



École Doctorale Sciences, Technologies et Santé

THÈSE

pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de La Réunion

Présentée et soutenue publiquement par

Cécile Nobile

Le 20 décembre 2017

Phytodisponibilité du phosphore dans les sols agricoles de
La Réunion fertilisés sur le long-terme avec des résidus organiques :
la dose d'apport est-elle le seul déterminant à prendre en compte ?

Jury

Edith Le Cadre	Professeure, AgroCampus Ouest	Rapportrice
Philippe Hinsinger	Directeur de recherche, INRA	Rapporteur
Sabine Houot	Directrice de recherche, INRA	Examinatrice
Michel-Pierre Faucon	Enseignant-chercheur, UniLaSalle Beauvais	Examineur
Agathe Revallier	Ingénieure, VEOLIA Recherche & Innovation	Membre invitée
Jean-Marie Paillat	Chercheur HDR, CIRAD	Co-directeur de thèse
Thierry Becquer	Directeur de recherche, IRD	Co-directeur de thèse
Matthieu Bravin	Chercheur, CIRAD	Encadrant de thèse

Remerciements

Un immense merci à Matthieu Bravin, pour m'avoir largement aidée à rendre mon travail logique et limpide tout au long de ma thèse, pour m'avoir encouragée à approfondir mes raisonnements, pour sa confiance, pour avoir relu et corrigé tout ce manuscrit, pour s'être cassé la tête sur quelques calculs isotopiques, pour son tact, sa gentillesse et sa disponibilité.

Merci à Jean-Marie Paillat et Thierry Becquer, pour leurs conseils réguliers au cours de ma thèse, pour leurs nombreuses relectures et corrections pour la rédaction de ce manuscrit et pour leur sympathie.

Merci à tous les membres de mon comité de pilotage, et tout particulièrement à Christian Morel, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, fait découvrir la dilution isotopique, m'avoir aidée dans mes expérimentations, pour sa disponibilité, ses précieux conseils et sa transmission de connaissances tout au long de ma thèse.

Merci aux membres de Veolia, Laurent Lai Kan Thon, Vincent Castagnet et Agathe Revallier, qui ont suivi mon travail de thèse et ont parfois dû subir de longues discussions alambiquées à propos de méthodes d'analyses du phosphore.

Un très grand merci aux collègues du laboratoire de l'unité recyclage et risque, Patrick, Jocelyn, Aidée, Dolin, Marie-Fred et Charline, qui m'ont apporté une précieuse aide lors de mes expérimentations et dont l'humour et la bonne humeur font régner une chaleureuse ambiance dans laquelle il était très plaisant de travailler.

Merci aux collègues de Montpellier, Claire et Mélanie, qui ont réalisé de nombreuses analyses d'échantillons et ont ainsi fortement contribué à mon travail.

Un grand merci à Emmanuel Tillard et à Expedit Rivière, pour m'avoir permis d'utiliser les données et de prélever des sols sur les essais prairies mené par l'unité SELMET, et sur lesquels repose grandement mes résultats de thèse.

Merci à Frédéric Chiroleu, grâce à qui l'utilisation du logiciel R me semble plus aisée que celle de mon grille-pain.

Un grand merci aux stagiaires qui ont sérieusement et joyeusement participé à mon travail de thèse, Camille, Mélanie et Quentin, sans qui toutes mes expérimentations n'auraient pu se concrétiser.

Merci à Erik Smolders et à tous les collègues de KU Leuven pour m'avoir si chaleureusement accueilli dans leur laboratoire, et énormément aidé lors de mes expérimentations, merci à Charlotte, Sophie, Toon, Maarten, Bart, Jessica, Frans et Kristin.

De chaleureux remerciements à Josie et Brigitte, pour leurs remarquables efficacité et disponibilité, et également pour leur sympathie.

Plus qu'un remerciement, une ode à Géraud, dont les intrusions intempestives dans le bureau des thésards ont certes significativement retardé le rendu de mon manuscrit et frôlé le dépôt d'une main courante, mais dont le besoin de communiquer, la sensibilité, et l'humour sans limite ont apporté joie et folie lors des pauses café, des déjeuners, et plus largement tout au long de ces trois années, et font de lui un collègue et ami irremplaçable.

Je remercie les collègues de l'unité avec qui j'ai passé de superbes moments, les « vieux » thésards François et Vlad, les jeunes thésards Céline et Daniel, Elisabeth, Antoine et tous les autres collègues

Merci aux châtelains, qui ont supporté mon omniprésence à la case devant mon ordinateur, mon manque de communication et de douches lors mes phases d'ermites, qui m'ont permis de décompresser, de beaucoup rire, et de ne pas réduire mon alimentation à des galettes de riz.

Merci à la Bamse House de Leuven, pour le chaleureux accueil et la super ambiance de la colocation, qui m'ont presque fait oublier le givre à gratter chaque matin sur ma selle de vélo avant d'aller au labo.

Merci à Vincent, qui m'a généreusement accueillie dans son appartement pendant mon court séjour à Bordeaux.

Merci à mes parents, qui font preuve d'un dévouement sans limite, qui m'ont toujours soutenue, et qui ne m'en ont pas trop voulu de partir à des milliers de kilomètres pendant ces quelques années.

Un immense merci à Alice, avec qui j'ai passé les moments les plus funkys à La Réunion, qui m'ont permis de déconnecter le weekend et de garder une vie sociale, merci également à tous ses colocs de l'ouest avec qui j'ai passé de folles soirées sur l'île. J'en profite également ici pour remercier Tiphaine, pour sa subtile alliance d'intelligence et de bêtise.

Enfin, un merci tout particulier à Béranger et à Boris, qui m'ont permis de me rappeler qu'il n'y avait pas que le travail dans la vie, qui m'ont supporté dans les derniers moments de la rédaction alors que je devais être d'un égoïsme et d'un ennui profond, et qui n'ont pas douté que je redeviendrais un jour sympathique, drôle et altruiste (je le jure) !

Résumé

Le recyclage des résidus organiques (RO) en agriculture pourrait permettre de limiter l'utilisation des ressources minérales de phosphore (P), à condition de déterminer leur efficacité pour fournir du P aux cultures. L'objectif de ce travail était donc d'étudier les mécanismes déterminant l'effet des RO apportés au sol sur la biodisponibilité du P pour la plante (phytodisponibilité). Ce travail a été basé sur cinq essais de terrain à La Réunion, fertilisés sur une décennie avec des fertilisants organiques ou minéraux, et sur des expérimentations d'incubations en conditions contrôlées et de cultures de plantes en pot. Le P inorganique (Pi) et organique (Po) disponible du sol a été déterminé par des extractions (eau, Olsen), la technique des gradients diffusifs en thin films (DGT) et la dilution isotopique associée à des membranes échangeuses d'ions. La capacité de sorption en Pi des sols a été évaluée avec des courbes de sorption. Le P phytodisponible a été déterminé en mesurant le P prélevé par la plante. Dans les différents types de sol (andosol, andique cambisol, nitisol et arenosol), l'apport de RO a augmenté le Pi disponible relativement au Po, suggérant que la minéralisation du Po issu des RO n'est pas un facteur limitant la disponibilité du Pi. Les RO ont augmenté le Pi disponible principalement par l'augmentation du pH du sol et par conséquent la diminution de sa capacité de sorption de Pi. Le P phytodisponible a augmenté avec le Pi disponible du sol, mais a diminué avec l'augmentation du pH du sol. Au-delà de la dose de P, l'effet de l'apport de RO à long-terme sur la phytodisponibilité du P semble principalement contrôlé par l'évolution induite du pH du sol.

Mots-clés : phosphate, indicateur de disponibilité, engrais, carbone organique, Matière fertilisante d'origine résiduaire (Mafor), Coefficient de partitionnement solide-solution (K_d)

Abstract

Application of organic residues (OR) on agricultural soils could reduce the use of mineral phosphorus (P) fertilizers, but this implies to determine the efficiency of OR to meet crop requirements. We thus aimed to study mechanisms determining the effects of OR on P bioavailability to plants (phytoavailability). Our work was based on five field trials with decadal organic or mineral fertilization located in Réunion island, and on incubations and plant growth experiments under controlled conditions. Available inorganic P (Pi) and organic P (Po) was determined using extractions (water, Olsen), the diffusive gradients in thin films technique (DGT) and the isotopic dilution associated to anion exchange membranes (E_{AEM}). Phytoavailable P was determined as the plant P uptake. Soil Pi sorption capacity was determined using sorption curves. For all soil types studied (andosol, andic cambisol, nitisol, and arenosol), RO increased mainly available Pi and had few effects on available Po, which suggests that mineralization of Po applied with RO does not limit Pi availability. Application of RO increased available Pi mainly by increasing soil pH and consequently by decreasing soil Pi sorption capacity. Phytoavailable P increased with soil available Pi, but decreased with increasing soil pH. Our work suggests that except the dose of P applied, effect of RO on P phytoavailability depends mainly on soil pH changes induced.

Keywords: phosphate, soil P test, organic carbon, organic wastes, solid solution partitioning coefficient (K_d)

Note de lecture

Les chapitres II, III, et IV de ce manuscrit sont rédigés sous formes d'articles. Ils contiennent une introduction en français expliquant l'objectif du chapitre, puis l'article. Les chapitre II et IV contiennent un seul article, le chapitre III est divisé en deux articles.

Les références bibliographiques sont situées à la fin de chaque chapitre ou article. Les articles contiennent des tableaux et des figures annexes, dont la numérotation est précédée d'un S (par exemple Figure S1), qui se trouvent à la fin de chaque article, juste avant les références bibliographiques.

Le chapitre annexe VI est déconnecté de l'objectif principal de la thèse et ne fait donc pas partie intégrante du manuscrit.

Table des matières

Introduction générale	5
I. Synthèse bibliographique et stratégie de recherche.....	11
1. Synthèse bibliographique - Effets de l'apport de résidus organiques sur la (phyto)disponibilité du phosphore dans les sols	11
1.1. Spéciation du phosphore dans les sols.....	11
1.2. Dynamique du phosphore dans les sols	15
1.3. Disponibilité du phosphore dans les sols	19
1.4. Phytodisponibilité du phosphore	22
1.5. Phosphore dans les résidus organiques	24
1.6. Effets d'apports de résidus organiques sur la spéciation et la sorption.....	25
1.7. (Phyto)disponibilité du phosphore dans les sols fertilisés avec des résidus organiques.	27
2. Objectif et stratégie de recherche.....	29
2.1. Questions soulevées par la littérature	29
2.2. Objectifs de la thèse	29
2.3. Stratégie de recherche	30
II. Effets du type de sol et de la dose de phosphore apportée par les précédentes fertilisations sur la capacité de sorption et la disponibilité du phosphore	38
Phosphorus sorption capacity and availability along a toposequence of agricultural soils: distinct effects of soil type and decadal fertilization practices	39
1. Introduction	40
2. Materials and methods.....	41
2.1. Soil and field trial characteristics.....	41
2.2. Determination of available phosphorus in soils	42
2.3. Determination of the solid-solution soil-born inorganic phosphorus partitioning coefficient	43
2.4. Data processing and analysis.....	44
3. Results and Discussion.....	44
3.1. Inorganic phosphorus sorption capacity changes along the soil toposequence and with decadal fertilization.....	44
3.2. Water extraction and DGT measurement target readily available inorganic phosphorus, while Olsen and Olsen-Dabin target moderately and poorly available inorganic phosphorus	46
3.3. Readily available inorganic phosphorus changes with the fertilization rate and soil type, while moderately and poorly inorganic phosphorus change mainly with the fertilization rate	49
3.4. Soil type and fertilization rate concomitantly determine the inorganic and organic phosphorus distribution	50
4. Conclusion	53
5. Annexes.....	54

6. References.....	59
III. Effet de la dose de phosphore apportée et des modifications des propriétés du sol induites par la fertilisation à long-terme sur la capacité de sorption, la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore dans un andosol	62
1. Phosphorus sorption and availability in an andosol after decadal organic or mineral fertilization: importance of pH and organic carbon modifications compared to phosphorus accumulation in soil.....	64
1.1. Introduction.....	65
1.2. Materials and methods	66
1.3. Results & discussion	69
1.4. Conclusion	77
1.5. Annexes	79
1.6. References.....	82
2. Decadal fertilization-induced phosphorus accumulation and pH changes in an andosol determine the phytoavailability of residual phosphorus and fresh phosphate application.....	85
2.1. Introduction.....	86
2.2. Material & Methods	87
2.3. Results and discussion	92
2.4. Conclusion	102
2.5. Annexes	104
2.6. References.....	106
IV. Effets du type de fertilisant et du type de sol sur la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore, à dose égale de phosphore apportée	109
A dose équivalente de phosphore, la minéralisation du carbone et l'évolution des propriétés physico-chimiques du sol contrôlent la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore lors d'apports successifs de fertilisants organiques ou minéraux.....	110
1. Introduction	111
2. Matériels et méthodes	112
2.1. Nature et propriétés des sols	112
2.2. Nature et propriétés des résidus organiques	114
2.3. Incubations successives des sols et des résidus organiques en conditions contrôlées.....	115
2.4. Mesure de la minéralisation du carbone au cours des incubations successives.....	116
2.5. Analyses des solutions de sol	117
2.6. Croissance des plantes en conditions contrôlées.....	117
2.7. Mesure de la valeur neutralisante directe et indirecte des résidus organiques	118
2.8. Traitements statistiques des données.....	119
3. Résultats et discussion.....	119
3.1. La nature des résidus organiques contrôle la minéralisation du carbone de manière similaire dans les deux sols	119

3.2.	Les apports répétés de lisier et de compost augmentent progressivement le pH des sols, contrairement aux apports répétés boue	121
3.3.	Dans le nitisol, l'effet des résidus organiques sur la disponibilité du phosphore semble majoritairement contrôlé par l'adsorption avec le calcium apporté	123
3.4.	Dans l'andosol, l'effet des résidus organiques sur la disponibilité du phosphore semble majoritairement contrôlé par les modifications de pH et de concentration en carbone organique dissous	125
3.5.	Le P prélevé par la plante augmente au fur et à mesure des apports répétés de fertilisant minéral et de résidus organiques sur les deux sols.....	129
3.6.	La disponibilité du phosphore dans les sols explique en partie le phosphore prélevé par la plante	131
4.	Conclusion	132
5.	Annexes	133
6.	Références	135
V.	Conclusion générale	138
1.	Synthèse des résultats et perspectives scientifiques	138
1.1.	La teneur en phosphore organique est due au type de sol et peu au type de fertilisant appliqué	141
1.2.	La disponibilité est limitée par les capacités de sorption du sol vis-à-vis du phosphore inorganique	142
1.3.	La fertilisation à long-terme modifie le pH en rapport avec l'accumulation et la réactivité de la matière organique des sols.....	142
1.4.	Le pH a un effet opposé sur la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore	143
1.5.	La disponibilité du phosphore dans les sols fertilisés à long-terme est principalement déterminée par la dose de phosphore apportée et les modifications de pH induites.....	144
2.	Perspectives opérationnelles	145
2.1.	Indicateur du phosphore disponible dans le sol pour raisonner la dose à apporter	146
2.2.	Caractérisation des résidus organiques pour déterminer leur effet sur la (phyto)disponibilité du phosphore.....	150
2.3.	Efficacité d'un apport massif de fertilisant à la replantation pour fournir du P à la canne sucre pendant plusieurs années.....	153
	Chapitre Annexe	155
VI.	Relative contribution of phosphorus from native soil and from residual phosphorus resulting from past organic or mineral fertilization on plant phosphorus uptake	155
1.	Introduction	156
2.	Material & Methods	157
2.1.	Principle of indirect isotope method to determine P uptake derived from residual P and P uptake derived from native soil P without fresh fertilization	157
2.2.	Principle of direct isotope method to determine P uptake derived from fresh mineral fertilizer, soil residual P, and native soil P	158

2.3.	Description of field experiment and soil sampling	159
2.4.	Growth experiment with indirect isotope method (Treatment \emptyset P) and direct isotope method (Treatment +P).....	161
2.5.	Estimation of seed phosphorus contribution	162
2.6.	Determination of available inorganic phosphorus in soil by isotopic exchange method associated to anion exchange membrane.....	162
3.	Results and discussion	163
3.1.	L-values in soils increases linearly with soil residual phosphorus	163
3.2.	Phosphorus uptake derived from soil and from residual phosphorus in soils changes with fertilization history	166
3.3.	Phosphorus uptake derived from fresh fertilizer decreases with soil residual P and soil pH	169
3.4.	Can the indirect method be used to determine the source of P uptake if soil physical-chemical properties have changed with long-term fertilization?	171
3.5.	Can the direct method be used to determine P uptake from native soil and from residual P?	172
4.	Conclusion	173

Introduction générale

1. Nécessité de recycler les résidus organiques en agriculture

Maintenir la fertilité des agrosystèmes

Les plantes prélèvent les éléments nutritifs nécessaires à leur développement principalement dans le sol, grâce à leurs racines. En agriculture, une partie des plantes cultivées est exportée pour la consommation humaine ou animale ; les éléments nutritifs prélevés par les cultures ne sont donc pas totalement restitués au sol. Sans apport extérieur, le sol s'appauvrit alors au fur et à mesure des cultures se succédant ; la fertilité du sol, pouvant être définie comme étant « la qualité d'un sol lui permettant de fournir des éléments nutritifs en quantités adéquates et équilibrées entre elles pour assurer la croissance de plantes ou de cultures données » (Fardeau, 2015) diminue. L'apport d'engrais sur les sols cultivés est donc essentiel afin de maintenir la fertilité des sols cultivés.

Faire face à la pénurie de phosphore minéral

Trois nutriments sont majoritairement prélevés par les plantes en termes de quantité : l'azote, le phosphore (P) et le potassium (Marschner, 1995). Dans les pays en voie de développement, le rendement des cultures peut être limité par un manque de phosphore, et beaucoup d'agriculteurs n'ont pas les moyens de se procurer des engrais minéraux pour pallier à ce manque (Mew, 2016). Dans les pays occidentaux, l'épandage d'engrais minéraux constitue en revanche la principale voie de fertilisation en phosphore. Cependant leur utilisation doit être remise en question. Ces engrais sont fabriqués à partir de minerais naturels, donc à partir d'une ressource épuisable, dont la répartition est fortement inégale sur la planète. Le Maroc, la Chine et les Etats-Unis produisent à eux seuls 85% de ces engrais. L'épuisement des minerais, associé au déséquilibre de leur répartition géographique, peut créer des dépendances et des tensions entre les Etats. De plus, leurs extraction, conditionnement et transport consomment de l'énergie en grande partie sous forme fossile. Une hausse mondiale du prix des engrais est donc prévisible dans les années à venir (Elser et Bennet, 2011) ; les pays occidentaux seront donc également confrontés à une pénurie de phosphore minéral.

Tirer parti du phosphore accumulé dans les sols agricoles

L'épandage excessif d'engrais minéraux et organiques dans les pays occidentaux a induit une accumulation de P dans les sols de certaines régions, principalement les régions d'élevage (Sattari et al. 2012). D'un côté, cette accumulation présente un risque pour l'environnement. Le phosphore accumulé peut en effet être perdu, notamment par ruissellement, lixiviation ou lessivage, et conduire à une

pollution des eaux et un risque d'eutrophisation (Schoumans et al. 2014) ; le problème des algues vertes qui a commencé à se manifester dans les années 1970 en Bretagne en est un exemple. D'un autre côté, ce phosphore accumulé peut être prélevé par les plantes, et peut ainsi permettre de limiter l'utilisation d'engrais minéraux. Néanmoins, les plantes ne parviennent pas à prélever la totalité du phosphore accumulé dans les sols. Un des enjeux actuels majeurs dans les pays occidentaux autour de la fertilisation en phosphore est donc d'améliorer l'utilisation par les plantes du phosphore accumulé dans le sol par la fertilisation passée (Menezes-Blackburn et al., 2017).

Recycler les résidus organiques en agriculture

Les résidus organiques correspondent aux déchets issus d'êtres vivants, à savoir les effluents d'élevage, les résidus de cultures, les déchets d'origine urbaine comme les boues de station d'épuration, ou encore les déchets agro-industriels. Ces résidus sont généralement riches en phosphore, et pourraient donc remplacer les engrais minéraux ; néanmoins les mécanismes gouvernant la dynamique de P dans les sols fertilisés avec les résidus organiques sont complexes et leur efficacité pour fournir du phosphore aux cultures reste encore mal connue (Faucon et al., 2015). Les résidus peuvent modifier les propriétés biologiques et physico-chimiques des sols, et ainsi modifier la dynamique de P (Haynes and Mokolobates, 2001). Ces modifications engendrent d'un côté des difficultés à comprendre de façon générique l'efficacité des résidus organiques ; d'un autre côté les modifications de la dynamique de P engendrées dans le sol pourraient permettre d'augmenter le prélèvement de P par les plantes (Menezes-Blackburn et al., 2017). Ainsi, l'épandage de résidus organiques semble être une voie particulièrement pertinente à explorer pour répondre au double enjeu de substituer les engrais minéraux et ainsi faire face à leur future pénurie mondiale, et d'améliorer le prélèvement du phosphore accumulé dans les sols.

2. Recyclage des résidus organiques en agriculture à La Réunion

Etudier l'efficacité des résidus organiques dans différents contextes pédo-climatiques

L'efficacité d'un résidu organique peut dépendre du type de sol sur lequel il est apporté et des conditions climatiques qui peuvent jouer sur sa minéralisation (Esco Mafor, 2014). A La Réunion, différents types de sol aux propriétés bien marquées se distinguent (Feder, 2013). La capacité à fixer le phosphore est très forte dans les andosols, mais semble bien plus faible pour d'autres types de sol présents sur l'île (Truong et al., 1974). L'île présente par ailleurs des conditions climatiques très contrastées, avec selon les régions des précipitations moyennes allant de 500 à 10 000 mm an⁻¹, et des températures annuelles moyennes de 10 à 28 °C (météo-France, 2017). La Réunion paraît donc constituer un terrain pertinent pour étudier l'efficacité des résidus organiques en tant qu'engrais P dans différents contextes pédo-climatiques, et pour comprendre de façon générique les mécanismes liés à cette efficacité.

Identifier les résidus organiques à La Réunion

A l'échelle d'un territoire, le recyclage des résidus organiques en agriculture nécessite d'une part d'identifier et de quantifier les résidus disponibles. A La Réunion, d'importantes quantités de résidus organiques sont produites, au total 1 142 000 t de matière brute par an (MVAD). La majorité des résidus sont d'origine animale (66% de la masse produite), principalement des lisiers de bovin, des lisiers de porc et des fumiers de volaille ; d'origine urbaine (17%), principalement des boues de station d'épuration des eaux usées (STEU) et des déchets verts ; ou d'origine agro-industrielle (17%), principalement des sous-produits de la canne à sucre.

Ces résidus organiques représentent des déchets dont la gestion demeure problématique sur l'île. L'augmentation de la population et la progressive mise aux normes des STEU engendrent une constante augmentation de la quantité de boues produites sur l'île. Par ailleurs, le programme DEFI (Développement de l'Élevage et des Filières des Interprofessions) a pour objectif d'augmenter la production de viande sur l'île (DAAF), la quantité d'effluents d'élevage à épandre risque donc également d'augmenter dans les années à venir. Les effluents d'élevage et sous-produits de la canne sont déjà utilisés pour amender ou fertiliser les sols canniers. Les boues de petites stations d'épuration sont également épandues, néanmoins quand la production annuelle d'une STEU est trop importante, l'épandage est interdit par un arrêté préfectoral. C'est par exemple le cas de la STEU de la communauté intercommunale du Nord de la Réunion, qui produit environ 4300 t de boues par an.

Etudier l'efficacité des résidus organiques en tant qu'engrais phosphaté à La Réunion

Le recyclage des résidus organiques sur un territoire nécessite d'autre part d'étudier les risques environnementaux ou sanitaires liés à leur épandage, et d'étudier leur efficacité en tant qu'engrais. A La Réunion, le phosphore est l'élément limitant l'épandage (doses et fréquences) des boues de STEU et de certains effluents d'élevage relativement très riches en P, les pertes de P vers les eaux pouvant présenter un risque de pollution. Dans une note de cadrage rédigée à la demande de la direction de l'environnement, de l'aménagement et du logement (DEAL) de la Réunion (Van de Kerchove et al. 2011), il a été conseillé sur la base de critères agronomiques et environnementaux que l'épandage des boues sur les sols canniers soit limité pour chaque apport à une dose satisfaisant au maximum 3 ans de besoins en P de la canne à sucre. La possibilité d'épandre les boues à des doses supérieures à celles conseillées dans la note de cadrage reste une question d'actualité, toutefois l'efficacité agronomique et l'absence d'impact négatif sur l'environnement de ces pratiques doivent être démontrés. Il devient alors nécessaire d'étudier le devenir du P apporté avec ces résidus organiques sur le sol, et ainsi d'étudier l'efficacité agronomique des résidus organiques en tant qu'engrais P.

Certains résidus organiques sont considérés comme moins efficaces qu'un engrais chimique de référence pour fournir du P aux cultures. Un coefficient équivalent engrais en P peut alors être défini, il correspond à la fraction du phosphore présent dans le résidu directement assimilable pour la culture. Dans le guide de la fertilisation organique à La Réunion (Chabalière et al., 2006), le coefficient des fientes de volaille est par exemple estimé à 65% et celui des boues de station d'épuration à 85%. Ces coefficients ont été définis d'une part car une part du P dans les résidus organiques est sous forme

organique et potentiellement non assimilable par la plante, et d'autre part car on considère qu'une part du P inorganique peut être moins disponible que le Pi d'un fertilisant minéral soluble. Les coefficients équivalents engrais utilisés à La Réunion sont basés sur des données métropolitaines et ne prennent pas en compte l'effet des résidus organiques sur les propriétés physico-chimiques du sol ; ils méritent donc d'être remis en question.

Etudier l'efficacité des résidus organiques selon la modalité d'épandage

La canne à sucre occupe près de 60% des surfaces agricoles à La Réunion, les sols canniers représentent donc une surface intéressante pour l'épandage de résidus organiques sur l'île (Fillols et Chabalière, 2007). La canne est une culture semi-pérenne. Les parties aériennes sont coupées une fois par an, et repoussent à partir des rhizomes. La canne est replantée en moyenne tous les 7 ans. L'apport de fertilisants sur la canne peut donc d'une part s'effectuer avec un apport massif au moment de la replantation, ce qui permet leur enfouissement. L'apport de fertilisants peut d'autre part s'effectuer chaque année à une dose plus faible après la coupe, mais les fertilisants sont alors apportés en surface. L'apport de fertilisant en une fois semble plus pratique à réaliser, il est néanmoins nécessaire de déterminer si cette modalité d'apport est efficace pour fournir du P à la canne sucre pendant plusieurs années.

Evaluer les conseils de fertilisation en phosphore à La Réunion

Les conseils de fertilisation en P à La Réunion sont actuellement basés sur l'outil SERDAF (Système Expert Réunionnais D'Aide à la Fertilisation), qui prend d'une part en compte le niveau de P assimilable du sol et d'autre part son pouvoir fixateur. A partir du croisement du niveau de P assimilable et du pouvoir fixateur, l'outil indique le niveau de disponibilité de P dans le sol et propose pour la canne à sucre une dose annuelle d'engrais P à apporter au sol sur les cycles successifs de culture.

L'outil présente néanmoins des limites. Le niveau de P assimilable est déterminé à partir du P extrait avec la méthode Olsen-Dabin (Dabin, 1967) et du type de sol. La méthode Olsen-Dabin utilise un extractant très agressif (mélange de NaHCO_3 et NH_4F) et le P extrait semble peu représentatif du P réellement disponible pour les cultures (Morel et Fardeau, 1987). Par ailleurs, la typologie des sols utilisée par l'outil est basée sur une ancienne et incertaine cartographie de l'île. Une nouvelle cartographie a été mise à jour dans la zone ouest de l'île (Feder et Bourgeon, 2009), mais elle doit encore être établie sur le reste du territoire. Le pouvoir fixateur attribué à chaque type de sol semble également assez incertain par manque de données.

L'objectif scientifique général de la thèse est donc d'étudier l'effet d'apports de résidus organiques sur la dynamique du phosphore dans les sols agricoles de la Réunion et de déterminer leur efficacité pour la nutrition en phosphore des plantes. Cette thèse vise également à apporter des éléments de réponses aux objectifs opérationnels suivants i) déterminer la pertinence de la méthode utilisée à La Réunion pour les conseils de fertilisation en P, ii) déterminer les éléments permettant de caractériser l'efficacité des résidus organiques en tant qu'engrais phosphatés sur les sols réunionnais, et iii) déterminer l'efficacité d'un apport massif de fertilisant à la replantation pour fournir du P à la canne sucre pendant plusieurs années.

