

# Protocole de fractionnement et d'étude de la matière organique des sols hydromorphes de Madagascar

C.A. RATSIMBAZAFY (1)

*Pédologue de l'ORSTOM,  
Centre de Tananarive (R. Malgache)*

## RÉSUMÉ

*Une méthode de fractionnement et d'étude de la matière organique a été adoptée, dans le cadre de notre travail sur les sols hydromorphes de Madagascar, pour permettre non seulement de suivre l'évolution de la matière organique au cours de l'année mais également de comparer deux ou plusieurs sols. Des extractions successives avec des réactifs acide et basique à pH de plus en plus élevé ont été utilisés.*

*L'application à deux types de sols a montré que la durée de l'engorgement influe sur l'accumulation de la matière organique, sur sa décomposition et sa polymérisation. Dans certaine fraction de l'humine, la matière humique n'est pas obligatoirement très condensée ou fortement polymérisée. La richesse en sesquioxides et l'état d'évolution du matériau originel influent sur la mobilité des acides humiques testés par l'électrophorèse sur papier.*

## PLAN

### Introduction

#### 1. Mise au point de la méthode

##### 1.1. Comparaison des 2 techniques

- 1.1.1. Choix de l'échantillon
- 1.1.2. Protocole
- 1.1.3. Résultats
- 1.1.4. Electrophorèse sur papier des acides humiques
- 1.1.5. Protocole de fractionnement adopté

#### 2. Application à deux types de sols hydromorphes

- 2.1. Résultats sur le fractionnement de la matière organique
  - 2.1.1. Matière organique non décomposée

## ABSTRACT

*A method of fractionation and study of organic matter in hydromorphic soils of Madagascar was carried out to compare these soils between themselves and to follow their evolution during different seasons.*

*Acid and more and more basic reagents are used and the reactions with them are renewed just until solutions become colorless. The application of this method to two types of hydromorphic horizons has shown that time of submersion influences decomposition and polymerisation of organic matter. The amount of cations influences also the mobility of humic acids in electrophoresis test. It was shown that some fraction of humine is not at all very polymerised and contains fulvic acids.*

#### 2.1.2. Matières humiques extractibles

#### 2.1.3. Humine

#### 2.2. Test de comportement à l'électrophorèse sur papier

### Conclusion

(1) Ce travail a été effectué sous la direction de M. le Professeur J. DUPUIS dans son laboratoire de Pédologie à la Faculté des Sciences de Poitiers. Nous le prions de trouver ici la manifestation de notre remerciement.

Nous tenons également à remercier Mme T. DUPUIS et M. P. JAMBU qui n'ont pas ménagé leurs conseils, leurs suggestions et leur collaboration. Nos remerciements sincères vont à toute l'équipe du laboratoire, notamment à Mlle M.F. ABRIOUX et à M. GARAIS pour leur collaboration technique et pour leur accueil très sympathique.

La matière organique intervient à un niveau très élevé dans la classification des sols hydromorphes, car elle est, avec l'eau, un des facteurs essentiels de l'évolution de ces sols.

Dans le cadre d'un travail sur les sols hydromorphes de Madagascar, il a paru donc nécessaire d'adopter une méthode d'étude de ce facteur.

En condition hydromorphe, et sous climat tempéré, JAMBU (1968) a constaté un ralentissement de la minéralisation et une diminution de la polymérisation. Les acides humiques mobiles seraient toujours corrélativement plus abondants que les acides humiques immobiles. Suivant l'intensité de l'hydromorphie, la durée de l'engorgement, on devrait donc observer des composés organiques plus ou moins polymérisés.

La méthode de fractionnement adoptée devra permettre de séparer des composés de deux ou plusieurs sols comparables entre eux. Elle devra également permettre de suivre l'évolution de la matière organique au cours de l'année. D'autre part, afin de réduire les phénomènes de néoformation d'acides humiques ou fulviques, elle devra éviter de mettre les fractions libres et peu polymérisées en contact avec les réactifs alcalins lors des extractions, celles-là étant les plus sensibles à la polymérisation oxydative.

Ce travail comprend deux parties :

- mise au point de la méthode ;
- application à deux types de sols hydromorphes.

