

L'ANALYSE FOLIAIRE : POURQUOI ? COMMENT ?**par Madame A. BONVALET, CIRAD - GERDAT****PRINCIPES ET PRATIQUES
DANS L'ANALYSE FOLIAIRE****INTRODUCTION**

Pour la croissance, le développement et la production de récolte, les plantes demandent la fourniture continue et bien ajustée d'éléments nutritifs minéraux essentiels aux racines pour l'absorption et le transport vers les parties aériennes.

Ces éléments nutritifs sont divisés en macroéléments, N, P, Ca, Mg et S, et en microéléments Fe, Mn, Cu, Zn, Mo et B. Les préfixes macro et micro se rapportent aux demandes quantitatives. Si un de ces éléments est en apport limité, la performance de la récolte décroît et résulte à la fin en désordres nutritionnels. Des insuffisances en éléments minéraux se manifestent en termes de rendement de culture réduits et/ou en pauvre qualité du produit.

Dans les premiers stades de la déficience, des dépressions considérables du développement peuvent être observées. Dans le cas de déficiences très sévères, celles-ci sont reflétées par la présence de simples ou multiples symptômes visuels caractéristiques, tels que décolorations, chlorose et malformations de plusieurs parties de la plante. Evidemment, les processus chimiques dans la plante se renversent. Ceci en retour affecte les processus physiologiques et les mécanismes de la production.

Une détérioration définitive de la capacité de production des plantes peut être prévenue par une intervention précoce en ajustant la nutrition minérale par addition d'engrais.

Depuis deux ou trois décades, les techniques analytiques pour les plantes ont été développées pour aider à l'apport et à l'utilisation convenable des engrais.

En général, les feuilles ont été prouvées être la partie la plus appropriée de la plante et l'analyse foliaire a été développée et affinée pour un ajustement qualitatif et quantitatif de la nutrition minérale.

ANALYSE DE LA PLANTE ET DIAGNOSTIC FOLIAIRE

Les feuilles sont considérées comme le foyer des activités physiologiques. Des changements dans la nutrition minérale sont reflétés dans les concentrations des éléments nutritifs de la feuille. La motivation pour la détermination des concentrations des éléments nutritifs dans les feuilles dans le but d'un diagnostic est basée sur le fait qu'il existe une relation significative entre l'apport d'éléments nutritifs et les niveaux de ces éléments et qui accroît ou décroît en concentration et en relation avec des rendements plus forts ou plus faibles, respectivement. En général, ces hypothèses sont valides mais une erreur importante peut être introduite parmi d'autres durant l'échantillonnage.

L'utilisation des niveaux d'éléments nutritifs de la feuille pour un diagnostic sûr et une interprétation d'engrais demande une large connaissance des influences agronomique, écologique et physiologique. Cette sûreté dépend aussi de la continuité d'établissement de la récolte en temps et place et des types de saisons. La continuité permet l'établissement d'un équilibre naturel entre la fourniture d'éléments nutritifs et la consommation et la performance de la culture sur des périodes étendues de temps et les possibilités pour déterminer les gammes optimales critiques et déficitaires pour une culture spécifique. Les effets des applications d'engrais peuvent être gérés par une analyse périodique permettant une intervention immédiate pour corriger les désordres nutritionnels survenant. Des succès significatifs avec le diagnostic foliaire ont été obtenus avec des plantes et arbres pérennes tels que le café, le thé, le poivre, les citrus, les bananiers, les palmiers à huile et les hévéas.

Les concentrations dans les feuilles sont déterminées par une analyse chimique. De nombreuses méthodes ont été développées, différant par le degré de sophistication, de complexité et de sûreté. Pour des applications de routine dans des pays en développement, des méthodes et des modes opératoires ont été proposés, combinant rapidité, simplicité et sûreté. La sûreté se rapporte au degré de sécurité et de précision et de validité des méthodes analytiques dans des conditions expérimentales variables.

Il est évident que des modes opératoires standards pour l'échantillonnage des feuilles sont essentiels pour garantir le coût et les efforts utilisés dans l'emploi des analyses et l'interprétation qui en découle.

