

A. - TECHNIQUES ANALYTIQUES APPLIQUÉES AU DIAGNOSTIC FOLIAIRE

par J. VELLY

La station de l'Alaotra devant entreprendre, au cours de la campagne 1953, l'étude de la nutrition minérale des plantes contrôlée par la méthode du diagnostic foliaire, il a été nécessaire de choisir, parmi les techniques analytiques existant actuellement, celles donnant une précision suffisante avec un maximum de rapidité.

Les éléments à doser sont : l'azote, le phosphore, le magnésium, le calcium et le potassium. La première question qui s'est posée est celle de la minéralisation des échantillons végétaux.

S'il avait été possible de se procurer de l'eau oxygénée à 100 volumes, pure pour analyse, il ne fait pas de doute que la méthode la plus pratique eût été celle de LINDNER (1), qui permet de doser l'azote sur la même liqueur d'attaque que les autres éléments.

Dans l'impossibilité de pratiquer cette méthode, il est fait appel à deux types d'attaque différents. Sur une fraction de l'échantillon, on dose l'azote total, par la méthode de KJELDAHL modifiée pour pouvoir doser les nitrates, et sur une autre fraction, on fait une attaque sulfo-nitro-perchlorique selon PIPER (2). Sur le résidu de cette attaque, filtré et amené à volume connu, on dose le phosphore et le magnésium par colorimètre et le calcium et le potassium au photomètre à flamme BECKMAN, modèle DU.

Examinons maintenant plus en détail les méthodes adoptées.

I. — MINÉRALISATION DES ÉCHANTILLONS VÉGÉTAUX

Nous n'insisterons pas sur le dosage de l'azote qui est classique, pour ne parler que des déterminations des éléments minéraux.

Les feuilles sont séchées à l'étuve à 100° pendant 3 heures, puis réduites en poudre. Le prélèvement porte sur 500 milligrammes de feuilles sèches ; certaines feuilles comme le riz étant relativement pauvres en éléments minéraux, il est nécessaire de prélever cette quantité pour que les méthodes d'analyse gardent leur sensibilité.

La méthode de minéralisation est essentiellement celle décrite par PIPER (Soil plant analysis, page 272). Seules les quantités des divers réactifs ont été réduites puisqu'il s'agit ici d'une micro-méthode.

D'après PIPER, pourvu que l'on n'oublie pas de mettre l'acide sulfurique, il n'y a aucun danger de décomposition explosive de l'acide perchlorique ou du perchlorate d'ammonium à la fin de la digestion. Cette méthode est simple, rapide, et donne une liqueur d'attaque contenant en solution tous les éléments minéraux à l'exception de la silice. La technique utilisée est la suivante :

Peser dans un petit erlenmeyer de 100 cc., une prise d'essai de 500 milligrammes. Ajouter dans l'ordre 1 cc. d'acide perchlorique ($D = 1,54$), 5 cc. d'acide nitrique, et 1 cc. d'acide sulfurique. Tous ces réactifs doivent être de la qualité « pur, pour analyse ».

Après addition des trois acides, mélanger le contenu du flacon en agitant doucement, et chauffer très doucement pendant quelques minutes jusqu'à apparition de vapeurs rouges bien denses. Retirer le flacon du feu à ce moment pendant environ 5 minutes pour laisser à la réaction initiale le temps de s'atténuer.

Recommencer ensuite à chauffer doucement l'erlenmeyer jusqu'à apparition de fumées blanches et denses d'acide sulfurique. Continuer encore la digestion à assez basse température pendant 5 à 10 minutes, puis chauffer plus fort pendant encore 5 minutes pour déshydrater complètement la silice. Retirer du feu, laisser refroidir, reprendre plusieurs fois par quelques cc. d'eau, filtrer et amener à 50 cc. dans une fiole jaugée. Cette solution servira au dosage des éléments minéraux.

