solution titrée de bichromate de potassium. Lors de la réaction d'oxydo-réduction, le carbone organique est oxydé en CO_2 tandis que le chrome passe de la valence +VI (Cr^{6+}) à la valence +III (Cr^{3+}). Ce dernier est dosé par spectrophotométrie à 585 nm. Une courbe étalon est établie avec du glucose. Dans la méthode « Anne » classique, l'oxydant n'ayant pas été consommé était dosé en retour par une solution titrée à base de sulfate double de fer et d'ammonium (sel de Mohr). La méthode Walkley-Black utilisée dans les pays anglo-saxons est basée sur le même principe d'oxydo-réduction, mais l'attaque se fait à température ambiante. Dans tous les cas, il s'agit d'une mesure de "Demande Chimique en Oxygène". L'expression des résultats en termes de carbone organique repose sur deux hypothèses : i) le degré d'oxydation moyen du carbone organique est de zéro par convention, bien qu'en fait il puisse varier de façon non négligeable selon la nature de la matière organique ; ii) seul le carbone organique est oxydé par le bichromate. Or, des substances minérales réductrices peuvent réagir dans les conditions de l'essai, comme par exemple les chlorures ou le fer ferreux. On peut s'affranchir au moins en partie des interférences avec les halogénures en ajoutant du sulfate d'argent et du sulfate de mercure au mélange oxydant, mais les résidus d'analyse deviennent alors dangereux pour l'environnement. C'est d'ailleurs l'une des raisons pour lesquelles cette méthode est de moins en moins utilisée, étant remplacée par l'analyse élémentaire (décrite plus haut).

Jolivet et Arrouays (1997) ont comparé différentes méthodes de dosage du carbone organique et de la matière organique sur des sols sableux podzolisés des Landes. Il s'agit d'un cas de figure relativement simple, les sols n'étant pas carbonatés. Le carbone organique déterminé par oxydation sulfochromique est bien corrélé au carbone déterminé par analyse élémentaire (appareil CHN), avec toutefois une légère sous estimation par la première méthode, qui serait due soit à la présence de "charbons", soit à un degré d'oxydation moyen du carbone organique légèrement différent de la valeur conventionnelle ($C_{\text{Anne}} = 0,93.C_{\text{CHN}}$ $R^2 = 0,99$). La matière organique déterminée par calcination à 550°C est bien corrélée au carbone élémentaire ($MV_{550} = 1,57.C_{\text{CHN}} + 1,05$ $R^2 = 0,98$). On observe que la valeur de la pente de la régression (1,57) est ici plus faible que la valeur de 1,72 qui est habituellement retenue pour les sols. Par ailleurs, la valeur de l'ordonnée à l'origine correspond manifestement à la destruction de composés non organiques. Ces sols contenant peu d'argiles (< 5%), les oxyhydroxydes de fer et d'aluminium semblent être à l'origine d'une perte d'eau de constitution, qui commencerait à une température inférieure à 550°C .

Ces exemples montrent que les résultats dépendent des méthodes utilisées. Il est important de toujours préciser les méthodes utilisées pour les dosages sur les produits comme sur les sols. Pour ces derniers, il est indispensable de toujours effectuer les mesures à l'aide des mêmes méthodes au cours du temps si l'on veut être en mesure de tirer des conclusions fiables des essais.

5) Autres déterminations

On ne cherche pas toujours à mesurer une quantité totale de carbone ou de matière organique. Plutôt que de suivre la totalité de la matière organique, on peut s'intéresser à une fraction de celle-ci ou à une propriété du sol qui en dépend. L'exemple le plus marquant concerne la biomasse microbienne et certaines activités biologiques. Ainsi par exemple, des amendements constitués de matières organiques facilement biodégradables sont susceptibles de servir de ressource trophique pour les microbes du sol et d'augmenter significativement la taille de la biomasse microbienne. La fraction « vivante » du carbone organique augmente alors, aussi bien en valeur absolue qu'en valeur relative. L'expression de la biomasse microbienne en valeur relative (en pourcentage du carbone total) s'avère un outil efficace pour mettre en évidence de façon précoce et sensible une modification du statut organique du sol. De la même façon, on peut s'intéresser à un pool « labile » de la matière organique du sol, qui augmenterait proportionnellement plus que la matière organique totale, après apport d'un amendement. Quelques activités biologiques peuvent aussi être significativement stimulées par des amendements organiques. Il en est de même de certaines propriétés physiques comme la résistance des agrégats à la dispersion par l'eau.

