# Dynamique hydrologique de la nappe substances humiques

104

*Extrait de*

# la boîte à outils de suivi des zones humides

RhoMeO

Version 1 - Février 2014

www.rhomeo-bao.fr

# Vunérabilité à l'eutrophisation phosphore

# 107

*Extrait de*

# la boîte à outils de suivi des zones humides

RhoMeO

Version 1 - Février 2014

www.rhomeo-bao.fr

## Définir l'univers d'échantillonnage

Dans le cadre du programme RhoMéO, le contour des zones humides suivies correspondait aux contours délimités dans le cadre des inventaires départementaux des zones humides réalisés entre 1996 et 2012 dans le bassin Rhône-Méditerranée. Il est important de noter que l'inventaire et la cartographie des zones humides ont été réalisés avec des méthodes légèrement différentes d'un département à l'autre, parfois même au sein d'un même département. Les principaux écarts observés portent sur :

- L'intégration ou non des marges peu profondes des masses d'eau associées aux zones humides (lac, cours d'eau).

- Le traitement cartographique des réseaux de petites zones humides, soit intégrées dans un seul polygone, soit faisant l'objet de polygones distincts. En lien avec ce second point, l'intégration ou non de parties de la zone humide déjà dégradées au moment des inventaires selon que des critères pédologiques ou uniquement floristiques ont été utilisés.

Les choix qu'un opérateur fera au moment de la délimitation de l'univers d'échantillonnage auront des conséquences importantes au moment de l'analyse des données et de l'interprétation des indicateurs de la boîte à outils :

- Pour des zones humides attenantes à une masse d'eau, la prise en compte ou non de l'interface entre la masse d'eau et la zone humide modifiera logiquement la liste des espèces observées. Cette liste inclura ou non certaines espèces parmi les plus hydrophiles (ex : flore) et ainsi influera sur la valeur de l'indicateur alors calculée (en lien notamment avec la fonction hydrologique du site). Pour les groupes faunistiques les plus mobiles, cette prise en compte de l'interface zone humide/masse d'eau permettra d'interpréter la présence d'éventuelles espèces «surprenantes» par rapport aux habitats recensés sur le site (espèces d'odonates caractéristiques des cours d'eau pouvant être observées sur une zone humide). L'interprétation des résultats obtenus devra donc faire référence aux contours de l'objet suivi.

- Dans le cas de constellations de petites zones humides (marais, mares,…), souvent héritées d'une zone humide antérieure plus vaste réduite et fragmentée par drainage ou mise en culture, l'inclusion ou non de ces parties dégradées déterminera la capacité de l'opérateur à suivre par exemple les effets d'une éventuelle restauration de la zone humide dans leur intégralité.

**Il convient donc, avant d'engager la définition de l'échantillonnage, d'avoir une lecture critique des données d'inventaire des zones humides et, selon les besoins de l'utilisateur, de procéder à des regroupements ou plus généralement de redéfinir les contours de la zone humide suivie de manière à conduire l'évaluation à la bonne échelle.**

# PRÉALABLE À L'UTILISATION DES FICHES

En haut de chaque fiche un bandeau permet d'identifier le type de fiche et le renvoi aux fiches liées.




Sur chaque fiche indicateur, le bandeau contient également des informations sur :




**Plusieurs indicateurs peuvent être calculés avec un seul protocole, le schéma ci-dessous montre les liens entre les fiches protocoles et les indicateurs correspondants.**

| Numéro de page – Indicateur | | Numéro de page – Protocole | | Numéro de page – Analyse / Interprétation | |
|---|---|---|---|---|---|
| I01 | 20 | P01 pédologie | 46 | A01 | 88 |
| I02 | 22 | | | A02 | 92 |
| I06 | 24 | P02 flore | 50 | A06 | 108 |
| I08 | 26 | | | A08 | 116 |
| I03 | 28 | P03 piézometrie | 54 | A03 | 96 |
| I04 | 30 | P04 chimie | 58 | A04 | 100 |
| I07 | 32 | | | A07 | 112 |
| I05 | 34 | P05 orthoptères | 62 | A05 | 104 |
| I09 | 36 | | | A09 | 120 |
| I10 | 38 | P06 odonates | 66 | A10 | 124 |
| I11 | 40 | P07 amphibiens | 72 | A11 | 128 |
| I12 | 42 | P08 pression artificialisation | 76 | A12 | 132 |
| I13 | 44 | P09 pression agricole | 82 | A13 | 136 |

# DYNAMIQUE HYDROLOGIQUE DE LA NAPPE SUBSTANCES HUMIQUES



**Domaine d'application**
5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 9 ; 10 ; 11 ; 12

**Fonction / pression**
hydrologique

**Compétences :**

**Coût :**
€€ / €€€

## Description et principes de l'indicateur

**La matière organique du sol (MOS) est un élément clé pour décrire le fonctionnement des zones humides (*REDDY and DELAUNE, 2008*). Alors que la quantité de MOS informe sur les processus d'accumulation et de minéralisation de la matière organique, sa qualité informe sur ses conditions de dégradation. Les substances humiques représentent en moyenne 2/3 de cette matière organique et se composent de trois fractions : les acides humiques (AH), les acides fulviques (AF) et l'humine (HU).**
**Les substances humiques sont des indicateurs de fonctionnement global d'une zone humide. L'évolution de cet indicateur permet donc d'identifier les éventuels basculements fonctionnels, notamment hydrologiques.**

## FONDEMENTS SCIENTIFIQUES DE L'INDICATEUR

Selon les conditions environnementales (température, oxygénation du sol, acidité, présence d'inhibiteurs...), la matière organique peut se dégrader plus ou moins rapidement et dans certaines conditions, se transformer en composés organiques complexes relativement stables, formant l'humus.
Bien que leur structure moléculaire soit encore mal connue et leur définition peu précise (***PICCOLO, 2001***), on considère que cette composante relativement réfractaire à la dégradation de la matière organique peut se diviser en trois fractions, selon leur solubilité dans les acides et les bases : la fraction fulvique (AF), la fraction humique (AH) et l'humine (HU). On considère généralement que ces trois fractions ont un poids moléculaire, un niveau de polymérisation, une coloration et un caractère réfractaire croissants. L'humine, le composé le plus réfractaire, regroupe des composés organiques insolubles très hétérogènes et variables (lignines, composés phénoliques, cellulose... qui peuvent être complexés avec des minéraux), alors que les acides fulviques, les moins réfractaires, sont composés de polysaccharides de faible poids moléculaire et d'acides aminés (***HE et al., 1992***). Enfin, les acides humiques sont des colloïdes de poids moléculaire intermédiaire.
L'humification est un processus complexe dont les mécanismes restent encore mal élucidés. Les théories classiques présentent les processus d'humification soit comme des processus purement biologiques, soit comme des processus biologiques suivis de processus purement chimiques (***STEVENSON, 1994***). Il est généralement admis que l'ordre de formation des substances humiques, est : acides fulviques puis acides humiques et enfin humines (***STEVENSON, 1994***).
Il a été montré que les substances humiques peuvent être utilisées comme indicatrices de stabilisation de la matière organique et de maturité dans les composts (***CHEFETZ et al., 1996 ; FORSTER et al, 1993 ; FRANCOU, 2003 ; SERRA-WITTLING et al., 1996***). Récemment, une étude a mis en évidence la bonne capacité des substances humiques

## FONDEMENTS SCIENTIFIQUES DE L'INDICATEUR *(Suite)*

à décrire le fonctionnement global des zones humides (***GRASSET et al., in prep.***).
Ces travaux de recherche ont permis d'aboutir à deux indicateurs complémentaires basés sur les substances humiques du sol :

- La part de l'humine dans les substances humiques (% HU) qui est sous l'influence du fonctionnement hydrologique, notamment des variations piézométriques ;
- Le ratio acides humiques sur acides fulviques (AH/AF) qui informe sur les conditions globales de dégradation de la matière organique (température, oxygénation, pH, caractère plus ou moins réfractaire du végétal qui compose la matière organique...).

## DOMAINE D'APPLICATION DE L'INDICATEUR

Tous les habitats de zones humides possédant un sol ; sont exclus les substrats minéraux grossiers (graviers, galets, roche-mère...). Il est cependant déconseillé d'utiliser cet indicateur pour des zones humides salées ou saumâtres du fait de l'absence d'étude des substances humiques sur les sols de ces milieux.

***Bibliographie***

*CHEFETZ B., HATCHER PG., HADAR Y. & CHEN Y.N., 1996. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. Journal of Environmental Quality 25 : 776-785.*

*FORSTER JC., ZECH W. & WURDINGER E., 1993. Comparison of chemical and microbiological methods for the characterization of the maturity of composts from contrasting sources. Biology and Fertility of Soils 16 : 93-99.*

*FRANCOU C., 2003. Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains: Influence de la nature des déchets et du procédé de compostage - Recherche d'indicateurs pertinents. Sciences agronomiques. Thèse de Doctorat. Institut National de Recherche Agronomique, Paris, 388 p.*

*GRASSET C., RODRIGUEZ C., DELOLME C. & BORNETTE G., in prep. Are soil humic substances functional indicators of wetlands ?.*

*HE X.T., TRAINA S. J. & TERRY J. L., 1992. Chemical properties of municipal solid waste composts. J. Environ. Qual. 21:318-329.*

*PICCOLO A., 2001. The supramolecular structure of humic substances. Soil Science 2001 ; 166 : 810-832.*

*REDDY K.R. & DELAUNE R.D., 2008. Biogeochemistry of wetlands : science and applications. University of Florida : CRC Press.*

*SERRA-WITTLING C., BARRIUSO E. & HOUOT S., 1996. Impact of composting type on composts organic matter characteristics. . In : ed. Bea, editor. The Science of composting. Blackie Academic and Professionnal, Bologne.*

*STEVENSON F.J., 1994. Humus chemistry: genesis, composition, reaction : Wiley.*

# VULNERABILITE A L'EUTROPHISATION PHOSPHORE



**Domaine d'application**
toutes les zones humides avec sol

**Fonction / pression**
biogéochimique

**Compétences :**

**Coût :**
€€ / €€

## Description et principes de l'indicateur

**Le phosphore est un nutriment indispensable à la croissance des végétaux. Il joue un rôle dans les processus d'eutrophisation du milieu. Si la concentration en phosphore dans les écosystèmes est naturellement très faible, il en va bien autrement dans les zones humides où les apports anthropiques sont souvent à l'origine d'une teneur élevée de ce nutriment. La concentration en phosphore est donc un indicateur de l'importance des apports eutrophisants d'origine anthropique dans les écosystèmes.**