Références

- Chabalier, P.F., van de Kerchove, V. & Saint Macary, H. 2006. Guide de la fertilisation organique à la Réunion. CIRAD, Chambre d'Agriculture de la Réunion, 302p.
- DAAF, Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de La Réunion, consulté le 09/11/2017, <http://daaf.reunion.agriculture.gouv.fr/Projet-DEFI>.
- Esco Mafor 2014. Valorisation des matières fertilisantes d'origine résiduaire sur les sols à usage agricole ou forestier. Chapitre III : effets agronomiques attendus de l'épandage des mafor sur les écosystèmes agricoles et forestiers. 196p.
- Elser, J. & Bennett, E. 2011. Phosphorus cycle: A broken biogeochemical cycle. *Nature*, 478, 29–31.
- Fardeau, J.-C. 2015. Des indicateurs de la fertilité des sols. *Etude et Gestion des Sols*, 22, 77–100.
- Feder, F. 2013. Soil map update: Procedure and problems encountered for the island of Réunion. *Catena*, 110, 215–224.
- Haynes, R. J. & Mokolobate, M. S. 2001. Amelioration of Al toxicity and P deficiency in acid soils by additions of organic residues: A critical review of the phenomenon and the mechanisms involved. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 59, 47–63.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd edn. Academic Press, London, UK. 889 p.
- Menezes-Blackburn, D., Zhang, H., Stutter, M., Giles, C.D., Darch, T., George, T.S., Shand, C., Lumsdon, D., Blackwell, M., Wearing, C., Cooper, P., Wendler, R., Brown, L. & Haygarth, P.M. 2016. A holistic approach to understanding the desorption of phosphorus in soils. *Environmental Science and Technology*, 50, 3371–3381.
- Météo-France. Description du climat de La Réunion, <http://www.meteofrance.re/climat/description-du-climat>; consulté le 11/04/2017.
- Mew, M.C. 2016. Phosphate rock costs, prices and resources interaction. *Science of the Total Environment*, 542, 1008–1012.
- MVAD. Mission de Valorisation Agricole des Déchets - Ile de La Réunion, <http://www.mvad-reunion.org>; consulté le 09/11/2017.
- Sattari, S.Z., Bouwman, A.F., Giller, K. E. & van Ittersum, M.K. 2012. Residual soil phosphorus as the missing piece in the global phosphorus crisis puzzle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, 6348–53.
- Schoumans, O.F., Chardon, W.J., Bechmann, M.E., Gascuel-Oudou, C., Hofman, G., Kronvang, B., Rubaek, G.H., Ulèn, B. & Dorioz, J.-M. 2014. Mitigation options to reduce phosphorus losses from the agricultural sector and improve surface water quality: a review. *The Science of the Total Environment*, 468–469, 1255–66.
- Truong, B., Bertrand, R., Burdin, S. & Pichot, J. 1974. Contribution à l'étude du phosphore dans les sols dérivés de roches volcaniques de l'île de la Réunion. *L'Agronomie Tropicale*, 29, 663-674.
- Van de Kerchove, V., Paillat, J.M., Wassenaar, T., Rondeau, P., Marion, D., Saint Macary, H., Chabalier, P.F., Légier, P. & Bravin, M.N. 2011. Compte-rendu de la réunion Cirad-MVAD-Téréos-eRcane du 22/11/11, relative aux demandes de Véolia. 5 p.

I. Synthèse bibliographique et stratégie de recherche

1. Synthèse bibliographique - Effets de l'apport de résidus organiques sur la (phyto)disponibilité du phosphore dans les sols

Dans le sol, la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore (P) sont dépendantes des formes et des quantités de P présentes. Nous nous intéresserons donc dans un premier temps à la spéciation du P dans le sol, puis à la dynamique du P, qui permet le passage du P entre les différentes formes (Figure 1). Ces éléments nous permettront ensuite de mieux appréhender la disponibilité et la phytodisponibilité du P dans les sols.

Dans les résidus organiques, le phosphore peut également se trouver sous différentes formes. Nous nous intéresserons donc dans un second temps au phosphore présent dans les résidus organiques. Nous nous intéresserons ensuite à l'effet des résidus organiques sur la spéciation et la dynamique du P dans le sol. Enfin nous aborderons la disponibilité et la phytodisponibilité dans des sols ayant reçu des résidus organiques.

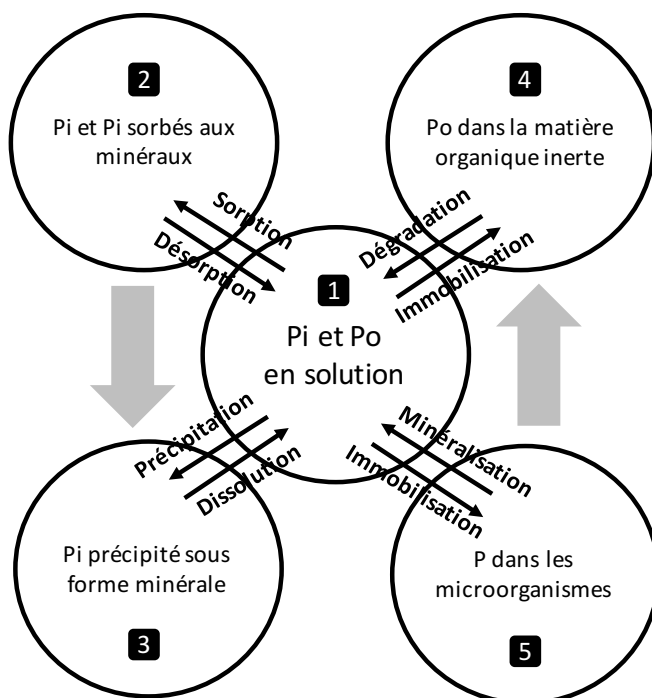
1.1. Spéciation du phosphore dans les sols

1.1.1. Définition de la spéciation

La spéciation du phosphore correspond à sa répartition entre les différentes formes chimiques présentes. Dans le sol, le P est présent au sein de différents pools ; on peut schématiquement en distinguer cinq (Figure 1) : 1) le P présent dans la solution du sol, 2) le P sorbé aux minéraux de la phase solide du sol, 3) le P précipité sous formes minérales, 4) le P présent dans la matière organique inerte, 5) le P présent dans les microorganismes.

La quantité totale de P dans le sol peut être déterminée par exemple par calcination puis minéralisation avec des solutions concentrées d'acide fluorhydrique (HF), perchlorique (HClO₄) et nitrique (HNO₃) (ISO 14869-1). Néanmoins, la mesure du P total ne donne aucune indication sur la répartition du P entre les différents pools. Une unique analyse chimique permettant de déterminer l'ensemble des formes de P présentes dans le sol au sein de chaque pool est impossible. Déterminer la spéciation du P implique donc de mesurer le P dans des pools définis opérationnellement, en fonction de la méthode d'analyse employée (Kruse et al., 2015).

Figure 1 Représentation du cycle du phosphore dans le sol. Le phosphore est schématiquement réparti entre cinq pools. Les flèches indiquent les mécanismes permettant de passer d'un pool à l'autre ; Pi : phosphore inorganique ; Po : phosphore organique (D'après Kruse et al., 2015).



1.1.2. Le phosphore dans la solution du sol

La solution du sol est le lieu de prélèvement du P par les racines, qui prélèvent *a priori* uniquement le P sous formes d'ions orthophosphates (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} ou PO_4^-) dissout dans la solution. Il est possible d'extraire la solution de sol et de déterminer sa concentration en P, mais cela nécessite une importante quantité de sol pour un faible volume extrait. Dans la majorité des études, la concentration en Pi dans la solution du sol est alors estimée en réalisant une extraction à un ratio solide:liquide 1:10, avec de l'eau ultra pure (Christian Morel et al., 2014) ou une solution de CaCl_2 10^{-2} M ou 10^{-3} M (Six et al., 2012).

Dans la solution du sol ou l'extrait la représentant, on peut distinguer et quantifier le phosphore inorganique (Pi) et le phosphore organique (Po), qui correspond au P contenu dans des molécules contenant au moins une liaison covalente entre un atome de carbone et un autre atome. La quantité de Pi est déterminée par spectrométrie, après ajout de bleu de Molybdène ou de vert de malachite, qui forment un complexe coloré avec le Pi. Le P total de l'extrait est généralement mesuré par spectroscopie de masse (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS). La quantité de P organique correspond alors à la différence entre le P total et le Pi. La majorité du Pi mesuré par colorimétrie correspond aux ions orthophosphates dissouts, une part peut néanmoins correspondre à du Pi colloïdal (Van Moorlegem et al., 2011).

Dans les sols, la quantité de P présent dans le pool de la solution est très faible comparée au P total (environ $0,02 \text{ mg L}^{-1}$, soit 0,1% du P total du sol). La répartition entre le P_i et le P_o dans la solution du sol semble très variable selon le type de sol et son historique de fertilisation, la proportion de P_i allant de 20 à 99%. Cette répartition reste néanmoins rarement déterminée dans la solution du sol, alors que ce pool joue un rôle majeur dans le prélèvement de P par les racines (Kruse et al., 2015).

1.1.3. Le phosphore sorbé et/ou précipité avec les constituants de la phase solide

Les pools de P sorbé et de P précipité avec les constituants de la phase solide du sol représentent la quasi-totalité du P dans le sol. De nombreuses techniques existent afin d'identifier et de quantifier de manière plus ou moins précise tout ou partie du P présent dans ces pools. Nous présentons ici certaines de ces techniques couramment utilisées.

1.1.3.1. Répartitions entre phosphore inorganique et organique après des extractions séquentielles

Afin d'extraire le P du pool sorbé et/ou précipité avec les constituants de la phase solide, la technique des extractions séquentielles est souvent utilisée, la plus fréquente étant celle de Hedley (Cross and Schlesinger, 1995). Cette méthode utilise différents extractants ayant une agressivité croissante afin de séparer le P sorbé en plusieurs fractions, dont la mobilité est décroissante : le P extractible par résine, par du bicarbonate (NaHCO_3), par de l'hydroxyde de sodium (NaOH), par de l'acide chlorhydrique (HCl), et par un mélange d'acide sulfurique (H_2SO_4) et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Les fractions de P obtenues avec les extractions séquentielles correspondent à des fractions plus ou moins labiles, mais ne peuvent réellement être attribuées au phosphore sorbé ou précipité à un type de minéral particulier.

La proportion de chaque fraction par rapport au P total varie fortement selon le type de sol. Le P présent dans les fractions les plus labiles (extrait par résines et par NaHCO_3) représente généralement une faible proportion du P total du sol (environ 5%), la fraction de P extrait par NaOH varie de 5 à 25%, et celle extrait par HCl de 1 à 66% (Cross and Schlesinger, 1995). La répartition entre le P_i et le P_o au sein de chacune de ces fractions varie également fortement en fonction du type de sol, de son historique de fertilisation et de son mode d'occupation (Huang et al., 2017 ; Negassa and Leinweber, 2009).

1.1.3.2. Identification précise et quantification des molécules de phosphore dans un extrait NaOH-EDTA

Une distinction précise des molécules de P présentes dans une phase liquide peut être réalisée par spectroscopie NMR^{31}P (nuclear magnetic resonance). La spectroscopie NMR^{31}P est le plus souvent utilisée après une unique extraction par un mélange de NaOH (0,5 M) et d' EDTA (0,1 M) (Darch et al., 2014), qui peut extraire le P sorbé, le P précipité et le P de la matière organique inerte. Le pourcentage

de P extrait avec cette méthode par rapport au P total est généralement fort ($72\% \pm 4$) (Stutter et al., 2015), mais varie fortement selon les types de sols, pouvant allant de 2 à 100% (Huang et al., 2017).

Le Pi peut représenter de 35% à 70% du P total extrait par NaOH-EDTA, proportion variant selon le type de sol, leur mode d'occupation et leur historique de fertilisation (Darch et al., 2014). La majorité du Pi dans les extraits de sols par NaOH-EDTA est sous forme d'ions orthophosphates, le reste sous forme d'autres ions, comme les polyphosphates inorganiques (par exemple le pyrophosphate $P_2O_7^{4-}$), ou sous forme de phosphates de calcium, d'aluminium ou de fer (par exemple la strengite $FePO_4 - 2H_2O$).

Le Po dans les extraits NaOH-EDTA est principalement sous forme d'inositol hexakisphosphate, avec en moyenne 40% dans les sols sous climat tempéré (Darch et al., 2014). Des formes de phosphodiester regroupant par exemple les phospholipides ou les acides nucléiques, et des polyphosphates organiques regroupant par exemple l'ADP et l'ATP sont également présentes.

1.1.3.3. Identification précise et quantification du phosphore par spectroscopie XANES

Le P sorbé et/ou précipité avec les minéraux du sol peut être déterminé sur phase solide par spectroscopie XANES (X-ray Absorption Near Edge Structure). Cette technique est sensible et sélective pour les espèces majoritaires (> 10%), mais présente une faible résolution due à la similitude des signaux obtenus avec différentes espèces, notamment avec les espèces organiques. La spectroscopie XANES est donc majoritairement utilisée pour déterminer la spéciation du P inorganique fixé aux phases minérales (Doolette and Smernik, 2010).

Le P inorganique sorbé et/ou précipité avec les minéraux est sous différentes formes de phosphates (PO_4) précipités avec du calcium (Ca), de l'aluminium (Al), ou du fer (Fe). Parmi les formes précipitées avec le Ca, on distingue par exemple du phosphate de monocalcium ($Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$) ou de l'hydroxyapatite ($Ca_5(PO_4)_3OH$). Le phosphate précipité avec l'aluminium peut par exemple être sous forme de variscite ($AlPO_4 \cdot 2H_2O$) et celui avec le fer sous forme de strengite ($FePO_4 \cdot 2H_2O$), ou de vivanite ($Fe_3(PO_4)_2 \cdot 8H_2O$) (Kruse et al., 2015). Plus d'une centaine de minéraux phosphatés ont été dénombrés.

1.1.4. Le phosphore dans la matière organique inerte et les microorganismes

Il est possible de déterminer la quantité totale de P organique dans le sol, par différence entre la quantité totale de P, et la quantité totale de P inorganique. La quantité totale de P est déterminée après oxydation de la matière organique et digestion par un acide. La quantité totale de P inorganique est déterminée sans oxydation de la matière organique. Cette méthode ne donne cependant aucune information sur la répartition de ce P organique au sein des différents pools, qui peut aussi bien se trouver sorbé aux constituants minéraux du sol qu'au sein des microorganismes vivants.

Comme évoqué ci-dessus, l'identification et la quantification du Po peuvent être réalisées dans l'extrait NaOH-EDTA, qui peut extraire tout ou partie du Po de la matière organique inerte, du Po sorbé et du Po précipité aux constituants minéraux du sol. Les formes de P organiques sont plus complexes que les formes de Pi et peuvent être regroupées en quatre catégories principales : les phosphomonoesters, les phosphodiesteres, les polyphosphates organiques et les phosphonates. Le P organique a jusqu'alors fait l'objet de bien moins d'études que le P inorganique, et la nature chimique de certaines formes de P organique présentes dans les sols reste peu claire (McLaughlin et al., 2011).

La proportion de P dans les microorganismes, qui peut être déterminée par une technique de fumigation/extraction, est généralement faible comparé à la totalité du P organique du sol (2 – 5%), mais peut être plus forte sous prairie ou forêts.

1.2. Dynamique du phosphore dans les sols

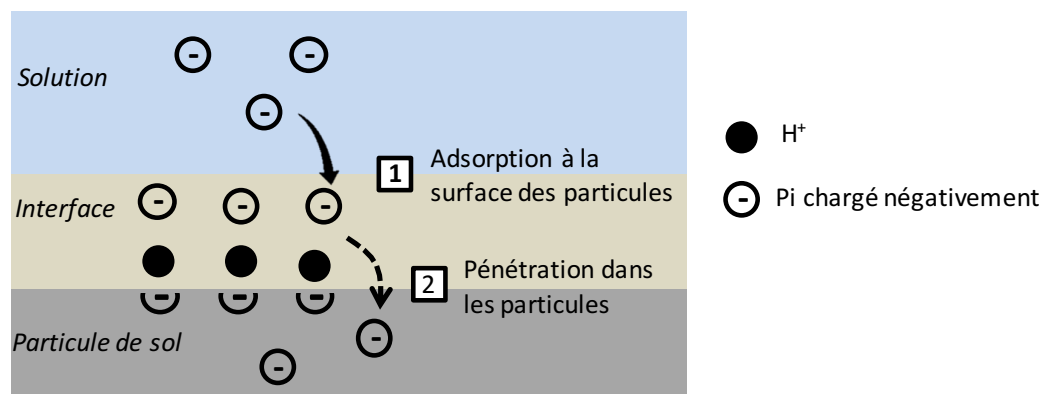
1.2.1. Sorption et désorption

1.2.1.1. Définition

La sorption et la désorption correspondent ici à la liaison ou la séparation du P, contenu dans la solution, aux constituants de la phase solide du sol. Les molécules de Pi et de Po sont sujettes à la sorption et désorption (Berg and Joern, 2006), néanmoins la majorité des études concernent celles du Pi, d'une part car sa détermination est plus simple, et d'autre part car le Pi est la forme prélevée par les racines. La sorption du Pi sur les constituants de la phase solide du sol peut être divisée en deux étapes (Figure 2) : i) la réaction initiale et rapide d'adsorption du Pi sur les surfaces de charges variables ; le Pi présent dans la solution est chargé négativement et peut donc être adsorbé sur des surfaces chargées positivement, comme les (hydr)oxydes de métal ou les argiles (Gérard, 2016) ; ii) la lente diffusion à l'état solide du Pi adsorbé selon un gradient électrochimique, à l'intérieur des particules adsorbantes (Barrow, 2015).

La désorption du Pi se produit majoritairement via un échange avec d'autres anions, comme des oxalates ou des citrates, qui peut avoir lieu lorsque la concentration en Pi dans la solution du sol diminue ou que la concentration d'autres anions y augmente. La quantité de Pi désorbé peut différer de la quantité de Pi sorbé en un même temps, ce qui correspond au phénomène d'hystérèse (Barrow and Debnath, 2014).

Figure 2 Les deux étapes de la sorption du phosphore inorganique (Pi) dans le sol (d'après Barrow, 2015).



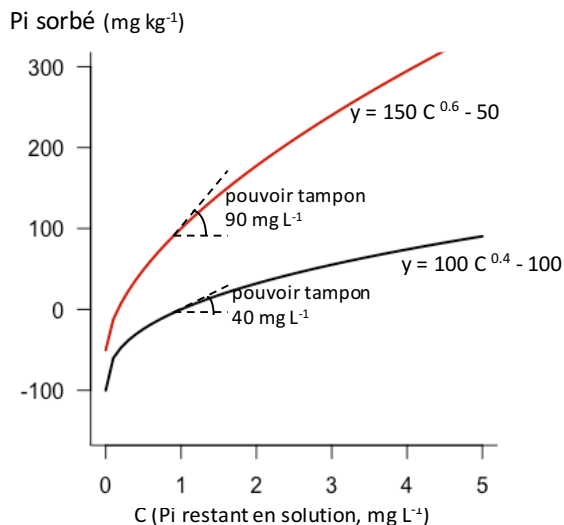
1.2.1.2. Mesure des capacités de sorption et désorption

Les courbes de sorption et de désorption du Pi d'un sol peuvent être déterminées. La courbe de sorption est dans un premier temps réalisée, en ajoutant des solutions contenant différentes concentrations connues en Pi au sol. Après agitation pendant une période d'équilibration, la quantité de Pi sorbé est déterminée par différence entre les concentrations initiale et finale en solution. La courbe de désorption du Pi est réalisée dans la foulée, en mélangeant les sols qui ont sorbés du Pi à de l'eau pendant une même période d'équilibration. La quantité de Pi désorbé correspond au Pi final en solution (Barrow and Debnath, 2014). La relation entre le Pi sorbé ou désorbé et le Pi en solution est ensuite modélisée par une équation de Freundlich ou de Langmuir. Les paramètres des modèles peuvent être utilisés pour comparer les capacités de sorption ou de désorption entre plusieurs sols. Le plus souvent, seule la courbe de sorption est déterminée, car elle fournit des informations à la fois sur les capacités de sorption et de désorption du sol (Barrow, 2008) (Figure 3).

Le pouvoir tampon en Pi du sol correspond à la capacité du sol à modérer les changements de concentration en Pi dans la solution, lorsque du Pi est ajouté ou retiré du sol. Le pouvoir tampon du sol joue donc sur l'étendue de la sorption et de la désorption. Il est généralement déterminé à partir de la pente de la tangente de la courbe de sorption à une concentration en Pi en solution donnée (Figure 3), par exemple à 1mg L^{-1} (Barrow, 2008).

La capacité maximum de sorption du Pi peut être déterminée à partir des paramètres estimés de modèles des courbes de sorption avec l'équation de Langmuir (Barrow, 1978). Dans des sols peu altérés, elle peut également être estimée par la somme des quantités d'aluminium et de fer extractibles à l'oxalate (Alox + Feox), pondérée par un coefficient (souvent 0,5), qui représente les sites réactifs pour le Pi dans le sol (Beauchemin and Simard, 1999).

Figure 3 Courbes de sorption de deux sols, modélisés par une équation de Freundlich modifiée (Barrow, 2008) : $Pi \text{ sorbé} = a C^b - q$. Le paramètre q représente le Pi qui pourrait désorber quand la concentration en Pi dans la solution tend vers 0. Le pouvoir tampon est estimé à partir de la pente de la tangente à 1 mg L^{-1} , égale au produit $a \times b$.



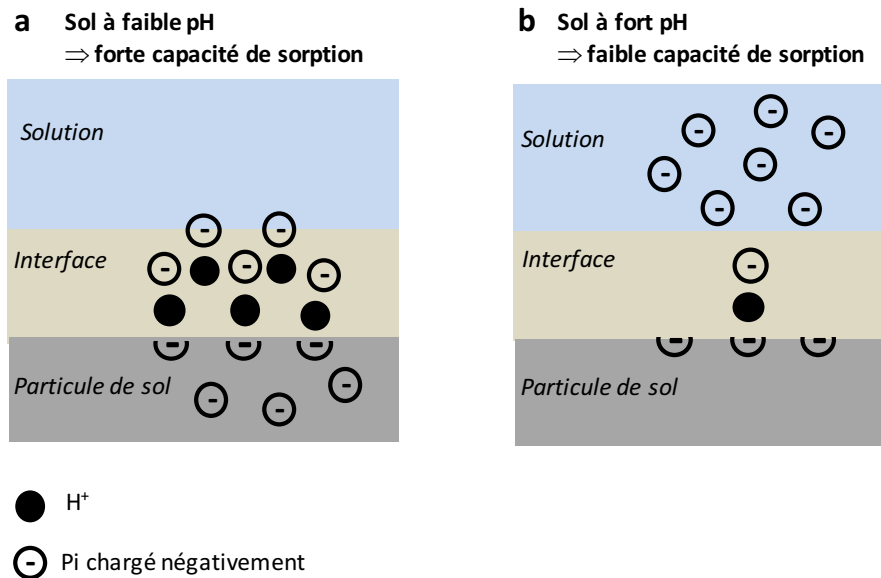
1.2.1.3. Variation des capacités de sorption et désorption des sols

La nature des minéraux présents dans le sol, due à la roche mère et à son évolution, influence les capacités de sorption et de désorption en Pi du sol. La capacité de sorption augmente ainsi avec la teneur en minéraux réactifs avec le phosphore, principalement avec les (hydr)oxydes de fer et d'aluminium, tels que la gibbsite ou la goethite, et les minéraux argileux, tels que la kaolinite ou l'illite. La capacité d'adsorption du Pi propre à chaque minéral augmente avec sa surface spécifique. La capacité d'adsorption des minéraux argileux étant partiellement cristallisés ou ayant une structure particulière, tels que les imogolites ou les allophanes, peut dépasser celle des (hydr)oxydes de fer et d'aluminium cristallisés (Gérard, 2016). A La Réunion, les andosols sont particulièrement riches en imogolites partiellement cristallisés, ce qui leur confère de forte capacité de sorption du Pi (Levard et al., 2012).

Le pH influence fortement les capacités de sorption et de désorption des sols (Ziadi et al., 2013). Certains constituants du sol ont en effet des charges à leur surface variables en fonction du pH, et donc une affinité pour le Pi variable. Les travaux étudiant l'effet du pH sur l'affinité du Pi pour un minéral précis montrent généralement une relation sorption Pi - pH ayant l'allure d'une cloche. Lorsque le pH est égal à celui du point de charge nul (PZC) d'un minéral, la quantité de charge positive et négative est similaire ; en dessous du PZC la charge nette est positive ; au-dessus du PZC la charge nette est négative. Le PZC des oxydes de fer et d'aluminium, est à un pH de l'ordre de 6-8, et leur charge diminue quand le pH augmente. Les minéraux argileux ont également des charges variables en fonction du pH. La relation capacité de sorption - pH dans un sol est donc très difficile à estimer, puisque dépendante de la proportion de chaque minéral présent et de leur surface spécifique (Gérard, 2016). Les études portant sur l'effet du pH sur les sols montrent généralement que la capacité de sorption du Pi diminue quand le

pH augmente. Lorsque le pH augmente, la quantité de charges positives à la surface des constituants solide du sol diminue, ce qui diminue l'affinité pour le Pi dissout dans la solution du sol, qui est chargé négativement (Figure 4) (Barrow et al., 2017).

Figure 4 Effet du pH du sol sur la sorption de phosphore inorganique (Pi) (d'après Barrow, 2017) ; sorption dans un sol à un faible pH (a) et dans un sol à un fort pH (b).



Le pH peut également modifier la sorption car l'ionisation de l'ion phosphate change avec le pH, passant de la forme HPO_4^{2-} à des pH proches de la neutralité, à H_2PO_4^- à pH acides. L'ion H_2PO_4^- forme une seule liaison avec la surface solide (complexe monodentate), alors que HPO_4^{2-} peut établir deux liaisons (complexe bidentate), (Barrow et al., 2017).

L'effet du pH sur la désorption semble encore plus complexe. A partir d'un pH 7, la désorption augmenterait avec l'augmentation de pH, ce qui est l'inverse de la sorption et donc logique. Dans ce cas, le gradient de concentration du Pi induirait le mouvement du Pi des particules de sol vers la solution. En revanche, pour des pH inférieurs à 7, la désorption diminuerait quand le pH augmente, ce qui ne serait donc pas due au gradient chimique induit par le déplacement du Pi vers la solution. Dans ce cas, la baisse de désorption avec le pH serait due à une répulsion du Pi ayant diffusé à l'intérieur des particules pour rejoindre la surface, dont les charges négatives augmentent (Barrow, 2017).

Le P organique peut également être sorbé à la surface des constituants de la phase solide du sol. L'affinité des sols change selon les molécules et peut être plus forte pour certaines molécules de Po, comme l'inositol hexaphosphate (IP6), principale molécule de Po présente dans les sols, que pour le Pi (Berg and Joern, 2006). La forte affinité des minéraux du sol pour l'IP6 pourrait être due à ses multiples groupements phosphates (jusqu'à six). Il peut donc exister une compétition entre le Pi et le Po pour les mêmes sites de sorption et la présence d'IP6 peut réduire la sorption du Pi (Anderson et al., 1974).

1.2.2. Précipitation et dissolution

La précipitation correspond à la liaison entre deux éléments à l'intérieur d'une phase liquide, pouvant ainsi former un nouveau minéral. Les ions phosphates peuvent ainsi former de nouveaux minéraux en précipitant avec des atomes métalliques comme le calcium (Ca), le fer (Fe) ou l'aluminium (Al). La dissolution représente le mécanisme inverse. L'équilibre précipitation-dissolution est dépendant du pH, de la concentration en P_i et de la concentration en métaux. La distinction entre la précipitation et la pénétration du P_i dans les particules de sol semble peu claire (Hinsinger et al., 2011).

1.2.3. Minéralisation et immobilisation

La minéralisation correspond à la transformation du P organique en P inorganique, l'immobilisation représente la transformation inverse. Deux types de transformations peuvent être distingués dans la minéralisation du P, d'une part les transformations biochimiques, qui se déroulent en dehors des microorganismes et qui sont contrôlés par les enzymes présentes dans la solution, d'autre part les transformations biologiques du P, qui se déroulent à l'intérieur des microorganismes, et qui dépendent principalement de leur besoin en énergie (en carbone) (Jones and Oburger, 2010). Les différentes formes de P_o peuvent être minéralisées plus ou moins rapidement, les acides nucléiques sont par exemple rapidement minéralisés, re-synthétisés et incorporés à la biomasse microbienne. Les inositols de phosphates sont quant à eux moins mobiles et moins disponibles pour la minéralisation biochimique ou biologique (Darch et al., 2014), ils forment en effet fréquemment des polymères ou complexes insolubles avec des protéines ou des lipides qui le rende peut disponible (Jones and Oburger, 2010).

1.3. Disponibilité du phosphore dans les sols

1.3.1. Définition de la disponibilité

Le P disponible représente la fraction du P total du sol pouvant potentiellement être prélevé par les racines des plantes (Ziadi et al., 2013). Les racines prélèvent uniquement les ions phosphates dissouts dans la solution, qui représentent une très faible part du P total du sol (environ 0,1%). La solution peut néanmoins être réapprovisionnée au cours de son appauvrissement. Le P disponible correspond ainsi aux ions phosphates en solution et au P pouvant réapprovisionner la solution lors de son appauvrissement.

1.3.2. Mécanismes gouvernant la disponibilité

Les différents mécanismes permettant de passer d'un pool de P vers le Pi de la solution du sol (Figure 1) sont potentiellement susceptibles de participer au réapprovisionnement de la solution du sol. Dans la majorité des sols agricoles avec un intensif passif de fertilisation, une large part du P est présent sous forme de Pi sorbé aux constituants minéraux de la phase solide du sol. Le réapprovisionnement de la solution en Pi du sol est donc principalement dû à la désorption du Pi (Ziadi et al., 2013). La dissolution du Pi jouerait un rôle mineur (Syers et al., 2008), certaines études montrent néanmoins que le Pi dans les sols calcaires avec un long historique de fertilisation est majoritairement précipité avec du calcium (Beauchemin et al., 2003), ce qui suggère que sa dissolution pourrait contribuer au réapprovisionnement de la solution dans ces sols (McLaughlin et al., 2011).