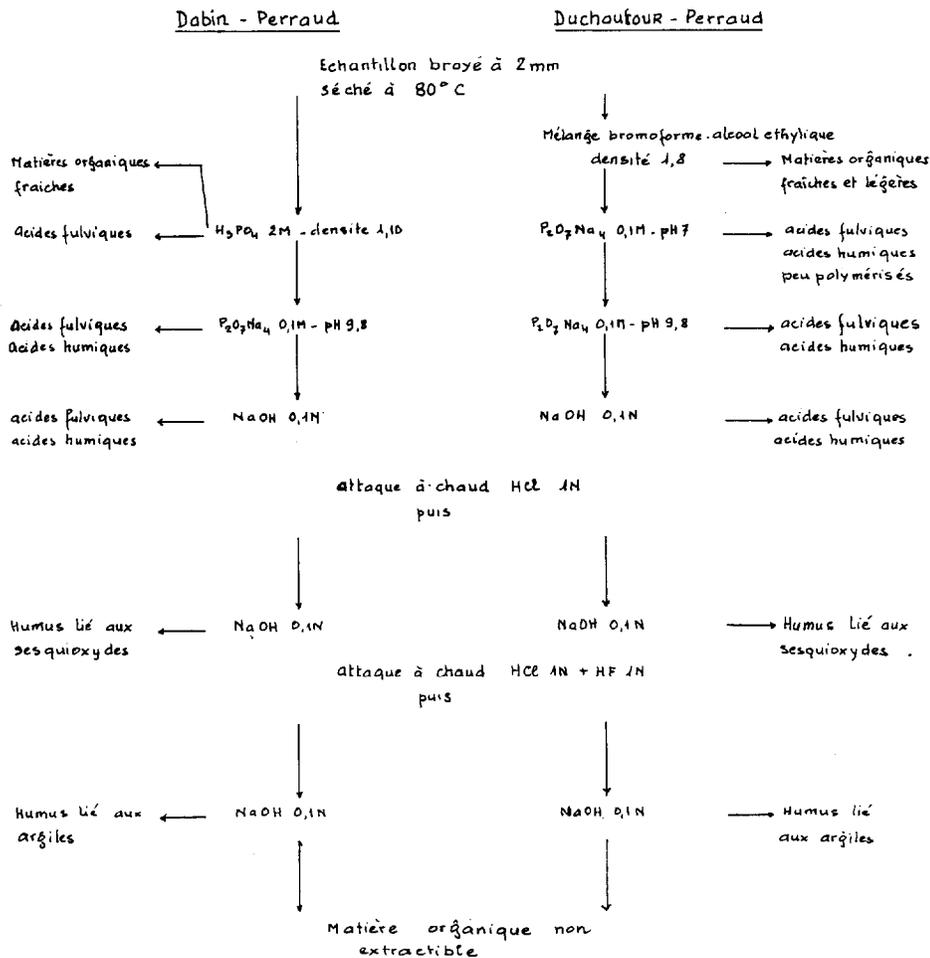


Schéma N° 1. — Schéma de fractionnement de la matière organique sur IVR 61.

## 1. MISE AU POINT DE LA MÉTHODE

Après avoir examiné quelques techniques actuellement proposées (JACQUIN *et coll.* 1970, DUCHAUFOUR *et coll.* 1966, TIURIN 1951, JAMBU *et coll.* 1969, DABIN *et coll.* 1970), deux combinaisons ont été retenues.

— En ce qui concerne les fractions humifiées extractibles par les réactifs acides et alcalins sans attaque préalable, celle de DABIN (1971) et celle de l'équipe de DUCHAUFOUR (1966) complétée par la séparation densimétrique des matières légères (MONNIER *et coll.* 1962).

— Pour le fractionnement de l'humine, celle utilisée par PERRAUD avec une légère modification. (PERRAUD, NGUYEN KHA, JACQUIN 1971 - PERRAUD 1971).

Le carbone a été dosé par voie sèche et un test de comportement à l'électrophorèse sur papier a été fait sur les acides humiques séparés des différentes fractions obtenues, pour essayer de vérifier si l'extraction porte bien sur des molécules de plus en plus immobiles au fur et à mesure du fractionnement.

### 1.1. Comparaison des deux techniques

#### 1.1.1. CHOIX DE L'ÉCHANTILLON

L'étude a porté sur un échantillon provenant de l'horizon humifère d'un sol hydromorphe peu humifère à gley, dénommé IVR 61, prélevé dans la vallée de l'Ivoloina sur la côte est de Madagascar. Ce sol est engorgé presque en permanence. Il renferme 20,20 ‰ de carbone total, 2,17 ‰ d'azote et présente donc un rapport C/N de 9,3, le pH dans l'eau étant de 4,9.

#### 1.1.2. PROTOCOLE

Il a été nécessaire d'opérer sur des échantillons broyés à 2 mm pour récupérer d'une part le plus possible de matière organique fraîche par flottation et pour diminuer d'autre part les surfaces de contact entre ces particules et les réactifs d'extraction. Les modes de fractionnement suivis sont représentés sur le schéma n° 1.

En ce qui concerne le traitement préalable pour libérer les matières humifiées fortement liées aux sesquioxydes dans la partie « humine », il a été jugé préférable d'utiliser l'acide chlorhydrique 1N à la

place du dithionite de sodium à 1,5 ‰ utilisé par PERRAUD. En effet, les sesquioxydes rencontrés dans les sols étudiés sont représentés non seulement par le fer mais également par l'aluminium, le titane, le manganèse... D'autre part, après le traitement par le dithionite de sodium, lorsqu'on veut précipiter les acides humiques, ils se formerait du soufre colloïdal qui précipite avec les premiers, mais ne se disperse pas complètement dans la soude.