**Le phosphore total inclut les différentes formes de phosphore, dont le phosphore organique qui est globalement non biodisponible. Les sols tourbeux, riches en matière organique, ont donc logiquement des teneurs en phosphore total relativement élevées. La valeur absolue de phosphore total peut donc difficilement s'interpréter seule, il est nécessaire de prendre en compte la teneur en matière organique du sol.**

**L'indicateur correspond donc au ratio phosphore total (PT) sur carbone organique total (COT). Ce pourcentage, qui n'a pas d'unité, représente la quantité de phosphore potentiellement biodisponible. Ce pourcentage peut être utilisé d'une part comme un indicateur de vulnérabilité à l'eutrophisation et d'autre part comme un indicateur de suivi des apports anthropiques de phosphore à l'échelle des habitats de la zone humide, et, sous certaines conditions d'échantillonnage, de la zone humide dans son ensemble.**

## FONDEMENTS SCIENTIFIQUES DE L'INDICATEUR

Le rôle prépondérant du phosphore dans l'eutrophisation des milieux dulçaquicoles est identifié depuis longtemps (***SAWYER, 1952 ; VOLLENWEIDER, 1968 ; SCHINDLER, 1977 ; BARROIN, 1980***). Les apports naturels de phosphore étant très faibles, ce sont les apports anthropiques qui expliquent les teneurs élevées en phosphore des sols de zones humides. Les sources de phosphore anthropique sont principalement la fertilisation agricole, les effluents domestiques (avec un rôle majeur des détergents) et les rejets industriels.

Le phosphore total comprend le phosphore biodisponible, c'est-à-dire les phosphates ou orthophosphates qui représentent une part minoritaire et le phosphore organique et les autres formes de phosphore, notamment celles pour lesquelles le phosphore est immobilisé, car complexé avec d'autres minéraux (Ca, Fe, Al...). La quantité de phosphore total d'un sol représente donc le stock de phosphore qui est majoritairement non biodisponible. Cependant, la modification des conditions physico-chimiques (oxygène, potentiel redox, pH, température, apports d'autres minéraux...) peut engendrer, plus ou moins rapidement, une libération de phosphore biodisponible jusqu'alors immobilisé. Ceci peut provoquer des phénomènes d'eutrophisation, parfois très rapides (***LUCASSEN et al. 2005, SMOLDERS et al., 2006 ; REDDY and DELAUNE, 2008***).

Le ratio de la quantité de phosphore total sur la quantité de carbone organique permet d'évaluer et de surveiller la dynamique du stock de phosphore potentiellement disponible, et donc la vulnérabilité potentielle à l'eutrophisation de l'écosystème, et de mesurer l'influence des activités anthropiques sur l'évolution de ce stock.

## DOMAINE D'APPLICATION DE L'INDICATEUR

Toutes les zones humides possédant un sol ; sont exclus les substrats minéraux grossiers (graviers, galets, roche-mère).

**Périodicité**

La périodicité du suivi dépend des occurrences de modifications des apports de nutriments dans la zone humide. Il apparait néanmoins qu'une période de 5 ans est raisonnable pour rendre compte de ces évolutions, les processus d'évolution de la matière organique n'étant pas instantanés.

***Bibliographie***

*BARROIN G., 1980. Eutrophisation, pollution nutritionnelle et restauration des lacs. In : La pollution des eaux continentales, incidences sur les biocénoses aquatiques. Gauthier-Villard, 75-96.*

*LUCASSEN E., SMOLDERS A.J.P., LAMERS L.P.M. & ROELOFS J.G.M., 2005. Water table fluctuations and groundwater supply are important in preventing phosphate-eutrophication. In sulphate-rich fens: Consequences for wetland restoration. Plant and Soil 269, 109-115.*

*REDDY K.R. & DELAUNE R.D., 2008. Biochemistry of wetlands. Science and applications. CRC Press.*

*SAWYER C.N., 1952. Some new aspects of phosphates in relation to lake fertilization. Sewage and Industr. Wastes 24 (6): 768-776.*

*SCHINDLER D.W., 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. Science, 221: 669-671.*

*SMOLDERS A., LAMERS L., LUCASSEN E., VAN DER VELDE G. & ROELOFS J., 2006; Internal eutrophication: How it works and what to do about it - a review. Chemistry and Ecology, 22: 93-111.*

*VOLLENWEIDER R.A., 1968. Les bases scientifiques de l'eutrophisation des lacs et des eaux courantes sous l'aspect particulier du phosphore et de l'azote comme facteurs d'eutrophisation. Paris, OCDE, DAS/SCI/68.27, 274 p.*

# ANALYSES CHIMIQUES DE SOLS



## Description et principes du protocole

Cette fiche regroupe les différentes méthodes d'analyses chimiques de sols permettant d'obtenir les informations suivantes :

- Concentration en carbone organique (exprimée en g/kg de poids sec de sol) ;
- Phosphore total (exprimé en g/g de poids sec de sol) ;
- Substances humiques (concentration de carbone en mg/g de poids sec du sol pour chacune des trois fractions : acides fulviques, acides humiques et humine).

Ces analyses chimiques doivent être réalisées dans un laboratoire ayant un équipement et des conditions de sécurité adéquats.

Les informations méthodologiques contenues dans cette fiche ont pour objectif d'aider les gestionnaires de zones humides à appréhender les principes de ces analyses afin de les guider dans leur choix méthodologique et de faciliter leurs collaborations avec les laboratoires prestataires.

Plusieurs échantillons de sol superficiel (0-20 cm) sont recueillis afin d'obtenir une vision représentative de l'habitat et/ou de la zone humide. Le sol superficiel est collecté préférentiellement au sol profond, car celui-ci reflète l'environnement racinaire des plantes et retranscrit l'histoire récente du site.

Un seul prélèvement permet d'effectuer les trois premières analyses ci-dessus.

## Méthode de mise en place

Un prélèvement, au minimum, doit être effectué par habitat. Pour obtenir des données représentatives de la zone humide, il faut mettre en place un plan d'échantillonnage stratifié par habitat Corine Biotopes, qui peut être à des échelles différentes. Plus la zone humide est grande et/ou hétérogène (constituée de nombreux habitats Corine Biotopes), plus le nombre de prélèvements doit être important.

**Collecte des échantillons de sol**

La méthode décrite ci-dessous correspond à un seul prélèvement ; elle doit donc être effectuée pour chaque habitat ou groupe d'habitats :

- Choisir 3 placettes d'environ 1 $m^2$ représentatives de l'habitat en prenant soin de bien les disperser au sein de l'habitat, tout en évitant les secteurs atypiques : marges, microtopographies... Si l'habitat présente un gradient (pente, hauteur d'eau...), il faut positionner les placettes le long de ce gradient ;
- Prélever sur chaque placette trois carottes de sol de 20 cm d'épaisseur ;
- Retirer les végétaux (en conservant le sol autour des racines) et les éventuels macro débris (bouts de branches, feuilles, etc.) ou cailloux ;
- Mettre les 9 carottes de sol dans un sac, fermer hermétiquement, et les stocker dans une glacière ;
- Bien mélanger/homogénéiser les 9 carottes ;
- Le prélèvement de sol peut être conservé au réfrigérateur pendant quelques jours.

## Représentativité des données

La représentativité des données dépend directement du plan d'échantillonnage ; il est donc impératif de le définir avec soin et de l'adapter aux particularités de chaque zone humide. Dans le cadre d'un suivi, il faut impérativement conserver le même plan d'échantillonnage et effectuer la collecte des échantillons de sol aux mêmes endroits. La localisation précise des placettes avec un GPS est donc indispensable. Bien que les indicateurs carbone organique, phosphore total et substances humiques présentent de faibles variations saisonnières, il est fortement conseillé de réaliser les prélèvements à la même période et au printemps de préférence.

Dans la mesure du possible, il est préconisé d'échantillonner tous les habitats Corine Biotopes présents sur la zone humide. Les habitats couvrant plus de 5 hectares doivent faire l'objet d'au moins 2 prélèvements et 3 prélèvements sont nécessaires pour les habitats de plus de 10 hectares. Pour rappel, un prélèvement correspond à 3 placettes donc 9 carottes de sols. Ce type d'échantillonnage permet d'apporter des informations relativement précises sur chacun des habitats, mais également des informations très fiables à l'échelle du site. En outre, il permet d'appréhender l'hétérogénéité physico-chimique des sols de la zone humide.

Dans le cadre d'un suivi, un plan d'échantillonnage simplifié plus économique peut être mis en place. Dans ce cas, seuls les habitats couvrant des superficies importantes à l'échelle de la zone humide peuvent être échantillonnés, s'ils représentent au total au moins 70 % de la superficie de la zone humide. Les habitats représentant moins de 10 % de la superficie peuvent être exclus, à l'exception des habitats aquatiques puisque ces milieux présentent généralement des caractéristiques physico-chimiques bien particulières. Il est également envisageable de regrouper les sous-habitats Corine biotopes par grands types d'habitat pour diminuer le nombre de prélèvements sur la zone humide, mais il faut toujours effectuer au minimum un prélèvement pour 5 hectares. De manière générale, il est tout de même conseillé de réaliser un prélèvement pour 3 hectares afin d'obtenir une meilleure représentativité.

Pour les zones humides étendues (> 30 ha), floristiquement hétérogènes (> 20 habitats Corine biotopes) ou présentant des gradients topographiques et hydrologiques marqués, il est fortement préconisé de mettre en place un plan d'échantillonnage complet la première année, c'est-à-dire un échantillonnage de tous les habitats. En fonction de la variabilité spatiale observée dans les résultats obtenus, il sera possible de définir un plan d'échantillonnage adapté. Par exemple, les habitats ayant des caractéristiques chimiques similaires pourront alors être regroupés et faire alors l'objet d'un unique prélèvement dans le cadre d'un suivi (si la surface ne dépasse pas 5 ha). A l'inverse, des habitats chimiquement très différents devront être échantillonnés séparément par la suite. Selon la zone humide, il peut être intéressant de réaliser un ou plusieurs prélèvements supplémentaires dans les secteurs suspectés d'être altérés (affluents, limites de parcelle agricole ou d'habitation, etc.).