LES BASES DU DIAGNOSTIC FOLIAIRE

Il y a une série de conceptions de physiologie végétale qui ont une assez grande importance. Un aspect de la question est d'un côté la conception des fumures équilibrées, c'est-à-dire des fumures où tous les éléments nutritifs, tous les groupes de cations et d'anions sont apportés dans un équilibre bien précis, et, de l'autre, une conception qui cherche simplement à corriger d'abord les carences principales en apportant uniquement les éléments dont la déficience s'est manifestée.

Il convient de tenir compte avant tout de l'âge physiologique de la plante plutôt que son son âge chronologique qui peut être très différent. Il est important de faire, dans les études de diagnostic foliaire, une étude préalable de la croissance et du développement de la plante, de manière à déterminer les phases critiques que cette plante traverse au cours de sa vie, et on obtient ainsi des repères d'ordre physiologique.

Ces études de croissance et de développement ont une grande importance pour de nombreuses cultures parce qu'elles montrent les moments où les phénomènes de croissance, et par conséquent de métabolisme, sont les plus actifs. Des études ont montré qu'il y avait une relation très nette entre l'activité métabolique et leur capacité d'accumulation des ions minéraux.

Il est manifeste qu'il existe une certaine liaison entre ces divers ions quant à leur capacité d'accumulation et que ces liaisons doivent déterminer en partie l'efficacité d'une fumure appliquée au sol.

Une des grandes difficultés du diagnostic foliaire est le prélèvement correct de l'échantillon, et notamment la détermination précise de la feuille à prélever.

Il est tout à fait normal que, sur la base d'études purement physiologiques, on arrive à la conception d'un équilibre étroit devant exister entre les éléments minéraux pour que la fumure que l'on applique au sol soit la plus efficace possible.

En particulier, le point de vue qui a orienté au départ l'IRHO est un point de vue économique. Pour les cultures pauvres (arachides, palmier à huile, cocotier), il n'est pas imaginable de pouvoir apporter les tonnes d'engrais que l'on peut se permettre en Europe sur le blé, ou en Afrique sur l'ananas par exemple.

On est donc parti de l'idée qu'il convenait d'étudier l'effet de doses réduites et on ne peut alors dans ce cas apporter simultanément tous les éléments minéraux, c'est-à-dire N, S, P, K, Ca, Mg, etc, et éventuellement les oligo-éléments. La loi des facteurs limitants, connue sous le nom de loi de LIEBIG, a servi de point de départ en considérant que les points de vue agronomique et physiologique.

Dans une analyse de feuilles, on détermine les différents éléments minéraux présents, mais on ne sait pas alors sous quelle forme ils sont dans la cellule végétale.

Le diagnostic foliaire serait d'un intérêt très limité s'il n'était capable que d'interpréter des expériences dont on peut voir les résultats au point de vue agronomique et ne serait pas extrêmement rentable au point de vue pratique. Il faut que le diagnostic foliaire tende à généraliser les résultats obtenus dans une expérience et son intérêt principal réside dans l'établissement de relations entre les teneurs et les rendements, de relations entre les différents éléments minéraux.

Les concentrations des éléments dans les feuilles sont déterminées par l'analyse chimique. De nombreuses méthodes ont été développées avec différents degrés de complexité, de sophistication et de sûreté.

Il est évident que les procédés systématiques et standards pour l'échantillonnage sont essentiels pour garantir le coût et les efforts entrepris dans l'utilisation des analyses et leur interprétation.

Les considérations pratiques ont amené à échantillonner arbre par arbre dans de grandes zones, ou bien à prendre un grand échantillonnage de feuilles, et de considérer que les concentrations de ces échantillons sont représentatives de la population des arbres. La sécurité de cette méthode demande des zones d'échantillonnage uniformes et un nombre minimum d'arbres échantillonnés pour réduire le plus possible les variations entre plants.

D'autres sources importantes de variabilité peuvent affecter les teneurs dans la feuille : l'âge, l'espèce, les cultivars, les variétés, la position morphologique sur la

plante, les effets entre apports nutritifs aussi bien que les variations saisonnières, le moment de l'échantillonnage, les conditions climatiques.