Au cours de cette attaque, il est important que la digestion se fasse lentement. En effet, si l'acide nitrique est chassé trop rapidement, l'oxydation n'est pas complète, et au moment où les vapeurs d'acide sulfurique apparaissent, il reste des particules charbonneuses. Si ceci se produit, retirer l'erlenmeyer du feu, ajouter 1 ou 2 cc. d'acide nitrique et continuer doucement la digestion.

Normalement l'attaque doit être terminée en 45-50 minutes environ.

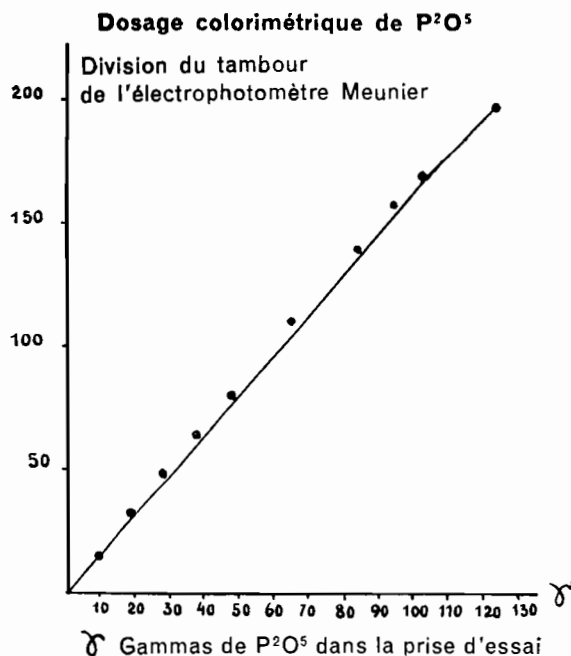
II. — DOSAGE DU PHOSPHORE

La méthode employée pour le dosage de cet élément est une adaptation des méthodes colorimétriques habituelles basées sur la formation de bleu de molybdène. Les réactifs employés sont les mêmes que ceux de la méthode de TRUOG (3) pour le dosage de l'acide phosphorique assimilable des sols, c'est-à-dire :

- a) réactif molybdique : Molybdate d'ammonium à 2,5 % dans de l'acide sulfurique à 28 % ;
- b) solution de chlorure stanneux à 2,5 % dans de l'acide chlorhydrique au 1/10°. Cette solution ne se conserve pas et l'on prépare chaque fois la quantité nécessaire au dosage.

Mode opératoire :

Introduire dans une fiole jaugée de 50 cc., 2 cc. de liqueur d'attaque sulfo-nitro-perchlorique. Ajouter environ 20 cc. d'eau, puis 2 cc. de réactif molybdique. Amener au trait de jauge avec de l'eau distillée, et agiter soigneusement. On ajoute alors 3 gouttes de solution de chlorure stanneux et l'on fait la lecture au colorimètre 5 minutes après.



Pour chaque série d'analyses on fait un témoin contenant tous les réactifs utilisés pour le dosage.

La lecture est faite à l'électrophotomètre de Meunier en employant un filtre rouge pour lequel la sensibilité de l'appareil atteint un maximum.

III. — DOSAGE DU MAGNESIUM

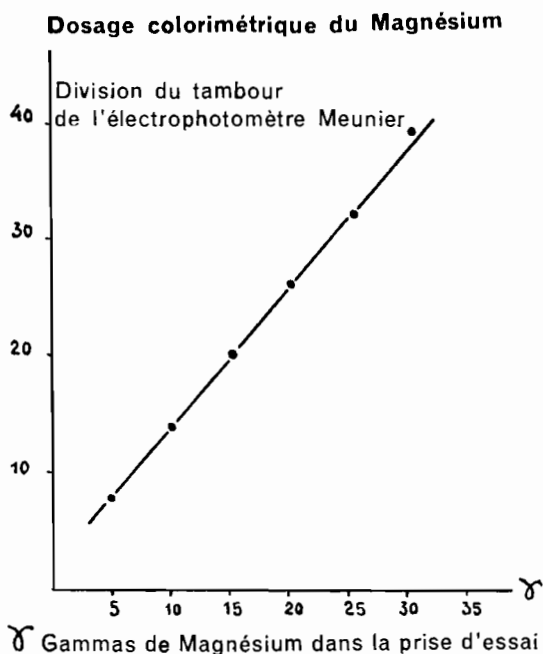
Le principe du dosage est le suivant : l'hydroxyde de magnésium précipité par la soude en présence de jaune de titane, absorbe le colorant et la coloration vire du jaune au rose saumon. La méthode a été appliquée aux analyses de plantes par LINDNER (1).