La minéralisation permet de transformer le Po en Pi. Cette transformation est essentielle dans le cycle du P dans tous les sols, mais ce n'est pas le mécanisme limitant la disponibilité du P dans les sols agricoles. En effet, le Pi produit par la minéralisation est sorbé aux minéraux de la phase solide du sol, et c'est donc la sorption qui limite le réapprovisionnement de la solution. La contribution relative de la minéralisation semble néanmoins plus forte dans les sols non cultivés et peut atteindre 10% du Pi réapprovisionnant la solution en un jour (Oehl et al., 2004).

1.3.3. Mesure du phosphore disponible

1.3.3.1. Mesure du P inorganique dans la solution du sol

Le Pi peut être mesuré dans la solution du sol. L'extraction de la solution du sol nécessite néanmoins une grande quantité de sol pour un faible volume de solution extrait. Dans la majorité des études, la concentration en Pi dans la solution du sol est alors estimée en réalisant une extraction à un ratio solide:liquide 1:10, avec de l'eau pure (Christian Morel et al., 2014) ou une solution de CaCl_2 10^{-2}M (Six et al., 2012).

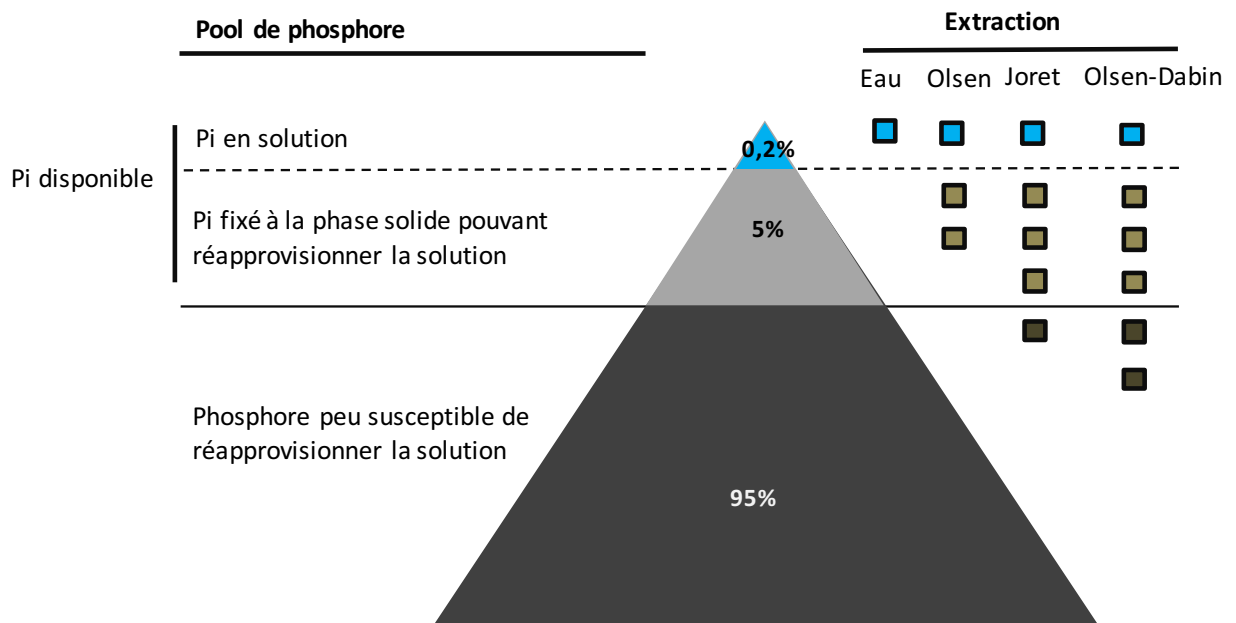
1.3.3.2. Estimation du P inorganique pouvant réapprovisionner la solution du sol

Considérant que la désorption du Pi contribue majoritairement au réapprovisionnement de la solution, les études cherchent à estimer la quantité de Pi sorbé aux constituants de la phase solide, pouvant être désorbés. La technique de dilution isotopique permet de déterminer précisément la quantité de Pi sorbé pouvant être échangé avec le Pi de la solution du sol en un temps donné (Fardeau et al., 1991). Cette technique consiste à introduire une quantité connue d'un isotope radioactif du Pi (par exemple ^{32}Pi) dans le système sol-solution à l'équilibre, avec un ajout de biocide pour inhiber l'action des microorganismes, puis à mesurer la concentration de ^{32}Pi restant en solution après un temps donné. La différence entre la quantité de ^{32}Pi introduit et la quantité de ^{32}Pi restant en solution correspond à la

quantité échangée. Cette technique nécessitant l'utilisation d'isotope radioactif n'est néanmoins pas utilisable en routine.

Des extractions chimiques du sol avec des solvants plus ou moins agressifs sont souvent utilisés en routine afin d'estimer la quantité de Pi sorbé aux constituants de la phase solide du sol. La relation entre la quantité de P extrait par une méthode et le rendement des cultures, ou la quantité de P prélevé par les cultures est déterminée localement. Cette relation permet de déterminer des valeurs seuils de P extrait pour les conseils de fertilisation. Il existe une douzaine de méthodes à travers le monde ; en France les méthodes Dyer, Joret-Hébert et Olsen sont fréquemment utilisées ; alors qu'aux Etats-Unis par exemple, ce sont principalement les méthodes Mehlich-3, Olsen, Bray-1, Morgan, et Morgan modifiée (Ziadi et al., 2013). A La Réunion, la méthode Olsen-Dabin est utilisée. Cette méthode avait été mis au point pour déterminer la disponibilité du phosphore dans des sols tropicaux ayant de forte capacité de sorption, les concentrations de Pi extraites avec la méthode Olsen étant souvent proches des limites de détection des méthodes de dosage utilisées à l'époque. Les mécanismes ou réactions se déroulant au cours des extractions sont flous et les quantités de Pi extraites correspondent à du Pi pouvant être échangé avec le Pi de la solution, mais aussi à du Pi peu susceptible de l'être (Morel and Fardeau, 1987) (Figure 5). Avec la méthode Olsen, utilisant une solution de carbonate de sodium (NaHCO_3) 10^{-5}M à un pH 8,5, on suppose que le Pi extrait provient de l'échange avec les ions HCO_3^- ajoutés. Parmi les différentes méthodes d'extraction utilisées en routine, la méthode Olsen pourrait fournir le meilleur indicateur de la quantité de Pi susceptible d'être prélevé par une plante (Fardeau, 2015).

Figure 5 Représentation du pouvoir d'extraction de différentes méthodes utilisées pour estimer le Pi disponible du sol (D'après GEMAS).



Deux autres techniques permettant d'estimer le réapprovisionnement de la solution sont basées sur le mécanisme de la désorption. D'une part la technique de DGT (Diffusive Gradients in Thin Films) sur phase solide, consiste à mettre en contact une résine contenant des oxydes de fer avec la surface du sol pendant un temps donné, au cours duquel le Pi diffuse entre le sol et la résine (Mason et al., 2005). Cette technique est néanmoins difficilement utilisable en routine car coûteuse et chronophage. D'autre part, l'extraction avec de l'eau et des résines anioniques chargées de HCO_3^- peut être utilisée. Après le temps d'extraction, la quantité de Pi fixé aux résines en échange des ions HCO_3^- est mesurée. La technique des résines échangeuses est utilisable en routine, mais plus chronophage qu'une simple extraction.

1.3.3.3. Variations du phosphore disponible selon les sols

La quantité de P total peut varier de 300 à 9000 kg ha^{-1} dans l'horizon 0-0,25 m selon les sols (Esco Mafor 2014⁹). La quantité de Pi dissout dans la solution est en moyenne égale à 0,2 mg L^{-1} , et la quantité de Pi pouvant réapprovisionner la solution du sol en un an est en moyenne égale à 29,8 kg ha^{-1} (Ziadi et al., 2013). Les quantités de Pi en solution et de Pi pouvant la réapprovisionner ne varient pas linéairement en fonction de la quantité de P total dans le sol.

Dans les sols agricoles, la quantité de P disponible varie en fonction de la quantité de P du sol (Morel et al., 2013), mais également en fonction de sa capacité de sorption (Ziadi et al., 2013). La concentration de Pi dissout varie entre 0.001 mg L^{-1} dans des sols tropicaux acides très réactifs vis-à-vis du Pi, jusqu'à plus de 1 mg L^{-1} dans des sols de régions tempérées fertilisés avec excès. La disponibilité varie donc en fonction des propriétés du sol jouant sur sa capacité de sorption, telles que la nature des minéraux présents, la texture et le pH, mais également en fonction de l'historique de fertilisation. La disponibilité augmente avec la quantité de P accumulé dans le sol au cours du temps au fur et à mesure des apports de fertilisants (Bai et al., 2013). Il existe une forte interaction entre le type de sol et l'historique de fertilisation sur la disponibilité du P, il est donc souvent difficile de distinguer leurs effets respectifs (Huang et al., 2017).

1.4. Phytodisponibilité du phosphore

1.4.1. Définition de la phytodisponibilité

Le P phytodisponible correspond au P réellement prélevé par la plante provenant du sol (Harmsen, 2007). Le P phytodisponible dépend du P disponible du sol, mais également de la présence de la plante, notamment des modifications des conditions de la rhizosphère induites par la plante (Hinsinger, 2001).

1.4.2. Mesure de la phytodisponibilité

Déterminer la quantité de P prélevé nécessite de mesurer la biomasse sèche des parties aériennes et/ou des racines des plantes, ainsi que leur concentration en P. La plante séchée est broyée, calcinée puis digérée dans une solution acide (souvent un mélange d'acide nitrique et sulfurique). La concentration en P total de la solution acide est ensuite mesurée par spectroscopie de masse (ICP-MS) ou d'émission optique (ICP optical emission spectroscopy, ICP-OES ; ICP atomic emission spectrometry, ICP-AES). Le P prélevé correspond à la biomasse multipliée par la concentration, moins le P issu de la graine. Le P issu de la graine peut être négligeable si la plante s'est développée suffisamment longtemps et si le sol contient suffisamment de P disponible.

1.4.3. Effet de la plante sur les mécanismes gouvernant la phytodisponibilité du phosphore

1.4.3.1. Effets de la plante sur la sorption et la désorption

Les cellules racinaires, les mycorhizes qui les colonisent, ainsi que les microorganismes rhizosphériques peuvent libérer des ions H^+ ou OH^-/HCO_3^- et induire d'importants changements de pH dans la rhizosphère. Ces changements de pH peuvent modifier la sorption ou la désorption du P_i par les constituants du sol au niveau de la rhizosphère (Gahoonia and Nielsen, 1992 ; Shen et al., 2011). Les plantes sont par ailleurs capables de libérer des anions organiques (citrate ou malate), particulièrement dans les situations de stress, notamment lors d'une carence en P_i . Ces anions organiques peuvent entrer en compétition avec le P_i pour les mêmes sites de sorption, et donc augmenter la désorption du P_i . Une plus forte désorption peut alors conduire à une plus forte quantité de P phytodisponible. La quantité et le type d'anions organiques excrétés varient fortement selon les espèces et les variétés de plantes (George et al., 2010).

1.4.3.2. Effets de la plante sur la minéralisation du P organique en P inorganique

Les modifications des conditions de la rhizosphère peuvent également jouer sur la minéralisation. En cas de déficience en P_i , les plantes et les microorganismes rhizosphériques peuvent libérer des enzymes (phosphatases) dans le milieu, qui permettent l'hydrolyse du P_o en P_i (George et al., 2010), ce qui pourrait augmenter la quantité de P phytodisponible.

1.5. Phosphore dans les résidus organiques

Les résidus organiques correspondent ici aux résidus issus d'êtres vivants. Ils correspondent aux effluents d'élevage brut ou compostés, aux résidus végétaux bruts ou compostés, et aux boues de station d'épuration.

1.5.1. Teneur en phosphore total des résidus organiques

La teneur en P total varie selon le type de résidu organique. Selon une récente expertise, les teneurs en P total sont croissantes entre des résidus d'origine bovine, porcine et avicole (Esco Mafor 2014b) et varient de 0,2 à 17,5 g kg⁻¹ de matière brute et atteignent en moyenne 10 g kg⁻¹ de matière sèche. Concernant les boues de station d'épuration d'origine urbaine, leur teneur en P varie fortement en fonction des eaux usées qui parviennent à la station et en fonction des traitements qui sont appliqués. D'après la même expertise, leur teneur en P total varie de 0,2 à 9,6 g kg⁻¹ de matière brute et sont en moyenne égales à 19 g kg⁻¹ de matière sèche.

1.5.2. Spéciation du phosphore dans les résidus organiques

Le P présent dans les résidus organiques d'origine animale est en grande majorité sous forme inorganique. La proportion de Pi dans les résidus d'origine animale se situe autour de 60 – 70% (Darch et al., 2014; Toor et al., 2006), pouvant parfois atteindre 90%. Cette proportion varie en fonction de l'animal et de son régime alimentaire. Concernant les boues de station d'épuration, la majorité du P est aussi sous forme inorganique, la proportion de Pi variant de 56 à 100% selon le traitement en station (Guivarch, 2001). Le Pi dans les résidus organiques est principalement sous forme d'orthophosphates (Annaheim et al., 2015; Turner and Leytem, 2004), alors que le Po est majoritairement sous forme d'inositol hexakisphosphate (Darch et al., 2014; Toor et al., 2006).

1.5.3. Solubilité du phosphore dans les résidus organiques

Le phosphore présent dans les résidus organiques peut se trouver en solution ou être associé aux constituants solides du résidu. La proportion de P en solution comparé au P total varie selon les résidus, elle peut varier de 0,01 à 50% dans les boues de station d'épuration (Guivarch, 2001). Le Pi peut être adsorbé aux carbonates de calcium ou aux oxydes de fer et d'aluminium, mais également sous forme de précipité (Esco Mafor, 2014^b).

1.6. Effets d'apports de résidus organiques sur la spéciation et la sorption

1.6.1. Effets d'apports de résidus organiques sur la spéciation

L'apport de résidus organiques d'origine animale ou de boues de STEU, engendrerait principalement une augmentation de la quantité de P inorganique disponible du sol, et modifierait peu la quantité de P organique (Huang et al., 2017; Negassa and Leinweber, 2009). La spéciation du P dans les résidus aurait peu d'impact sur la spéciation du P dans les sols à long-terme (Annaheim et al., 2015), ce qui suggère que le P organique apporté avec les résidus est transformé en Pi. Certaines études montrent néanmoins une augmentation significative du Po dans des sols recevant des résidus organiques (Motavalli and Miles, 2002; Munhoz et al., 2011; Tran and N'dayegamiye, 1995). Les résultats contrastés obtenus selon les études pourraient être dus à l'interaction entre l'effet du type de sol et l'effet du type d'apport sur la spéciation du P.

1.6.2. Effets d'apports de résidus organiques sur la sorption

L'apport de résidus organiques peut modifier certains paramètres du sol, qui peuvent avoir des conséquences sur sa capacité de sorption (Tableau 1).

Tableau 1 Effets attendus d'apports de résidus organiques sur les paramètres du sol et la capacité de sorption du P inorganique du le sol.

Effets possibles des résidus organiques sur le sol	Conséquences attendues sur la capacité de sorption en Pi du sol
Teneur en phosphore ↗	Sorption du Pi apporté Nombre de sites de sorption libres ↘ Capacité de sorption ↘
Teneur en matière organique ↗	Compétition anions organiques et Pi pour la sorption Nombre de sites de sorption libres ↘ Capacité de sorption ↘
pH ↗	Charges négatives à la surface des minéraux du sol ↗ Affinité des minéraux pour le Pi ↘ Capacité de sorption ↘

1.6.2.1. Effets de l'augmentation du phosphore du sol sur la sorption

L'apport de résidus organiques peut diminuer la capacité de sorption en P_i en augmentant la quantité totale de P dans le sol. Une partie du P apporté au sol est sorbé sur les constituants de la phase solide, le nombre de sites de sorption disponible diminue donc au fur et à mesure des apports (Barrow, 2015).

1.6.2.2. Effets des modifications de pH du sol sur la sorption

L'apports de résidus organiques d'origine animale ou de boues de STEU peut induire une augmentation du pH du sol, en conditions de plein champ comme en conditions contrôlées (Abdala et al., 2014; Abdala et al., 2012; Van den Nest et al., 2016). L'augmentation de pH induit une augmentation des charges négatives à la surface des minéraux du sol et peut donc induire une diminution de la capacité de sorption du sol (Barrow, 2017).

1.6.2.3. Effets de l'augmentation de la teneur en matière organique du sol sur la sorption

La teneur en matière organique du sol peut augmenter avec les résidus organiques apportés, ce qui peut diminuer les capacités de sorption du sol (Abdala et al., 2012; Erich et al., 2002). Les molécules organiques solubles, telles que le citrate, le malate ou l'oxalate, peuvent en effet entrer en compétition avec le P_i pour les mêmes sites de sorption. La matière organique peut par ailleurs se lier à la phase solide sur des sites non spécifiques du P, ce qui engendre une augmentation des charges négatives en surface de la phase solide et une diminution de l'affinité pour le P_i .

1.6.3. Effet de l'apport de résidus organiques sur la minéralisation

Comparé à un sol sans apport ou un sol recevant un fertilisant minéral, l'apport de résidus organiques peut stimuler l'activité microbienne et la quantité de phosphatases dans les sols (Criquet et al., 2007; Mäder et al., 2002). Une plus forte activité microbienne n'est cependant pas synonyme d'une augmentation de minéralisation nette et donc d'une plus forte libération de P_i dans la solution du sol, car les microorganismes prélèvent du P_o et du P_i . Dans un sol avec une faible quantité de P_i accessible, l'activité des microorganismes peut être limitée par le P_i , l'apport de résidus organiques augmenterait alors l'immobilisation de P_i par les microorganismes. Si le P_i n'est pas limitant, les microorganismes semblent consommer des molécules organiques principalement pour le carbone, ce qui en parallèle peut minéraliser le P_o en P_i (Bünemann et al., 2012). L'effet de l'apport de résidus organiques sur la minéralisation du P serait dans ce cas majoritairement dépendant de la teneur en C organique disponible pour les microorganismes (Bünemann, 2007).

1.7. (Phyto)disponibilité du phosphore dans les sols fertilisés avec des résidus organiques

1.7.1. Disponibilité dans les sols fertilisés avec des résidus organiques

1.7.1.1. Expérimentations en conditions de plein champ

Dans la plupart des essais en champ, les doses de résidus organiques apportées sont calculées à partir des besoins en azote (N) de la plante (Schoumans et al., 2014). Le ratio P:N étant variable selon les résidus organiques, la quantité de P apportée diffère entre les résidus et avec le fertilisant minéral. Il existe une corrélation entre la quantité de P apporté et la disponibilité du P dans les sols, il est donc difficile de déterminer l'effet dû à la source de P apporté (résidus organiques ou fertilisant minéral).

Afin de comparer la disponibilité dans les sols amendés avec différentes sources de P, il convient alors de comparer la variation de P disponible à la variation du P total du sol (Vanden Nest et al., 2016), ou à la variation du bilan cumulé en P (P apporté – P exporté par les plantes) (Morel et al., 2014). Les études à long-terme montrent ainsi que les résidus organiques augmentent généralement le P disponible du sol de manière similaire aux fertilisants minéraux (Esco Mafor, 2014^a).

1.7.1.2. Expérimentations en conditions contrôlées

Les études en conditions contrôlées sont basées sur des doses équivalentes de P apporté selon les sources. Le résidu organique ou le fertilisant minéral est mélangé au sol, le mélange est mis à incuber pendant un à plusieurs mois à la suite desquels le P disponible est déterminé. Ces études montrent généralement une augmentation plus faible du P disponible avec les résidus organiques qu'avec les fertilisants minéraux. Ces différences peuvent être dues à une minéralisation incomplète des résidus organiques sur le court-terme. L'apport de fer, d'aluminium avec les boues de stations d'épuration ou de calcium avec les résidus organiques d'origine animale augmentant la sorption du P_i , ou l'apport de P organique avec les résidus organiques, sont aussi des hypothèses souvent évoquées pour expliquer cette plus faible disponibilité (Frossard et al., 2016; Huang et al., 2011; Shafqat and Pierzynski, 2013).

1.7.2. Phytodisponibilité dans les sols fertilisés avec des résidus organiques

1.7.2.1. Estimation classique de l'effet d'un fertilisant sur le phosphore phytodisponible

Afin de comparer l'effet des résidus organiques sur la phytodisponibilité du P dans les sols, différents indicateurs peuvent être utilisés (Guivarch, 2001). La méthode classique est basée sur la différence de la quantité de P prélevé par la plante en présence et en absence du fertilisant. La phytodisponibilité du P

calculée avec cette méthode prend en compte à la fois le P prélevé provenant du fertilisant, et l'éventuelle augmentation du P prélevé provenant du sol. Cette méthode permet de calculer le coefficient apparent d'utilisation en P du fertilisant (CAU), elle ne permet cependant pas de distinguer la part de P phytodisponible provenant du fertilisant et celle provenant du sol.

1.7.2.2. Estimation de l'effet d'un fertilisant sur le phosphore phytodisponible avec des techniques isotopiques

Le P présent dans un fertilisant minéral apporté au sol peut directement être marqué avec un isotope radioactif du phosphore (méthode de marquage direct). Il est alors possible de quantifier la quantité de P prélevée par la plante qui provient du fertilisant (Morel and Fardeau, 1991). Il est en revanche beaucoup plus difficile de marquer de manière homogène le P d'un résidu organique. Une méthode basée sur la dilution isotopique peut alors être employée (méthode de marquage indirect). Cette méthode implique d'une part la croissance d'une plante dans un sol sans apport et préalablement marqué au ^{32}P (ou ^{33}P), et d'autre part la croissance d'une plante après apport de résidu organique dans un sol préalablement marqué. Il est alors possible de déterminer la quantité de P prélevé provenant du résidu organique et la quantité de P prélevé provenant du sol (Morel and Fardeau, 1989). Cette méthode permet de calculer le coefficient réel d'utilisation (CRU), qui correspond à la proportion du P apporté par le fertilisant qui est réellement prélevée par la plante.

1.7.2.3. Valeur fertilisante d'un résidu organique

La phytodisponibilité du P dans un sol ayant reçu un résidu organique peut être utilisée afin de calculer sa valeur fertilisante (VF). Cette valeur est calculée de la manière suivante :

$$\text{VF (indicateur de phytodisponibilité)} = \frac{\text{phytodisponibilité du P dans le sol avec résidu}}{\text{phytodisponibilité du P dans le sol avec fertilisant de référence}} \times 100$$

La phytodisponibilité peut être estimée par différents indicateurs, comme le CAU ou le CRU, obtenus à partir des méthodes évoquées ci-dessus. La VF d'un résidu organique change en fonction de l'indicateur utilisé. La VF(CAU) et la VF(CRU) d'un résidu peuvent être fortement corrélées lorsque le résidu est apporté sur un sol déficient en P, mais peu corrélées lorsque le résidu est apporté sur un sol bien pourvu en P (Guivarch, 2001). D'après l'auteur, le CAU serait donc un mauvais indicateur pour calculer la VF dans les sols bien pourvus en P, où la différence de P total prélevé par la plante en présence ou en absence de fertilisant peut être faible. Dans ce cas, le CRU permet de connaître la part de P provenant du sol et la part de P provenant du fertilisant.

2. Objectif et stratégie de recherche

2.1. Questions soulevées par la littérature

La quantité de P (phyto)disponible dans un sol recevant un résidu organique semble similaire ou inférieure à celle d'un sol recevant un fertilisant minéral. Les mécanismes déterminant l'effet des résidus organiques sur le P (phyto)disponible semblent peu clairs. Une première hypothèse est que la minéralisation du P organique (Po) apporté avec les résidus limiterait la (phyto)disponibilité du P dans les sols. Néanmoins, les récents résultats de la littérature laissent penser que cette hypothèse n'explique pas majoritairement l'effet des résidus organiques sur la disponibilité du P à long-terme.

Hormis la source de P qu'ils constituent, les résidus organiques peuvent modifier les propriétés physico-chimiques des sols et peuvent en conséquence modifier la dynamique de P. Ces modifications peuvent notamment modifier la capacité de sorption en P du sol, qui contribue majoritairement à la disponibilité du P dans les sols fertilisés. Néanmoins, l'importance relative des modifications des propriétés physico-chimiques, comparée au P apporté, sur le P disponible reste inconnu. Une seconde hypothèse est donc que les modifications des propriétés du sol induites par les résidus organiques déterminent leur effet sur le P (phyto)disponible en modifiant la capacité de sorption du sol.

L'effet de l'apport de résidus organiques sur la (phyto)disponibilité de P varie en fonction du sol fertilisé, notamment en fonction de sa capacité de sorption. L'effet de l'apport de résidu organique change également en fonction de la dose de P accumulée dans le sol par les précédentes fertilisations (P résiduel), qui augmente la quantité de P initialement disponible. L'importance des modifications des propriétés du sol induites par les résidus organiques vis-à-vis de la disponibilité de P, pourraient ainsi changer selon le type de sol et selon la dose de P accumulée par les précédentes fertilisations.

2.2. Objectifs de la thèse

Les effets des résidus organiques sur la (phyto)disponibilité de P semblent ainsi principalement dépendants du type de sol, de la dose de P accumulée dans le sol par la fertilisation passée, et du type de résidu apporté. L'objectif de la thèse est donc d'étudier et distinguer les effets de trois facteurs sur la **capacité de sorption**, la **disponibilité** et la **phytodisponibilité du P dans le sol** : i) le **type de sol**, ii) la **dose de P accumulée** dans le sol par la fertilisation passée, iii) le **type de fertilisant apporté**.

Un objectif spécifique est de déterminer les mécanismes déterminant l'effet lié au type de fertilisant apporté. L'hypothèse est que les modifications des propriétés physico-chimiques du sol induites par les résidus organiques déterminent majoritairement leurs effets sur le P (phyto)disponible.

2.3. Stratégie de recherche

2.3.1. Intégration des trois facteurs

Afin de déterminer l'effet du type de sol, nous avons étudié des types de sol de La Réunion se distinguant par une pédogénèse très contrastée. Quatre types de sol représentatifs de l'île ont été étudiés au cours de la thèse : andosol, cambisol andique, nitisol et arenosol.

Afin de déterminer l'effet de la dose de P accumulée dans le sol, nous avons étudié des sols issus d'essais agronomiques de La Réunion ayant des historiques de fertilisation contrastés. Ces essais ont été étudiés après un à douze ans d'apports.

Enfin, afin de déterminer l'effet du type de fertilisant apporté, nous avons d'une part étudié des sols issus d'essais agronomiques de La Réunion ayant reçu différents types de résidus organiques ou des fertilisants minéraux. Ces essais n'étant pas basés sur une dose équivalente de P entre les différents résidus et avec le fertilisant minéral, nous avons d'autre part étudié des sols issus d'expérimentation en conditions contrôlées ayant reçu différents types de résidus organiques et fertilisant minéral à dose équivalente de P.

2.3.2. Couplage et découplage des trois facteurs

Afin de répondre à l'objectif principal, quatre études ont été menées au cours de la thèse, permettant chacune de coupler deux facteurs (type de sol, dose de P accumulé ou type de fertilisant) à deux critères (capacité de sorption, disponibilité ou phytodisponibilité) (Figure 6).

2.3.2.1. Etude 1 – Chapitre II

La première étude a pour but de distinguer les effets du **type de sol** et de la **dose de P accumulé** dans les sols par la fertilisation passée, sur la **capacité de sorption** et la **disponibilité en P du sol**, en termes de quantité et de formes (P inorganique ou P organique). Cette étude est basée sur cinq essais agronomiques de La Réunion correspondant à quatre types de sol (andosol, cambisol andique, nitisol, arenosol), ayant reçu des apports de résidus organiques ou de fertilisants minéraux pendant un à douze ans. Les variations du P total du sol depuis le début des essais (P résiduel) ont permis d'étudier l'effet de la dose de P accumulé par la fertilisation. Cette étude est présentée dans le chapitre II.

2.3.2.2. Etude 2 – Chapitre III.1

La seconde étude a pour but d'étudier les effets du **type de fertilisant** et de la **dose de P accumulé** dans les sols par la fertilisation passée, sur la **capacité de sorption** et la **disponibilité en P du sol**, en termes de quantité et de formes (Pi ou Po). L'hypothèse de cette étude est que l'effet du type de fertilisant sur la sorption et la disponibilité était majoritairement dû aux modifications du pH et de

carbone organique du sol. Cette étude est basée sur un essai agronomique menée sur un andosol de La Réunion, après six et dix ans d'apports de résidus organiques ou de phosphate soluble. Elle est présentée dans le chapitre III.1.