Si le nombre de zones humides suivies est important et/ou le budget disponible faible, il est fortement conseillé de ne pas trop simplifier le plan d'échantillonnage mais plutôt de regrouper les prélèvements (mélange des carottes de sols de plusieurs prélèvements), ce qui permet de diminuer le nombre d'analyses de sol sans diminuer la représentativité. Il faut alors apporter un soin tout particulier au mélange des sols (homogénéisation) et veiller à ce que les analyses réalisées ultérieurement soient faite en duplicat. Il ne faut cependant pas oublier que plus le nombre de prélèvements et d'analyse est important, plus la fiabilité et la représentativité à l'échelle de la zone humide est forte.

| Taille de l'habitat | Nombre de prélèvement |
|---|---|
| Moins de 5 ha | 1 |
| De 5 et 10 ha | 2 |
| De 10 à 25 ha | 3 |
| Plus de 25 ha | 3 par tranche de 25 ha |

**Nombre de prélèvement en fonction de la taille de l'habitat**

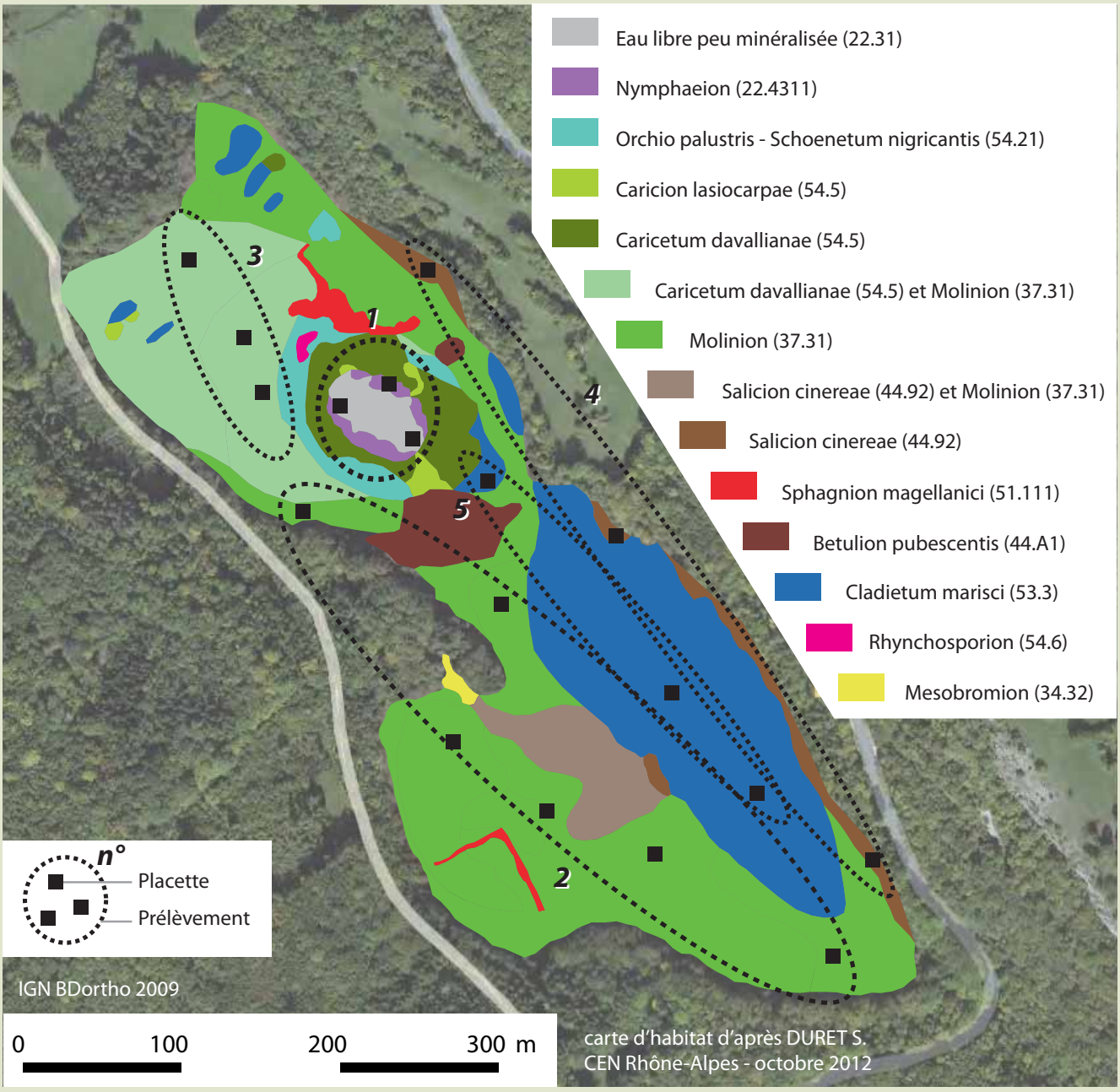


FICHES LIÉES I04 I07 A04 A07

## Méthode de mise en place *(Suite)*

***Exemple :***
*Le lac-tourbière de Cerin, s'étend sur environ 13 ha et comprend 13 habitats Corine Biotopes. Le plan d'échantillonnage simplifié ne conserve que les habitats couvrant plus de 10 % de la superficie de la zone humide, soit 4 habitats, ce qui totalise plus de 80 % de la surface du site. Un prélèvement a été ajouté pour la pièce d'eau. La prairie à molinie s'étendant sur plus de 5 ha, deux prélèvements sont nécessaires. En résumé, il faudra donc réaliser 6 prélèvements (donc 18 carottes de sols) et analyses pour obtenir une bonne représentativité du site.*

**Carte d'habitat du site de Cerin**



## Analyse Chimique

Ces analyses chimiques doivent être réalisées dans un laboratoire ayant un équipement et des conditions de sécurité adéquats. Des informations méthodologiques détaillées sont données en annexe afin de permettre aux gestionnaires de zones humides d'appréhender les principes de ces analyses pour les guider dans leur choix méthodologique et faciliter leurs échanges avec les laboratoires prestataires. Dans le cadre d'un suivi, il est indispensable de conserver la même méthode d'analyse aux différentes dates et dans les différents sites échantillonnés.

**a) Carbone organique total**

La teneur en carbone organique total (COT) s'exprime soit en g par kg de sol sec soit en % de sol sec. Il existe plusieurs méthodes de dosage du carbone organique total dans un sol, les plus courantes sont :

- La méthode Anne (NF ISO 14235) ;
- La méthode Dumas (NF ISO 10694).

Nous recommandons la méthode Dumas qui présente l'avantage d'être précise et utilisable sur tous les types de sols (pas de limitations de la teneur en matière organique).

Les tarifs proposés par les laboratoires d'analyses de sols pour le dosage du carbone organique total (COT) peuvent être très variables en fonction du laboratoire, du nombre d'échantillons, de la méthode utilisée, du dosage d'autres éléments sur un même échantillon de sol... La gamme de prix oscille entre 5 € et 50 € par échantillon de sol, mais plus couramment entre 10 € et 20 €. De nombreux laboratoires proposent des « packages » d'analyses de sol incluant le COT, l'azote, le phosphore, le pH, le potassium, le calcium... pour des prix s'échelonnant de 50 € à 150 €.

**b) Phosphore total**

La teneur en phosphore total (PT) s'exprime en g par kg de sol sec. Il existe plusieurs méthodes d'analyses normalisées ou non, pour mesurer la quantité de phosphore total dans un sol. On distingue deux types de mesures, avec de nombreuses variantes :

- La méthode colorimétrique ;
- La méthode ICP.

Nous recommandons l'utilisation de la méthode ICP bien qu'elle soit encore assez peu répandue (elle nécessite un équipement coûteux) car elle offre une très bonne précision et est applicable à tous les types de sols.

Les tarifs proposés par les laboratoires d'analyses de sols pour le dosage du phosphore total peuvent être très variables en fonction du laboratoire, du nombre d'échantillons, de la méthode utilisée, du dosage d'autres éléments sur un même échantillon de sol... Les prix varient de 20 € à 100 € par échantillon de sol, mais sont le plus couramment compris entre 30 € et 50 €. Dans ce cas, il faut vérifier s'il s'agit bien du dosage du phosphore total et non pas du phosphore dit assimilable.

**c) Substances humiques**

Les substances humiques représentent en moyenne 2/3 de la matière organique du sol. On distingue trois fractions selon leur solubilité dans les acides et les bases : les acides humiques (AH), les acides fulviques (AF) et l'humine (HU). Après le fractionnement humique, la concentration en carbone est dosée dans chacune des trois fractions selon une méthode normalisée (DUMAS).

Le prix d'un fractionnement humique devrait se situer entre 100 € et 250 € pour un échantillon. A cela s'ajoute le prix le dosage du carbone sur les 3 fractions.

## Opérationnalité de la collecte

**Compétences requises**

Le prélèvement en lui-même ne demande aucune compétence particulière. Cependant si l'échantillonnage se fait par habitat Corine Biotopes, il faut savoir identifier correctement les habitats et de bonnes notions de botanique sont donc requises.

**Temps moyen de collecte**

Pour quatre prélèvements sur une zone humide, soit 12 placettes (36 carottes de sol), il faut prévoir de 1h à 2h30 selon la superficie et la difficulté de déplacement au sein du site.

**Matériel**

- Tarière (hélicoïdale de préférence, surtout pour
- les sols fibreux) ou tube plexiglas avec bouchon (pour les sols non cohésifs) ; prix : 25 à 150 €, selon modèle et qualité.
- Contenants étanches (sachets ou pots) ; prix : 0,5 à 10 €, selon quantité.
- GPS ; prix : entre 100 et 300 €, selon qualité et précision.

**Domaine d'application**

Toutes les zones humides possédant un sol ; sont exclus les substrats minéraux grossiers (graviers, galets, roche-mère, etc.).