Dans l'application de cette méthode, il a été tenu compte des modifications qui lui ont été apportées par J.-R. ANSIAUX (4), concernant l'influence de la température sur l'intensité de la coloration. Cet auteur a, en effet, établi que la température doit être déterminée au moment de l'addition du jaune de titane et de la soude, une augmentation de 1° C. au moment de la formation de la coloration fait varier de 4 % en plus la teneur apparente en magnésium.

Ici la température choisie pour la formation de coloration est de 24° C. qui correspond à la température du laboratoire pendant une grande partie de l'année. La température elle-même n'a d'ailleurs pas d'importance, ce qui importe, c'est qu'elle soit toujours la même, et qu'elle soit identique au moment de la préparation de la soude étalon et au moment des dosages des solutions de feuilles.

Réactifs employés :

- a) solution aqueuse de chlorhydrate d'hydroxylamine à 4 % (stabilise la coloration) ;
- b) solution de jaune de titane : 0,15 gr. de colorant dissous dans 75 cc. alcool à 95° et 25 cc. d'eau. Filtrer avant l'emploi ;
- c) soude à 40 %.



Mode opératoire :

Le dosage se fait dans des tubes à essais jaugés avec précision à 10 cc. Introduire dans un tube jaugé 2 cc. de solution minéralisée. Ajouter de l'eau jusqu'à 10 cc. Agiter puis ajouter 1 cc. de solution d'hydroxylamine. Agiter et mettre au bain d'eau à 24° C. pendant 5 minutes. Ajouter 0,2 cc. de solution de jaune de titane. Agiter. Ajouter 2 cc., exactement mesurés, de soude à 40 % également maintenue au bain d'eau à 24° C. Bien agiter. Lecture après 20 minutes à l'électrophotomètre de Meunier en employant un écran vert.

Entre 5 et 25 gammas de mg. dans la prise d'essai la courbe obtenue suit la loi de Beer. Là aussi, chaque série d'analyses comprend un témoin préparé dans des conditions exactement identiques aux solutions à doser.

IV. — DOSAGE DU POTASSIUM

Ce dosage, ainsi que celui du calcium est effectué par photométrie de flamme au spectrophotomètre Beckman, modèle DU.

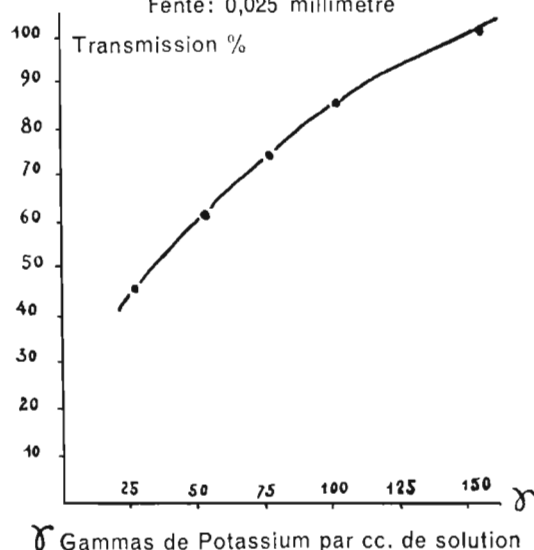
La longueur d'onde retenue pour ce dosage est 770 mμ, en employant le phototube rouge. La sensibilité est placée à 4 tours en sens inverse des aiguilles d'une montre. La fente est de 0,025 millimètre, et le sélecteur sur la position 0,1. Le brûleur utilisé est du type acétylène oxygène et les pressions employées sont pour l'acétylène 3 livres par pouce carré et pour l'oxygène 15 livres par pouce carré.