2.3.2.3. Etude 3 – Chapitre III.2

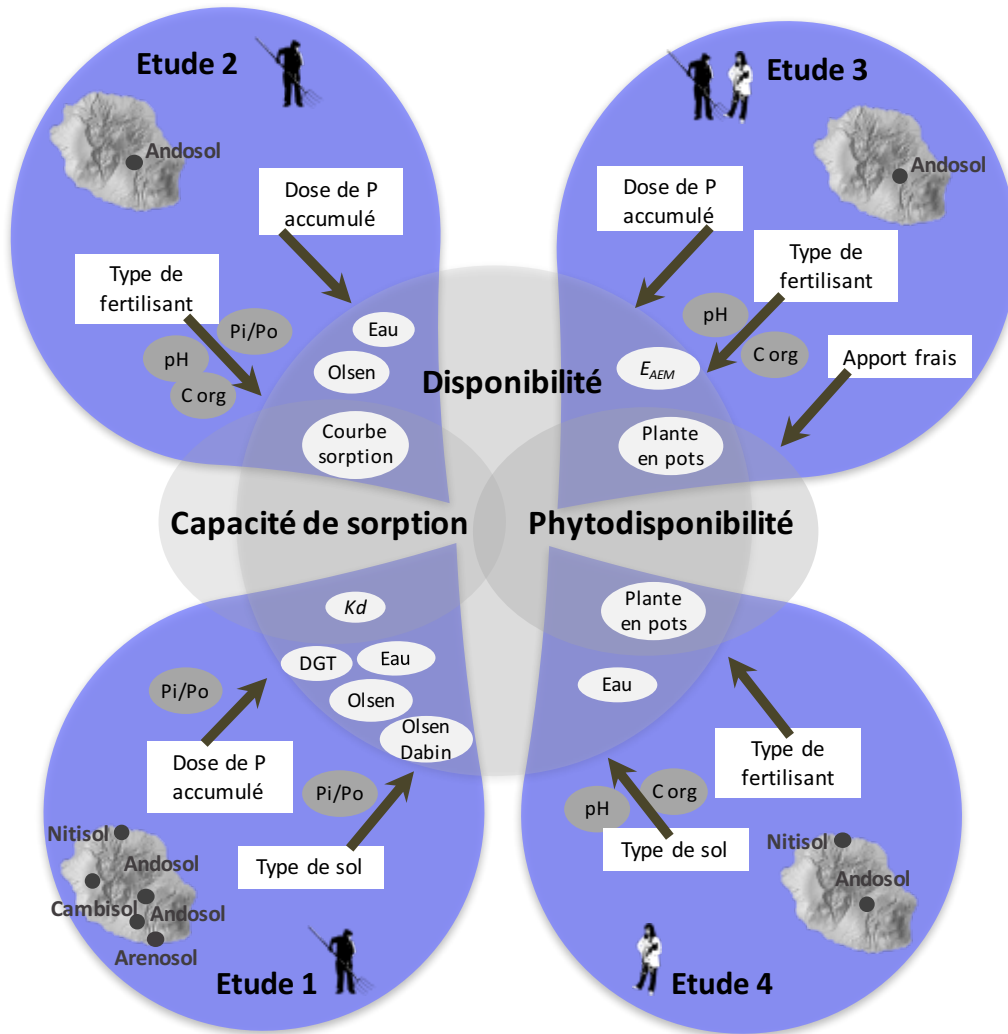
La troisième étude a deux objectifs. Le premier objectif est d'étudier les effets du **type de fertilisant** et de la **dose de P accumulé** dans les sols par la fertilisation passée, sur la **disponibilité** et la **phytodisponibilité en P du sol**. Cette étude est basée sur le même essai agronomique que l'étude 2, après douze ans d'apports de résidus organiques ou de fertilisant minéral. La phytodisponibilité a été étudiée en réalisant une expérimentation de croissance de plantes en pots sur les sols issus de l'essai. La mesure de disponibilité dans cette étude 3 a été déterminée avec un indicateur différent de celui utilisé dans l'étude 2 et permet ainsi de vérifier les résultats obtenus. Par ailleurs, la mesure du P disponible permet d'avoir une mesure intermédiaire entre le P résiduel du sol et le P phytodisponible.

Le second objectif de cette étude est d'étudier l'effet **d'un apport frais de fertilisant minéral** sur la **disponibilité** et la **phytodisponibilité du P dans le sol**, en fonction des modifications des propriétés du sol induites par les précédentes fertilisations. Une expérimentation de croissance de plantes en pots sur les sols issus de l'essai a donc également été réalisée avec un apport frais de phosphate soluble. Cette étude est présentée dans le chapitre III.2.




2.3.2.4. Etude 4 – Chapitre IV

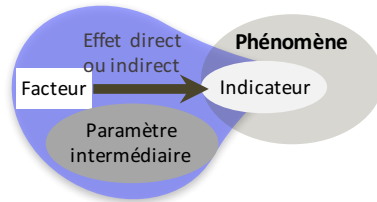
La quatrième étude a pour but d'étudier les effets du **type de sol** et du **type de fertilisant à dose équivalente de P apportée** sur la **disponibilité** et la **phytodisponibilité en P du sol**. Cette étude est basée sur des incubations successives en conditions contrôlées, avec des apports répétés de résidus organiques ou fertilisant minéral à dose équivalente de P. La phytodisponibilité a été étudiée en réalisant une expérimentation de croissance de plantes en pots sur les sols issus de ces incubations. Cette étude est présentée dans le chapitre IV.

Figure 6 Stratégie de recherche : quatre études couplage-découplage facteurs-phénomènes



Légende

-  Etude basée sur des essais en champ
-  Etude basée sur des expérimentations en conditions contrôlées
- Site de prélèvement  Type de sol étudié



- Eau** : extraction du P à l'eau pendant 24 h, ratio sol:liquide 1:10
- Olsen** : extraction du P avec la méthode Olsen
- Olsen Dabin** : extraction du P avec la méthode Olsen-Dabin
- DGT** : mesure du P avec la technique des DGT (diffusive gradients in thin films) avec 24 h d'exposition
- E_{AEM}** : dilution isotopique associée à des membranes échangeuses d'ions pendant 5 jours
- K_d** : coefficient de répartition du Pi entre la solution et la phase solide après 24 h d'échange
- C org** : carbone organique du sol
- Pi/Po** : proportion de phosphore inorganique et organique dans les pools disponibles du sol étudiés

2.3.3. Synthèse des effets des trois facteurs sur les trois phénomènes

L'effet d'un facteur sur un phénomène a été comparé entre les études. Cette comparaison a permis de confirmer l'effet observé, pouvant être mesuré avec différents indicateurs selon les études et de hiérarchiser l'importance relative des trois facteurs sur chacun des phénomènes. D'autre part, l'effet d'un facteur sur les trois phénomènes a été comparé entre les études. Ces comparaisons ont ainsi permis de déterminer les facteurs et les interactions ayant des effets majeurs sur la capacité de sorption, la disponibilité et la phytodisponibilité du P dans les sols étudiés. C'est à l'issue de cette synthèse que nous avons alors envisagé d'apporter des éléments de réponses aux perspectives opérationnelles concernant la gestion de la fertilisation des sols à La Réunion.

Références

- Abdala, D.B., da Silva, I.R., Vergütz, L. & Sparks, D.L. 2014. Long-term manure application effects on phosphorus speciation, kinetics and distribution in highly weathered agricultural soils. *Chemosphere*, 119, 504–514.
- Abdala, D.B., Ghosh, A.K., da Silva, I.R., de Novais, R.F. & Alvarez Venegas, V.H. 2012. Phosphorus saturation of a tropical soil and related P leaching caused by poultry litter addition. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 162, 15–23.
- Annaheim, K.E., Doolette, A.L., Smernik, R.J., Mayer, J., Oberson, A., Frossard, E. & Bünemann, E.K. 2015. Long-term addition of organic fertilizers has little effect on soil organic phosphorus as characterized by ³¹P NMR spectroscopy and enzyme additions. *Geoderma*, 257–258, 1–11.
- Association française de normalisation 2001. Soil quality. Dissolution for the determination of total element content. Part 1: Dissolution with hydrofluoric and perchloric acids. AFNOR Standard NF ISO 14869-1:2001. AFNOR, Paris.
- Bai, Z., Li, H., Yang, X., Zhou, B., Shi, X., Wang, B., Li, D., Shen, J., Chen, Q., Qin, W., Oenema, O. & Zhang, F. 2013. The critical soil P levels for crop yield, soil fertility and environmental safety in different soil types. *Plant and Soil*, 372, 27–37.
- Barrow, N.J. 1978. The description of phosphate adsorption curves. *Journal of Soil Science*, 29, 447–462.
- Barrow, N.J. 2008. The description of sorption curves. *European Journal of Soil Science*, 59, 900–910.
- Barrow, N.J. 2015. Soil phosphate chemistry and the P-sparing effect of previous phosphate applications. *Plant and Soil*, 397, 401–409.
- Barrow, N.J. 2017. The effects of pH on phosphate uptake from the soil. *Plant and Soil*, 410, 401–410.
- Barrow, N.J. & Debnath, A. 2014. Effect of phosphate status on the sorption and desorption properties of some soils of northern India. *Plant and Soil*, 378, 383–395.
- Beauchemin, S., Hesterberg, D., Chou, J., Beauchemin, M., Simard, R.R. & Sayers, D.E. 2003. Speciation of Phosphorus in Phosphorus-Enriched Agricultural Soils Using X-Ray Absorption Near-Edge Structure Spectroscopy and Chemical Fractionation. *Journal of Environment Quality*, 32, 1809–1819.
- Beauchemin, S. & Simard, R.R. 1999. Soil phosphorus saturation degree: Review of some indices and their suitability for P management in Québec, Canada. *Canadian Journal of Soil Science*, 79, 615–625.
- Berg, A.S. & Joern, B.C. 2006. Sorption dynamics of organic and inorganic phosphorus compounds in soil. *Journal of Environmental Quality*, 35, 1855–1862.
- Bünemann, E.K., Marschner, P., McNeill, A. & McLaughlin, M. 2007. Measuring rates of gross and net mineralisation of organic phosphorus in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 900–913.
- Bünemann, E.K., Oberson, A., Liebisch, F., Keller, F., Annaheim, K.E., Huguenin-Elie, O. & Frossard, E. 2012. Rapid microbial phosphorus immobilization dominates gross phosphorus fluxes in a grassland soil with low inorganic phosphorus availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 51, 84–95.
- Bünemann, E.K., Augstburger, S. & Frossard, E. 2016. Dominance of either physicochemical or biological phosphorus cycling processes in temperate forest soils of contrasting phosphate availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 101, 85–95.
- Criquet, S., Braud, A. & Nèble, S. 2007. Short-term effects of sewage sludge application on phosphatase activities and available P fractions in Mediterranean soils. *Soil Biol. Soil Biology and Biochemistry*, 39, 921–929
- Cross, A. F. & Schlesinger, W.H. 1995. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma*, 64, 197–214.

- Darch, T., Blackwell, M.S., Hawkins, J.M.B., Haygarth, P.M. & Chadwick, D. 2014. A Meta-Analysis of Organic and Inorganic Phosphorus in Organic Fertilizers, Soils, and Water: Implications for Water Quality. *Environmental Science and Technology*, 44, 2172–2202.
- Doolette, A.L & Smernik, R.J. 2010. Soil organic phosphorus speciation using spectroscopic techniques. In: Bünemann E, Oberson A, Frossard E (eds) Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling, vol 26, Soil Biology. Springer, Berlin, pp 59–91
- Erich, M.S., Fitzgerald, C.B. & Porter, G.A. 2002. The effect of organic amendments on phosphorus chemistry in a potato cropping system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 88, 79-88.
- Esco Mafor 2014^a. Valorisation des matières fertilisantes d'origine résiduaire sur les sols à usage agricole ou forestier. Chapitre III : effets agronomiques attendus de l'épandage des Mafor sur les écosystèmes agricoles et forestiers. 196p.
- Esco Mafor 2014^b. Valorisation des matières fertilisantes d'origine résiduaire sur les sols à usage agricole ou forestier. Chapitre II : caractéristiques physico-chimiques et biologiques des Mafor. 386p.
- Fardeau, J.-C. 2015. Des indicateurs de la fertilité des sols. *Etude et Gestion des Sols*, 22, 77–100.
- Fardeau, J., Morel, C. & Boniface, R. 1991. Cinétiques de transfert des ions phosphate du sol vers la solution du sol : paramètres caractéristiques. *Agronomie*, 11, 787–797.
- Gahoonia, T. & Nielsen, N.E. 1992. The effects of root-induced pH changes on the depletion of inorganic and organic phosphorus in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 143, 185–191.
- George, T.S., Fransson, A-M., Hammond, J.P. & White, F.J. 2010. Phosphorus nutrition: rhizosphere processes, plant respond and adaptation. In: Bünemann E, Oberson A, Frossard E (eds) Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling, vol 26, Soil Biology. Springer, Berlin, pp 59–91
- Gérard, F. 2016. Clay minerals, iron/aluminum oxides, and their contribution to phosphate sorption in soils — A myth revisited. *Geoderma*, 262, 213–226.
- Guivarch, A. 2001. Valeur fertilisante phosphatée des boues de stations d'épuration urbaine. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine. Sciences Agronomiques. 306p.
- Harmsen, J. 2007. Measuring bioavailability: from a scientific approach to standard methods. *Journal of Environmental Quality*, 36, 1420–8.
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil*, 237, 173–195.
- Hinsinger, P., Brauman, A., Devau, N., Gérard, F., Jourdan, C., Laclau, J.-P., Le Cadre, E., Jaillard, B. & Plassard, C. 2011. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant and Soil*, 348, 29–61.
- Huang, X.-L., Chen, Y. & Shenker, M. 2011. Dynamics of phosphorus phytoavailability in soil amended with stabilized sewage sludge materials. *Geoderma*, 170, 144–153.
- Jones, D.L., Oburger, E. 2010. Solubilization of phosphorus by soil microorganisms. In: Bünemann E, Oberson A, Frossard E (eds) Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling, vol 26, Soil Biology. Springer, Berlin, pp 59–91
- Kruse, J., Abraham, M., Amelung, W., Baum, C., Bol, R., Kühn, O., Lewandowski, H., Niederberger, J., Oelmann, Y., Rüger, C., Santner, J., Siebers, M., Siebers, N., Spohn, M., Vestergren, J., Vogts, A. & Leinweber, P. 2015. Innovative methods in soil phosphorus research: A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 178, 43–88.
- Levard, C., Doelsch, E., Basile-Doelsch, I., Abidin, Z., Miche, H., Masion, A., Rose, J., Borschneck, D. & Bottero, J.Y. 2012. Structure and distribution of allophanes, imogolite and proto-imogolite in volcanic soils. *Geoderma*, 183–184, 100–108.

- Mäder, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P. & Niggli, U. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, 296, 1694–1697.
- Mason, S., Hamon, R., Nolan, A., Zhang, H. & Davison, W. 2005. Performance of a mixed binding layer for measuring anions and cations in a single assay using the diffusive gradients in thin films technique. *Analytical Chemistry*, 77, 6339–46.
- McLaughlin, M.J., McBeath, T.M., Smernik, R., Stacey, S.P., Ajiboye, B. & Guppy, C. 2011. The chemical nature of P accumulation in agricultural soils—implications for fertiliser management and design: an Australian perspective. *Plant and Soil*, 349, 69–87.
- Messiga, A.J., Ziadi, N., Mollier, A., Parent, L.-E., Schneider, A. & Morel, C. 2012. Process-based mass-balance modeling of soil phosphorus availability: Testing different scenarios in a long-term maize monoculture. *Geoderma*, 243–244, 41–49.
- Morel, C. & Fardeau, J.C. 1987. Le phosphore assimilable des sols intertropicaux : ses relations avec le phosphore extrait par deux méthodes chimiques. *L'Agronomie Tropicale*, 42, 248–257.
- Morel, C. & Fardeau, J.C. 1991. Phosphorus bioavailability of fertilizers: a predictive laboratory method for its evaluation. *Fertilizer Research*, 28, 1–9.
- Morel, C., Ziadi, N., Messiga, A., Bélanger, G., Denoroy, P., Jeangros, B., Jouany, C., Fardeau, J.-C., Mollier, A., Parent, L.-E., Proix, N., Rabeharisoa, L. & Sinaj, S. 2014. Modeling of phosphorus dynamics in contrasting agroecosystems using long-term field experiments. *Canadian Journal of Soil Science*, 94, 377–387.
- Morel, & Fardeau. 1989. Native soil and fresh fertilizer phosphorus uptake as affected by rate of application and P fertilizers. *Plant and Soil*, 115, 123–128.
- Motavalli, P.P. & Miles, R.J. 2002. Inorganic and Organic Soil Phosphorus Fractions after Long-Term Animal Manure and Fertilizer Applications. *Better Crops*, 86, 20–23.
- Munhoz, R.D.O., Berton, R.S. & Camargo, O.A. 2011. Phosphorus Sorption and Redistribution on Soil Solid Phase in a Brazilian Haplorthox Amended with Biosolids. *Applied and Environmental Soil Science*, 2011, 1–7.
- Negassa, W. & Leinweber, P. 2009. How does the hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172, 305–325.
- Oehl, F., Frossard, E., Fliessbach, A., Dubois, D. & Oberson, A. 2004. Basal organic phosphorus mineralization in soils under different farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 667–675.
- Saunders, W.M.H. & Williams, E.G. 1955. Observations on the determination of total organic phosphorus in soils. *Journal of Soil Science*, 6, 254–267.
- Schoumans, O.F., Chardon, W.J., Bechmann, M.E., Gascuel-Oudou, C., Hofman, G., Kronvang, B. & Dorioz, J.M. 2014. Mitigation options to reduce phosphorus losses from the agricultural sector and improve surface water quality: a review. *The Science of the Total Environment*, 468-469, 1255–66.
- Shafqat, M.N. & Pierzynski, G.M. 2013. Soil test phosphorus dynamics in animal waste amended soils: using P mass balance approach. *Chemosphere*, 90, 691–8.
- Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X. & Zhang, F. 2011. Phosphorus dynamics: from soil to plant. *Plant Physiology*, 156, 997–1005.
- Six, L., Pypers, P., Degryse, F., Smolders, E. & Merckx, R. 2012. The performance of DGT versus conventional soil phosphorus tests in tropical soils - An isotope dilution study. *Plant and Soil*, 359, 267–279.
- Syers J.K., Johnston A.E. & Curtin D. 2008. Efficiency of Soil and Fertilizer Phosphorus Use. *FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin* 18. FAO, Rome.
- Toor, G.S., Hunger, S., Peak, J.D., Sims, J.T. & Sparks, D.L. 2006. Advances in the characterization of phosphorus in organic wastes: environmental and agronomic applications. *Advances in Agronomy*, 89, 1–72.

- Tran, T. Sen, & N'dayegamiye, A. 1995. Long-term effects of fertilizers and manure application on the forms and availability of soil phosphorus. *Canadian Journal of Soil Science*, 75, 281–285.
- Turner, B.L. & Leytem, A.B. 2004. Phosphorus compounds in sequential extracts of animal manures: chemical speciation and a novel fractionation procedure. *Environmental Science and Technology*, 38, 6101–6108.
- Van Moorlegghem, C., Six, L., Degryse, F., Smolders, E. & Merckx, R. 2011. Effect of Organic P Forms and P Present in Inorganic Colloids on the Determination of Dissolved P in Environmental Samples by the Diffusive Gradient in Thin Films Technique, Ion Chromatography, and Colorimetry. *Analytical Chemistry*, 83, 5317–5323.
- Vanden Nest, T., Ruyschaert, G., Vandecasteele, B., Houot, S., Baken, S., Smolders, E., Cougnon, M., Reheul, D. & Merckx, R. 2016. The long-term use of farmyard manure and compost: Effects on P availability, orthophosphate sorption strength and P leaching. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 216, 23–33.
- Ziadi, N., Whalen, J.K., Messiga, A.J. & Morel, C. 2013. Assessment and modeling of soil available phosphorus in sustainable cropping systems. *Advances in Agronomy*, 122, 85-126.

II. Effets du type de sol et de la dose de phosphore apportée par les précédentes fertilisations sur la capacité de sorption et la disponibilité du phosphore

L'apport de phosphore (P) avec la fertilisation augmente la teneur en P disponible du sol. L'augmentation de P disponible induite peut dépendre du type de sol, notamment de sa capacité de sorption vis-à-vis du P (Bai et al., 2013). Les types de sols de la Réunion sont connus pour avoir des capacités de sorption différentes (Truong et al., 1974). Néanmoins, très peu d'informations concernant la capacité de sorption et la disponibilité du P dans les sols de La Réunion sont disponibles. Il était donc nécessaire de déterminer dans une première étude si l'effet de l'apport de P avec la fertilisation est équivalent dans tous les types de sols de l'île, et si tel n'est pas le cas, de déterminer l'importance relative sur la disponibilité de P de la dose de P apporté avec la fertilisation par rapport aux propriétés de types de sol contrastés, comme la capacité de sorption.

L'effet de la fertilisation en P sur la disponibilité du P dans le sol est généralement visible à long-terme. Nous avons donc choisi de réaliser cette première étude à partir des plus anciens essais de l'île dédiés à la fertilisation et permettant de recouvrir les principaux types de sols réunionnais. Cette étude est ainsi basée sur cinq essais agronomiques correspondant à quatre types de sol (andosol, cambisol andique, nitisol et arenosol) recouvrant la gamme d'évolution des sols rencontrés sur l'île. Dans ces essais, les sols ont reçu des apports ou non de résidus organiques ou de fertilisants minéraux pendant un à douze ans. Les variations du P total du sol depuis le début des essais (P résiduel) ont permis d'étudier l'effet de la dose de P apportée avec la fertilisation.

L'étude présentée dans ce chapitre II a été soumise à la revue *Soil Use and Management*.

Phosphorus sorption capacity and availability along a toposequence of agricultural soils: distinct effects of soil type and decadal fertilization practices

C. M. Nobile^{1, 2}, M. N. Bravin¹, E. Tillard³, T. Becquer⁴ & J.-M. Paillat⁵

¹CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-97743 Saint-Denis, Réunion, France

²VEOLIA-eau, Saint-Denis, Réunion, France

³CIRAD, UMR SELMET, F-97410 Saint-Pierre, Réunion, France

⁴IRD, UMR Eco&Sols, CIRAD-INRA-SupAgro, F-34060 Montpellier, France

⁵CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-34398 Montpellier, France

Abstract

Soil type and long-term fertilization are each known to alter phosphorus (P) availability, but it is generally hard to differentiate their respective effects. We thus studied the interaction between soil type and fertilization to distinguish their effects on the available P content and proportion of inorganic P (Pi) versus organic P (Po as total P minus Pi). We conducted five decadal mineral and organic fertilization field trials along a toposequence (two andosols, one andic cambisol, one nitisol, and one arenosol). The effect of the fertilization rate was studied according to variations in soil total P (residual P). Phosphorus availability was determined by water (Pi-water), Olsen (Pi-Olsen), and Olsen-Dabin (Pi-Olsen-Dabin) extraction and by the diffusive gradients in thin films technique (Pi-DGT). The solid-solution Pi (*K_d*) partitioning coefficient based on radiolabelled isotopic dilution over 24 h was performed to assess the soil Pi sorption capacity. *K_d* decreased along the toposequence and with increasing pH induced by fertilization, showing that the Pi sorption capacity changed with the soil type and fertilization. Content of Pi-Olsen and Pi-Olsen-Dabin changed mainly with the fertilization rate. By contrast, Pi-DGT and Pi-water changed with the soil type and fertilization. The proportion of Pi versus Po markedly differed between soil types, especially in DGT eluates. The proportion of Pi increased with residual P, suggesting that mineral or organic fertilization favored available Pi. Our study suggests that long-term P fertilization could account for the specific properties of soils exhibiting different Pi sorption capacities, to increase readily available Pi.

Keywords: soil P tests, P forms, long-term, fertilizer, P budget, adsorption

1. Introduction

Designing cropping systems that optimize crop yield and minimize environmental impacts is a major challenge in agriculture. Fertilization practices must therefore meet crop nutrient requirements, while preserving natural mineral resources and avoiding soil, air, and water pollution. Fertilizer applications are usually based on crop nitrogen requirements, while overlooking phosphorus (P) requirements. The quantity of P applied to crop soils often exceeds the plant P uptake quantity (Schoumans et al., 2014). This excess P, hereafter referred to as residual P, cumulates in soil over time with repeated fertilization and thus gradually increases the total soil P content. The resulting extent of P availability in soil is still, however, a matter of debate. While it is often argued that the effectiveness of inorganic P (Pi) fertilization declines over time because of increasing Pi fixation to the soil solid phase, Barrow (2015) suggested that repeated Pi fertilization could decrease the soil Pi buffering capacity, thereby maintaining part of the residual P in available forms.

Available P includes phosphate in the soil solution that can be directly taken up by plant roots, Pi in the soil solid phase that replenishes phosphate in soil solution depleted by plant uptake, and the fraction of organic P (Po) that can be mineralized into phosphate (Ziadi et al. 2013). Sorption processes mainly drive phosphate resupply in the solution and thus the available Pi content (Gérard 2016). Consequently, Pi is often desorbed from the soil solid phase by chemical extraction to assess available Pi. Although Po sorbed to the solid phase can be protected against enzyme-mediated mineralization (Giaveno et al. 2010), Po in solution is usually more easily mineralized into phosphate (Oehl et al. 2004) and may thus contribute to P availability. However, the extent of Po contribution to available P is not as well known as it is for Pi

A pedogenetically-derived soil type may have a different available P content and proportion of Pi versus Po (hereafter referred to as the percentage of Pi, i.e. %Pi). Physical-chemical properties related to the soil type, such as pH, texture and mineral nature, affect the available P content (Ziadi et al. 2013). Data related to variations in %Pi in available pools as a function of the soil type are scarce and contradictory. Cross and Schlesinger (1995) showed that %Pi in available pools of distinct soil types tended to decrease with soil evolution. More recently, Darch et al. (2014) reviewed %Pi in a meta-analysis, but did not show any clustering as a function of soil types. We hypothesize that this lack of clustering could be explained by the presence of confounding factors that are known to substantially affect %Pi, and particularly by the concomitant effect of the fertilization history.

Long-term fertilization may change the available P and %Pi content in soil. The rate of long-term fertilization mainly dictates the available P content (Morel et al. 2014). The effect of long-term fertilization of %Pi is, however, still a matter of debate. Although some studies have shown that long-term organic fertilization increases the available Pi and Po content, others have failed to reveal any change in the available Po content while the available Pi content was higher (McLaughlin et al. 2011; Negassa and Leinweber, 2009). These mixed results could be mainly due to the contrasted effects of

fertilization practices on different soil types, which is known to complicate the understanding of the main drivers of P availability and %Pi in soils (Stutter et al. 2015).

We thus studied the interaction between the soil type and long-term fertilization to differentiate their respective effects on the available P and %Pi content. As recommended by Huang et al. (2017), our investigation was based on five decadal P fertilization (mineral and organic) field trials along a toposequence of four soil types.

2. Materials and methods

2.1. Soil and field trial characteristics

The five field trials investigated were located on the French volcanic island of Réunion in the Indian Ocean (55°30'E, 21°05'S). Réunion has a diverse range of climatic (500-10 000 mm/year of precipitation; 10-28°C annual average temperature) and geographical (steep slopes) conditions (Météo-France, 2017) that have favored substantial pedological diversity. The five field trials were thus conducted in soils of four reference soil groups (hereafter called soil types): andosol (two sites), andic cambisol (hereafter called cambisol), nitisol, and arenosol (WRB, 2014). The two andosols, cambisol and nitisol were developed from the underlying volcanic parent rock and distributed along an elevation gradient ranging from 1600 to 70 m above sea level (asl), which corresponds to the usual pedogenic chronosequence with the youngest soils at the top and the oldest at the bottom (Feder, 2013). The arenosol (20 m asl) was developed on recent deposits of detritic volcanic materials in the alluvial cone of a main watercourse outlet. The selected sequence of andosols, cambisol, nitisol, and arenosol can thus be considered as a typical soil toposequence in the western coastal region of Réunion.

The two andosols and arenosol were under grassland cover. Plots were arranged in a randomized block design with three replicates, and were either not fertilized or fertilized with soft rock phosphate (75% soluble fraction in 2% formic acid), dairy slurry, or dairy manure compost (Tables S1 and S2). The accumulation of soil total P, i.e. residual P, since the beginning of the field trials over 9 years ranged from -195 to 750 mg kg⁻¹ in andosol 1, from -140 to 870 mg kg⁻¹ in andosol 2, and from -3 to 540 mg kg⁻¹ in arenosol. The cambisol was cultivated with market garden crops. The plots were arranged in a randomized block design with three replicates, and were fertilized with superphosphate (90% water soluble), solid fraction of pig slurry compost, or poultry litter compost (Tables S3 and S4). Residual P over 12 years ranged from 0 to 3010 mg kg⁻¹. The nitisol was cropped with sugarcane. Plots were arranged in a randomized block design with five replicates, and were either not fertilized or fertilized with soft rock phosphate (75% soluble fraction in 2% formic acid), pig slurry, sewage sludge or poultry litter compost (Tables S5 and S6). Residual P over 1 year ranged from -160 to 215 mg kg⁻¹.

Soils were sampled once a year in the topsoil layer for trials without tillage, i.e. between 0-15 cm for the two andosols and the arenosol, and between 0-10 cm for the nitisol, and in the plough layer

(between 0-30 cm) for the cambisol. To maximize fertilization rate variability, 46 soil samples (hereafter referred to as soil) were selected as follows: 10 for each andosol, 10 for the arenosol (Table S2), 10 for the cambisol (Table S4), and 6 for the nitisol (Table S6). Soils were air-dried and sieved at 2 mm. Soil physicochemical properties were determined in a routine soil testing laboratory (CIRAD, US Analyses) according to French and international standardized procedures. The main soil characteristics before fertilization and minimum and maximum values after fertilization are summed up in Table 1.