Enfin le traitement par l'acide chlorhydrique ne semble pas modifier la mobilité (1) des acides humiques alors que le dithionite paraît les rendre plus mobiles dans le test de comportement à l'électrophorèse sur papier (fig. 1) suivant la technique utilisée par DUPUIS (1967). En effet, bien que les valeurs de Q soient assez proches les unes des autres, la figure 1 montre

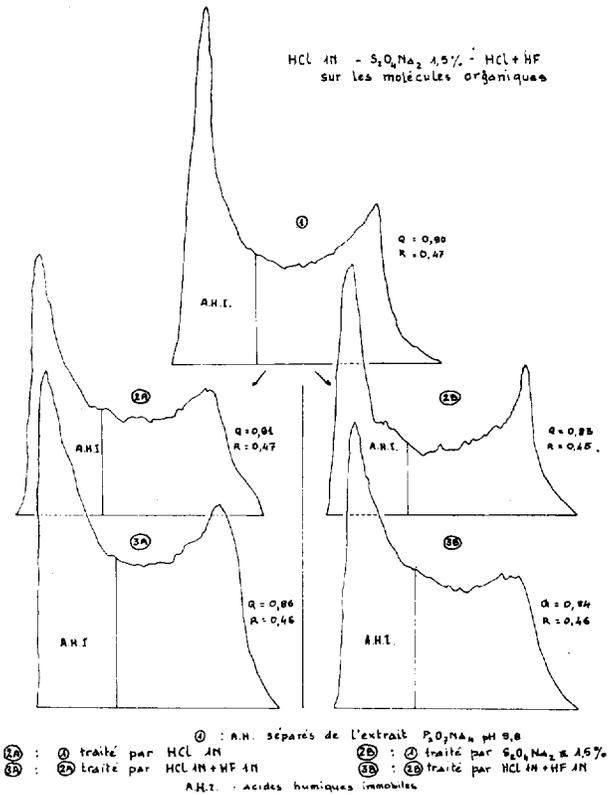


FIG. 1. — Electrophoregrammes - action des attaques.

(1) Il est admis que les acides humiques sont très peu mobiles quand ils ne dépassent pas le tiers du déplacement total sur le diagramme. Ultérieurement la signification des rapports Q et R portés sur la figure n° 1 sera précisée.

une nette différence entre les électrophoregrammes 2A et 2B, ce dernier manifestant un pic très apparent relatif aux molécules très mobiles.

### 1.1.3. RÉSULTATS

Les chiffres obtenus, consignés dans le tableau 1 appellent les remarques suivantes :

— les deux méthodes donnent la même quantité de matières humiques extractibles. La présence de matières organiques fraîches et peu broyées ne semble

pas modifier le taux d'extraction dans la méthode de Dabin.

— la première méthode semble donner un peu plus d'acides humiques. Ceci est probablement dû à ce que les acides fulviques peu libres et non extractibles par l'acide phosphorique ont été mis en contact immédiatement avec le pyrophosphate de sodium à pH 9,8, ce qui aurait provoqué une néoformation d'acides humiques. L'intercalation du pyrophosphate de sodium à pH 7 serait donc nécessaire dans la méthode finale adoptée.

TABLEAU 1

Fractionnement de la matière organique sur IVR 61.  
Résultats en pourcent par rapport au carbone total

Méthode DABIN-PERRAUD					Méthode DUCHAUFOUR-PERRAUD				
Réactif	Carbone	AF	AH	AF/AH	Réactif	Carbone	AF	AH	AF/AH
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Surnageant 0,60				Bromoforme	16,24			
	Extrait 10,50	10,50			Alcool Ethyl.				
					P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>4</sub> pH 10	20,00	17,90	2,10	8,55
P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>4</sub> pH 10	26,70	13,75	12,95	1,06	P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>4</sub> pH 10	14,00	5,25	8,75	0,60
NaOH 0,1 N	8,00	3,80	4,20	0,90	NaOH 0,1 N	10,70	5,90	4,70	1,25
NaOH 0,1 N après HCl	2,15				NaOH 0,1 N après HCl	2,90			
NaOH 0,1 N après HCL + HF	4,35				NaOH 0,1 N après HCL + HF	4,20			
Total Extrait	52,30	28,05	17,15		Total Extrait	51,80	29,05	15,55	

— En ce qui concerne les deux fractions de l'humine solubilisable, les mêmes quantités respectives sont extraites.

— Enfin la séparation des fractions légères par le mélange bromoforme-éthanol présente l'inconvénient d'extraire partiellement les bitumes et les acides hymato-mélaniques non négligeables dans les sols hydromorphes (DUPUIS *et coll.* 1970, JAMBU *et coll.* 1971). La séparation en vue de leur dosage s'avère très longue et difficile à réaliser en série.