On emploie directement pour les dosages la solution minéralisée. Le mode opératoire est ici inexistant, il suffit de pulvériser dans la flamme la solution à doser et de lire le pourcentage de transmission sur un cadran.

En raison des interférences possibles entre diversions, il est fait usage, pour l'établissement des courbes étalons, de témoins complexes, comprenant, outre

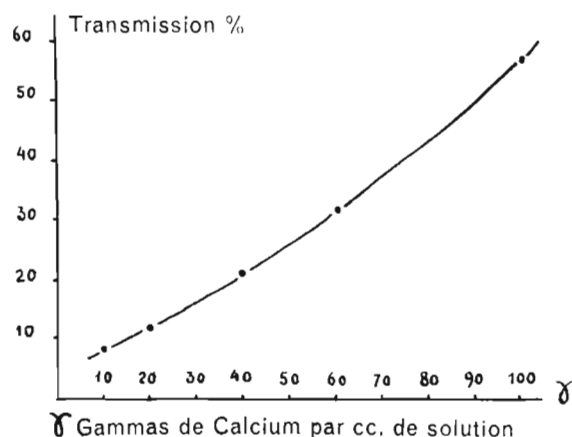
Dosage du Potassium par photométrie de flamme

Longueur d'onde: 770 m μ
Fente: 0,025 millimètre



Dosage du Calcium par photométrie de flamme

Longueur d'onde: 625 m μ
Fente: 0,15 millimètre



V. — DOSAGE DU CALCIUM

Ce dosage s'effectue sur la longueur d'onde 625 m μ , avec emploi du phototube rouge. La fente est de 0,15 millimètre, la sensibilité de 9 tours en sens inverse des aiguilles d'une montre, et le sélecteur sur la position 0,1.

Au moment du dosage, on prépare des témoins contenant par cc. les quantités de calcium : 10, 20, 40, 60, 100 gammas.

l'élément à doser, un certain nombre d'autres éléments dans des proportions aussi voisines que possible de celles existant dans le corps à doser.

a) **Témoins potassium** : Contient par centimètre cube, en plus de quantités variables de potassium, les éléments suivants :

20 gammas de Ca	10 gammas de Na
40 gammas de P ² O ⁵	10 gammas de Mg

b) **Témoin calcium** : Chaque centimètre cube contient, en plus de quantités variables de calcium, les éléments suivants :

100 gammas de K	10 gammas de Mg
40 gammas de P ² O ⁵	10 gammas de Na

On prépare, lors du dosage, des témoins contenant par cc., 25, 50, 75, 100, 150 gammas de potassium. Chaque solution à doser est encadrée par le témoin immédiatement supérieur et le témoin immédiatement inférieur, ce qui assure une précision plus grande au dosage.

BIBLIOGRAPHIE

- 1° R.-C. LINDNER — Rapid analytical methods for some of the more common inorganic constituents of plant tissues — Plant Physiology — Volume 19 - 1944, pp. 76-89.
- 2° C.-S. PIPER — Soil and plant analysis — Interscience publishers Inc. — New-York 1950.
- 3° E. TRUOG — The determination of readily available phosphorus of soils — J. Amer. Soc. Agron. 1930 - 22 - 874 - 882.
- 4° J.-R. ANSIAUX — Méthodes rapides d'analyse minérale — Compte rendu de recherches de l'I.R.S.I.A. n° 3 juin 1950 — Bruxelles.



Premières cultures sur bandes antiérosives à Madagascar (Alaotra — Vallée de la Mananamontana).

RECHERCHE AGRONOMIQUE DE MADAGASCAR



P.533

INSPECTION GÉNÉRALE DES SERVICES AGRICOLES

RECHERCHE AGRONOMIQUE DE MADAGASCAR

N° 2

COMPTE RENDU 1953