# DYNAMIQUE HYDROLOGIQUE DE LA NAPPE SUBSTANCES HUMIQUES



## Description et principes

Les substances humiques sont des indicateurs de fonctionnement global d'une zone humide ; leurs proportions relatives résultent des processus biotiques et abiotiques responsables de la transformation de la matière organique.

## Méthode de calcul

Les indicateurs basés sur les substances humiques sont :

- La part d'humine dans les substances humiques (% HU), qui informe sur le fonctionnement hydrologique, notamment sur les variations piézométriques ;
- Le ratio acides humiques sur acides fulviques (AH/AF) qui informe sur les conditions globales de dégradation de la matière organique (température, oxygénation, pH, caractère plus ou moins réfractaire du végétal qui compose la matière organique).

L'évolution de ces indicateurs permet donc d'identifier les éventuels basculements fonctionnels en œuvre dans la zone humide.

Le pourcentage d'humine correspond à la part de carbone de cette fraction par rapport au carbone de l'ensemble des substances humiques (c'est la quantité de carbone de chacune des trois fractions qui est utilisée et non la masse de la fraction). De même, le ratio AH/AF correspond au ratio de la quantité de carbone contenue dans les acides humiques sur la quantité de carbone contenue dans les acides fulviques.

La mesure de ces indicateurs passe par un prélèvement de sol (cf. fiche P04) et un fractionnement humique, suivis d'un dosage du carbone contenu dans chacune de ces fractions (cf. fiche P04).

## Clés d'interprétation de la note indicatrice

L'interprétation de cet indicateur peut se faire à l'échelle du site, mais uniquement si l'échantillonnage est adapté et représentatif de la zone humide. Dans le cas contraire, l'interprétation devra se cantonner aux seuls habitats échantillonnés. Le tableau ci-contre présente les valeurs moyennes et les écarts types des deux indicateurs mesurés sur 14 habitats CORINE Biotopes répartis dans 101 zones humides tests du bassin Rhône-Méditerranée. Ces valeurs n'ont pas vocation à être utilisées comme références, mais comme des indications de la gamme de valeurs observables.

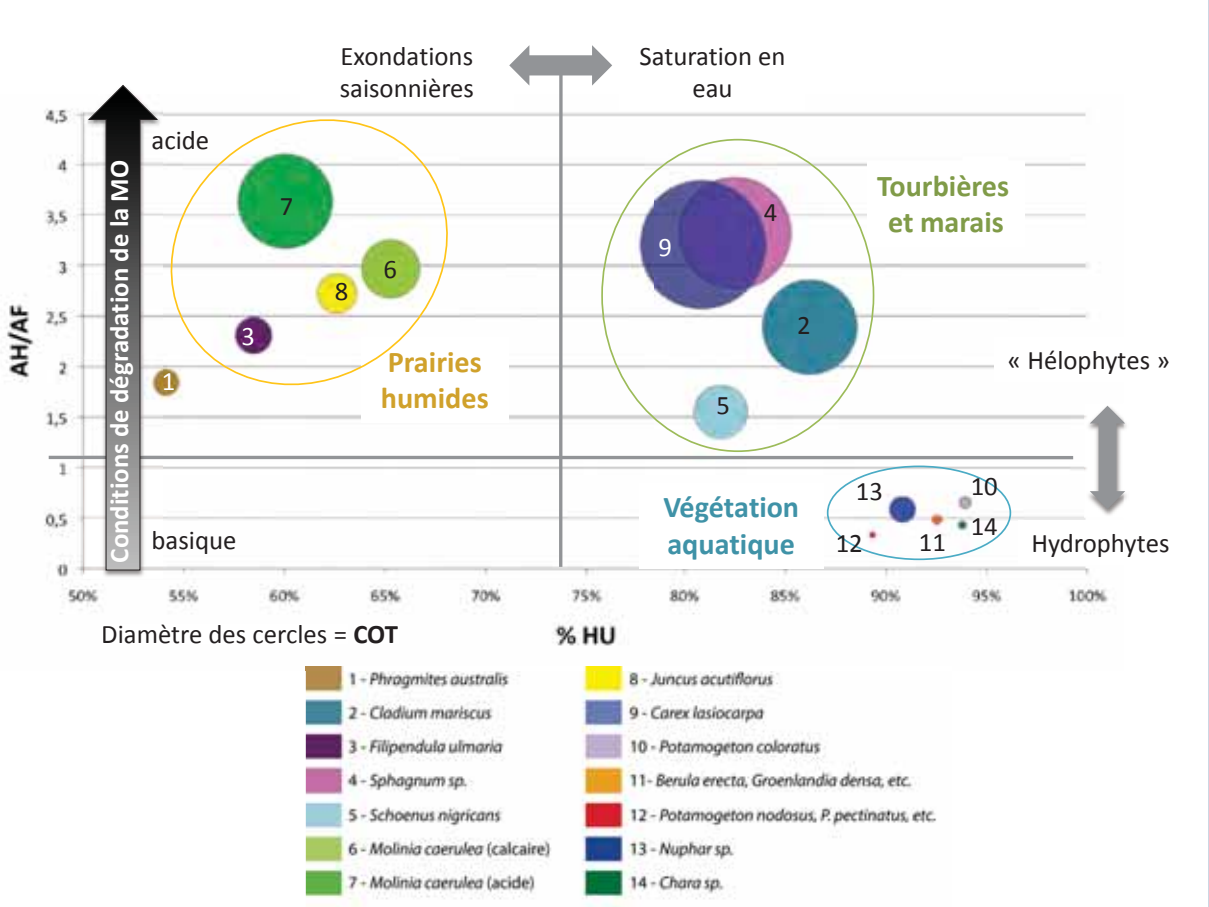
**Pourcentage d'humine (% HU)**

La part d'humine contenue dans les substances humiques est un indicateur du fonctionnement hydrologique et en particulier des variations piézométriques. Il a été observé que les sols ayant un pourcentage de HU très élevé (≥ 85%) correspondent à des milieux aquatiques. Des proportions légèrement moins fortes (entre 75% et 85%) correspondent à des tourbières et des marais, dans lesquels les fluctuations piézométriques sont généralement faibles. On peut noter le cas particulier des phragmitaies qui présentent deux originalités : un pourcentage

## Clés d'interprétation de la note indicatrice *(Suite)*

**Moyennes par habitat CORINE Biotopes (indiqué par l'espèce dominante) de la part de l'humine (%HU), du ratio acides humiques sur acides fulviques (AH/AF) et du carbone organique total (COT).**

**Figure tiré de Tiré de GRASSET et al, in prep.**




d'humine très faible pour son groupe (tourbières et marais) et une forte variabilité (écart type) de la part d'humine au sein de cet habitat. Le caractère fortement ubiquiste, notamment concernant les conditions hydrologiques, de cette communauté végétale pourrait expliquer cette particularité. En effet, les phragmitaies échantillonnées étaient soit relativement sèches, soit saturées en eau, ce qui explique cette valeur moyenne s'écartant du groupe « tourbières et marais ». Les sols des habitats généralement soumis à de fortes variations piézométriques, c'est-à-dire des prairies humides, ont des proportions d'humine comprises entre 50% et 70%. On peut d'ailleurs remarquer que la communauté la moins hygrophile, la mégaphorbiaie à *Filipendula ulmaria*, est aussi l'habitat avec la part d'humine la plus basse.

Une diminution significative du pourcentage d'humine traduit une accentuation des fluctuations piézométriques et notamment des périodes d'exondation, que ce soit en termes de durée et/ou d'ampleur. Ce type d'évolution peut être particulièrement dommageable pour une zone humide puisqu'elle entraîne généralement une minéralisation de la matière organique et donc une augmentation des nutriments disponibles, pouvant aboutir à des modifications importantes de l'habitat et/ou de l'écosystème. Il faut cependant prendre en compte la dynamique successionnelle du site, qui sur le long terme, peut amener à une déconnexion progressive de la nappe du fait de l'accumulation de la matière organique. Dans ce cas l'indicateur diminuera, mais de manière très lente. A l'inverse, une augmentation significative de cet indicateur peut s'interpréter comme une baisse des fluctuations piézométriques.

Si le temps nécessaire à la modification des substances humiques, suite à des changements hydrologiques, n'est pas encore connu, cet indicateur est peu sensible aux variations hydrologiques interannuelles et traduit des processus de moyen et long terme.



## Clés d'interprétation de la note indicatrice *(Suite)*

**AH/AF**

Ce ratio informe sur les conditions globales de dégradation de la matière organique : température, oxygénation, pH, caractère plus ou moins réfractaire du végétal qui compose la matière organique. Les valeurs les plus basses de ce ratio se rencontrent dans les milieux aquatiques où les conditions physico-chimiques sont globalement et relativement favorables à la minéralisation de la matière organique (pH neutre ou basique, matière organique peu réfractaire, produite en quantité plus faible donc facilement dégradable...). A l'opposé, les ratios les plus élevés correspondent à des écosystèmes où les conditions sont très défavorables à la minéralisation, donc favorables à l'accumulation de la matière organique. Le rapport entre acides humiques et acides fulviques discrimine clairement les écosystèmes aquatiques des autres zones humides, mais pas les prairies humides des tourbières et marais. Les sols acides ont en moyenne un ratio AH/AF plus élevé que les sols neutres ou basiques.

Une diminution significative du ratio AH/AF traduit des conditions de dégradation de la matière organique plus favorables, ce qui risque d'augmenter la minéralisation et donc la quantité de nutriments disponibles. Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de la diminution de cet indicateur, notamment la température. En effet, l'augmentation des températures moyennes risque d'affecter de manière notable l'évolution de la matière organique dans les zones humides en favorisant sa minéralisation. L'augmentation du niveau trophique ayant tendance à augmenter la dégradabilité des végétaux, le ratio AH/AF pourrait diminuer du fait d'un enrichissement du milieu. De manière générale, la diminution significative de cet indicateur est défavorable à la conservation de l'habitat et/ou de la zone humide.

Une augmentation significative de l'indicateur AH/AF peut s'expliquer soit par une diminution importante de l'oxygénation du sol (baisse des apports phréatiques, diminution de la vitesse d'écoulement...), soit par une acidification d'origine naturelle ou anthropique.