Table 1 Soil parameters at the beginning of the trial and after decadal organic or mineral fertilization (minimum and maximum values).

Units		Andosol 1	Andosol 2	Andic cambisol	Nitisol	Arenosol
Altitude	m asl*	1600	1000	800	70	20
pH ^a	before trial	5.8	5.9	5.5	6.1	6.7
	min	4.8	4.6	5.3	6.0	5.3
	max	6.6	5.9	7.0	6.4	7.0
C org ^b	g kg ⁻¹					
	before trial	123	126	38	21	10
	min	106	125	30	20	10
	max	128	137	38	23	20
P total ^c	g kg ⁻¹					
	before trial	3.03	2.39	2.83	1.99	1.93
	min	2.90	2.23	2.83	1.83	1.92
	max	3.81	3.26	5.83	2.20	2.47
Kd ^d	L kg ⁻¹					
	before trial	2349	1182	5719	781	100
	min	1292	1182	400	634	22
	max	4104	6298	5719	1221	431

*above sea level

^a Soil:liquid ratio 1:5

^b ISO 10694

^c ISO 14869-1

^d Solid-solution partitioning coefficient of inorganic phosphorus in soil (see eq. 2)

2.2. Determination of available phosphorus in soils

Water extraction was performed by shaking 1:10 soil:liquid mixtures with toluene (biocide that inhibits microbial activity) for 24 h in an end-over-end shaker (Morel et al. 2014). The supernatant was recovered by centrifugation at 3 500 *g* for 5 min and filtration at 0.2 μm (Minisart, Sartorius). Water extraction is considered as a proxy of soil solution inorganic P (Pi) measured at a steady state of Pi exchange between the solid phase and soil solution. Olsen extraction (0.5 M NaHCO₃ at pH 8.5) was performed by shaking the 1:20 soil:liquid mixtures for 30 min in an end-over-end shaker. Olsen

extraction is based on the exchange between carbonate and Pi on soil surfaces (Olsen et al. 1954). Olsen-Dabin extraction (0.5 M NaHCO₃ and 0.5 M NH₄F at pH 8.5) was performed by shaking the 1:35 soil:liquid mixtures for 1 h in an end-over-end shaker. Ammonium fluoride (NH₄F) is commonly used in tropical soils because it enhances P release from Al-bound P and thus enables higher analytical recovery of P (Houmane et al. 1986). Olsen and Olsen-Dabin extraction supernatants were recovered by centrifugation at 3 500 x g for 5 min and filtration at 0.45 µm (hardened ashless filtration paper, 541 grade, Whatman).

The diffusive gradient in thin films (DGT) method was performed with devices equipped with a Fe-oxide resin gel and an open pore diffusive gel obtained from DGT Research Ltd (www.dgtresearch.com). Soils were moistened to their water holding capacity and incubated at 25°C for 24 h. The DGT device was then deployed on the soil surface for 24 h. The Fe-oxide gel was then recovered and eluted in 1 mL of 1 M HCl (Six et al. 2012). The DGT method reflects the ability of the soil solid phase to re-supply solution P due to the continuous diffusion of P induced by the Fe-oxide of the DGT device (Degryse et al. 2009). The DGT-available P content was calculated as the time-averaged concentration of P in solution at the DGT-soil interface according to Menezes-Blackburn et al. (2016).

Water, Olsen and Olsen-Dabin extraction, as well as the DGT method were replicated twice on the 46 soils and a third time when the coefficient of variation exceeded 10%. The P concentration was determined colorimetrically using the malachite green method (Rao et al. 1997) in water extract, Olsen extract and DGT eluate, and with the molybdate-ascorbic acid method (Murphy and Riley 1962) in Olsen-Dabin extract. The P concentration was also determined by inductively coupled plasma–mass spectrometry (ICP-MS; Q-ICP-MS X Series II+CCTM; Thermo Fischer) in Olsen extract, Olsen-Dabin extract and in DGT eluate. The ICP-MS determination quality was validated using the certified reference material SLRS-6. According to Van Moorlehem et al. (2011), we considered colorimetrically-measured P as Pi and the difference between total P and colorimetrically-measured P as Po. Olsen and Olsen-Dabin extraction data were expressed in mg kg⁻¹ soil, DGT data in mg kg⁻¹, and water extraction data in mg kg⁻¹, or in mg kg⁻¹ for comparison with the DGT method.

2.3. Determination of the solid-solution soil-born inorganic phosphorus partitioning coefficient

Mixtures of 1:10 soil:water with toluene were shaken for 16 h for pre-equilibration, then radio-labeled phosphate (³²PO₄) at 7 MBq was added. The radio-labelled mixtures were shaken for 24 h in a horizontal shaker and the supernatant was recovered by centrifugation at 3 500 x g and filtration at 0.2 µm (Minisart, Sartorius). The radioactivity remaining in 24 h solutions was measured with a β-counter (Packard 2500TR). The exchangeable Pi content after 24 h (*Pr* in mg kg⁻¹) was calculated according to Fardeau (1993):

$$Pr = \frac{R-r}{r} \times \frac{L}{S} Cp \quad \text{Eq. (1)}$$

Where R is the radioactivity introduced (in Bq), r the radioactivity remaining in solution after 24 h (in Bq), L the water volume (in L), S the soil mass (in kg), and C_p the Pi concentration in solution (in mg L⁻¹).

The solid-solution Pi partitioning coefficient in soil after 24 h of exchange (K_d in L kg⁻¹) was then calculated according to Maertens et al. (2004):

$$K_d = Pr/C_p = \frac{R-r}{r} * L/S \quad \text{Eq. (2)}$$

2.4. Data processing and analysis

Data were classified by soil type or represented as a function of soil organic carbon in order to analyze the effect of the soil type on the K_d and Pi concentration and %Pi in water, Olsen, and Olsen-Dabin extraction, and DGT measurements (see Results and Discussion for rationale). To analyze the fertilization effect, data were represented as a function of soil residual P, i.e. the variations of soil total P since the beginning of the field trials, or as a function of soil pH (see Results and Discussion for rationale).

Data were statistically analyzed with the R package (R Core team, 2013). A Kruskal-Wallis test followed by a Dunn test of multiple comparisons using ranked sums revealed significant differences ($p \leq 0.05$) between soil types. Relationships between data (log-transformed when necessary) were fitted with linear regressions, and significance ($p \leq 0.05$) was determined by analysis of variance using the Fisher test.

3. Results and Discussion

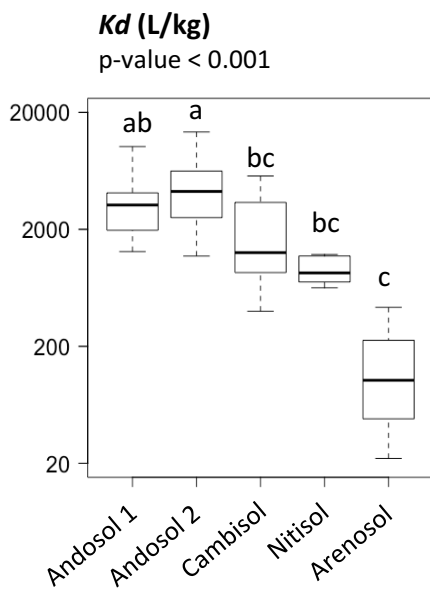
3.1. Inorganic phosphorus sorption capacity changes along the soil toposequence and with decadal fertilization

The solid-solution Pi partitioning coefficient significantly decreased from the andosols to the arenosol (Figure 1). The median K_d was 3231, 4219, 1266, 848, and 103 L kg⁻¹, respectively, in andosol 1, andosol 2, the cambisol, nitisol and arenosol. Truong et al. (1974) and Feder and Bourgeon (2009) previously showed that the Pi sorption capacity of soils decrease from the top to the bottom in Réunion. While including the arenosol, our study confirmed the Pi sorption capacity gradient along the soil toposequence in Réunion.

The solid-solution Pi partitioning coefficient decreased with the organic carbon content along the soil toposequence (Figure 2a). The organic carbon content and K_d were highest in the two andosols and then decreased along the toposequence to the arenosol. K_d is a surrogate of the Pi sorption capacity, which is known to be very high in the soil andic horizon due to the presence of poorly ordered aluminosilicates such as proto-imogolite (Parfitt 1989; Levard et al. 2012). Pedogenesis in Réunion is concomitantly

characterized by the degradation of a substantial proportion of organic matter and by the weathering of poorly ordered aluminosilicates and subsequent phyllosilicate formation (Feder and Bourgeon, 2009). These findings suggest that the relationship between the organic matter content and Pi sorption capacity we observed along the soil toposequence is driven by pedogenetically-derived soil properties but not by decadal fertilization.

Figure 1 Solid-solution partitioning coefficient of inorganic phosphorus (K_d , see equation 2) in the soils of five field trials with four soil types. Upper and lower bars are maximum and minimum values; limits of the box plot are upper/lower quartile; median is represented in bold. Values of soils with different letters are statistically different at the 0.05 level.

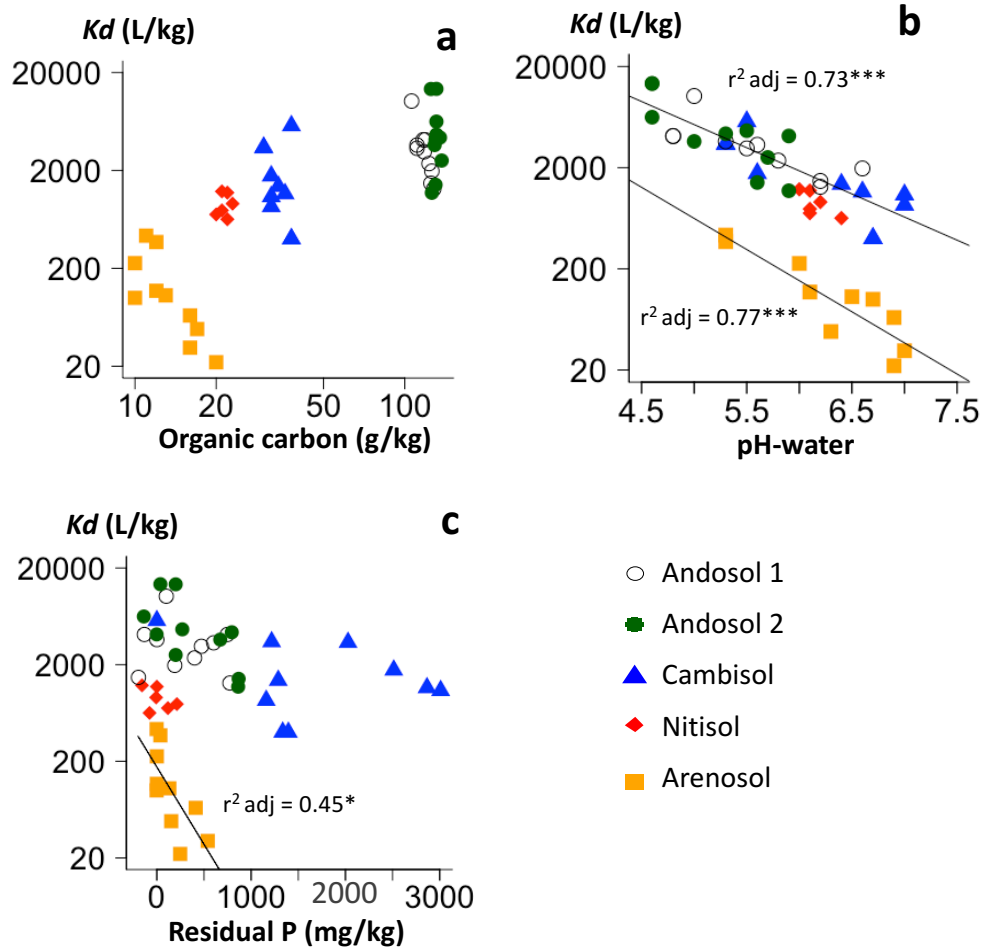


The solid-solution Pi partitioning coefficient decreased significantly and linearly with soil pH (Figure 2b). This is in line with the findings of previous studies where the Pi sorption capacity of soils decreased with soil pH (Barrow, 2017). In the field trials we investigated, soil pH was affected by decadal organic or mineral fertilization, which led to a wide range of pH values around that measured at the beginning of each trial (Table 1 and Tables S2, S4, and S6). This suggests that the relationship between pH and Pi sorption capacity is mainly driven by decadal fertilization rather than by soil properties mediated by pedogenesis.

The solid-solution Pi partitioning coefficient significantly decreased with the increase in residual P in the arenosol, while K_d was not correlated with residual P in the four other soils (Figure 2c). Repeat Pi fertilizer applications are usually considered to induce a decrease in the Pi buffering capacity of the soil solid phase (Barrow, 2015). Since K_d is a surrogate of the Pi buffering capacity, it is understandable that the Pi sorption capacity of the arenosol, which exhibited the lowest K_d range among the five soils in the

toposequence, was affected by decadal fertilization, while the Pi sorption capacity of the four other soils, which exhibited an up to 28-fold higher K_d , was not.

Figure 2 Solid-solution partitioning coefficient of inorganic phosphorus (K_d , see equation 2) as a function of soil organic carbon (a), soil pH-water (b), or residual P (c), in the soils of five field trials that received organic or mineral fertilizer at different application rates. Solid lines represent the regression fits, *** p-value < 0.001, * p-value < 0.05.

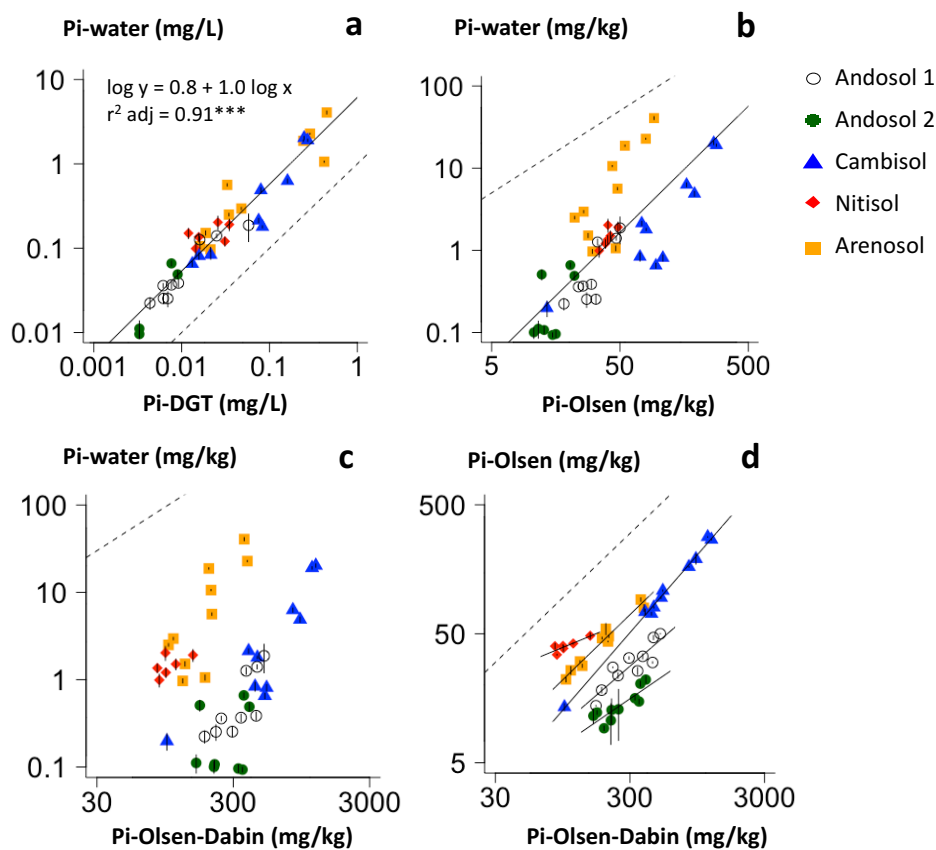


3.2. Water extraction and DGT measurement target readily available inorganic phosphorus, while Olsen and Olsen-Dabin target moderately and poorly available inorganic phosphorus

Water-extracted Pi was closely ($r^2_{adj} = 0.91$) and linearly correlated with Pi-DGT when expressed on a log-log scale (Figure 3a). Menzies et al. (2005) similarly found a close logarithmic relationship between Pi-DGT and Pi in soil solution ($r^2 = 0.81$). Menezes-Blackburn et al. (2016) found a significant but weaker

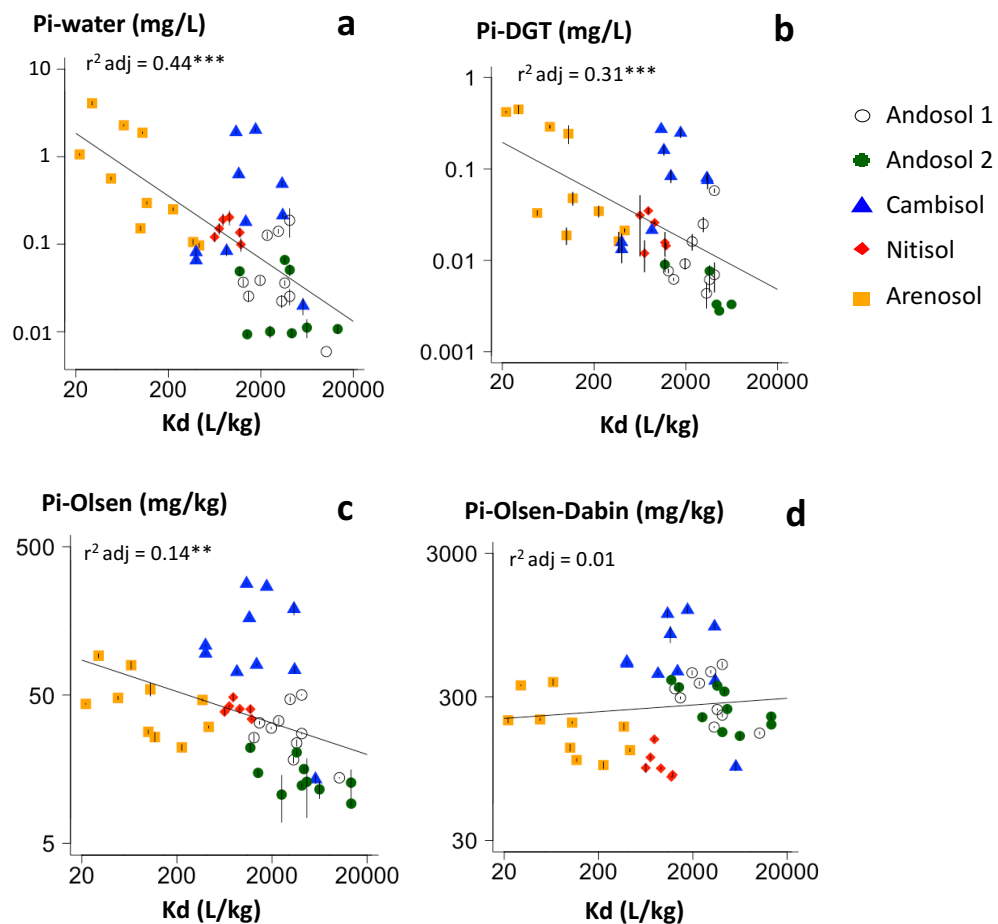
correlation between Pi-DGT and Pi-water (r^2 adj = 0.62) than the correlation we found, likely because of the narrower Pi-DGT and Pi-water ranges they investigated. The Pi-water vs. Pi-DGT linear regression replotted from the dataset of Menezes-Blackburn et al. (2016) interestingly exhibits parameters very similar to those we found (see Figure 3a), with the slope and intercept being 1.1 and 0.8, respectively (not shown). This suggests that Pi-DGT is directly proportional to the Pi concentration in soil solution, regardless of the soil investigated during the first 24 h of deployment, despite the average 85% depletion of soil solution Pi at the soil-DGT interface. The DGT method with 24 h deployment could thus be used for water extraction to readily determine available Pi in soils.

Figure 3 Log-log relationships between inorganic phosphorus determined by water extraction (Pi-water) and by the diffusive gradients in thin films technique (Pi-DGT) both expressed in mg L^{-1} (a), Pi-water and Pi determined by Olsen extraction (Pi-Olsen) both in mg kg^{-1} (b), Pi-water and Pi determined by Olsen-Dabin extraction (Pi-Olsen-Dabin) both in mg kg^{-1} (c), or Pi-Olsen and Pi-Olsen-Dabin both in mg kg^{-1} (d), in the soils of five field trials that received mineral and organic fertilizer at different application rates. The solid line represents the regression fit, *** p-value < 0.001; dotted line represents the 1:1 line.



Water-extracted Pi and Pi-DGT were moderately correlated with Pi-Olsen ($r^2 \text{ adj} \leq 0.60$; Figures 3b and S1a) and poorly correlated with Pi-Olsen-Dabin ($r^2 \text{ adj} \leq 0.10$; Figures 3c and S1b). Olsen-extracted Pi was closely ($r^2 \text{ adj} = 0.69 - 0.99$) and linearly correlated with Pi-Olsen-Dabin when considering the five soil types separately (Figure 3d). Water-extracted Pi exhibited lower values than Pi-Olsen (Figure 3b) and much lower values than Pi-Olsen-Dabin (Figure 3c). In addition, K_d accounted for 30 to 45% of the Pi-water and Pi-DGT variability in the five soil types (Figure 4a and 4b), while K_d accounted for less than 15% of the Pi-Olsen and Pi-Olsen-Dabin variability (Figure 4c and d). In agreement with our results, Morel and Fardeau (1987) showed that 50 – 100% of Pi-Olsen and only 7 - 54% of Pi-Olsen-Dabin corresponded to exchangeable Pi in the solid phase of 21 tropical soils as assessed by isotopic dilution. These results consistently suggest that, in comparison to Pi-water and Pi-DGT which target the readily available Pi, Pi-Olsen and Pi-Olsen-Dabin target moderately and poorly available Pi in soils, respectively.

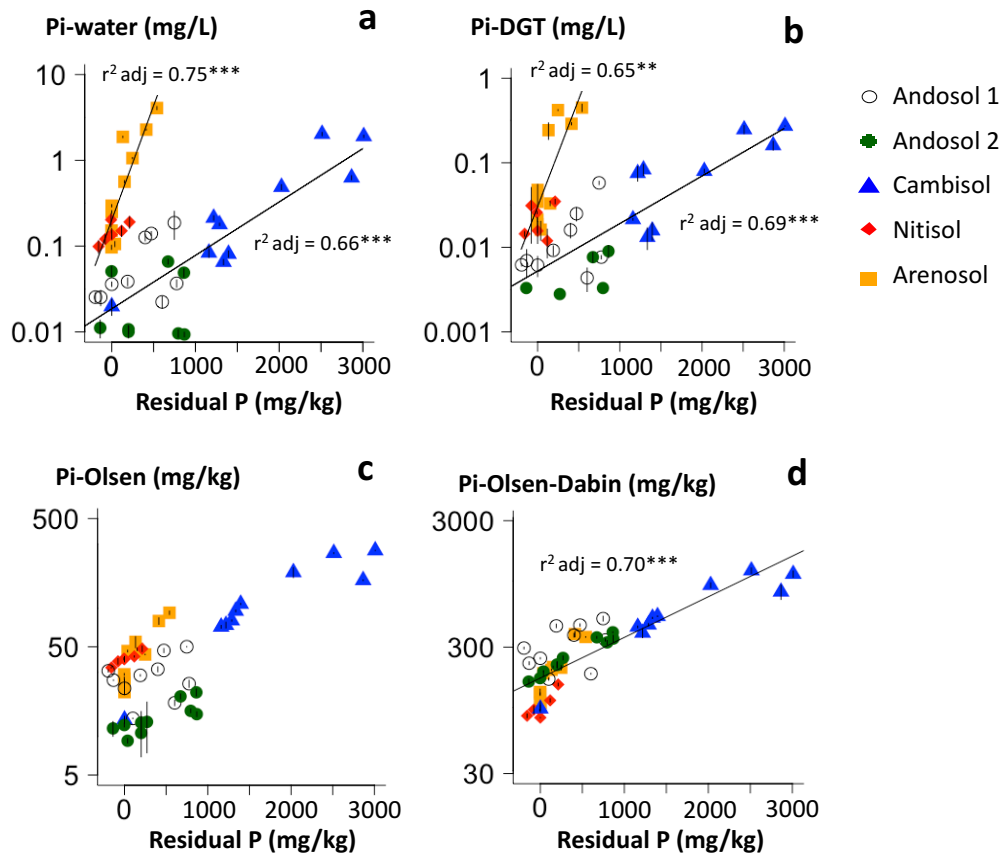
Figure 4 Inorganic phosphorus determined by water extraction (Pi-water, a), diffusive gradients in thin films technique (Pi-DGT, b), Olsen extraction (Pi-Olsen, c) and Olsen-Dabin extraction (Pi-Olsen-Dabin, d) as a function of the solid-solution partitioning coefficient of inorganic phosphorus (K_d , see equation 2), in the soils of five field trials that received mineral and organic fertilizer at different application rates. The solid line represents the regression fit, *** p-value < 0.001, ** p-value < 0.01.



3.3. Readily available inorganic phosphorus changes with the fertilization rate and soil type, while moderately and poorly inorganic phosphorus change mainly with the fertilization rate

The Pi-water content, Pi-DGT, Pi-Olsen and Pi-Olsen-Dabin increased linearly with soil residual P (Figure 5). Residual P was due to P accumulation induced by mineral or organic fertilization. Previous studies also showed that Pi-water (Stroia et al. 2007; Morel et al. 2014) or Pi-Olsen (Withers et al. 2016) increased with long-term mineral or organic fertilization. This confirms that long-term P fertilization increased Pi availability in soil irrespective of whether P was applied as mineral or organic fertilizer.

Figure 5 Inorganic phosphorus determined by water extraction (Pi-water, a), diffusive gradients in thin films technique thin films technique (Pi-DGT, b), Olsen extraction (Pi-Olsen, c) and Olsen-Dabin extraction (Pi-Olsen-Dabin, d) as a function of soil residual P, in the soils of five field trials that received mineral and organic fertilizer at different application rates. The solid line represents the regression fit, *** p-value < 0.001, ** p-value < 0.01.



The increased Pi-water and Pi-DGT rate as a function of residual P changed between soil types, while it was equivalent for all soil types for Pi-Olsen and Pi-Olsen-Dabin (Figure 5). The increased Pi-water and Pi-DGT slope was sixfold greater for the arenosol than for the cambisol and both andosols (Figure 5a and b). Similar changes in the increase rate of readily available Pi due to long-term fertilization between different soils have been reported (Stroia et al. 2007; Bai et al. 2013; Morel et al. 2014). This suggests that the Pi sorption capacity specific to each soil type determines the increase in readily available Pi as a function of the fertilization rate. By contrast, Pi-Olsen and Pi-Olsen-Dabin seem to depend mainly on the fertilization rate, while the soil type seems to have little effect.

3.4. Soil type and fertilization rate concomitantly determine the inorganic and organic phosphorus distribution

The percentage of Pi (%Pi) recovered with the DGT technique, Olsen and Olsen-Dabin extraction was significantly lower in the two andosols than in the arenosol and cambisol, but differences between soil types were the highest with the DGT technique (Figure 6). The median %Pi measured by DGT (%Pi-DGT) increased from 23% in andosol 1 to 99% in the arenosol (Figure 6a). The median %Pi measured by the Olsen and Olsen-Dabin method respectively increased from 25 and 46% in andosol 1 to 81 and 74% in the cambisol (Figure 6b and c). Similar results have been reported for Pi-Olsen or with more aggressive extraction (Cross and Schlesinger, 1996), while the distribution of P between Pi and Po has seldom been determined in the readily available pool. Menezes-Blackburn et al. (2016) found that %Pi-DGT ranged from 43 to 93% in 32 UK soils. In line with our results, this suggests that the distribution of P between Pi and Po markedly changed between soil types, especially in the readily available pool.

The percentage of Pi recovered with the DGT technique, Olsen and Olsen-Dabin extraction increased linearly with soil residual P, but with a slope that differed between soil types with the DGT technique (Figure 7). These results agreed with previous finding, which showed that mineral and organic fertilization increases available Pi, but has little effect on Po (Otani and Ae, 1999; Negassa and Leinweber, 2009). We thus conclude that decadal organic and mineral fertilization favors Pi relative to Po in soil, while the increased rate of Pi due to fertilization changes between soil types.

Figure 6 Percentage of inorganic phosphorus (%Pi) recovered with the diffusion gradient in the thin films technique (%Pi-DGT, a), Olsen extraction (%Pi-Olsen, b), and Olsen-Dabin extraction (%Pi-Olsen-Dabin, c), in the soils of five field trials with four soil types. Upper and lower bars are maximum and minimum values. The limits of the box plot are upper/lower quartile; median is represented in bold. Values of soils with different letters are statistically different at the 0.05 level.