### 1.4. Electrophorèse sur papier des acides humiques

Des différentes fractions obtenues, les acides humiques ont été séparés à pH 1 et des tests de comportement à l'électrophorèse sur papier ont été effectués. Les diagrammes sont représentés sur la figure 2. Comme il a été signalé précédemment, on peut distinguer les acides humiques immobiles qui ne dépassent pas le tiers du diagramme et les acides humi-

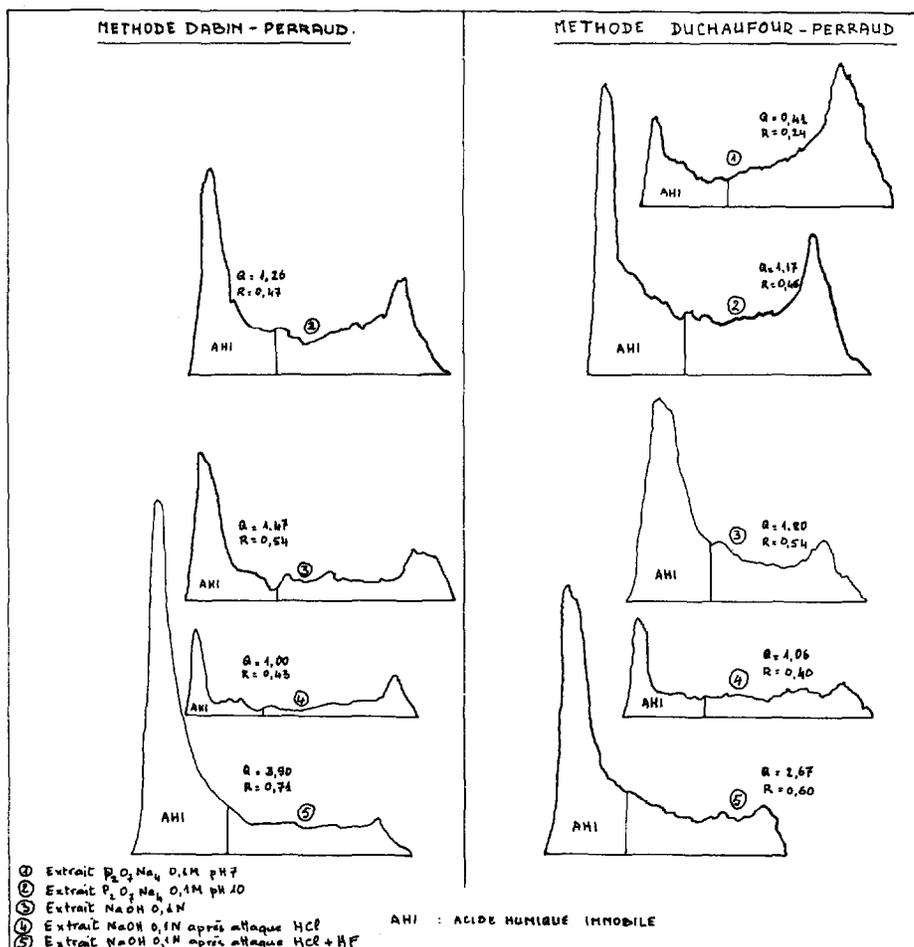


FIG. 2. — Electrophoregrammes des différentes fractions d'acides humiques IVR 61.

ques mobiles qui en ont parcouru plus du tiers. Deux rapports ont été utilisés :

$$Q = \frac{\text{acides humiques immobiles}}{\text{acides humiques mobiles}}$$

$$R = \frac{\text{acides humiques immobiles}}{\text{acides humiques totaux}}$$

Les valeurs de ces rapports sont portées dans le tableau 2.

On remarque que par les deux méthodes l'extraction porte sur des acides humiques de moins en moins mobiles.

Contrairement à ce qui pouvait être attendu, la fraction humine liée aux sesquioxydes n'est pas constituée uniquement par de grosses molécules ; les valeurs de Q retombent à 1,00-1,06 et celles de R à 0,43-0,40, alors que l'attaque par l'acide chlorhydrique n'influe pas sur la mobilité des molécules organiques au cours de l'électrophorèse. Une partie de l'humine n'est donc pas nécessairement fortement polymérisée (1). Par contre, la matière humique fortement liée aux argiles semble effectivement très évoluée. Les valeurs de Q sont respectivement 3,90 et 2,67 et celles de R 0,71 et 0,60.

(1) Un résultat analogue avait été obtenu dans une étude précédente (C.A. RATSIMBAZAFY, 1973).

TABLEAU 2

Valeurs des rapports Q et R

DABIN-PERRAUD			DUCHAUFOR-PERRAUD		
Réactif	Q	R	Réactif	Q	R
			P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>4</sub> pH 7	0,41	0,24
P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>4</sub> pH 10	1,26	0,47	P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>4</sub> pH 10	1,17	0,46
NaOH	1,47	0,54	NaOH	1,80	0,54
NaOH après HCl	1,00	0,43	NaOH après HCl	1,06	0,40
NaOH après HCl + HF	3,90	0,71	NaOH après HCl + HF	2,67	0,60

### 1.5. Protocole de fractionnement adopté

A la lumière des remarques faites, il a été jugé nécessaire d'adopter une combinaison des deux méthodes.