Une évolution (augmentation ou diminution) est considérée comme significative si d'une part, elle est observée en continu sur plusieurs années avec au moins 3 valeurs consécutives. La variation interannuelle des deux indicateurs basés sur les substances humiques n'ayant pas été mesurée, aucun seuil ne peut être donné. Il est cependant préconisé de ne pas considérer comme significative une variation inférieure à 10%. Il est important de rappeler que la réaction des deux indicateurs à des modifications environnementales se fait à moyen et long terme, et en aucun cas à court terme.

### Exemples de valeurs observées par habitat

| Code CORINE | Habitat CORINE Biotopes | HU (%) | AH/AF |
|---|---|---|---|
| 37.1 | Mégaphorbiaie à *Filipendula ulmaria* | 58,5 ± 13,7 | 2,31 ± 2,17 |
| 37.312 | Prairie acide à Molinie (*Molinia caerulea*) | 60,0 ± 16,1 | 3,64 ± 1,23 |
| 37.22 | Prairie à *Juncus acutiflorus* | 62,6 ± 21,5 | 2,72 ± 1,25 |
| 37.311 | Prairie calcaire à Molinie (*Molinia caerulea*) | 65,3 ± 18,1 | 2,97 ± 2,22 |
| | Prairies humides et mégaphorbiaies | 56,4 ± 17,7 | 2,86 ± 1,78 |
| 53.11 | Phragmitaie (*Phragmites australis*) | 54,1 ± 24,5 | 1,84 ± 1,80 |
| 54.51 | Pelouse à *Carex Lasiocarpa* | 80,9 ± 13,5 | 3,21 ± 0,95 |
| 54.21 | Bas-marais alcalin à *Schoenus nigricans* | 81,8 ± 12,2 | 1,55 ± 1,35 |
| 51 x 54.5 | Tourbière haute et de transition (*Sphagnum sp.*) | 82,5 ± 16,6 | 3,32 ± 1,56 |
| 53.3 | Cladiaie (*Cladium mariscus*) | 86,2 ± 12,0 | 2,39 ± 1,34 |
| | Tourbières et marais (hors Phragmitaies) | 79,9 ± 13,4 | 5,60 ± 1,47 |

*Valeurs moyennes (± écart type) des indicateurs basés sur les substances humiques pour chacun des 14 habitats CORINE Biotopes et pour les trois grandes catégories d'habitat CORINE Biotopes.*

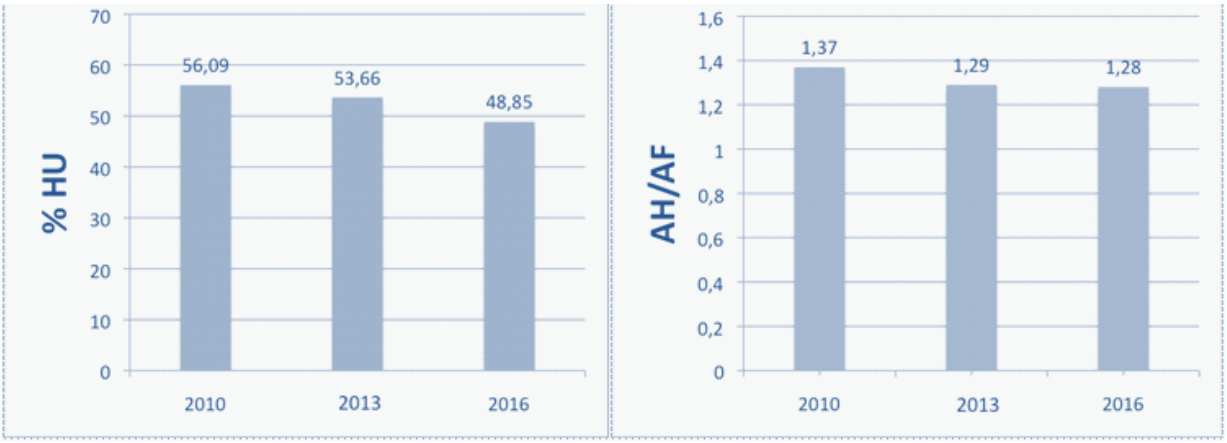
## Clés d'interprétation de la note indicatrice *(Suite)*

**Exemples de valeurs observées par habitat (Suite)**

| Code CORINE | Habitat CORINE Biotopes | HU (%) | AH/AF |
|---|---|---|---|
| 24.44 | Végétation aquatique eutrophe à grands potamots (eg. *Potamogeton nodosus, P. pectinatus...*) | 89,3 ± 14,4 | 0,34 ± 0,34 |
| 22.4311 | Tapis de Nénuphars (*Nuphar sp.*) | 90,8 ± 3,7 | 0,59 ± 0,46 |
| 24.43 | Végétation aquatique mésotrophe (eg. *Berula erecta, Groenlandia densa...*) | 92,5 ± 14,7 | 0,49 ± 0,31 |
| 22.44 | Tapis de Characées (*Chara sp.*) | 93,8 ± 1,8 | 0,43 ± 0,22 |
| 24.42 | Végétation aquatique à *Potamogeton coloratus* | 93,9 ± 5,3 | 0,66 ± 0,49 |
| | Milieux aquatiques / Végétation aquatique | 89,2 ± 10,8 | 0,50 ± 0,36 |

## Exemple d'application

*Un suivi de la mégaphorbiaie à Reine des prés (Filipendula ulmaria) située dans le marais de Chirens (Isère) a été simulé pour illustrer l'utilisation des substances humiques comme indicateur. Seules les données de 2010 correspondent à des valeurs réellement mesurées. Dans cet exemple, il a été choisi de réaliser un unique prélèvement de sol (sur les 3 mêmes placettes) tous les 3 ans. Un suivi tous les 5 ans aurait été également tout à fait pertinent puisque les substances humiques traduisent des processus fonctionnels lents.*




*Les résultats obtenus montrent une baisse significative de la part d'humine (%HU) puisque la baisse est continue sur les 3 dates et supérieure à 10%. Par contre, bien que le ratio acides humiques sur acides fulviques (AH/AF) montre une légère tendance à la baisse elle ne peut, pour l'instant, être considérée comme significative. Ces résultats traduisent une modification du fonctionnement hydrologique avec une accentuation des assecs sur cet habitat que ce soit en terme d'intensité et/ou de durée. Ce qui aboutira à moyen terme au remplacement de cette communauté végétale par une autre moins hygrophile, puis si la tendance se confirme et s'accentue, à la disparition du caractère humide de ce secteur du marais. Le suivi des principaux habitats Corine Biotopes du marais de Chirens permettrait de savoir si les modifications hydrologiques mises en évidence sur la communauté à Reine des prés concernent, ou non, l'ensemble de la zone humide.*

### *Bibliographie*

*GRASSET C., RODRIGUEZ C., DELOLME C. & BORNETTE G., in prep., Are soil humic substances functional indicators of wetlands ?*

# VULNERABILITE A L'EUTROPHISATION PHOSPHORE



## Description et principes

Les apports de phosphore sont les principaux responsables des phénomènes d'eutrophisation dans les zones humides. L'enrichissement en phosphore est essentiellement d'origine anthropique car les concentrations naturelles en phosphore dans les écosystème sont très faibles.
Le suivi de l'indicateur PT/COT informe sur le phosphore potentiellement disponible et donc le niveau de vulnérabilité à l'eutrophisation de l'habitat et/ou de la zone humide.

## Méthode de calcul

L'indicateur phosphore total correspond à la quantité de phosphore total (PT en g/kg de sol sec) rapportée à la quantité de carbone organique total (COT en g/kg de sol sec) d'un même sol, le tout multiplié par 100, soit :

***PT/COT*100***

Cet indicateur (PT/COT*100) permet de mesurer et de surveiller le stock de phosphore et donc les risques d'eutrophisation.

## Clés d'interprétation de la note indicatrice

L'interprétation de cet indicateur peut se faire à l'échelle du site, mais uniquement si l'échantillonnage est adapté et représentatif de la zone humide. Dans le cas contraire, l'interprétation devra se cantonner aux seuls habitats échantillonnés.
Sans apports anthropiques de phosphore, cet indicateur doit rester globalement constant et bas. **Une variation (augmentation ou diminution) est considérée comme significative si d'une part, elle est observée en continu sur plusieurs années avec au moins 3 valeurs consécutives, et d'autre part, si elle est supérieure à 10% puisque l'incertitude sur les mesures interannuelles est évaluée à 10%.**
Une diminution significative et importante de cet indicateur peut s'expliquer soit par une exportation de sol ou de sédiment du fait de processus érosifs, soit par un biais d'échantillonnage. Une augmentation significative de la valeur de l'indicateur traduit des apports anthropiques de phosphore et donc un accroissement du risque d'eutrophisation.
Toute augmentation significative est donc à interpréter comme négative pour la conservation de l'habitat et/ou de la zone humide.
La valeur de l'indice PT/COT doit être interprétée avec prudence puisqu'elle peut être très variable, notamment selon les types d'habitats.
Le tableau ci-contre résume les valeurs de l'indicateur mesurées sur 14 habitats Corine Biotopes répartis dans 110 zones humides du bassin Rhône-Méditerranée. Ces valeurs n'ont pas vocation à être utilisées comme références, mais comme des indications de la gamme de valeurs observables.