Des erreurs pourront aussi provenir de la manipulation des échantillons, des méthodes de nettoyage, des procédés de séchage et de broyage, des conditions de stockage et, finalement, de méthodes analytiques hasardeuses et mal calibrées. Cependant, ces erreurs peuvent être partiellement neutralisées.

L'interprétation des niveaux des éléments dans la feuille est toujours faite en comparaison avec des valeurs de référence et il faut introduire des échantillons de référence (plantes en bonne santé) pour diminuer l'erreur dans l'interprétation.

ECHANTILLONNAGE

Choix des feuilles

Puisque les feuilles sont considérées comme le site le plus important pour la formation des composés organiques, et aussi comme l'indicateur de changement pour un apport minéral, les activités physiologiques sont à la source d'une variabilité considérable en regard des concentrations des éléments.

Les concentrations sont systématiquement influencées par, entre autres, l'âge physiologique de la feuille, la croissance au soleil ou à l'ombre, la position morphologique ou chronologique, la portion de feuille, la présence ou l'absence de fruits ou de fleurs et l'aspect de la plante.

Pour une plus grande sensibilité et une précision accrue dans la comparaison des teneurs dans les feuilles, chaque espèce demande une méthode spécifique standard et détaillée pour le prélèvement. Par exemple, on prélèvera pour l'Hévéa les feuilles basses placées à l'ombre tandis que pour le palmier à huile, la feuille 17 est considérée comme étant la plus représentative.

La précision de l'interprétation peut varier pour de nombreuses espèces avec les régions et les pays et, dans ce cas, elle devra être testée et ajustée.

Aire d'échantillonnage

Elles peuvent, sans inconvénient, être très grandes bien que, pour une aire donnée, on puisse observer des variations d'un endroit à l'autre dues à des facteurs extérieurs. On fera alors des subdivisions pour avoir des lots homogènes. La cadre de ces subdivisions pourra être constitué par l'uniformité de la topographie, du type de sol, de l'aspect de la récolte, des conditions de drainage ou d'irrigation, des variétés de plantes et des pratiques culturales.

Chaque unité est échantillonnée séparément et, pour une grande surface, on obtiendra plusieurs échantillons représentant des portions homogènes d'une surface totale hétérogène. Les données de ces sous-unités permettront une interprétation donnant plus de renseignements que celle obtenue à partir d'un seul échantillon représentant la zone entière.

Nombre d'arbres

Ce nombre, compris dans un lot-échantillon représentatif, dépend de la variation d'arbre à arbre pour chaque élément. Des évaluations de la variation de la valeur moyenne de la population pourront être obtenues à partir de l'échantillonnage et de l'analyse. En admettant une différence possible entre la moyenne de la population et la moyenne de l'échantillon, et en établissant un niveau de confiance pour permettre à la moyenne de l'échantillon d'être dans l'intervalle de l'erreur tolérable, le nombre d'arbres peut être calculé.

L'erreur tolérable habituellement adoptée est de 10 à 15 % pour une représentation convenable de la valeur moyenne de la population.

Des chercheurs ont travaillé sur ce problème et ont défini ce nombre pour plusieurs espèces. Ces nombres sont valides respectivement et ont donné une bonne approximation. Pour l'Hévéa, 40 arbres seront prélevés sur 26 ha et on a obtenu une bonne adéquation dans l'estimation des niveaux de 5 éléments majeurs avec une erreur tolérable de 15 %. Pour le Palmier à huile, 25 arbres sur 50 - 100 ha donnent un échantillon représentatif.

Epoque de l'échantillonnage

Les plantes répondent à des changements de conditions corrélées aux phénomènes physiques de croissance, de développement floral et de la formation du fruit. L'effet caractérisé d'un ou de plusieurs de ces phénomènes se retrouve dans un changement de niveau des éléments minéraux dans les feuilles. Des influences externes telles que les variations saisonnières influent aussi sur ce niveau.

L'apport d'éléments nutritifs s'ajoute et complique l'action conjuguée de tous ces facteurs. Les périodes caractéristiques seront établies et associées avec les valeurs optimales, critiques ou de déficience indiquant les performances de la récolte. Les périodes de prélèvement devront être fixées.