— traitement sur des échantillons broyés à 2 mm ;

— extraction par l'acide phosphorique pour séparer les petites molécules organiques, les acides fulviques libres ou peu liés à la partie minérale ;

— extraction par le pyrophosphate de sodium à pH 7 pour libérer, par complexation des cations de liaison, les composés organiques peu polymérisés.

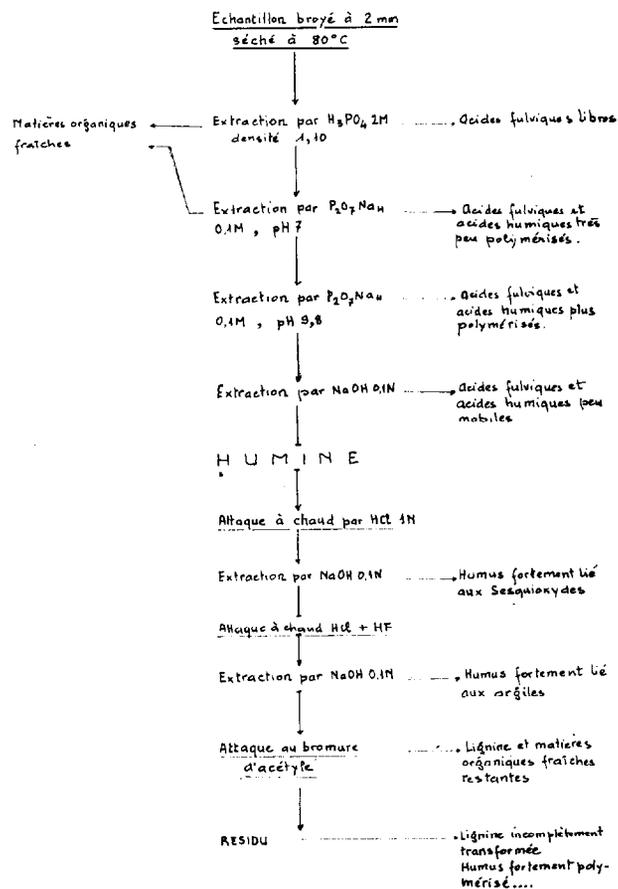
— extraction par le pyrophosphate de sodium à pH 9,8 et ensuite par la soude ;

— le mode de fractionnement de l'humine est inchangé ;

— le résidu est ensuite attaqué par le bromure d'acétyle (JAMBU 1969) pour avoir la lignine et la matière organique non décomposée qui reste.

Ce protocole de fractionnement est résumé sur le schéma 2.

La technique adoptée est longue et n'est pas d'un emploi très aisé en série. Elle est cependant nécessaire pour permettre de mener étude sur la matière organique des sols hydromorphes.



SCHEMA N° 2. — Protocole de fractionnement de la matière organique.

## 2. APPLICATIONS A DEUX TYPES DE SOLS HYDROMORPHES

La méthode a été faite à la comparaison de deux horizons de surface de sols hydromorphes à gley :

— ATR 41, prélevé dans l'Ouest de Madagascar, sol hydromorphe peu humifère à gley à caractère réversible (RATSIMBAZAFY, 1971), formé sur alluvions actuelles peu évoluées, sous végétation de Cypéracées, engorgé pendant 6 à 7 mois dans l'année, prélèvement effectué à la fin de la saison sèche (septembre).

— IVR 31, prélevé dans la partie orientale de l'île, sol hydromorphe peu humifère à gley à caractère irréversible, formé sur alluvions fluviales récentes,

très altérées, sous végétation de Cypéracées, engorgement quasi permanent. IVR 31 est donc plus longuement engorgé que le premier échantillon ATR 41.

Dans les deux cas, les argiles sont du type kaolinite, IVR 31 contient en outre de la gibbsite. Quelques caractères analytiques sont figurés dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Quelques résultats analytiques

Eléments	ATR 41	IVR 31
pH - H <sub>2</sub> O (1/10) .....	5,50	4,50
Argiles (%) .....	53,0	51,0
Limon fin (%) .....	35,2	25,6
Carbone total (‰) .....	16,46	58,94
Azote total (‰) .....	1,51	3,49
C/N .....	10,9	17,0
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> total (%) .....	13,65	8,30

2.1. Résultats sur le fractionnement de la matière organique

Les chiffres consignés dans le tableau 4, et portés sur la figure 3, amènent à faire les remarques suivantes :

2.1.1. MATIÈRE ORGANIQUE NON DÉCOMPOSÉE

Les matières organiques fraîches obtenues par flottation présentent le même pourcentage dans les deux cas par rapport au carbone total.