Les habitats ont été regroupés par grands types, à l'exception des phragmitaies.
Les phragmitaies, communautés végétales particulièrement ubiquistes, sont à considérer en tant que telles. En effet, *Phragmites australis* a une forte tolérance à des conditions hydrologiques et nutritionnelles variées, ce qui peut conduire à une forte variabilité des sols colonisés par cette espèce.
Les tourbières et marais affichent en moyenne de faibles valeurs de l'indicateur. Le ratio moyen

## Clés d'interprétation de la note indicatrice *(Suite)*

est plus élevé dans les prairies humides, mais reste globalement bas. Les sols des communautés végétales aquatiques échantillonnées présentent des valeurs moyennes élevées de l'indice PT/COT.
De manière générale, les milieux aquatiques ont tendance à accumuler plus de phosphore puisque la grande majorité des transferts de phosphore se fait par ruissellement. Cependant, dans cette catégorie d'habitats, seules trois zones humides testées sur 35 ont eu ont un indice supérieur à 5.
En excluant ces trois zones humides, la moyenne de l'indicateur pour les communautés végétales aquatiques tombe à 1,61. Ces trois sites affichent des indices très élevés (9,75 ; 12,10 et 20,39) ce qui traduit des apports importants en phosphore.
Bien que le stock de phosphore soit important, ce dernier peut être très largement immobilisé et/ou la végétation en place peut ne pas traduire le niveau de nutriments présents. Ces zones humides présentent donc un risque potentiellement élevé d'eutrophisation, notamment en cas de réchauffement des eaux ou de diminution de l'alimentation souterraine carbonatée par exemple. Les apports phréatiques riches en carbonates de calcium immobilisent le phosphore, limitant ainsi l'expression de l'enrichissement des sols. Les faibles températures diminuent la productivité végétale et les phénomènes d'eutrophisation. Elles limitent également les phénomènes d'anoxie dans le sédiment et le relargage de phosphore dans la lame d'eau pouvant en résulter.
Un habitat ou une zone humide ayant une valeur de l'indicateur PT/COT élevé doit faire l'objet d'une surveillance particulière, puisque certains paramètres tels que l'oxygène et le potentiel redox ou les apports en minéraux (Ca, Fe, S, Al) peuvent modifier la biodisponibilité du phosphore sans pour autant que le stock du phosphore et donc l'indicateur augmente. Des modifications du fonctionnement hydrologique, volontaires ou non, telles qu'une opération de restauration ou un enfoncement progressif de la nappe phréatique, peuvent conduire à une libération de phosphore biodisponible et donc un processus d'eutrophisation.
Une précaution particulière doit être apportée dans l'interprétation de l'évolution de l'indicateur pour les milieux aquatiques alluviaux. En effet, ces écosystèmes peuvent être soumis à des flux importants (apport ou exportation de sédiment) qui modifient les concentrations en phosphore et en carbone. Les variations saisonnières mesurées de l'indicateur peuvent alors atteindre 30%.

Dans le cas d'un indice PT/COT élevé, il est préconisé de :

- Mettre en place un suivi régulier (plusieurs fois par an s'il s'agit d'un site alluvial) qui permettra de savoir si les apports anthropiques de phosphore se poursuivent ou s'il s'agit d'une pollution ancienne ;
- Déterminer le statut trophique de la communauté végétale en place avec l'indicateur flore de trophie ; si la végétation traduit un niveau trophique en inadéquation avec l'indicateur phosphore, cela signifie que le phosphore est fortement immobilisé, dans ce cas il faut impérativement étudier le fonctionnement hydrologique et ses éventuelles modifications. Il peut alors être intéressant de doser les minéraux (Ca, Fe, S, Al) présents dans le sol et les eaux puisque ces derniers interagissent avec le phosphore.

- Cet indicateur peut également être utilisé dans le cadre d'un diagnostic. Cependant, il nécessite d'utiliser parallèlement d'autres indicateurs pour éviter une interprétation erronée.

*Exemples de valeurs observées par habitat*

| Code CORINE | Habitat CORINE Biotopes | PT (g/kg) | PT/COT*100 |
|---|---|---|---|
| 37.1 | Mégaphorbiaie à *Filipendula ulmaria* | 0,84 ± 0,23 | 0,93 ± 0,38 |
| 37.311 | Prairie calcaire à Molinie (*Molinia caeruelea*) | 0,62 ± 0,24 | 0,44 ± 0,22 |
| 37.312 | Prairie acide à Molinie (*Molinia caeruelea*) | 0,73 ± 0,30 | 0,31 ± 0,18 |
| 37.22 | Prairie à *Juncus acutiflorus* | 0,51 ± 0,19 | 0,49 ± 0,25 |
| | Prairies humides et mégaphorbiaies | 0,69 ± 0,26 | 0,57 ± 0,37 |
| 53.11 | Phragmitaie (*Phragmites australis*) | 0,63 ± 0,29 | 1,20 ± 0,92 |
| 51 x 54.5 | Tourbière haute et de transition (*Sphagnum sp.*) | 0,55 ± 0,29 | 0,18 ± 0,11 |
| 53.3 | Cladiaie (*Cladium mariscus*) | 0,37 ± 0,07 | 0,15 ± 0,09 |
| 54.21 | Bas-marais alcalin à *Schoenus nigricans* | 0,43 ± 0,21 | 0,31 ± 0,17 |
| 54.51 | Pelouse à *Carex Lasiocarpa* | 0,54 ± 0,10 | 0,14 ± 0,08 |
| | Tourbières et marais (hors Phragmitaies) | 0,47 ± 0,21 | 0,20 ± 0,13 |

*Valeurs moyennes (± écart type) du phosphore total (en g/kg de sol sec) et de l'indice phosphore total (PT/COT) pour chacun des 14 habitats CORINE Biotopes et les trois grandes catégories d'habitats*



FICHES LIÉES P04 I07

## Clés d'interprétation de la note indicatrice *(Suite)*

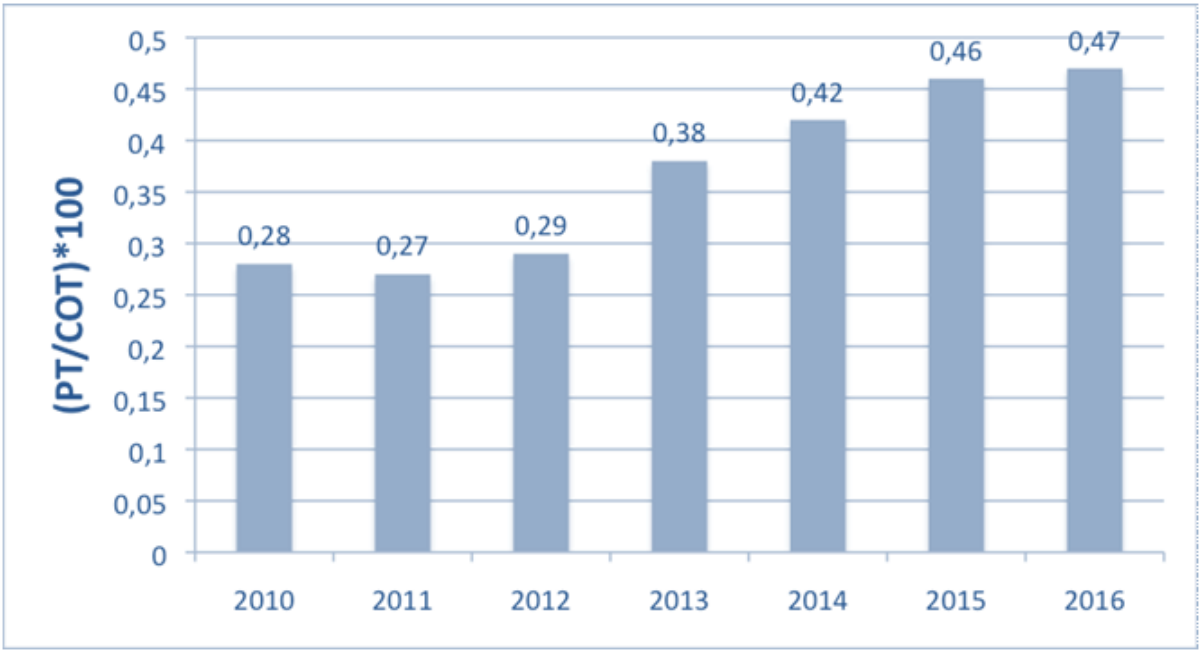
*Exemples de valeurs observées par habitat (Suite)*

| Code CORINE | Habitat CORINE Biotopes | PT (g/kg) | PT/COT*100 |
|---|---|---|---|
| 22.4311 | Tapis de Nénuphars (*Nuphar sp.*) | 0,30 ± 0,07 | 2,21 ± 3,41 |
| 22.44 | Tapis de Characées (*Chara sp.*) | 0,59 ± 0,78 | 1,59 ± 0,82 |
| 24.42 | Végétation aquatique à *Potamogeton coloratus* | 0,49 ± 0,12 | 0,98 ± 0,49 |
| 24.43 | Végétation aquatique mésotrophe (eg. *Berula erecta, Groenlandia densa...*) | 0,55 ± 0,14 | 3,47 ± 5,73 |
| 24.44 | Végétation aquatique eutrophe à grands potamots (eg. *Potamogeton nodosus, P. pectinatus...*) | 0,38 ± 0,14 | 3,69 ± 3,56 |
| | Milieux aquatiques / Végétation aquatique | 0,48 ± 0,43 | 2,59 ± 3,79 |

*Valeurs moyennes (± écart type) du phosphore total (en g/kg de sol sec) et de l'indice phosphore total (PT/COT) pour chacun des 14 habitats CORINE Biotopes et les trois grandes catégories d'habitats*

## Exemple d'application

*Un suivi d'une petite cladiaie (Cladium mariscus) située sur la Chautagne (Savoie) a été simulé pour illustrer l'utilisation de l'indicateur « phosphore total » (PT/COT*100). Seule la donnée de 2010 correspond à une valeur réellement mesurée. Dans cet exemple, il a été choisi de réaliser un unique prélèvement de sol (sur les 3 mêmes placettes) tous les ans.*



## Exemple d'application *(Suite)*

*Les résultats obtenus montrent une hausse significative de l'indice phosphore puisque l'augmentation est continue sur au moins 3 années et supérieure à 10%. On peut noter que l'indicateur phosphore est globalement stable jusqu'en 2012 et qu'il augmente de manière significative uniquement à partir de 2013. Ces résultats traduisent une accumulation notable de phosphore dans le sol à partir de cette année là, ce qui s'explique par une augmentation accrue des apports anthropiques. Il existe donc un risque d'eutrophisation sur cet habitat qui pourrait entrainer sa disparition progressive et son remplacement pas un autre groupement végétal plus compétitif sur sol eutrophe tel qu'une phragmitaie.*

*Cependant, certains paramètres géochimiques et hydrologiques peuvent bloquer, plus ou moins longtemps, l'expression de l'eutrophisation au sein de la communauté végétale, ce qui augmente d'autant plus le risque d'eutrophisation brusque par la suite. Dans le cas présent, des mesures de phosphore (et de carbone organique) sur l'ensemble de la zone humide (cf fiche P04) permettraient de vérifier si tout l'écosystème est concerné ou si cela concerne seulement un secteur de la zone humide. Il sera alors possible de déterminer s'il s'agit de pollution diffuse ou ponctuelle, et d'éventuellement identifier la, ou plus probablement, les sources d'enrichissement en phosphore du milieu.*

# Description des méthodes d'analyse de sol

Cette fiche regroupe les différentes méthodes d'analyses chimiques de sols permettant d'obtenir les informations suivantes

- Concentration en carbone organique (exprimée en g/kg de poids sec de sol ou en %)
- Phosphore total (exprimé en g/kg de poids sec de sol)
- Substances humiques (concentration de carbone en mg/g de poids sec du sol de chacune des trois fractions : acides fulviques, acides humiques, et humine)

Ces analyses chimiques doivent être réalisées dans un laboratoire ayant un équipement et des conditions de sécurité adéquats.
Les informations méthodologiques contenues dans cette fiche ont pour objectif d'aider les gestionnaires de zones humides à appréhender les principes de ces analyses afin de les guider dans leur choix méthodologique et de faciliter leurs collaborations avec les laboratoires prestataires.