Pratique de l'échantillonnage

Un échantillonnage sélectif d'arbres isolés est fait dans le cas de feuilles montrant des déficiences visuelles. On prélèvera aussi un échantillon de référence d'une plante en bonne santé.

Des échantillons montrant des symptômes intermédiaires pourront être utiles lors de l'interprétation.

Pour une surface étendue, on suivra la règle d'un lot global avec un nombre d'arbres prédéterminé représentatif, les arbres choisis étant systématiquement répartis sur la surface entière. Les échantillons de référence proviendront de parcelle en bonne santé située dans la même zone.

Les informations détaillées seront rassemblées avec les données météo, le type de sol et sa composition, la topographie et le drainage, les pratiques culturales, les applications d'engrais et le résultat de la récolte. Toutes ces informations augmenteront la sécurité de l'interprétation et la recommandation des traitements.

La collecte des feuilles est une très importante activité. La précision des analyses dépend en grande partie de l'exécution correcte des prélèvements suivant des méthodes préconisées. Elle sera faite de préférence entre 7 et 10 heures du matin, et surtout pas pendant ou immédiatement après une pluie. Le personnel sera entraîné et le travail sous surveillance. L'échantillon final devra être de 25 à 30 grammes de matériel saché à l'air et, dans le cas d'échantillon trop important, on le réduira en appliquant la méthode 1/4.

Fréquence de l'échantillonnage

Le nombre d'échantillonnage dépend de la précision désirée pour les recommandations, de la nature de la plante et de considérations économiques.

Manipulation des échantillons

- Nettoyage : dans un délai de 6 heures après le ramassage, les feuilles seront nettoyées pour éliminer la poussière ou les souillures, en les essuyant avec un chiffon doux et en rinçant avec de l'eau distillée. Cette opération exécutée rapidement n'entraîne pas de perte en éléments nutritifs. Après élimination de l'excès d'eau, les feuilles sont placées dans des petits sachets en mousseline pour le séchage.
- Séchage : en étuve en acier inox et à air pulsé de préférence, à 70°C pendant 48 heures. A 90°C, on peut avoir des pertes importantes, surtout en N.
- Broyage : le matériel végétal peut être prébroyé pour l'envoi au laboratoire ou bien directement réduit en poudre. L'utilisation de broyeurs en acier inox est recommandée avec un tamis de 1 mm. On évite une contamination au broyage et on obtient un échantillon homogène. Les échantillons en poudre seront placés dans des sachets avec leur étiquette d'identification et stockés dans des lieux adéquats en attendant d'être analysés.

Quelques exemples d'application

L'IRHO/CIRAD surveille avec cette technique de l'analyse foliaire environ 300 000 ha dont 200 expérimentations de 10 ha pour les plantations de palmiers à huile et de cocotiers.

L'IRCA/CIRAD prend en charge près de 80 000 ha d'hévéas.

Un client extérieur, pour qui nous faisons depuis 6 ans des analyses foliaires sur arbres fruitiers, rappelle l'intérêt de ces analyses car elles ont permis de réduire considérablement les fumures azotées sans nuire à l'aspect végétatif des arbres, d'avoir une meilleure conservation des fruits en chambre froide et de limiter la pollution des nappes par des nitrates. Il faut aussi prendre en compte l'économie financière réalisée par l'arboriculteur et ces analyses ont permis de montrer l'utilité de la localisation du phosphore et du potassium, de corriger les carences latentes (fer,

zinc, manganèse sur poirier, bore, zinc et manganèse sur pêcher).

METHODES D'ANALYSES

Depuis le début de l'analyse foliaire, les équipements scientifiques ont beaucoup évolué et des méthodes plus sophistiquées ont été introduites et utilisées pour l'analyse de routine.

Des techniques semi-automatiques ont réduit considérablement le travail technique et accru la sécurité des données à la sortie du laboratoire.

Cependant, il est nécessaire, pour travailler avec ces nouveaux équipements, d'avoir à sa disposition un personnel qualifié et bien entraîné d'un côté et, de l'autre, des fournisseurs et des services de maintenance compétents et rapides.