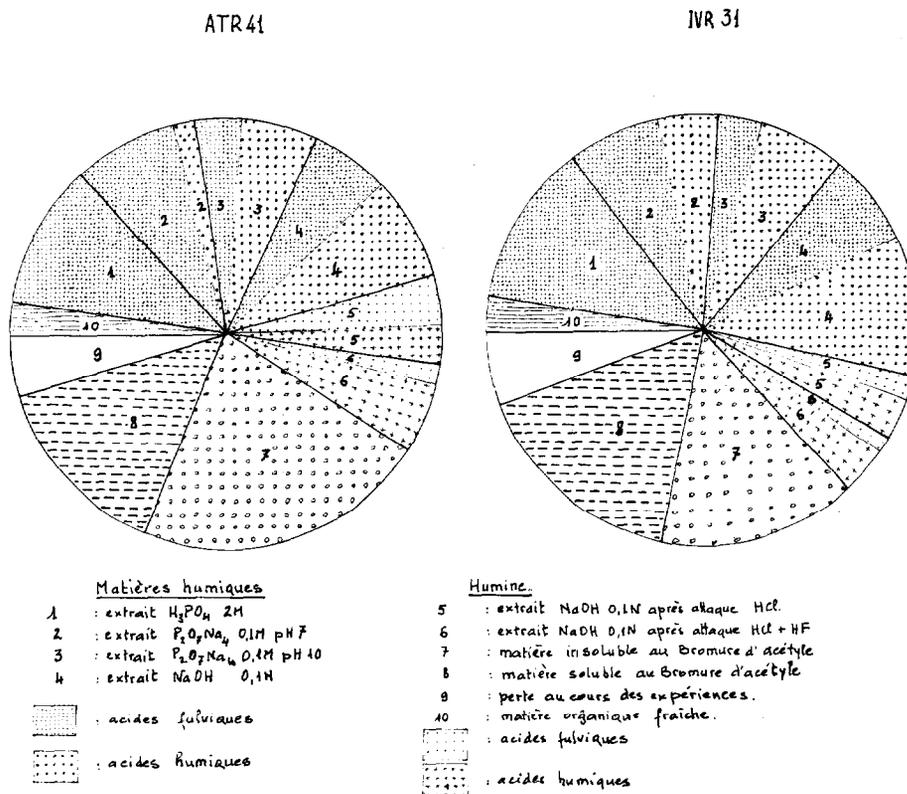


FIG. 3. — Fractionnement de la matière organique.

IVR 31 cependant contient plus de matière organique soluble dans le bromure d'acétyle. Notons d'autre part que ces deux sols étant sous la même végétation, IVR 31 renferme trois à quatre fois plus de matière organique totale. Cette accumulation est due au ralentissement de la minéralisation sous l'effet de l'engorgement quasi-permanent.

### 2.1.2. MATIÈRES HUMIQUES EXTRACTIBLES

— IVR 31 contient plus d'acides fulviques libres extractibles par l'acide phosphorique ; il en est de même avec le pyrophosphate de sodium à pH 7.

— Avec le pyrophosphate de sodium à pH 10, on extrait la même quantité de matières humiques des deux sols, mais le rapport AF/AH est plus élevé pour ATR 41.

— IVR 31 donne avec la soude 0,1 N plus de matière humique, mais le rapport AF/AH est légèrement plus faible.

En résumé, IVR 31 contient plus de matières organiques peu polymérisées que ATR 41 (extraits  $H_3PO_4$  et  $P_2O_7Na_4$  pH 7). Les deux échantillons présentent le même pourcentage de matière humique extraite par le pyrophosphate de sodium à pH 10.

Enfin IVR 31 donne plus de matière organique extractible par la soude 0,1 N.

Quantitativement donc, la différence entre les deux sols s'observe dans les différentes fractions, sauf celle extraite par le pyrophosphate de sodium à pH 10.

Qualitativement, on note la même quantité d'acides fulviques dans les deux cas, mais IVR 31 contient nettement plus d'acides humiques. Il apparaîtra par la suite que ceux-ci sont beaucoup plus mobiles que ceux d'ATR 41.

### 2.1.3. HUMINE

Les matières humiques fortement liées aux sesquioxides et aux argiles sont plus importantes dans l'échantillon ATR 41 que chez IVR 31.