## 1. Préparation des échantillons

Les échantillons de sol doivent être collectés en respectant les recommandations de la fiche protocole « Prélèvement de sol », puis séchés à l'étuve (70°C pendant 1 semaine) et finement broyés. Il est possible d'accélérer le séchage des échantillons en les mettant à 150 °C pendant 24h, mais les sols argileux risquent de « cuire » et d'être particulièrement difficile à broyer par la suite.

## 2. Concentration en carbone organique du sol

La teneur en carbone organique total (COT) s'exprime soit en g par kg de sol sec soit en % de sol sec.
Il existe plusieurs méthodes de dosage du carbone organique total dans un sol, les plus courantes sont :

- Méthode Anne (NF ISO 14235)

Cette méthode est basée sur une oxydation sulfochromique du carbone. Après oxydation de la matière organique par du bichromate de potassium en excès, en milieu sulfurique et à 135°C, le carbone organique est dosé directement par colorimétrie. La quantité de chrome III+ formée est proportionnelle à la teneur en carbone organique présente dans le sol. Comme la méthode Anne, la méthode Walkley-Black est une méthode d'oxydation par voie humide. La différence essentielle entre les deux méthodes réside dans le fait que la méthode Anne comporte une attaque du sol à chaud alors que celle de la méthode Walkley-Black à lieu à froid.
La méthode Anne est encore très largement utilisée en France par les laboratoires pour analyser les sols agricoles, mais elle nécessite la manipulation de produits polluants et très allergisants et donc pose des problèmes d'hygiène et sécurité. En outre, il n'est pas conseillé de l'utiliser sur des sols contenants plus de 20% de matière organique. Elle n'est donc pas adaptée à de nombreux sols de zones humides.

- Méthode DUMAS (NF ISO 10694)

Il s'agit d'une méthode d'oxydation par voie sèche. Cette méthode fait appel à la technique de l'analyse élémentaire consistant en une micro-pesée (de l'ordre de 25 mg), une combustion «éclair», une réduction des oxydes d'azote, une fixation de l'oxygène en excès, une rétention de l'eau vapeur, une séparation chromatographique de l'azote moléculaire et du dioxyde de carbone, et une détection catharométrique des gaz. Cette méthode dose l'ensemble du carbone, il est donc nécessaire d'effectuer préalablement une décarbonatation (attaque acide) des échantillons afin d'éliminer la fraction inorganique du carbone contenue dans le sol.
La mesure s'effectue généralement en duplicat ou triplicat étant donné les faibles masses analysées, et afin d'éviter les problèmes de représentativité de la prise d'essai. Le dosage de l'azote total peut être fait simultanément. Cette méthode présente l'avantage d'être précise et utilisable sur tous les types de sols (pas de limitations de la teneur en matière organique). Cette méthode tend à se généraliser en remplacement la méthode Anne, notamment pour des questions d'hygiène et de sécurité.
=> La méthode recommandée est la méthode Dumas.
Dans le cadre d'un suivi, ou d'une analyse comparative de différents habitats, il est indispensable de conserver la même méthode d'analyse aux différentes dates et dans les différents sites échantillonnés.
Les tarifs proposés par les laboratoires d'analyses de sols pour le dosage du carbone organique total (COT) peuvent être très variables en fonction du laboratoire, du nombre d'échantillons, de la méthode utilisée, du dosage d'autres éléments sur un même échantillon de sol, etc. La gamme de prix oscille entre 5€ à 50€ par échantillon de sol, mais plus couramment entre 10€ à 20 €. De nombreux laboratoires proposent des « packages » d'analyses de sol incluant le COT, l'azote, le phosphore, le pH, le potassium, le calcium, etc. ,pour des prix s'échelonnant de 50€ à 150€.

## Description des méthodes d'analyse de sol *(Suite)*

### 3. Phosphore total

Le dosage du phosphore est assez complexe, car il est naturellement présent en faible quantité dans le sol. Le phosphore total inclus le phosphore globalement biodisponible (les phosphates ou orthophosphates) qui constituent une part minoritaire, le phosphore organique (très majoritaire dans les histosols), et les autres formes de phosphores, notamment celles dans lesquelles le phosphore est immobilisé, car complexé avec d'autres minéraux (Ca, Fe, Al, etc.). La quantité en phosphore total s'exprime en g par kg de sol sec.

L'agronome ne s'intéressant que très rarement au phosphore total du sol, mais plutôt au phosphore assimilable ou biodisponible, la plus part des laboratoires d'analyses de sols proposent généralement le dosage du phosphore dit assimilable, mais pas toujours le dosage du phosphore total. Les méthodes Dyer (NF X31-160), Joret-Hébert (NF X31-161) et Olsen (NF ISO 11263) sont des méthodes normalisées d'extraction du phosphore assimilable.

Il existe plusieurs méthodes d'analyses, normalisées ou non, pour mesurer la quantité de phosphore total dans un sol. On distingue deux types de mesures, avec de nombreuses variantes :

- Méthode colorimétrique

La première étape est une digestion en milieu acide permettant de mettre en solution le phosphore. Les différentes formes de phosphore présentes sont transformées en orthophosphates. Dans la seconde étape, les ions orthophosphates sont dosés par la méthode de réduction à l'acide ascorbique. L'ion orthophosphate réagit avec l'ion molybdate et l'ion antimoine pour former un complexe phosphomolybdate. Ce dernier est réduit avec l'acide ascorbique en milieu acide pour provoquer l'apparition du bleu de molybdène, dont l'absorbance à 660 nm est proportionnelle à la concentration de l'ion orthophosphate.

Le dosage de l'azote total Kjeldahl peut être fait simultanément. Cette méthode est celle utilisée la plus couramment par les laboratoire d'analyses de sols mais elle présente l'inconvénient d'avoir un domaine d'application beaucoup plus restreint (de 200 à 1250 mg/kg) qui exclut les sols très chargés en phosphore (ex : bassins d'épuration, et exceptionnellement certains sols de zones humides contaminés).

- Méthode ICP

La première étape est une digestion en milieu acide. La seconde étape s'effectue sur un spectromètre d'émission atomique ou ICP (plasma à couplage inductif). Les atomes sont excités à très haute température (environ 6000°C) au centre de la torche à plasma, et on mesure l'énergie émise qui est proportionnelle à la quantité de phosphore présente.

Cette méthode est encore assez peu répandue car elle nécessite un équipement coûteux, mais elle offre une très bonne précision et est applicable à tous les types de sols.

=> La méthode recommandée est la méthode ICP.

Dans le cadre d'un suivi, ou d'une analyse comparative de différents habitats, il est indispensable de conserver la même méthode d'analyse aux différentes dates et dans les différents sites échantillonnés.

Les tarifs proposés par les laboratoires d'analyses de sols pour le dosage du phosphore total peuvent être très variables en fonction du laboratoire, du nombre d'échantillons, de la méthode utilisée, du dosage d'autres éléments sur un même échantillon de sol, etc. Les prix varient entre 20€ à 100€ par échantillon de sol, mais sont le plus couramment compris entre 30€ à 50 €. De nombreux laboratoires proposent des « packages » d'analyses de sol incluant le phosphore, le COT, l'azote, le pH, le potassium, le calcium, etc. , pour des prix s'échelonnant de 50€ à 100 €. Dans ce cas, il faut vérifier s'il s'agit bien du dosage du phosphore total, et non pas du phosphore dit assimilable.

### 3. Substances humiques

Les substances humiques représentent en moyenne 2/3 de la matière organique du sol. On distingue trois fractions selon leur solubilité dans les acides et les bases: les acides humiques (AH), les acides fulviques (AF) et l'humine (HU).

La première phase du protocole consiste à effectuer un fractionnement humique, c'est à dire à séparer les trois fractions qui composent les substances humiques. La seconde phase consiste à doser le carbone dans chacune de ces fractions d'après une méthode standardisée.

Le protocole se fait en 2 phases :

## Description des méthodes d'analyse de sol *(Suite)*

- Le fractionnement humique

Cette opération consiste à extraire les différentes fractions humiques en utilisant leurs différences de solubilité dans les acides et dans les bases. Le schéma ci-dessous représente des différentes étapes du fractionnement humique.
Le protocole détaillé se trouve en annexe.

- Dosage du carbone

Les fractions sont ensuite lyophilisées et le carbone organique total est dosé sur chacune des 3 fractions selon la méthode choisie. Il est conseillé d'utiliser la méthode Dumas.

### 4. Protocole détaillé du fractionnement humique

La prise d'essai de sol pour réaliser un fractionnement humique dépend de la teneur en matière organique du sol, puisqu'il faut extraire une masse suffisante de chacune des fractions humique pour y effectuer le dosage du carbone.