Des méthodes convenant à un large éventail d'échantillons de feuilles ont été établies, permettant une seule analyse en utilisant souvent des courbes de calibration dans les intervalles de concentrations attendues, facilitant le calcul.

Les prises d'essai seront les plus faibles possible. L'équipement auxiliaire comprend des balances de précision, des plaques chauffantes, des pipettes automatiques pour prélèvement d'aliquotes, des trébuchets pour la préparation des réactifs, des dispensers pour l'addition d'acides, etc.

MINERALISATION

La destruction de la matière organique et la mise en solution des éléments minéraux peut être faite soit par voie sèche "calcination", soit par voie humide "digestion". De nombreux laboratoires estiment que la voie humide est longue et préfèrent la voie sèche.

METHODES INSTRUMENTALES

L'équipement de photométrie de flamme et de spectrophotométrie utilisé pour les analyses de routine est de manipulation sûre et facile. Les lectures digitales ou des enregistrements sont recommandées et l'alimentation du courant électrique doit être stable.

SPECTROPHOTOMETRIE

Les appareils seront réglés de façon à obtenir une courbe standard le linéaire possible, rendant le calcul et les vérifications plus rapides et plus faciles.

PHOTOMETRIE DE LA FLAMME

Méthode simple, rapide et sûre pour les déterminations de K et Na. La flamme doit être stable et reproductible à partir d'un gaz propre. Une attention particulière sera portée aux interférences, effets de matrice, ainsi qu'à la fidélité et à la précision.

CALIBRAGE

Les méthodes spectrophotométriques et photométriques doivent être calibrées à partir de solutions de concentration connue et diluées de façon à avoir des teneurs proches de celles des solutions d'échantillons à analyser. Les solutions-mères seront préparées avec soin et à partir de produits secs et pesés sur des balances de précision.

MODES OPERATOIRES DU LABORATOIRE

Dosage de l'azote : la très ancienne méthode Kjeldahl est toujours utilisée pour la minéralisation et la transformation de l'azote en NH_4 avec de l'acide sulfurique à l'ébullition pendant un temps donné et en présence d'un catalyseur (mélange de sulfate de sodium ou potassium et sélénium ou, si on se trouve en présence de nitrates, le catalyseur de DUMAZERT-MARCELLET - sélénite de mercure - après addition d'acide salicylique). L'attaque faite au début sur des rampes à gaz ou électriques est menée actuellement dans des blocs chauffés contenant 20 ou 40 échantillons.

Le dosage de NH_4 peut se faire ensuite par distillation et titrage pour par colorimétrie qui peut être automatisée.

Dosage de K et Na : se fait par photométrie de flamme air/butane ou air/propane dans les solutions obtenues après minéralisation.

Dosage de Ca et Mg : actuellement, l'utilisation de la spectrométrie d'absorption atomique a facilité des

déterminations après les premières méthodes colorimétrique pour Mg et complexométrique pour la somme Ca + Mg.

Dosage des oligo-éléments : Cu, Fe, Mn, Zn, Al. Les méthodes colorimétriques utilisées au début pour le dosage de Cu, Mn et Fe étaient assez fiables et faciles à utiliser, mais il n'en était pas de même pour Zn et Al. Le travail a été grandement facilité par l'emploi de l'absorption atomique et les résultats améliorés. La diversité des éléments dosables a été accrue. Une flamme acétylène/protoxyde d'azote permet, avec les appareils les plus récents, de doser facilement Al.

Le dosage des éléments-traces (Pb, Cd, As, ...) est maintenant rendu possible avec la spectrométrie d'absorption atomique sans flamme.