6) Interprétation des résultats

Il s'agit le plus souvent de rechercher s'il est possible de mettre en évidence un effet supposé positif des matières organiques apportées sur les paramètres mesurés. Le test *t* de comparaison de moyennes n'est pas le plus approprié. On peut utiliser par exemple l'analyse de variance classique pour un dispositif en blocs sur lequel on a mesuré des concentrations avec des répétitions de mesures. La détermination parallèle des densités apparentes autorise le calcul des stocks ; il est alors particulièrement intéressant d'effectuer des calculs d'incertitudes sur ces stocks, combinant les intervalles de confiance sur les teneurs et les densités apparentes.

Mais l'important est de ne pas se limiter à une étude synchronique de comparaison des résultats à la fin de l'essai. L'approche diachronique préconisée plus haut repose sur la mesure des paramètres au début de l'essai, avant apports, et après un temps suffisant d'évolution des produits dans le sol. On enregistre alors une variation (par exemple de stock de carbone) et c'est l'ensemble de ces variations qui sont comparées. Diverses analyses statistiques sont alors utilisables. Il ne semble pas illicite d'utiliser un test non paramétrique comme le test de classement de rangs (Mann-Whitney-Wilcoxon). Ce type de test permet souvent de faire ressortir un effet traitement significatif malgré une variabilité importante.

Conclusion

La démonstration des effets d'un amendement organique ne peut se résumer à un essai de type « synchronique », c'est à dire basé sur la comparaison d'une parcelle témoin et d'une parcelle amendée, à la fin de l'essai. Le fait que des différences existent entre les deux parcelles ne peut en toute rigueur être attribué à un effet traitement que si l'on s'est assuré au préalable (c'est à dire avant la mise en place de l'essai) que les deux parcelles étaient strictement identiques. Ce point n'est malheureusement que rarement vérifié.

Les études diachroniques présentent l'intérêt de suivre certaines caractéristiques choisies des sds au cours du temps et donc de pouvoir mettre en évidence des évolutions relativement indépendantes des niveaux de départ, fussent-ils variables.

Il n'en reste pas moins très difficile de mettre en évidence des évolutions significatives avec des doses modérées d'amendements organiques. Les incertitudes opératoires liées à l'échantillonnage et aux analyses sont de l'ordre de 3 à 5% dans les conditions les plus favorables. Il est donc illusoire de vouloir de cette façon mettre en évidence des différences faibles. Par exemple, un épandage de boues à une dose de 3 t/ha de matière sèche apportera environ 1t/ha de carbone organique, ce qui représente une augmentation relative de l'ordre de 3% du stock initial dans la couche labourée pour un sol contenant 1,7% de matière organique (1% en carbone "Anne"). Un an après épandage, les différences entre traitements seront encore plus faibles et ne pourront en aucune façon être mises en évidence par l'analyse. En revanche, si l'on s'adresse à des fractions particulières, dont l'importance relative peut augmenter davantage que les quantités "totales" de matière organique, on a plus de chances de mettre en évidence des différences liées au traitement. C'est le cas par exemple des mesures de biomasse microbienne ou d'activités biologiques. Si des déterminations biologiques sont envisagées, il est recommandé d'effectuer les prélèvements à des périodes comparables d'une observation à l'autre et de s'assurer que les conditions régnant lors du prélèvement et le climat de la période précédant celui-ci sont comparables d'une date à l'autre.

Enfin, il ne faut pas se limiter à étudier les effets d'un apport unique ; en matière d'entretien organique des sols, c'est bien le « régime des apports » qui est important. L'approche synchronique prend tout son intérêt sur des périodes de temps longues, correspondant à des apports cumulés (Berry *et al.*, 2003). Lorsque ces mesures sont réalisées à différentes dates, les séries de données peuvent être confrontées à des modèles simples d'évolution de la matière organique.

Bibliographie

Berry D., Thicoïpé J.P., Nouaïm R. et Chaussod R. 2003. Amendements organiques en cultures légumières. Le point sur l'activité biologique des sols après 6 ans d'apports. *Echo-MO*, **40**, pp 3-6.

Chaussod R. 1999. Caractériser les matières organiques : pourquoi et comment. Commentaires sur I.S.B., C.B.M. et K1. Première partie : *Echo-MO*, **15**, pp 3-4. Deuxième partie : *Echo-MO*, **16**, pp 3-4.

Jolivet C. et Arrouays D. 1997. Comparaison de quelques méthodes de caractérisation des teneurs en carbone et en matières organiques des sols sableux podzolisés. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **234**, série IIa, pp 393-400.

Robin D., Baliteau J.Y. et Faedy L. 1997. Caractérisation et valeur agronomique de la partie organique des déchets. *L'eau, l'Industrie, les Nuisances*, **198**, pp 27-30.