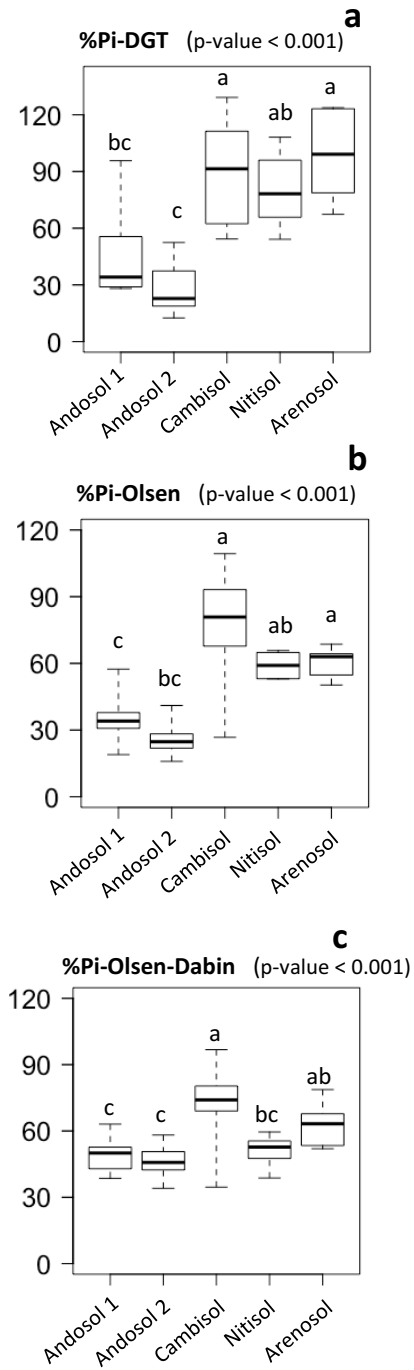
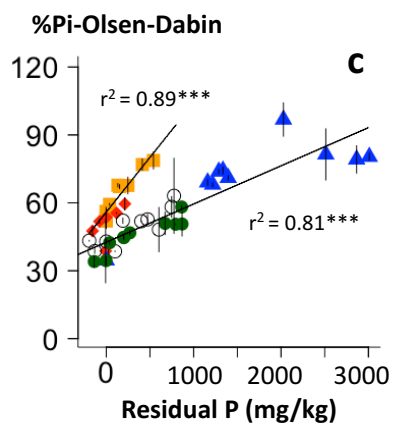
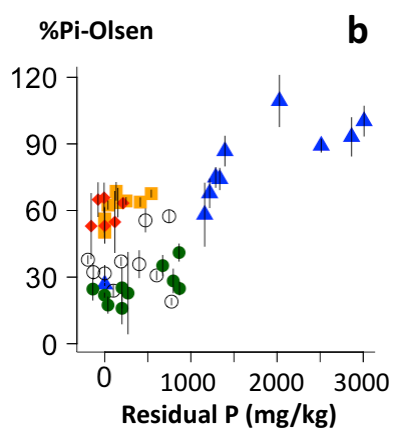
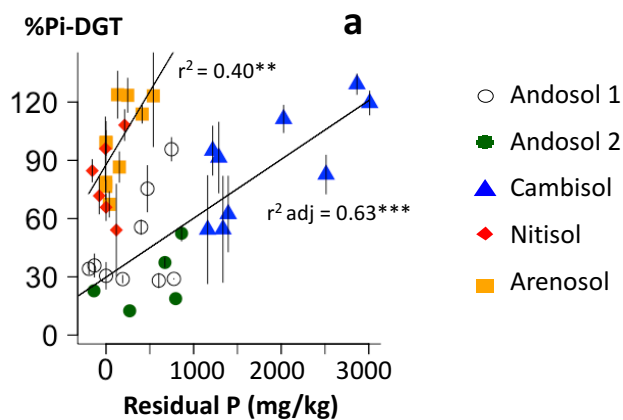


Figure 7 Percentage of inorganic phosphorus (%Pi) recovered with the diffusion gradient in the thin films technique (%Pi-DGT, a), Olsen extraction (%Pi-Olsen, b), and Olsen-Dabin extraction (%Pi-Olsen-Dabin, c) as a function of residual P, in the soils of five field trials that received mineral and organic fertilizer at different application rates. The solid line represents the regression fit, *** p-value < 0.001, ** p-value < 0.01.



4. Conclusion

We aimed to differentiate the respective effects of the soil type and fertilization rate on the available Pi content and the Pi and Po distribution. Soil types were characterized by a decreasing Pi sorption capacity along the toposequence investigated. Fertilization also indirectly altered the Pi sorption capacity by markedly changing the soil pH in the fertilization modalities. DGT-measured Pi and Pi-water targeted readily available Pi, while Pi-Olsen and Pi-Olsen-Dabin respectively targeted moderately and poorly available Pi. The fertilization rate had a major effect on moderately and poorly available Pi, while the soil type had little effect. By contrast, readily available Pi greatly differed between soil types and was also markedly affected by the fertilization rate. The available Pi and Po distribution depended concomitantly on the soil type and fertilization rate, with the former effect being stronger on the readily available pool than on the moderately or poorly available pool. Fertilization favored available Pi relative to Po irrespective of whether P was applied as mineral or organic fertilizer. Overall, our results suggest that long-term P fertilization could account for the specific properties of soils in sequences exhibiting a substantial Pi sorption capacity gradient, so that there would be enough readily available Pi to meet plant requirements while limiting the accumulation of residual P and moderately or poorly available Pi.

Acknowledgements

We thank VEOLIA-eau for funding the Ph.D. grant of C. M. Nobile. We are grateful to P. Légier, J. Idmond, M-F. Gauvin, C. Chevassus-Rosset, M. Montes and R. Freydier for their involvement in the lab experiments and analyses. We also thank V. Castagnet, E. Doelsch, F. Feder, F. Gérard, L. Lai Kan Thon, A. Revallier, and L. Thuriès for their advice throughout the Ph.D. research of C. M. Nobile. We are grateful to C. Morel for his precious help in the isotopic dilution experiments and in the writing of this paper.

5. Annexes

Table S1 Field trial under grassland cover conducted on andosol 1, andosol 2 and the arenosol; description of fertilization conditions.

Fertilization	Description	Nutrient applied		
		N kg/ha/y	P kg/ha/y	K kg/ha/y
Control	No fertilization	0	0	0
NPK	Ammonium nitrate, soft rock phosphate, KCl	110	52	80
Dairy slurry low dose	Liquid, 40 m ³ /ha/cut*	550	170	1080
Dairy slurry high dose	Liquid, 70 m ³ /ha/cut*	970	290	1890
Dairy manure	Solid compost of dairy manure, 12t/ha/2cuts*	370	120	202

* 5 to 8 cuts/year

Table S2 Field trial under grassland cover conducted on andosol 1, andosol 2 and the arenosol; soil parameters before and after 4 or 9 years of organic or mineral fertilization.

Soil sample number***	Fertilization		Andosol 1 (1600 m asl*)				Andosol 2 (1000 m asl*)				Arenosol (20 m asl*)			
			pH ^a	C org ^b g/kg	P ^c g/kg	Kd ^d L/kg	pH	C org g/kg	P g/kg	Kd L/kg	pH	C org g/kg	P g/kg	Kd L/kg
1,2,3	Before trial	0y**	5.8	123	3.03	2349	5.9	126	2.39	1182	6.7	10	1.93	100
4,5,6	Control	4y	5.0	106	3.13	nd	4.6	125	2.43	nd	6.0	10	1.92	226
7,8,9		9y	5.3	111	3.63	3629	5.0	129	2.23	3632	6.1	12	1.93	118
10,11,12	NPK	4y	4.8	119	2.84	4099	4.6	131	2.66	nd	5.3	11	1.96	431
13,14,15		9y	4.8	117	2.90	4104	4.6	131	2.59	6298	5.3	12	1.92	371
16,17,18	Dairy slurry low dose	9y	6.2	128	3.43	1292	5.9	130	2.59	4111	7.0	16	2.06	31
19,20,21	Dairy slurry high dose	4y	5.6	111	3.22	3364	5.5	131	3.26	4635	6.3	17	2.34	48
22,23,24		9y	6.6	126	3.78	1964	5.6	130	3.06	1427	6.9	20	2.47	22
25,26,27	Compost of dairy manure	4y	5.5	118	3.81	3097	5.3	135	3.19	4327	6.5	13	2.08	106
28,29,30		9y	6.2	125	3.50	1477	5.7	137	3.25	2521	6.9	16	2.17	66

^a Soil:liquid ratio 1:5

^b ISO 10694

^c ISO 14869-1

^d Solid-solution partitioning coefficient of inorganic phosphorus in soil (see eq. 2)

* above sea level

** year after beginning of the trial

*** three numbers for the andosol 1, the andosol 2 and the arenosol respectively

Table S3 Field trial under market garden crop cover conducted on the andic cambisol; description of fertilization conditions.

Fertilization	Description	Nutrient applied	
		N kg/ha/y	P kg/ha/y
NPK	Ammonium nitrate, superphosphate, KCl	400	123
Pig slurry compost	Solid, 25t/ha/harvest*	900	920
Poultry litter compost	Solid, 35t/ha/harvest*	630	1000

* 2 harvests/year

Table S4 Field trial under market garden crop cover conducted on the andic cambisol; soil parameters before and after 5 or 12 years of organic or mineral fertilization.

Soil sample number	Fertilization		Andic cambisol (800 m asl*)				
			Crop	pH ^a	C org ^b g/kg	P ^c g/kg	K _d ^d L/kg
31	Before trial	0y**		5.5	38	2.83	5719
32	NPK	5y	mixed garden crops	5.6	32	3.40	1757
33		12y	cabbage***	5.3	30	4.16	3449
34		12y	fescue***				
35	Pig slurry compost	5y	mixed garden crops	6.6	36	4.04	1155
36		12y	cabbage***	6.7	38	5.34	400
37		12y	fescue***				
38	Poultry litter compost	5y	mixed garden crops	6.4	34	4.11	1376
39		12y	cabbage***	7.0	32	5.70	855
40		12y	fescue***				

^a Soil:liquid ratio 1:5

^b ISO 10694

^c ISO 14869-1

^d Solid-solution partitioning coefficient of inorganic phosphorus in soil (see eq. 2)

* above sea level

** year after beginning of the trial

Table S5 Field trial under sugarcane cover conducted on the nitisol; description of fertilization conditions.

Fertilization	Description	Nutrient applied								
		N			P			K		
		kg/ha/input*	org	chem tot	kg/ha/input*	org	chem tot	kg/ha/input*	org	chem tot
NPK	Urea, soft rock phosphate, and KCl, based for annual crop requirement	0	168	168	0	58	58	0	266	266
Pig slurry + NP	Liquid pig slurry 95 t/ha/y and NP complementation for annual crop requirement	170	83	253	55	12	67	268	0	268
Sludge low dose + NK	Dried sewage sludge 3.7 t/ha/y and NK complementation for annual crop requirement	140	105	245	97	0	97	7	260	267
Sludge high dose + KP	Dried sewage sludge 9.9 t/ha/4y and KP complementation for 4 y crop requirement	375	0	375	259	82	341	18	248	266
Poultry litter + NP	Compost of poultry litter 10.5 t/ha/4y and NP complementation for 4 y crop requirement	315	10	325	99	179	278	270	0	270

* Sludge high dose and poultry litter were applied every 4 years, fertilizers of other modalities every year

Table S6 Field trial under sugarcane cover conducted on the nitisol; soil parameters before and after 1 year of organic or mineral fertilization.

Soil sample number	Fertilization		Nitisol (70 m asl*)			
			pH ^a	C org ^b g/kg	P ^c g/kg	K _d ^d L/kg
41	Before trial	0y**	6.1	21	1.99	781
42	NPK	1y	6.1	20	2.10	710
43	Pig slurry + NPK	1y	6.0	21	1.83	1221
44	Sludge low dose + NK	1y	6.1	22	1.91	1185
45	Sludge high dose + KP	1y	6.2	23	2.20	915
46	Poultry litter + NP	1y	6.4	22	1.98	634

^a Soil:liquid ratio 1:5

^b ISO 10694

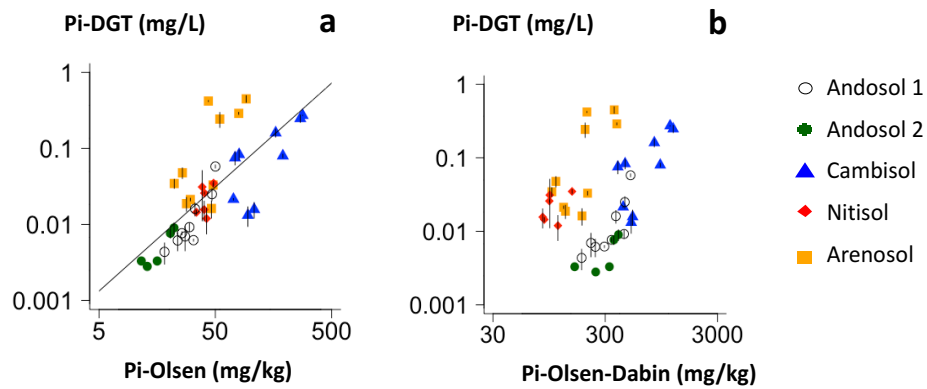
^c ISO 14869-1

^d Solid-solution partitioning coefficient of inorganic phosphorus in soil (see eq. 2)

* above sea level

** year after beginning of the trial

Figure S1 Log-log relationships between inorganic phosphorus determined by the diffusive gradient in thin films technique (Pi-DGT) and by Olsen extraction (Pi-Olsen) (a), or Pi-DGT and Pi determined by Olsen-Dabin extraction (Pi-Olsen-Dabin) (b), in the soils of five field trials that received mineral and organic fertilizers at different application rates. The solid line represents the regression fit.



6. References

- Bai, Z., Li, H., Yang, X., Zhou, B., Shi, X., Wang, B., Li, D., Shen, J., Chen, Q., Qin, W., Oenema, O. & Zhang, F. 2013. The critical soil P levels for crop yield, soil fertility and environmental safety in different soil types. *Plant and Soil*, 372, 27–37.
- Barrow, N.J. 2015. Soil phosphate chemistry and the P-sparing effect of previous phosphate applications. *Plant and Soil*, 397, 401–409.
- Barrow, N.J. 2017. The effects of pH on phosphate uptake from the soil. *Plant and Soil*, 410, 401–410.
- Borggaard, O.K., Jørgensen, S.S., Møberg, J.P. & Raben-Lange, B. 1990. Influence of organic matter on phosphate adsorption by aluminium and iron oxides in sandy soils. *Journal of Soil Science*, 41, 443–449.
- Cross, A.F. & Schlesinger, W.H. 1995. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma*, 64, 197–214.
- Darch, T., Blackwell, M.S.A., Hawkins, J.M.B., Haygarth, P.M. & Chadwick, D. 2014. A meta-analysis of organic and inorganic phosphorus in organic fertilizers, soils, and water: Implications for water quality. *Environmental Science and Technology*, 44, 2172–2202.
- Degryse, F., Smolders, E., Zhang, H. & Davison, W. 2009. Predicting availability of mineral elements to plants with the DGT technique: A review of experimental data and interpretation by modelling. *Environnemental Chemistry*, 6, 198–218.
- Fardeau J.-C. (1993) Le phosphore assimilable des sols : sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. *Agronomie* 13, 317-331.
- Feder, F. & Bourgeon, G. 2009. Mise à jour de la carte des sols de l'île de la Réunion - Démarche suivie et problèmes rencontrés. *Etude et Gestion des Sols*, 16, 85–100.
- Feder, F. 2013. Soil map update: Procedure and problems encountered for the island of Réunion. *Catena*, 110, 215–224.
- Gérard, F. 2016. Clay minerals, iron/aluminum oxides, and their contribution to phosphate sorption in soils — A myth revisited. *Geoderma*, 262, 213–226.
- Giaveno, C., Celi, L., Richardson, A.E., Simpson, R.J. & Barberis, E. 2010. Interaction of phytases with minerals and availability of substrate affect the hydrolysis of inositol phosphates. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 491–498.
- Houmane, B., Gallali, T. & Guillet, B. 1986. Désorption du phosphate fixé sur des oxydes de fer. *Science du sol*, 2, 171–182.
- Huang, L.-M., Jia, X.-X., Zhang, G.-L. & Shao, M.-A. 2017. Soil organic phosphorus transformation during ecosystem development: A review. *Plant and Soil*, 417, 17–42.
- IUSS Working Group WRB. 2014. World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome.
- Levard, C. Doelsch, E., Basile-Doelsch, I., Abidin, Z., Miche, H., Masion, A., Rose, J., Borschneck, D. & Bottero, J.-Y. 2012. Structure and distribution of allophanes, imogolite and proto-imogolite in volcanic soils. *Geoderma*, 183–184, 100–108.
- Maertens, E., Thijs, A., Smolders, E., Degryse, F., Cong, P. T. & Merckx, R. 2004. An anion resin membrane technique to overcome detection limits of isotopically exchanged P in P-sorbing soils. *European Journal of Soil Science*, 55, 63–69.

- McLaughlin, M.J., McBeath, T.M., Smernik, R., Stacey, S.P., Ajiboye, B. & Guppy, C. 2011. The chemical nature of P accumulation in agricultural soils—implications for fertilizer management and design: an Australian perspective. *Plant and Soil*, 349, 69–87.
- Menezes-Blackburn, D., Zhang, H., Stutter, M., Giles, C.D., Darch, T., George, T.S., Shand, C., Lumsdon, D., Blackwell, M., Wearing, C., Cooper, P., Wendler, R., Brown, L. & Haygarth, P. M. 2016. A holistic approach to understanding the desorption of phosphorus in soils. *Environmental Science and Technology*, 50, 3371–3381.
- Menzies, N.W., Kusumo, B. & Moody, P.W. 2005. Assessment of P availability in heavily fertilized soils using the diffusive gradient in thin films (DGT) technique. *Plant and Soil*, 269, 1–9.
- Météo-France. Description du climat de La Réunion. Available at: <http://www.meteofrance.re/climat/description-du-climat/>; accessed 11/4/2017.
- Morel, C. & Fardeau, J.-C. 1987. Le phosphore assimilable des sols intertropicaux : ses relations avec le phosphore extrait par deux méthodes chimiques. *L'Agronomie Tropicale*, 42, 248–257.
- Morel, C., Ziadi, N., Messiga, A., Bélanger, G., Denoroy, P., Jeangros, B., Jouany, C., Fardeau, J.-C., Mollier, A., Parent, L.E., Proix, N., Rabeharisoa, L. & Sinaj, S. 2014. Modeling of phosphorus dynamics in contrasting agroecosystems using long-term field experiments. *Canadian Journal of Soil Science*, 94, 377–387.
- Murphy, J. & Riley, J. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31–36.
- Negassa, W. & Leinweber, P. 2009. How does the Hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172, 305–325.
- Oehl, F., Frossard, E., Fliessbach, A., Dubois, D. & Oberson, A. 2004. Basal organic phosphorus mineralization in soils under different farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 667–675.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. & Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. *Circ. USDA*, 939, 1–19.
- Otani, T. & Ae, N. 1999. Extraction of organic phosphorus in Andosols by various methods. *Soil Science and Plant Nutrition*, 45, 151–161.
- Parfitt, R.L. 1989. Phosphate reactions with natural allophane, ferrihydrite and goethite. *Journal of Soil Science*, 40, 359–369.
- R. Core Team 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN3-900051-07-0. URL (<http://www.R-project.org/>).
- Rao, A. S., Reddy, K.S. & Takkar, P.N. 1997. Malachite green method compared to ascorbic acid for estimating small amounts of phosphorus in water, 0.01 M calcium chloride, and Olsen soil extracts. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 28, 589–601.
- Schoumans, O.F., Chardon, W.J., Bechmann, M.E., Gascuel-Oudou, C., Hofman, G., Kronvang, B., Rubæk, G.H., Ulén, B. & Dorioz, J.-M. 2014. Mitigation options to reduce phosphorus losses from the agricultural sector and improve surface water quality: a review. *The Science of the Total Environment*, 468-469, 1255–1266.
- Six, L., Pypers, P., Degryse, F., Smolders, E. & Merckx, R. 2012. The performance of DGT versus conventional soil phosphorus tests in tropical soils - An isotope dilution study. *Plant and Soil*, 359, 267–279.
- Stroia, C., Morel, C. & Jouany, C. 2007. Dynamics of diffusive soil phosphorus in two grassland experiments determined both in field and laboratory conditions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 119, 60–74.
- Stutter, M.I., Shand, C.A., George, T.S., Blackwell, M.S.A., Dixon, L., Bol, R., MacKay, R.L., Richardson, A.E., Condron, L.M. & Haygarth, P.M. 2015. Land use and soil factors affecting accumulation of phosphorus species in temperate soils. *Geoderma*, 257-258, 29–39.

- Truong, B., Bertrand, R., Burdin, S. & Pichot, J. 1974. Contribution à l'étude du phosphore dans les sols dérivés de roches volcaniques de l'île de la Réunion. *L'Agronomie Tropicale*, 29, 663-674.
- Van Moorlehem, C., Six, L., Degryse, F., Smolders, E. & Merckx, R. 2011. Effect of organic P forms and P present in inorganic colloids on the determination of dissolved P in environmental samples by the diffusive gradient in thin films technique, ion chromatography, and colorimetry. *Analytical Chemistry*, 83, 5317–5323.
- Withers, P.J.A., Flynn, N.J., Warren, G.P., Taylor, M. & Chambers, B.J. 2016. Sustainable management of biosolid phosphorus: a field study. *Soil Use and Management*, 32, 54-63
- Ziadi, N., Whalen, J.K., Messiga, A.J. & Morel, C. 2013. Assessment and modeling of soil available phosphorus in sustainable cropping systems. *Advances in Agronomy*, 122, 85-126.

III. Effet de la dose de phosphore apportée et des modifications des propriétés du sol induites par la fertilisation à long-terme sur la capacité de sorption, la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore dans un andosol

Dans le chapitre II, nous avons étudié les effets du type de sol et de la dose phosphore (P) apportée par l'historique de fertilisations organiques ou minérales sur la capacité de sorption en P inorganique (P_i) et la disponibilité du P. Ce précédent chapitre a montré que l'augmentation de P disponible avec la dose de P accumulée changeait selon le type de sol. La quantité de P directement disponible, i.e. P_i extrait à l'eau, changeait avec la capacité de sorption lié au type de sol. Néanmoins, ce précédent chapitre a également montré que l'historique de fertilisation changeait la capacité de sorption en P_i d'un sol donné, en modifiant son pH.

On peut supposer que les modifications de pH induites par l'historique de fertilisation sont dues au type fertilisant appliqué. Ainsi, l'effet du type de fertilisant sur la disponibilité du P à long-terme semblerait être lié aux modifications du pH du sol induite. Le type de fertilisant peut également modifier d'autres propriétés physico-chimiques du sol susceptibles d'influencer la disponibilité du P. L'objectif de ce chapitre III est donc de déterminer l'effet à long-terme du type de fertilisant sur les modifications des propriétés physico-chimiques du sol, telles que le pH, et de déterminer l'influence de ces modifications sur la disponibilité du P.

Afin de pouvoir observer l'effet à long-terme du type de fertilisant sur les propriétés physico-chimiques du sol, nous avons choisi de baser les études de ce chapitre III sur un essai de terrain fertilisé avec des résidus organiques ayant des effets marqués sur les propriétés du sol. Les deux études de ce chapitre III sont ainsi basées sur un andosol sous prairie, après six et dix ans de fertilisation. Dans cet essai, la dose de P apporté n'était pas équivalente entre les différents fertilisants. Nous avons donc cherché à dissocier l'effet dû à la dose de P apportée et l'effet dû aux modifications des propriétés du sol induites par le type de fertilisant, sur la disponibilité du P.

La première étude de ce chapitre III a donc pour objectif de déterminer l'importance relative des modifications des propriétés du sol induites par le type de fertilisant, comparée à la dose de P apportée, sur la capacité de sorption et la disponibilité du P dans un andosol. Le P prélevé par la plante (P phytodisponible) pouvant être différent du P disponible et régi par des mécanismes supplémentaires, on peut supposer que les modifications des propriétés du sol induites par la

fertilisation ont un effet différent sur le P disponible et le P phytodisponible. Nous avons donc réalisé une seconde étude ayant pour objectif de déterminer l'importance relative des modifications des propriétés du sol induites par le type de fertilisant comparée à la dose de P apportée, sur la capacité de sorption, la disponibilité de P dans le sol et la phytodisponibilité de P.

1. Phosphorus sorption and availability in an andosol after decadal organic or mineral fertilization: importance of pH and organic carbon modifications compared to phosphorus accumulation in soil

C.M. Nobile^{1,2}, M.N. Bravin¹, Q. Chevalier¹, T. Becquer³ & J-M. Paillat⁴

¹CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-97743 Saint-Denis, Réunion, France

²VEOLIA-eau, Saint-Denis, Réunion, France

³IRD, UMR Eco&Sols, CIRAD-INRA-SupAgro, F-34060 Montpellier, France

⁴CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-34398 Montpellier, France

Abstract

Long-term effect of organic fertilization on soil phosphorus availability remains unclear because of the modifications of soil physical-chemical properties induced. We thus studied the relative importance of modifications of pH and organic carbon in soil after mineral or organic fertilization compared to the accumulation of P, on soil inorganic P (Pi) sorption capacity and P availability. Our study was based on an andosol field experiment after 6 and 10 years of no fertilization (control), mineral fertilization, or organic fertilizations (compost and slurry at low and high doses). Available P was determined with water and Olsen extractions and Pi sorption curves were realized and fitted with a Freundlich equation. Fertilization type markedly affected soil pH and organic carbon. Olsen extracted Pi (Pi-Olsen) increased mainly with soil total P (r^2 adj = 0.79), while water extracted Pi (Pi-water) increased concomitantly with soil total P and soil pH (r^2 adj = 0.85). Olsen and water extracted Pi increased with the organic carbon content in soil. Sorption of Pi decreased with organic fertilizations, but increased with mineral fertilization. Sorption of Pi (parameter q of the equation) increased with increasing pH. Sorption of Pi (*Buffering index* calculated from sorption curve) decreased with organic C and soil total P. Modifications of Pi sorption capacity explained the variations of readily available Pi (Pi-water) among the fertilization modalities. Our study shows that beyond the rate of P applied, modifications of soil pH and organic C induced by long-term organic and mineral fertilization determine readily available Pi in andosol. Our study suggests that P efficiency of organic or mineral fertilizers is mainly due to their effect on soil physical-chemical properties, especially on pH.

1.1. Introduction

The major source of phosphorus (P) fertilizer used in the world is derived from mineral reserves; i.e. from nonrenewable resources. Forecasts are highly disputed, but production of mineral fertilizer could start to decrease around 2035 (Cordell et al. 2011; Ulrich and Frossard, 2014). In addition, production of 85% of mineral fertilizer only by three countries, Morocco, China and the USA, can create dependencies and tensions between countries (Elser and Bennet, 2011). These two concomitant P issues strongly suggest the need for P recycling in agriculture, with a particular interest for a larger and a more efficient use of P-containing organic fertilizers, such as agricultural and urban wastes.

Application of organic fertilizers is known to increase soil P availability. In short-term laboratory experiments, P availability in soil amended with organic fertilizers is usually lower than P availability in soil amended with mineral fertilizers at a given P fertilization rate (Frossard et al. 1996; Shafqat and Pierzynski, 2013). Long-term field experiments are however less conclusive. The application rate of organic fertilizers is generally not based on P, leading to substantial differences in P fertilization rate between organic and mineral fertilizers (Chapter II; Morel et al. 2014; Oehl et al. 2002). To compare the relative effect of P fertilizers in long-term field experiments, available P can be related to the cumulative P budget (P applied with fertilization minus P uptake by plants) (Morel et al. 2014) or to the soil total P content (Vanden Nest et al. 2016).

Speciation of P in organic fertilizers is often mentioned as a potential factor determining the effect of organic fertilization on soil P availability. Although mineral fertilizers contain only inorganic P (Pi), organic fertilizers such as animal wastes typically contain about 60 to 75% of Pi (Darch et al. 2014; Toor et al. 2006) and consequently also a variety of organic P (Po) species. Nevertheless, Annaheim et al. (2015) showed that speciation of P in organic fertilizers does not impact speciation of P in soil after 62 years of application. More generally, the amount of Po in soil are little affected by long-term organic or mineral fertilization (Huang et al., 2017).

Long-term fertilization is further known to impact markedly physical-chemical properties of soil. Organic fertilizers can increase soil pH and organic matter content (Haynes and Mokolobate, 2001). Previous studies investigated the effect of these both factors on Pi sorption capacity. Increasing soil pH can decrease Pi sorption due to an increase of negative charges on sorption surfaces (Barrow et al., 2017), while increasing organic matter content can decrease Pi sorption, due to a competition between organic molecules and Pi for the same sorption sites (Regelink et al., 2015). Nevertheless, few studies based on field experiment demonstrated the effect of organic fertilization on Pi sorption capacity. Vanden Nest et al. (2016) showed a decrease of Pi sorption in soil fertilized with dairy manure, but didn't identify the mechanism involved. To our knowledge, no study investigated the relative importance of changing soil pH and organic matter compared to the rate of P applied (Haynes and Mokolobate, 2001).

We thus studied the relative importance of modifications of pH and organic carbon in soil after mineral or organic fertilization compared to the rate of P applied, on soil Pi sorption and soil P availability. We based our study on a field experiment initiated on a soil exhibiting a high sorption

capacity and consequently a low Pi availability, i.e. an andosol. We performed the measurements on soil samples collected after 6 and 10 years of organic or mineral fertilization or without any fertilization.