COT > 21 % => 1g de prise d'essai
COT entre 5 % et 20 % => 2g de prise d'essai
COT entre 2 % et 5 % => 3g de prise d'essai
COT < 2 % => 4g de prise d'essai

Tout au long du protocole, le rapport masse de sol/masse de liquide est toujours de 1 pour 10.
Les échantillons de sols doivent préalablement a voir été broyés et séchés. Les prises d'essai de sol doivent être placées dans des tubes coniques de 50 ml en propylène (Falcon).
Etape 1 : Décarbonatation et extraction d'une partie des acides fulviques (AF1)
- Ajouter 10, 20, 30 ou 40mL (selon prise d'essai) de HCl 0,5M
ATTENTION : Le dégagement de $CO_2$ peu être violent dans le cas des sols minéraux, il faut ajouter au fur et à mesure la solution d'HCl et bien agiter
- Agiter pour mettre en suspension tout le solide
- Laisser reposer 1h
- Centrifuger (15 min à 5445g=5500tr/min à 20°C)
- Transférer délicatement la phase liquide (AF1) dans un autre tube et le mettre au congélateur
- Conserver la phase solide dans le tube pour la 2ème étape
Etape 2 : Séparation de l'humine (HU) et des acides fulviques et humiques (AF2+AH)
- Ajouter 10 à 40mL de NaOH 0,5M
- Chasser le oxygène des flacons avec de l'azote puis les fermer hermétiquement
- Agiter pendant 18h
- Centrifuger (10 min à 5445g à 20°C)
- Transférer délicatement la phase liquide (AF2+AH) dans un autre tube pour la 3ème étape
- Conserver la fraction solide (HU) dans le tube et le mettre au congélateur
Etape 3 : Séparation du reste des acides fulviques (AF2) et les acides humiques (AH)
- Acidifier la fraction liquide avec HCl 6M jusqu'à atteindre un pH=1-2
- Laisser décanter pendant 12h à 16h
- Centrifuger (10 min à 5445g à 20°C)
- Transférer délicatement la phase liquide (AF2) dans un autre tube et le mettre au congélateur
- Conserver la fraction solide (AH) dans le tube et le mettre au congélateur
L'ensemble des fractions doit être congelés puis lyophilisés (48 à 72h).
Le dosage du carbone s'effectue sur chacun des trois fractions composant les substances humiques. Les acides fulviques contiennent en générale plus de 10 % de carbone, alors que les acides humiques et l'humine en contiennent généralement moins de 10 %.
Remarques
Ne pas oublier de peser tous les tubes vides. Pour des volumes de fractions fulviques supérieur à 25ml, il est préférable de transférer ces fractions dans deux tubes afin d'éviter que le liquide ne déborde pendant la lyophilisation.
Compte tenu des temps d'agitation et de décantation, le fractionnement humique nécessite 3 jours pendant lesquels environ 25 échantillons (±10) peuvent être analysées (selon l'équipement).

## RÉALISATION
Conservatoire d'espaces naturels de Savoie

## COORDINATION ÉDITORIALE
Xavier GAYTE, Delphine DANANCHER, Jérôme PORTERET

## MISE EN PAGE DES FICHES
Frédéric BIAMINO, Jérôme PORTERET

## COMITÉ DE RELECTURE
François CHAMBAUD, Régis DICK, Samuel GOMEZ, Thérèse PERRIN, Émilie DUHERON, Nathalie FABRE, Rémy CLEMENT

## CRÉDITS PHOTOS
Stéphane BENCE, Frédéric BIAMINO, Manuel BOURON, François CHAMBAUD, Philippe FREYDIER, Gilles PARIGOT, GIlles PACHE, Jérôme PORTERET, Agence de l'eau Rhône-Mediterranée

## REDACTEURS DES FICHES

| INDICATEUR | REDACTEURS | PRINCIPAUX CONTRIBUTEURS |
|---|---|---|
| I01 | Jérôme PORTERET (CEN Savoie) | Antoni ARDOUIN, Delphine DANANCHER |
| I02 | Gilles PACHE (CBNA) | Héloïse VANDERPERT , Nathalie MOLNAR, Delphine DANANCHER |
| I03 | Jérôme PORTERET (CEN Savoie) | Nathalie MOLNAR, Delphine DANANCHER |
| I04 | Célia RODRIGUEZ (LEHNA, UMR CNRS 5023) | Gudrun BORNETTE, Charlotte GRASSET |
| I05 | Stéphane BENCE (CEN PACA) | Audrey PICHARD, Yoan BRAUD, |
| I06 | Gilles PACHE (CBNA) | Héloïse VANDERPERT , Nathalie MOLNAR, Delphine DANANCHER |
| I07 | Célia RODRIGUEZ (LEHNA, UMR CNRS 5023) | Gudrun BORNETTE, Hélène BAILLET, Félix VALLIER |
| I08 | Gilles PACHE (CBNA) | Héloïse VANDERPERT, Nathalie MOLNAR, Delphine DANANCHER |
| I09 | Stéphane BENCE (CEN PACA) | Audrey PICHARD, Yoan BRAUD, |
| I10 | Bernard PONT (RNN Platière) | Cyrille DELIRY, Beat OERTLI, Pascal DUPONT, Cedric VANAPELGHEM, Delphine DANANCHER |
| I11 | Jean-Luc GROSSI (CEN Isère) | Delphine DANANCHER, Claude MIAUD |
| I12 | Jerôme PORTERET CEN Savoie) | Rémy CLEMENT, Nicolas MIGNOT, Samuel ALLEAUME, Alexandre LESCONNEC, Marc ISENMANN |
| I13 | Christian PERENNOU (TDV)<br>Jerôme PORTERET (CEN Savoie)<br>Marc ISENMANN (CBNA) | Anis GUELMANI, Samuel ALLEAUME, Rémy CLEMENT |

## ONT PARTICIPE A LA COLLECTE DE DONNÉES

Antoni ARDOUIN
Emeline AUPY
Sophie AUVERT
Bastien AGRON
Emmanuel AMOR
Yann BAILLET
Bernard BAL
Cécile BARBIER
Sébastien BARTHEL
Thérèse BEAUFILS
Stéphane BENCE
William BERNARD
Luc BETTINELLI
Olivier BILLANT
Fabien BILLAUD
Nicolas BIRON
Véronique BONNET
Virginie BOURGOIN
Manuel BOURON
Romain BOUTELOUP
Yoan BRAUD
Lionel BUNGE
Chrystelle CATON
Kristell CLARY
Remi COLLAUD
Bertrand COTTE
Aurélien CULAT
Kelly DEBUF
Guillaume DELCOURT
Marion DEMESSE
C. DEQUEVAUVILLER
Lucile DESCHAMP
Nathalie DEWYNTER
Guillaume DOUCET
Gregoire DURANEL
Sylvie DURET
Elisabeth FAVRE
Noémie FORT
Cedric FOUTEL
Philippe FREYDIER
Géraldine GARNIER
Maxime GAYMARD
Catherine GENIN
Marianne GEORGET
Samia GHARET
Sebastien GIRARDIN
Nicolas GORIUS
Daniel GRAND
Jean-Luc GROSSI
Nicolas GUILLERME
Julien GUYONNEAU
Céline HERVE
Perrine JACQUOT
Laura JAMEAU
Philippe JANSSEN
Stéphane JAULIN
Remi JULLIAN
Mathieu JUTON
Francis KESSLER
Mario KLESCZEWSKI
Clément LECLERC
Thomas LEGLAND
Fabien LEPINE
Natacha LEURION PANSIOT
Dominique LOPEZ-PINOT
Laurence MARCHIONINI
Roger MARCIAU
Vincent MARQUANT
Basile MARTIN
Marilyn MATHIEU
Céline MAZUEZ
Magalie MAZUY
Alexis MIKOLAJCZAK
André MIQUET
Nathalie MOLNAR
Frédéric MORA
Claire MOREAU
Gilles PACHE
Mélanie PARIS
Marion PARROT
Benoit PASCAULT
Rémy PERRIN
Audrey PICHARD
Virginie PIERRON
Rémy PONCET
Bernard PONT
Jérôme PORTERET
Alexis RONDEAU
Yves ROZIER
Déborah RUHLAND
Nicolas SIMMLER
Bruno TISSOT
Corine TRENTIN
Héloise VANDERPERT
Anne WOLFF

# LE PROGRAMME RhoMéO

## STRUCTURES PARTICIPANTES ET PARTENAIRES FINANCIERS

Avec le soutien de :

## COORDINATION DE BASSIN

Xavier GAYTE

## AGENCE DE L'EAU RHÔNE-MEDITERRANÉE

Référents

Eric PARENT
Jean-Louis SIMONNOT
Francois CHAMBAUD
Nadine BOSC

Experts

Claude AMOROS
Bernard BACHASSON
Aurélien BESNARD
Bernard ETLICHER
Daniel GERDEAUX
Patrick GRILLAS
Yves SOUCHON

## CONCEPTION DES OUTILS DE GESTION DES DONNÉES

Rémy CLEMENT
Laurent POULIN
Mathieu BOSSAERT
Nicolas MIGNOT

## GESTION DES DONNÉES

Rémy CLEMENT
Laurent POULIN
Mathieu BOSSAERT
Nicolas MIGNOT
Paul HONORE
Marc ISENMANN
Alexandre LESCONNEC

## MEMBRES DU COMITE TECHNIQUE

Responsables d'axes ou de groupes

Stéphane BENCE
Rémi CLÉMENT
Delphine DANANCHER
Philippe FREYDIER
Sébastien GIRARDIN
Samuel GOMEZ
Jean-Luc GROSSI
Marc ISENMANN
Mario KLESCZEWSKI
Laetitia LERAY
Samuel MAAS
Nathalie MOLNAR
Gilles PACHE
Christian PERENNOU
Bernard PONT
Jérôme PORTERET
Lionel QUELIN
Célia RODRIGUEZ
Héloïse VANDERPERT

Autres membres

Samuel ALLEAUME
Antoni ARDOUIN
Luc BETINELLI
Thérèse BEAUFILS
Jaoua CELLE
Émilie DUHERON
Manon GISBERT
Anis GUELMAMI

Ce document est une des productions du programme RhoMéO. Il présente, sous forme de fiches, les méthodes nécessaires à la mise en place de 13 indicateurs de suivi des zones humides testés et validés à l'échelle du bassin Rhône-Méditerranée.

agence de l'eau
rhône méditerranée corse
Établissement public de l'État

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

l'Europe s'engage
avec le FEDER