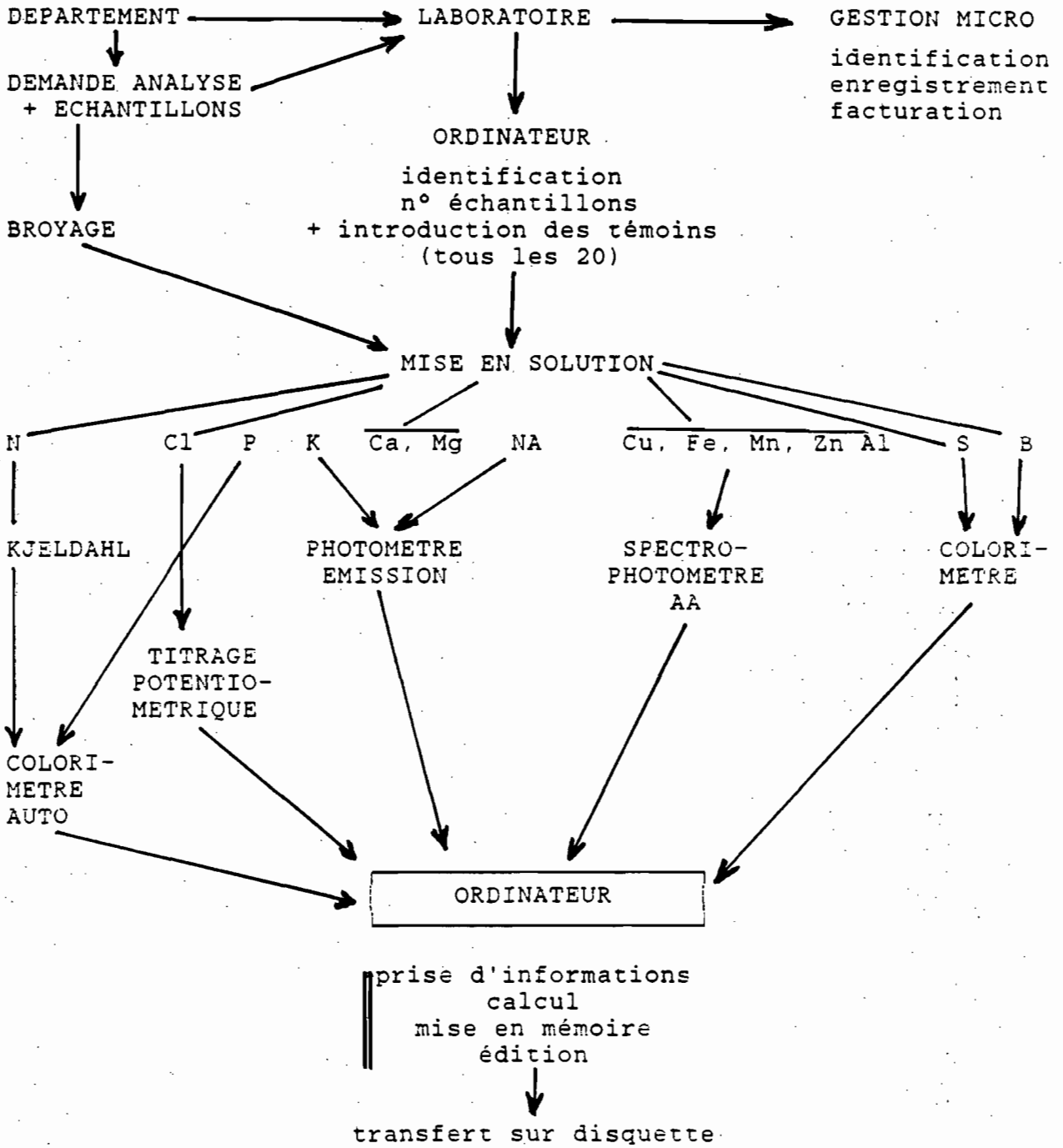
CONTROLE DE LA QUALITE DU LABORATOIRE

Pour obtenir du travail de qualité et des résultats précis et sûrs, il est essentiel de mettre en place un programme de contrôle, surveillant :

- . les méthodes analytiques et leur application,
- . l'équipement de dosage,
- . la verrerie et l'équipement auxiliaire,
- . les solutions standards et les réactifs,

et aussi la façon de travailler du personnel.

Pour cela, on introduit régulièrement dans les séries d'échantillons des échantillons de référence de même nature que ceux qui sont analysés et il est, de plus, recommandé de faire partie de chaînes d'analyses inter-laboratoires.



27 000 échantillons
+ témoins (5 %)

En moyenne :

7 déterminations

700 demandes

10 techniciens à plein temps tout l'année