TABLEAU 4

Fractionnement de la matière organique sur ATR 41 et IVR 31.  
En pourcent par rapport au carbone total

Traitement	ATR 41				IVR 31			
	Carbone	AF	AH	AF/AH	Carbone	AF	AH	AF/AH
$H_3PO_4$ Surnageant .....	2,42				2,46			
	10,95	10,95			12,06	12,06		
$P_2O_7Na_4$ pH 7 .....	9,17	7,90	1,27	6,22	11,53	6,86	4,67	1,47
$P_2O_7Na_4$ pH 10 .....	9,29	3,72	5,57	0,67	9,90	3,32	6,58	0,50
NaOH 0,1 N .....	13,75	5,90	7,85	0,75	17,68	6,97	10,71	0,65
NaOH après attaque HCl .....	6,84	2,89	3,95	0,73	4,88	2,00	2,88	0,70
NaOH après attaque HCl+HF	6,81	1,50	5,31	0,30	4,95	1,10	3,85	0,30
M.O. non soluble dans Brom. acétyle .....	22,10				14,82			
M.O. soluble dans Brom. acétyle	14,03				16,22			
Total .....	95,34				94,50			

Ces fractions contiennent encore une partie sous forme d'acides fulviques et les rapports AF/AH sont respectivement les mêmes pour les deux échantillons. La durée de l'engorgement ne semble pas influencer sur

ces deux composants de l'humine. Par contre ATR 41 comporte nettement plus de matière organique insoluble dans le bromure d'acétyle.

## 2.2. Test de comportement à l'électrophorèse sur papier

Des tests de comportement à l'électrophorèse sur papier ont été effectués sur les différents acides humiques obtenus ; les diagrammes sont portés sur la figure 4. Les valeurs des rapports Q et R, consignés dans le tableau 5, appellent les remarques suivantes :

— les acides humiques de ATR 41 sont toujours corrélativement moins mobiles que ceux de IVR 31. La durée de l'engorgement augmenterait la mobilité des acides humiques.

— les acides humiques de ATR 41 liés aux sesquioxides sont légèrement moins mobiles que ceux liés aux argiles ; le phénomène contraire peut être observé

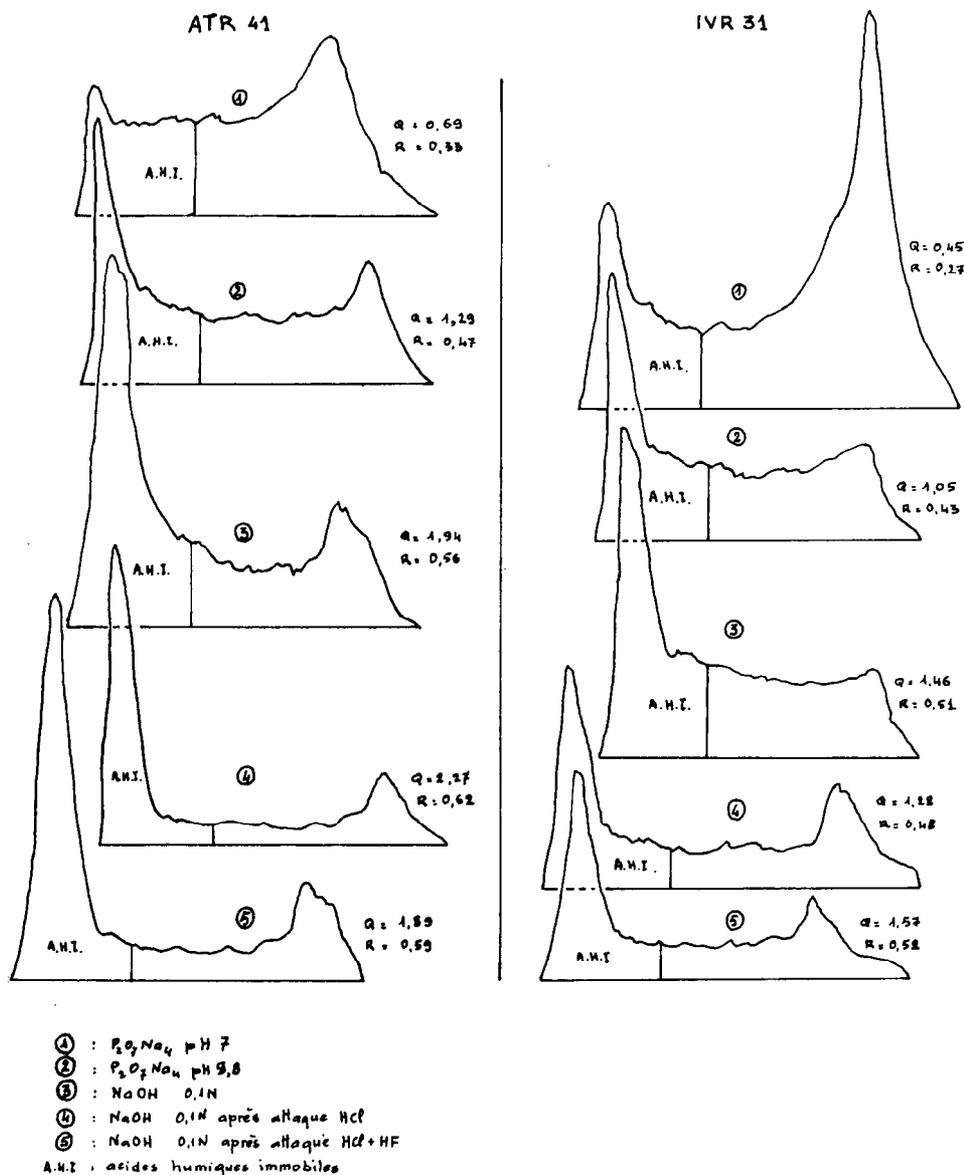


FIG. 4. — Electrophoregrammes des différentes fractions d'acides humiques.

avec IVR 31. Les analyses montre que ATR 41 est plus riche en fer amorphe et en fer total.