1.2. Materials and methods

1.2.1. Field experiment and soil sampling

The field experiment was located in Réunion, a French volcanic island (2500 km²) in the Indian Ocean (55°30'E, 21°05'S). Four types of organic and mineral fertilizers were applied yearly on fodder crops, with plots respectively: unfertilized (hereafter referred to as control), fertilized with N as ammonium nitrate and P as soft rock phosphate (75% soluble in 2% formic acid) at 52 kg ha⁻¹ yr⁻¹ (hereafter referred to as mineral), fertilized with a liquid dairy slurry at either 170 or 290 P kg ha⁻¹ yr⁻¹ (hereafter referred to as slurry), or fertilized with a dairy manure compost at either 70 or 120 P kg ha⁻¹ yr⁻¹ (hereafter referred to as compost) (See Table S1 in Chapter II for further details). Compost and slurry were lyophilized and crushed at 2 mm before analyses. Table 1 shows the properties of the slurry and the compost.

Table 1 Parameters of organic fertilizers used in the field experiment.

	Unit, dry mass	Slurry	Compost
Dry matter 105°C	%	9.1	46.3
Organic C ^a	g kg ⁻¹	890	232
N total ^a	g kg ⁻¹	24.8	22.4
P total ^b	g kg ⁻¹	8.0	7.0
Pi-water ^c	g kg ⁻¹	0.6	0.9
pH-water ^d		7.5	7.5

^a ISO 10694

^b ISO 14869-1

^c Inorganic phosphorus extracted with water

^d Soil:liquid ratio 1:5

Plots were arranged in a randomized block design with three replicates. The soil was sampled after 6 and 10 years of fertilization at 0-15 cm depth in each plot, corresponding to the three replicates of the six fertilization modalities investigated: i.e. control, mineral, slurry Ld (low dose) and Hd (high dose), and compost Ld and Hd ($n = 36$). Soil samples (hereafter referred to as soils) were air dried, sieved at 2 mm, and analyzed by a routine soil testing laboratory (CIRAD, US Analyses). Table 2 shows the properties of the soil at the beginning of the field experiment. The soil is classified as an andosol (IUSS Working Group WRB, 2014) and exhibits a high Pi sorption capacity and a low Pi availability (Chapter II; Truong et al., 1974).

Table 2 Parameters of andosol sampled at 0-15cm under grassland cover at the beginning of the field experiment.

	Unit, dry mass	
Clay (< 2 µm)	g kg ⁻¹	139
Silt (2 - 50 µm)	g kg ⁻¹	680
Sand (50 – 2 000 µm)	g kg ⁻¹	181
Bulk density	g cm ⁻³	0.55
Organic C ^a	g kg ⁻¹	123
N total ^b	g kg ⁻¹	10.9
P total ^c	mg kg ⁻¹	3030
Pi-Olsen ^d	mg kg ⁻¹	23.7
Pi-water ^e	mg kg ⁻¹	0.36
pH-water ^f		5.8

^a ISO 10694

^b ISO 13878

^c ISO 14869-1

^d Inorganic phosphorus extracted with Olsen method

^e Inorganic phosphorus extracted with water

^f Soil:liquid ratio 1:5

1.2.2. Measurement of inorganic phosphorus availability in soil

We used water and Olsen extractions for assessing soil Pi availability. Water extraction, considered as a proxy of soil solution targeting Pi directly available for plants, was performed by shaking the 1:10 soil:liquid mixtures during 24 h in an end-over-end shaker (Morel et al. 2014). Olsen extraction (NaHCO₃ 0.5 M at pH 8.5), based on the exchange between carbonate and Pi sorbed on soil surfaces, was performed by shaking the 1:20 soil:liquid mixtures during 30 min in an end-over-end shaker (Olsen et al. 1954). After centrifugation at 3 500 × *g* for 5 min and filtration of supernatant at 0.22 µm (Minisart, Sartorius), P concentration was measured by colorimetry with the malachite green method (Rao et al. 1997) in Olsen and water extracts, and by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, Q-ICP-MS X Series II+CCTM, Thermo Fischer) in water extracts only. According to Van Moorlehem et al. (2011), we considered colorimetrically-measured P as Pi (i.e. ionic and colloidal Pi) and the difference between total P and colorimetrically-measured P as Po. Each extraction was replicated twice on each soil.

1.2.3. Inorganic phosphorus sorption experiments

Sorption experiments were carried out on eight soils collected after 10 years in the field experiment and corresponding to five soils from one replicate of control, mineral, slurry Ld, compost Ld, and compost Hd plots and three additional soils from the control plot whose the pH was artificially increased in the laboratory. These three latter soils were prepared by mixing 11 g of soil (dry mass equivalent) with respectively 0, 1.4, or 2.4 mL of NaOH 300 mM and 1.5, 0.7, and 0.1 ml of NaCl 500 mM to compensate the amount of Na added with NaOH. Ultra-pure water was added to reach 75% of the maximum water holding capacity (i.e. pF 2.5) and the mixture was then incubated at 28°C in the darkness during 48h. Sorption experiments were started immediately following the incubation step.

Sorption experiments consisted in shaking 1g of each soil (dry mass equivalent) with 10 mL of KH_2PO_4 at either 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200, and 250 mg P L^{-1} for 64 h at 23 °C in an end-over-end shaker (protocol adapted from Barrow and Debnath, 2014). After a centrifugation at $3\,500 \times g$ for 5 min and filtration of the supernatant at $0.22 \mu\text{m}$, Pi remaining in solution was measured colorimetrically as described above. Each sorption experiment was replicated twice on each soil.

According to Barrow (2008), Pi sorption on the soil solid-phase was described with a Freundlich-like equation as follows:

$$Pi\text{-sorbed} = a C_f^b - q \quad \text{Eq. (1)}$$

where *Pi-sorbed* is the amount of Pi sorbed in mg kg^{-1} , C_f is the final Pi concentration in solution (i.e. presumably in equilibrium with *Pi-sorbed*) in mg L^{-1} , *a* and *b* are shape parameters whose the product, i.e. the buffering index (*BI*), represents the instantaneous slope for a C_f of 1 mg L^{-1} (Barrow and Debnath, 2014), and *q* is the amount of Pi in mg kg^{-1} that could be desorbed when concentration in solution is maintained at zero. The buffering index was used to compare sorption curves.

1.2.4. Data processing and analysis

Data were statistically analyzed with the R package (R Core team, 2013). The effect of fertilization on soil parameters was studied with ANOVA and pairwise Tukey HSD (Honest Significant Difference) tests were used to rank fertilization modalities. The effect of P fertilization rate was studied with linear regressions between soil total P and Olsen-extracted Pi (Pi-Olsen), water-extracted Pi (Pi-water), and the proportion of Pi versus Po in water extracts (%Pi-water). The ratio between soil total P and Pi-Olsen (Pi-Olsen/Total P), Pi-water (Pi-water/Total P), or %Pi-water (%Pi-water/Total P) was used to eliminate the influence of P fertilization rate on Pi availability and %Pi. Linear regressions between pH or organic carbon in soil and Pi-Olsen/Total P, Pi-water/Total P, %Pi-water/Total P, or sorption parameters *q* and *BI* were used to study the effect of soil properties.

1.3. Results & discussion

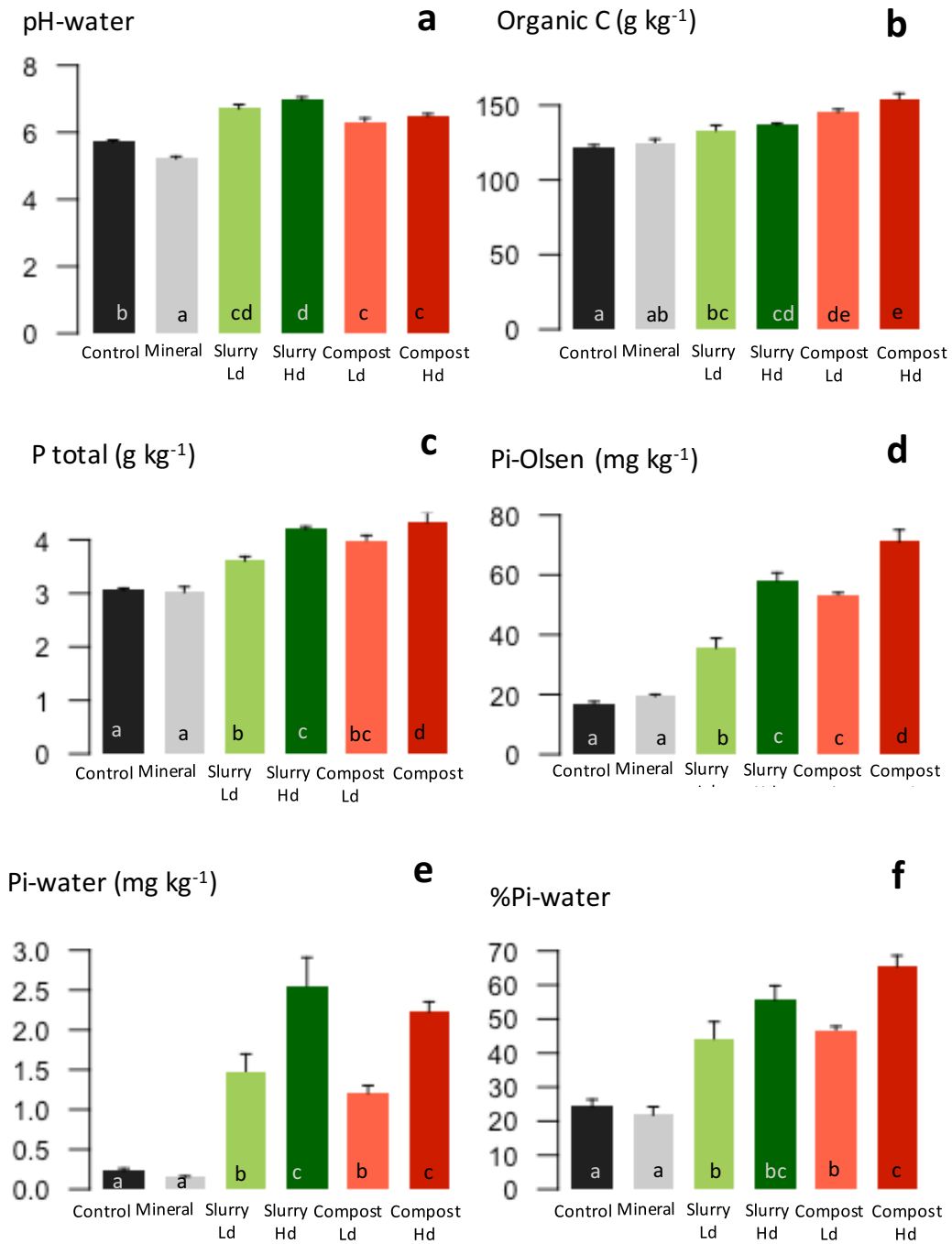
1.3.1. Decadal organic and mineral fertilization markedly changes physical-chemical properties and phosphorus availability in soil

Organic and mineral fertilization changed soil pH (Figure 1a, Tables S1). After 10 years of fertilization, soil pH decreased by 0.6 units with mineral fertilization compared to the control soil (pH 5.7). By contrast, soil pH increased with organic fertilization compared to the control soil, by 0.7 units with compost high dose (Hd) and by 1.2 units with slurry Hd. Decrease of soil pH after long-term application of NH_4NO_3 have been previously reported (Stroia et al. 2011) and could result from the uncompleted consumption of protons produced by nitrification. Increase of soil pH with long-term organic fertilization was also found in several studies (Haynes and Mokolobate, 2001; Noble et al. 1996), and can be due to the organic matter applied, and subsequent decarboxylation of organic anions (de Vries and Breeuwsma, 1987; Yan et al., 1996).

Organic fertilization increased significantly the organic carbon content in soil compared to control and mineral fertilizations (Figure 1b, Appendix 1). After 10 years of fertilization, organic C was equal to 122 g kg^{-1} in control soil. Slurry induced a lower accumulation of C (137 g kg^{-1} for Hd) than compost (154 g kg^{-1} for Hd), while the dose of C yearly applied was much higher with slurry Hd ($3400 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ for Hd) than with compost Hd ($390 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ for Hd). These results agreed with the literature, showing that proportion of C accumulated in soil with long-term organic fertilization increases with the abundance of stabilized compounds in organic fertilizer, which is generally higher in composted matters (Peltre et al., 2012).

Organic fertilization also increased significantly soil total P compared to control and mineral fertilization (Figure 1c, Table S1). Soil total P was equal to 3.0 g kg^{-1} in control and soil with mineral fertilization, 4.2 g kg^{-1} in soil with slurry Hd, and 4.3 g kg^{-1} in soil with compost Hd. Differences of soil total P between fertilization modalities resulted mainly from different rates of P applied, which were much higher with organic than mineral fertilizers. Different P uptake by plants and potentially loss of P by runoff could also slightly change soil total P between fertilizations. High cumulative P budgets in soils due to high rates of P applied was previously found in long-term field experiments (Morel et al., 2014). In our study, P accumulated in soil increased mainly with fertilization rate.

Figure 1 Changes in properties and phosphorus availability in the andosol after 10 years of no fertilization (control), mineral, or organic fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) or high dose (Hd). Error bars stand for standard error ($n = 3$). Different letters indicate significant difference at $p < 0.05$.



Available Pi content determined by Olsen (Pi-Olsen) or by water extractions (Pi-water), and proportion of Pi determined by water extraction (%Pi-water) changed with fertilization (Figure 1d, 1e and 1f; Table S1). After 10 years of fertilization, Pi-Olsen was the lowest in control and mineral soils (respectively 17.1 and 19.5 mg kg⁻¹), and the highest in compost Hd soil (71.1 mg kg⁻¹). Content of Pi-water was the lowest in mineral and control soils (respectively 0.15 and 0.24 mg kg⁻¹), and the highest in compost Hd and slurry Hd soils (2.23 and 2.55 mg kg⁻¹, respectively). Proportion of Pi-water (%Pi-water) was also lower in control and mineral soils (22% and 25%, respectively) than in soils with organic fertilizers (59% and 66% respectively for slurry Hd and compost Hd). This agreed with the literature showing that long-term organic fertilization increased mainly available Pi in soils (Chapter II; Negassa and Leinweber, 2009). Content and form of moderately and readily available Pi changed thus with fertilization types.

1.3.2. Fertilization rate alters phosphorus availability and form in soil

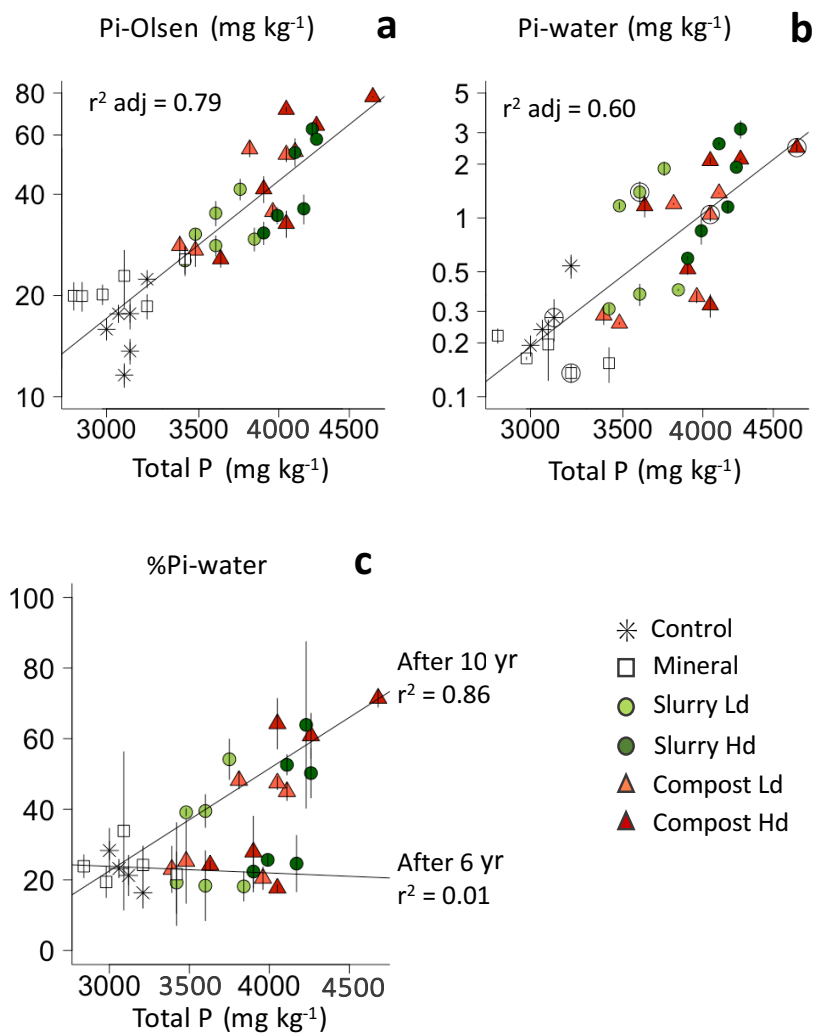
Content of Pi-Olsen increased with soil total P on a close and unique relationship for all fertilization modalities (r^2 adj = 0.79) (Figure 2a). Previous studies showed also a unique increase of Pi-Olsen with soil total P (Chapter II; Bai et al. 2013) or with cumulative P budget (Morel et al. 2013), irrespective of whether P was applied as mineral or organic fertilizers. Our results show that the rate of P applied rather than the nature of fertilizer catch an important part of the variability of Pi-Olsen in soil.

Content of Pi-water increased with soil total P on a unique relationship for all fertilization modalities, but with a weaker correlation than Pi-Olsen (r^2 adj = 0.60) (Figure 2b). Relationship between Pi-water and soil total P was even weaker for compost soils on the one hand (r^2 adj = 0.41), or slurry soils on the other hand (r^2 adj = 0.28). Correlations between P-CaCl₂ and total P calculated from Vanden Nest et al. (2016) were also moderate in soils of two field trials respectively after 13 years (r^2 adj = 0.53) and 6 years (r^2 adj = 0.38) of mineral or different organic fertilizers. By contrast, Shepherd and Withers (1999) showed a close and unique linear relationship between Pi-water and cumulative P budget in soils after 8 years of mineral or poultry manure fertilization (r^2 adj = 0.86), possibly because soil properties were less affected by fertilization. Our results show that P fertilization rate is not the unique factor determining the readily available Pi content in the andosol studied, even if when we distinguish the type of fertilizers.

The proportion of Pi determined by water extraction (%Pi-water) increased linearly with soil total P after 10 years of organic or mineral fertilization (r^2 adj = 0.86) (Figure 2c). After 6 years of fertilization, %Pi-water however did not change with soil total P. Fertilization type had little effect on the amount of Po-water or Pi-water after 6 years of fertilization (Figure S1), while it had a strong effect on Pi-water after 10 years (Figure 1e), which suggests that 6 years was a too short period to observe significant differences between modalities. This agreed with the literature, showing that decadal organic fertilization leads to an increase of available Pi, while effect on available Po is low (Chapter II), and that increase of available Pi with fertilization increase from the short-term (< 10 years) to medium-term (10-25 years) and the long-term (> 25 years) (Negassa and Leinweber, 2009). This result showed that decadal

mineral and organic fertilization favors Pi relatively to Po in the pool of P that plants are able to readily take up in soil.

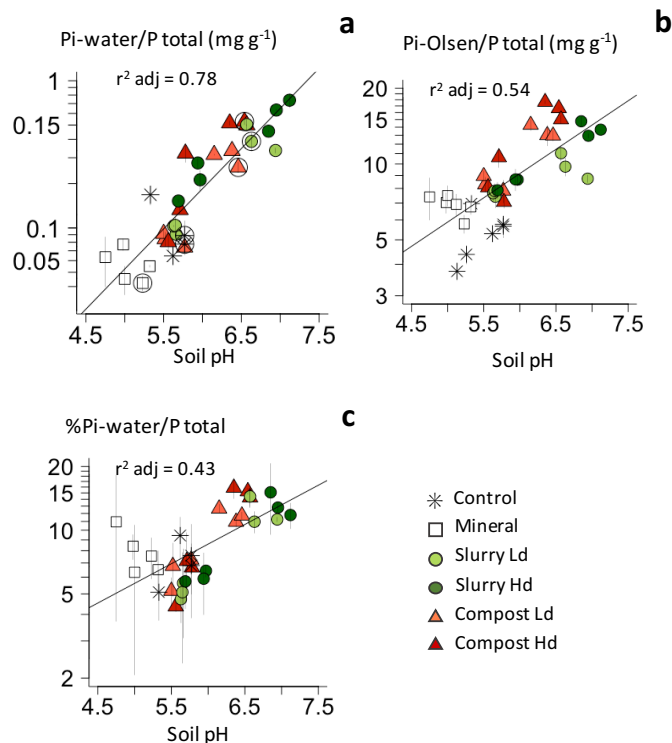
Figure 2 Relationships between indicators of phosphorus availability and soil total P in the andosol after 6 or 10 years of no fertilization (control), mineral, or organic fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) or high dose (Hd). Indicators were corrected by soil total P to eliminate the influence of fertilization rate. Error bars stand for standard error ($n = 2$). Different letters indicate significant difference at $p < 0.05$. Circled points: soils used for sorption experiment.



1.3.3. Changes in pH and organic carbon in soil determine phosphorus availability and form along with fertilization rate

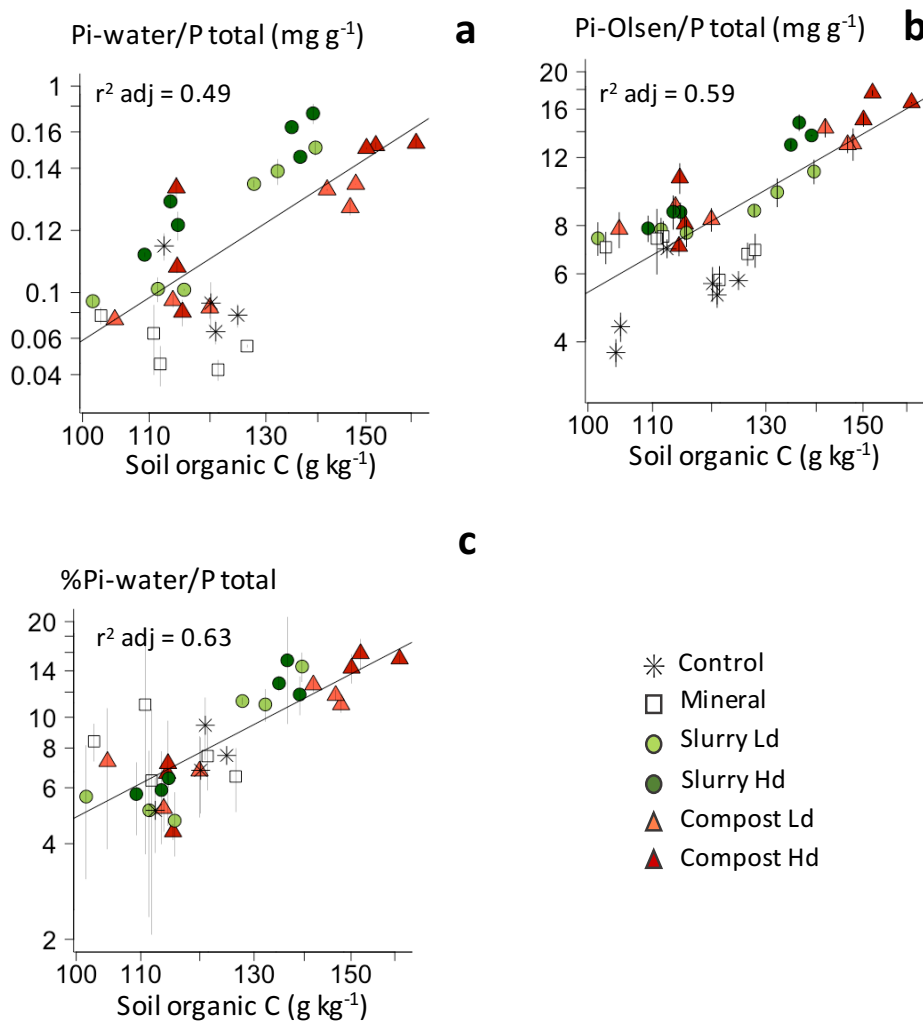
Soil pH had a strong positive effect on Pi-water corrected by soil total P (r^2 adj = 0.78), and a moderate positive effect on Pi-Olsen (r^2 adj = 0.54) or %Pi-water (r^2 adj = 0.43) corrected by soil total P (Figure 3). Positive correlation between Pi-water and soil pH can be explained by an increase of negative charges on soil surfaces, leading to a decrease of Pi sorption (Barrow, 2017). Variations in soil pH change the surface charges and thus the affinity of clay minerals and iron and/or aluminium (hydr)oxydes for sorbing Pi (Gérard et al., 2016). The positive effect of pH on %Pi-water suggests that Pi sorption decreases more than Po sorption when pH increases. Soil pH can affect sorption of both Pi and Po, but the rate of sorption is specific to each Po molecule (Celi and Barberis, 2005). The moderate correlation between soil pH and Pi-Olsen could be explained by the initially high pH (8.5) of the solution used for Olsen extraction, which can reduce the effect of soil pH on Pi extracted. Our results show that without the influence of P fertilization rate, soil pH had a major effect on Pi-water. These results suggest that P efficiency of organic and mineral fertilizers is mainly due to their effect on soil pH.

Figure 3 Relationships between indicators of phosphorus availability and soil pH in the andosol after 6 or 10 years of no fertilization (control), mineral, or organic fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) or high dose (Hd). Indicators were corrected by soil total P to eliminate the influence of fertilization rate. Error bars stand for standard error ($n = 2$). Different letters indicate significant difference at $p < 0.05$. Circled points: soils used for sorption experiment.



Soil organic carbon had a positive effect on Pi-water (r^2 adj = 0.49), Pi-Olsen (r^2 adj = 0.59) or %Pi-water (r^2 adj = 0.63) corrected by soil total P (Figure 4). Positive correlations between organic C and Pi available can be explained by a competition between organic anions and Pi for same sorption sites (Regelink et al. 2015). Shen et al. (2014) previously showed that Pi-Olsen corrected by soil total P increased linearly with soluble organic C ($r^2 = 0.96$) in soils fertilized with poultry manure. This higher correlation could be due to the measurement of soluble organic C against the measurement of total organic C in our study. Our results show that without the influence of P fertilization rate, soil organic carbon had a slight effect on the content and form of available Pi in soil.

Figure 4 Relationships between indicators of phosphorus availability and soil organic carbon in the andosol after 6 or 10 years of no fertilization (control), mineral, or organic fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) or high dose (Hd). Indicators were corrected by soil total P to eliminate the influence of fertilization rate. Error bars stand for standard error ($n = 2$). Different letters indicate significant difference at $p < 0.05$.



The variations of soil total P, pH, and/or organic carbon explained concomitantly the variations of Pi-water, Pi-Olsen, and %Pi-water (Table 3). Soil total P and pH explained 85% of Pi-water variations; soil total P, pH and organic C explained 88% of Pi-Olsen variations; and soil pH and organic C explained 78% of %Pi-water variations. These results confirmed the suggestion that organic fertilization influences soil Pi availability by increasing P, pH, and organic matter in soil (Haynes and Mokolobate, 2001). Our results showed that the rate of P applied was not the unique factor driving P availability in soil; modifications of soil pH and organic carbon due to organic and mineral fertilization determine also the content and form of available Pi.

Table 3 Linear regressions of indicators of phosphorus availability against soil properties parameters. Pi-water: water extracted inorganic P (Pi) in mg kg⁻¹; Pi-Olsen: Olsen extracted Pi in mg kg⁻¹; %Pi-water: proportion of Pi relatively to P total in water extract; P total: soil total P in mg kg⁻¹; organic C: organic carbon in g kg⁻¹ (*n* = 33).