TABLEAU 5  
Valeurs des rapports Q et R

Traitement	ATR 41		IVR 31	
	Q	R	Q	R
P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>4</sub> pH 7 .....	0,69	0,33	0,45	0,27
P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>4</sub> pH 10 .....	1,29	0,47	1,05	0,43
NaOH 0,1 N .....	1,94	0,56	1,46	0,51
NaOH après attaque HCl....	2,27	0,62	1,28	0,48
NaOH après attaque HCl + HF .....	1,89	0,59	1,57	0,52

## CONCLUSION

La méthode adoptée, loin d'être parfaite, semble répondre au but recherché. Elle permet d'extraire

des matières humiques de plus en plus polymérisées, de fractionner des composés comparables dans plusieurs sols hydromorphes, et enfin de réduire au minimum les phénomènes de néoformation d'acides fulviques et humiques.

Elle a été utilisée pour comparer deux horizons de surface de sols hydromorphes bien différents, ce qui a permis de tirer les conclusions suivantes :

— la décomposition de la matière organique semble ralentie par une durée de submersion plus grande ; il en est de même de la polymérisation des acides humiques. On retrouve donc ici les constatations faites par JAMBU sous climat tempéré.

— la durée de la submersion influe surtout sur les composés extraits par l'acide phosphorique, le pyrophosphate de sodium à pH 7 et la soude 0,1 N ; ceux extraits par le pyrophosphate de sodium à pH 10 ne semblent pas en subir l'influence. D'ailleurs on y observe la même quantité d'acides fulviques dans les deux types de sols hydromorphes.

— dans la fraction humine, la matière organique insoluble dans le bromure d'acétyle semble plus importante pour une durée d'engorgement moins longue ; la fraction soluble paraît varier en sens inverse.

## BIBLIOGRAPHIE

- DABIN (B.), 1971. — Etude d'une méthode d'extraction de la matière organique du sol. *Sci. Sol*, n° 1, 47-63.
- DUCHAUFOUR (Ph.), JACQUIN (F.), 1966. — Nouvelles recherches sur l'extraction et le fractionnement des composés humiques. *Bull. ENSAN*, tome VIII, 1, 3-24.
- DUPUIS (J.), FOURNIER (B.), JAMBU (P.), 1967. — Note sur l'utilisation de l'électrophorèse sur papier en vue du dosage des divers composés humiques des sols. *Bull. A.F.E.S.*, n° 6, 5-14.
- JACQUIN (F.), CALVEZ (C.), METCHE (M.), 1970. — Contribution à l'étude des processus d'extraction et de caractérisation des composés humiques. *Bull. A.F.E.S.*, n° 4, 27-38.
- JAMBU (P.), 1968. — Observation sur l'humidification en milieu calcique hydromorphe. *Sci. Sol*, n° 1, 67-89.
- JAMBU (P.), DUPUIS (J.), 1969. — Contribution aux recherches sur le fractionnement des constituants organiques des sols humifères hydromorphes calciques. *Bull. A.F.E.S.*, n° 6, 29-36.
- JAMBU (P.), DUPUIS (T.), 1971. — Etude par électrophorèse et spectrographie infrarouge des acides humatomes des sols hydromorphes calciques. *Sci. Sol*, n° 1, 111-120.
- MONNIER (G.), TURC (L.), JEANSON-LUSINANG (C.), 1962. — Une méthode de fractionnement densimétrique par centrifugation des matières humiques des sols. *Ann. Agron.*, 13, n° 1, 55-63.
- PERRAUD (A.), NGUYEN KHA, JACQUIN (F.), 1971. — Essai de caractérisation des formes de l'humine dans plusieurs types de sols. *C.R. Acad. Sci. sér. D*, tome 272, 1594-1597.
- PERRAUD (A.), 1971. — La matière organique des sols forestiers de la Côte d'Ivoire. Thèse Sc. nat. Nancy, ORSTOM, Paris, 134 p. *multigr.*
- RATSIMBAZAFY (C.A.), 1972. — Interaction potassium-fer dans certains sols de Madagascar. *Cah. ORSTOM, série Pédol.*, vol. IX, n° 2, 111-131.
- RATSIMBAZAFY (C.A.), 1973. — Etude expérimentale de l'influence du support minéral sur la détermination des différentes fractions de la matière organique. *ORSTOM-Tananarive sér. Pédol.*, 40 p.
- TURIN (I.V.), 1951. — Vers une méthode d'analyse pour l'étude comparative des constituants de l'humus du sol. *Trav. Inst. des Sols Dokutchaiiev*, XXXVIII, 32 p.