Indicator of P availability	Soil parameters	Intercept	r ² adj	p-value
log(Pi-water)	= 3.22 10 ⁻⁴ P total ^a + 0.45 pH ^b	- 4.03	0.85	< 10 ⁻³
log(Pi-Olsen)	= 2.98 10 ⁻⁴ P total + 0.02 pH + 4.43 10 ⁻³ organic C ^c	- 0.23	0.88	< 10 ⁻³
log(%Pi-water)	= + 0.10 pH + 7.89 10 ⁻³ organic C	- 0.08	0.78	< 10 ⁻³

^a ISO 14869-1

^b pH measured , at soil:liquid ratio 1:5

^c ISO 10694

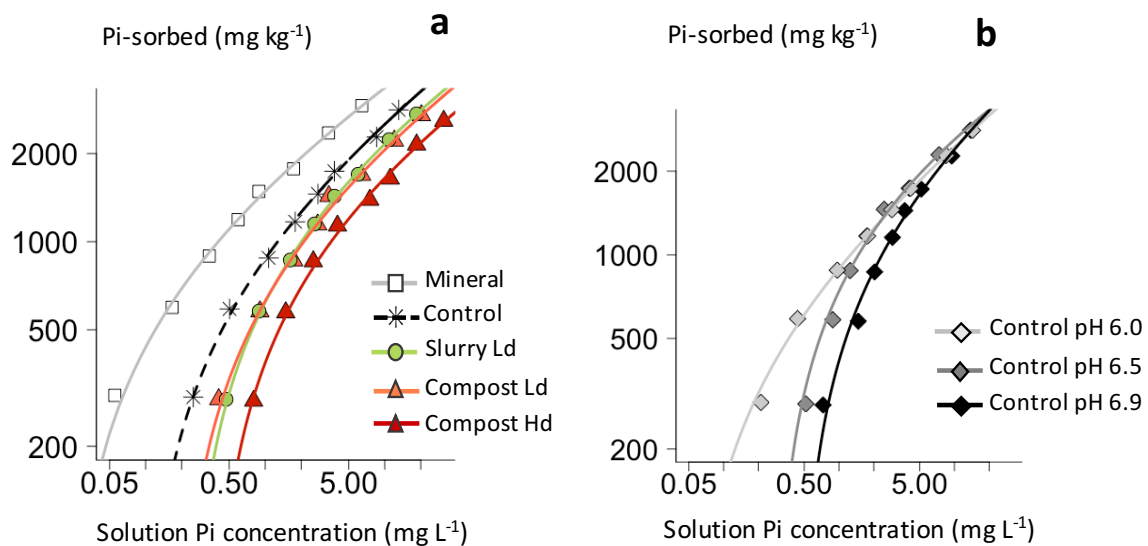
1.3.4. Changes in inorganic phosphorus sorption capacity determine readily phosphorus availability and form in soil

Sorption of Pi decreased with organic fertilization compared to the control, while it increased with mineral fertilization (Figure 5a). Curves of soils with organic fertilizers compared to the curve of control soil, showed that for a same concentration of Pi in solution, less Pi was sorbed in soils with organic fertilization. Sorption of Pi was equivalent in soils with slurry Ld and compost Ld, and the lowest in soil with compost Hd. Buffering index (*BI*) was the lowest for compost Hd soil (460 mg L⁻¹, against 506 mg L⁻¹ for the control) (Table S2). By contrast, sorption and *BI* (600 mg L⁻¹) were the highest in soil with mineral fertilization. Vanden Nest et al. (2016) also showed that long-term manure application decreased Pi sorption in soil. Our results showed that decadal organic or mineral fertilization changes soil Pi sorption capacity in the andosol studied.

Buffering index decreased with soil total P (Figure 6a) and with organic carbon, with a same spearman coefficient of correlation equal to - 0.81. Previous studies showed also a decrease of Pi sorption in soil with long-term organic fertilization, due to the rate of P applied (Abadala et al. 2012; Pizzeghello et al. 2011; Yan et al. 2013). Abdala et al. (2012) showed that maximum adsorption capacity of soils decreased with increasing organic matter content in soil, which can be due to a competition between negative organic compounds and Pi for the same sorption sites (Regelink et al. 2015). In our study, the high correlation between soil organic carbon and soil total P avoid a clear distinction between both parameters. Our results suggest that decrease of Pi sorption in soil depends on the rates of P and C applied.

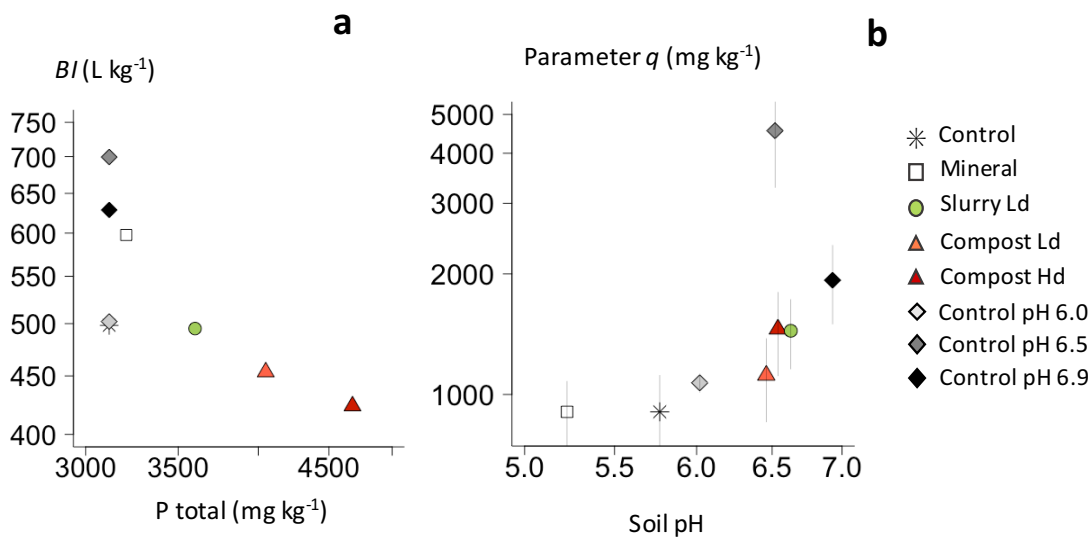
Sorption of Pi decreased with increasing soil pH (Figure 5b). Estimated parameter q , which represents Pi that could be desorbed when the concentration in solution tends to zero, increased with soil pH, with a spearman coefficient of correlation equal to 0.83. A previous study of Barrow and Debnath (2015) found also an increase of parameter q with soil pH. These results mean that Pi sorption decrease with increasing pH, especially for low Pi concentration in solution, and can be explained by an increase of negative charges on solid surface of soil (Barrow, 2017). The decrease of soil pH with mineral fertilizer (-0.6 units compared to the control) could thus explain the increase of Pi sorption in mineral soil (Figure 5a). Our results show that modifications of pH due to organic and mineral fertilization modified Pi sorption capacity of the soil.

Figure 5 Inorganic phosphorus sorption curves in the andosol after no fertilization (control), mineral, or organic fertilization (a); and in the andosol after 10 years of no fertilization with pH increased in laboratory (control pH 6.0, 6.5 and 6.9) (b). Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low dose (Ld) and compost at high dose (Hd). Datapoint are the mean of two replicates. Error bars are too small to be visible.



The variations of Pi-water were well explained by the variations of parameters q , BI , and their interaction ($r^2 \text{ adj} = 0.84$). Equation of the linear regression is $Pi - water = 7.6 10 - 3 q + 5.4 BI - 1.1 10 - 5 q * BI - 4.6$. This result means that Pi sorption capacity of soil mainly influences Pi-water, which is in accordance with Vanden Nest et al. (2016) showing that readily available P increased with decreasing Pi sorption. Our study shows that organic or mineral fertilization changes soil Pi sorption capacity by changing total P, organic C and soil pH, and suggests that Pi sorption determines readily available Pi.

Figure 6 Buffering index (BI) as a function of soil total P (a) and estimated parameter q of the sorption curves (see Eq.(1)) as a function of pH (b), in the andosol after 10 years of no fertilization (control), mineral, or organic fertilization (a); and in the andosol after 10 years of no fertilization with pH increased in laboratory (control pH 6.0, 6.5 and 6.9) (b). Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low dose (Ld) and compost at high dose (Hd). Error bars stand for standard error ($n = 2$).



1.4. Conclusion

We aimed to differentiate the relative importance of modifications of pH and organic carbon in soil after mineral or organic fertilization compared to the accumulation of P, on soil Pi sorption and soil P availability. After 10 years, organic and mineral fertilization markedly changed pH, total P and organic C in the andosol studied. Soil Pi sorption decreased with soil pH, and decreased with total P and organic C. Our study shows that beyond the rate of P applied, modifications of soil pH and organic C induced by long-term organic and mineral fertilization determine readily available Pi in andosol. Our study suggests that P efficiency of organic or mineral fertilizers is mainly due to their effect on soil physical-chemical properties, especially on pH. It would be interesting to study the influence of modification of soil physical-chemical properties on Pi availability in other soil types.

Acknowledgements

We thank VEOLIA-eau for funding the Ph.D. grant of C. M. Nobile. We thank Emmanuel Tillard and Expedit Rivière for sharing datas and soil samples of the field trial. We are grateful to P. Légier, J. Idmond, C. Chevassus-Rosset, M. Montes, and R. Freydier for their involvement in the lab experiments and analyses.

1.5. Annexes

Table S1 Phosphorus availability and soil properties in the andosol after 6 or 10 years of no fertilization (control), mineral or organic fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) or high dose (Hd). Values of the three field replicates for each fertilization modality are given.

Treatment	P-Olsen		P-water						P total ^d		Organic C ^e		N total ^f		pH-water	
	Pi ^a		Pi ^a		Pt ^b		%Pi-water ^c		g kg ⁻¹		g kg ⁻¹		mg kg ⁻¹			
	6yr	10yr	6yr	10yr	6yr	10yr	6yr	10yr	6yr	10yr	6yr	10yr	6yr	10yr	6yr	10yr
Control	22.4	17.6	0.54	0.24	3.30	1.02	16	23	3.21	3.06	112	125	10.7	11.8	5.3	5.8
	13.7	17.7	<0.15	0.28	0.68	1.30	-	21	3.12	3.12	105	120	9.9	11.6	5.3	5.8
	11.6	15.9	<0.15	0.19	0.57	0.68	-	28	3.09	3.00	104	121	9.7	11.3	5.1	5.6
Mineral	20.0	20.1	0.22	0.16	0.92	0.84	24	19	2.84	2.98	103	127	9.9	12.0	5.0	5.3
	25.6	18.6	0.15	0.14	0.71	0.56	22	24	3.42	3.21	112	121	10.8	11.8	5.0	5.2
	22.9	19.9	0.20	<0.15	0.58	0.66	34	-	3.09	2.88	111	128	10.6	12.3	4.8	5.1
Slurry low dose	25.4	41.4	0.31	1.89	1.61	3.49	19	54	3.42	3.75	101	140	10.0	13.4	5.7	6.6
	29.4	30.4	0.40	1.17	2.18	2.99	18	39	3.84	3.48	116	128	12.4	12.4	5.6	6.9
	28.1	35.1	0.37	1.39	2.04	3.53	18	39	3.60	3.60	111	132	11.5	12.9	5.7	6.6
Slurry high dose	34.6	53.2	0.85	2.60	3.30	4.95	26	53	3.99	4.11	115	135	11.6	13.2	6.0	7.0
	36.2	62.5	1.15	1.92	4.68	3.01	25	64	4.17	4.23	113	137	11.6	13.6	5.9	6.8
	30.7	58.3	0.59	3.14	2.66	6.26	22	50	3.90	4.26	109	139	11.2	13.3	5.7	7.1
Compost low dose	28.1	54.5	0.29	1.20	1.24	2.49	23	48	3.39	3.81	120	142	11.6	13.2	5.5	6.2
	35.5	53.5	0.36	1.37	1.77	3.06	20	45	3.96	4.11	114	148	11.6	14.0	5.5	6.4
	27.2	52.5	0.26	1.05	1.02	2.20	25	47	3.48	4.05	105	147	10.3	13.9	5.8	6.5
Compost high dose	25.7	71.4	1.17	2.09	4.82	3.25	24	64	3.63	4.05	114	152	11.2	14.2	5.8	6.3
	32.7	77.9	0.33	2.47	1.84	3.46	18	71	4.05	4.60	115	161	11.7	15.0	5.6	6.5
	41.4	64.0	0.52	2.13	1.86	3.50	28	61	3.90	4.26	114	150	11.7	14.1	5.7	6.6

^a Inorganic P measured in extract by colorimetry

^b Total P measured in extract by ICP-MS

^c %Pi-water = 100 x Pi/Pt

^d ISO 14869-1

^e ISO 10694

^f ISO 13878

Table S2 Soil properties and parameters of inorganic phosphorus sorption curves in the andosol after 10 years of no fertilization (control), mineral or organic fertilization; or after 10 years of no fertilization with pH increased in laboratory (control pH 6.0, 6.5 and 6.9). Buffering index (*BI*) is equal to the product of *a* and *b*, that are two parameters of sorption curves (Eq. (1)).

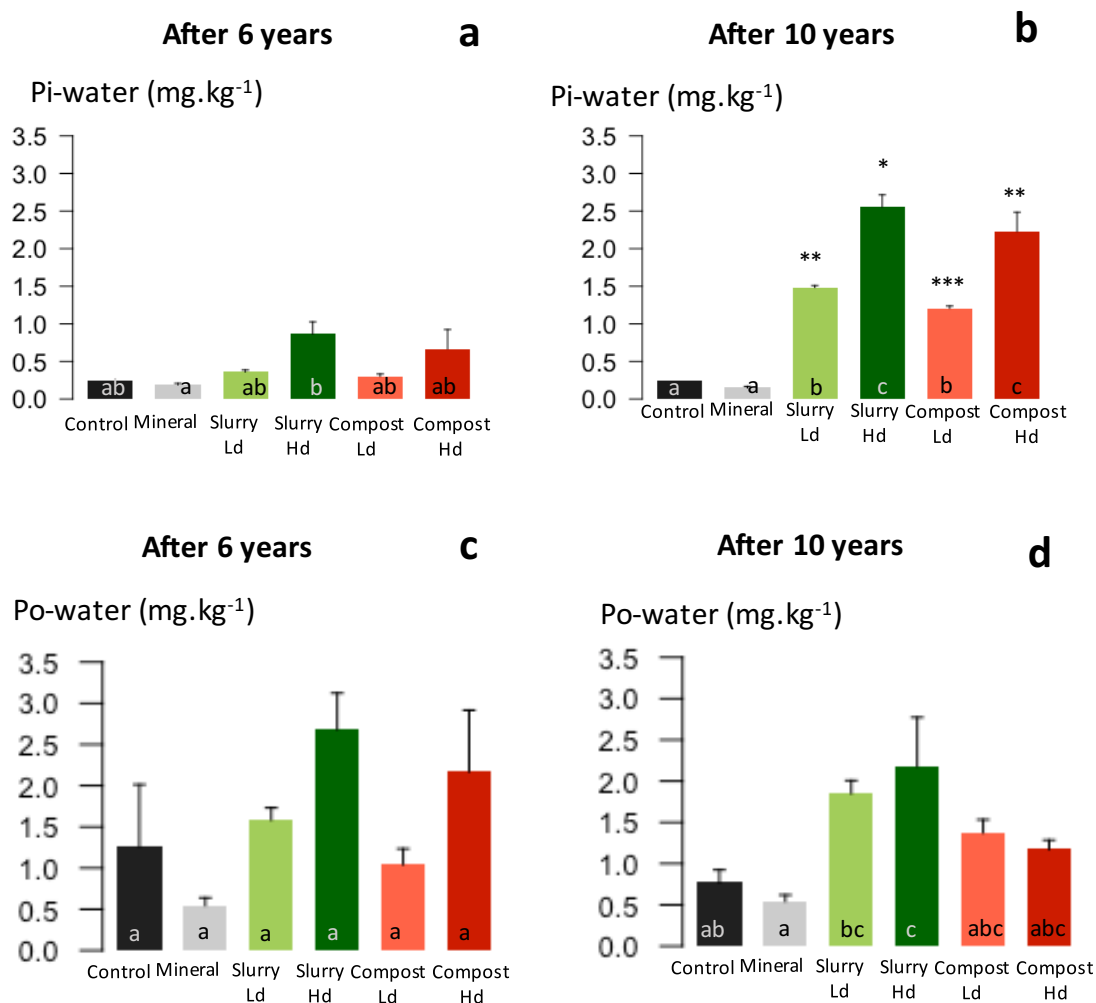
Treatment	Soil properties			Pi sorption curves parameters		
	P total ^a mg kg ⁻¹	pH	Organic C ^b mg g ⁻¹	<i>b</i>	<i>q</i> mg kg ⁻¹	<i>BI</i> L kg ⁻¹
Mineral	3210	5.2	121	0.251 (0.021)	905 (174)	600
Control	3120	5.8	120	0.284 (0.029)	1955 (212)	506
Slurry Ld	3600	6.6	132	0.241 (0.027)	1442 (285)	497
Compost Ld	4050	6.5	147	0.252 (0.031)	1190 (263)	460
Compost Hd	4680	6.5	160	0.230 (0.031)	1456 (344)	424
Control pH 6.0	3120	6.0	120	0.260 (0.011)	1069 (57)	499
Control pH 6.5	3120	6.5	120	0.182 (0.06)	2818 (1270)	648
Control pH 6.9	3120	6.9	120	0.295 (0.049)	1620 (430)	600

Standard error is in parenthesis

^a ISO 10694

^b ISO 14869-1

Figure S1 Water extracted inorganic phosphorus (Pi-water) or organic phosphorus (Po-water) in the andosol after 6 years or 10 years of no fertilization (control), mineral or organic fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) or high dose (Hd). Po-water was calculated by difference between total P measured in extract by ICP-MS and Pi measured in extract by colorimetry. Error bars stand for standard error (n = 3). Different letters indicate significant difference between fertilization modalities at p < 0.05. Asterisk indicate significant difference between 6 and 10 years for a given fertilization modality; *** p-value < 10⁻³; ** p-value < 10⁻²; * p-value > 0.05.



1.6. References

- Abdala, D.B., Ghosh, A.K., da Silva, I.R., de Novais, R.F. & Alvarez Venegas, V.H. 2012. Phosphorus saturation of a tropical soil and related P leaching caused by poultry litter addition. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 162, 15–23.
- Abdala, D.B., da Silva, I.R., Vergütz, L. & Sparks, D.L. 2014. Long-term manure application effects on phosphorus speciation, kinetics and distribution in highly weathered agricultural soils. *Chemosphere*, 119, 504–514.
- Annaheim, K.E., Doolette, A.L., Smernik, R.J., Mayer, J., Oberson, A., Frossard, E. & Bünemann, E.K. 2015. Long-term addition of organic fertilizers has little effect on soil organic phosphorus as characterized by ³¹P NMR spectroscopy and enzyme additions. *Geoderma*, 11907, 1–11.
- Association française de normalisation, 1995. Soil quality. Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). AFNOR Standard NF ISO 10694:1995. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 1998. Soil quality. Determination of total nitrogen content by dry combustion ("elemental analysis"). AFNOR Standard NF ISO 13878:1998. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 2001. Soil quality. Dissolution for the determination of total element content. Part 1: Dissolution with hydrofluoric and perchloric acids. AFNOR Standard NF ISO 14869-1:2001. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 2002. Soil quality - Determination of ammonium acetate extractable Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, K⁺ and Na⁺ cations - Agitation method. AFNOR Standard NF X31-108:2002. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 2007. Soil quality - Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution - Part 2 : automated method with segmented flow analysis. AFNOR Standard NF ISO 14256-2:2007. AFNOR, Paris.
- Bai, Z., Li, H., Yang, X., Zhou, B., Shi, X., Wang, B., Li, D., Shen, J., Chen, Q., Qin, W., Oenema, O. & Zhang, F. 2013. The critical soil P levels for crop yield, soil fertility and environmental safety in different soil types. *Plant and Soil*, 372, 27–37.
- Barrow, N.J. 2008. The description of sorption curves. *European Journal of Soil Science*, 59, 900–910.
- Barrow, N.J. & Debnath, A. 2014. Effect of phosphate status on the sorption and desorption properties of some soils of northern India. *Plant and Soil*, 378, 383–395.
- Barrow, N.J. & Debnath, A. 2015. Effect of status and pH on sulphate sorption and desorption. *European Journal of Soil Science*, 66, 286–297.
- Barrow, N.J. 2017. The effects of pH on phosphate uptake from the soil. *Plant and Soil*. 410, 401–410.
- Celi, L. & Barberis, E. 2005. Abiotic stabilization of organic phosphorus in the environment, in: Turner B.L., Frossard, E., Baldwin, D.S. (Eds.), *Organic phosphorus in the environment*. CABI, Wallingford, pp 113-132.
- Cordell, D., Rosemarin, A., Schröder, J.J. & Smit, A.L. 2011. Towards global phosphorus security: a systems framework for phosphorus recovery and reuse options. *Chemosphere*, 84, 747–58.
- Darch, T., Blackwell, M.S.A., Hawkins, J.M.B., Haygarth, P. M. & Chadwick, D. 2014. A Meta-Analysis of Organic and Inorganic Phosphorus in Organic Fertilizers, Soils, and Water: Implications for Water Quality. *Environmental science and technology*, 44, 2172–2202.
- De Vries, W. & Breeuwsmma, A. 1987. The relation between soil acidification and element cycling. *Water Air and Soil Pollution*, 35, 293–310.
- Elser, J. & Bennett, E. 2011. Phosphorus cycle: A broken biogeochemical cycle. *Nature*, 478, 29–31.
- Frossard, E., Sinaj, S., Zhang, L.M. & Morel, J.L. 1996. Fate of Sludge Phosphorus in Soil-Plant Systems. *Soil Science Society of American Journal*, 60, 1248–1253.

- Haynes, R.J. & Mokolobate, M.S. 2001. Amelioration of Al toxicity and P deficiency in acid soils by additions of organic residues: A critical review of the phenomenon and the mechanisms involved. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 59, 47–63.
- Huang, L.-M., Jia, X.-X., Zhang, G.-L. & Shao, M.-A. 2017. Soil organic phosphorus transformation during ecosystem development: A review. *Plant and Soil*, 417, 17–42.
- IUSS Working Group WRB 2014. World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome.
- Morel, C., Schaub, A., Valentin, N. & Houot, S. 2013. Dynamics of plant-available phosphorus for 11 years in a French loamy soil amended with biological sewage sludge amended or not with lime. Presented at 15. International Conference RAMIRAN - Recycling of organic residues for agriculture: from waste management to ecosystem services, Versailles, France.
- Morel, C., Ziadi, N., Messiga, A., Bélanger, G., Denoroy, P., Jeangros, B., Jouany, C., Fardeau, J. C., Mollier, A., Parent, L. E., Proix, N., Rabeharisoa, L. & Sinaj, S. 2014. Modeling of phosphorus dynamics in contrasting agroecosystems using long-term field experiments. *Canadian Journal of Soil Science*, 94, 377–387.
- Negassa, W. & Leinweber, P. 2009. How does the Hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172, 305–325.
- Noble, A.D. 1996. Leaf litter ash alkalinity and neutralisation of soil acidity. *Plant and Soil*, 179, 293–302.
- Oehl, F., Oberson, A., Tagmann, H.U., Besson, J.M., Dubois, D., Mäder, P., Roth, H-R. & Frossard, E. 2002. Phosphorus budget and phosphorus availability in soils under organic and conventional farming. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 62, 25–35.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. & Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. *Circ. USDA*, 939, 1–19.
- Peltre, C., Christensen, B.T., Dragon, S., Icard, C., Kätterer, T. & Houot, S. 2012. RothC simulation of carbon accumulation in soil after repeated application of widely different organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 52, 49–60.
- Pizzeghello, D., Berti, A., Nardi, S. & Morari, F. 2011. Phosphorus forms and P-sorption properties in three alkaline soils after long-term mineral and manure applications in north-eastern Italy. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 141, 58–66.
- R. Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN3-900051-07-0. URL (<http://www.R-project.org/>).
- Rao, A.S., Reddy, K.S. & Takkar, P.N. 1997. Malachite green method compared to ascorbic acid for estimating small amounts of phosphorus in water, 0.01 M calcium chloride, and olsen soil extracts. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 28, 589–601.
- Regelink, I.C., Weng, L., Lair, G.J. & Comans, R.N.J. 2015. Adsorption of phosphate and organic matter on metal (hydr)oxides in arable and forest soil: a mechanistic modelling study. *European Journal of Soil Science*, 66, 867–875.
- Shafqat, M.N. & Pierzynski, G.M. 2013. The effect of various sources and dose of phosphorus on residual soil test phosphorus in different soils. *Catena*, 105, 21–28.
- Shen, P., Xu, M., Zhang, H., Yang, X., Huang, S., Zhang, S. & He, X. 2014. Long-term response of soil Olsen P and organic C to the depletion or addition of chemical and organic fertilizers. *Catena*, 118, 20–27.
- Shepherd, M.A. & Withers, P. J. 1999. Applications of poultry litter and triple superphosphate fertilizer to a sandy soil: effects on soil phosphorus status and profile distribution. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 54, 233–242.

- Stroia, C., Morel, C. & Jouany, C. 2011. Nitrogen Fertilization Effects on Grassland Soil Acidification: Consequences on Diffusive Phosphorus Ions. *Soil Science Society of American Journal*, 75, 112.
- Toor, G.S., Hunger, S., Peak, J.D., Sims, J.T. & Sparks, D.L. 2006. Advances in the characterization of phosphorus in organic wastes: environmental and agronomic applications. *Advances in Agronomy*, 89, 1–72.
- Truong, B., Bertrand, R., Burdin & S. Pichot, J. 1974. Contribution à l'étude du phosphore dans les sols dérivés de roches volcaniques de l'île de la Réunion. *L'Agronomie Tropicale*, 29, 663-674.
- Ulrich, A.E. & Frossard, E. 2014. On the history of a reoccurring concept: Phosphorus scarcity. *Science of the Total Environment*, 490, 694–707.
- Van Moorleghem, C., Six, L., Degryse, F., Smolders, E. & Merckx, R. 2011. Effect of Organic P Forms and P Present in Inorganic Colloids on the Determination of Dissolved P in Environmental Samples by the Diffusive Gradient in Thin Films Technique, Ion Chromatography, and Colorimetry. *Analytical Chemistry*, 83, 5317–5323.
- Vanden Nest, T., Ruysschaert, G., Vandecasteele, B., Houot, S., Baken, S., Smolders, E., Cougnon, M., Reheul, D. & Merckx, R. 2016. The long-term use of farmyard manure and compost: Effects on P availability, orthophosphate sorption strength and P leaching. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 216, 23–33.
- Yan, X., Wang, D., Zhang, H., Zhang, G. & Wei, Z. 2013. Organic amendments affect phosphorus sorption characteristics in a paddy soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 175, 47–53.

2. Decadal fertilization-induced phosphorus accumulation and pH changes in an andosol determine the phytoavailability of residual phosphorus and fresh phosphate application

C.N. Nobile^{1,2}, M.N. Bravin¹, T. Becquer³, J.-M. Paillat⁴, C. Vermeiren⁵, E. Smolders⁵

¹CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-97743 Saint-Denis, Réunion, France

²VEOLIA-eau, Saint-Denis, Réunion, France

³IRD, UMR Eco&Sols, CIRAD-INRA-SupAgro, F-34060 Montpellier, France

⁴CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-34398 Montpellier, France

⁵KU Leuven, Department of Earth and Environmental Sciences, Leuven, Belgium

Abstract

One of the major challenge concerning P fertilization is to increase the use of P accumulated in soil for crops. Long-term organic fertilization can increase soil pH and organic matter content and thus increase soil P availability. Nevertheless, plant P uptake, i.e. P phytoavailable, can differ from P available. We thus studied the effects of modifications of soil physical-chemical properties and P accumulation due to long-term fertilization, on P availability, on P phytoavailability, and on the efficiency of fresh phosphate applied. We studied soils sampled on an andosol field experiment after 12 years of organic (dairy slurry or compost of dairy manure), chemical NPK with N applied as ammonium nitrate; or mixed of organic and ammonium nitrate fertilization. Soil available Pi before growth experiment was determined by isotopic exchange method associated with anion exchange membrane (E_{AEM}). Phytoavailable P was then determined in a growth experiment with pearl millet (*Pennisetum glaucum*) realized in controlled conditions during three weeks, without or with fresh phosphate application (\emptyset P or +P treatments, respectively). Results show that soil available Pi (E_{AEM}) increased closely with soil total P and increasing soil pH (linear regression with both variables: r^2 adj = 0.94). Plant P uptake increased with E_{AEM} (r^2 adj = 0.60), but decreased with soil pH (r^2 adj = 0.39) (linear regression with both variables and their interaction: r^2 adj = 0.86). Soil pH had thus an opposite effect on available Pi and phytoavailable P. Plant biomass was limited by low shoot P concentration in soils with low available Pi (control and NPK soils), and by high shoot K concentration in soils with organic fertilizations. Fresh phosphate application did not increase P uptake in soil with high Pi availability, or in soils with very low pH (< 5). Our study shows that P availability and phytoavailability are closely correlated to P accumulated in soil, but changed also with modification of soil pH induced by long-term fertilization. Modification of soil pH can moreover modify efficiency of a fresh fertilizer applied.

2.1. Introduction

The future phosphorus (P) scarcity implies to reduce the use of P fertilizers and to increase their efficiency (Cordell et al. 2011). In developed countries with intensive fertilization practices, P has been applied in excess and agricultural soils can thus contain very high amount of residual P (Sattari et al. 2012). Increasing the utilization by crops of soil residual P as well as fresh P applied is a promising way to reduce the use of fertilizer. This objective can be reached by investigating the ability of plant roots to take up phosphate from the rhizosphere (Faucon et al., 2015) and/or increasing the availability of soil residual P (Menezes-Blackburn et al., 2017). The second one received less attention in the past decade and need to be explored.

Soil P availability increases with the residual P content in soil, but changes also with soil physical-chemical properties (Stroia et al., 2007; Withers et al. 2016). Soil P availability changes especially with soil pH that alters inorganic P (Pi) sorption capacity of the soil (Chapter II). Increasing pH increases negative charges on soil surfaces, which can decrease Pi sorption and thus increase P availability (Barrow, 2017). Soil P availability can also increase with soil organic carbon, because organic anions can compete with Pi for the same sorption sites and thus decrease Pi sorption (Regelink et al. 2015). In soils exhibiting contrasting physical-chemical properties and fertilized in the long-term, amount of residual P, soil pH and organic carbon are key factors driving P availability (Chapter III.1).

Sorption and desorption capacities of soils change with pH. The pH at which occurs maximum Pi sorption or desorption is specific to the nature of Al/Fe oxyde or clay mineral (Gérard et al., 2016). Variations in Pi sorption/desorption capacities with soil pH change thus between soils, which contain a variety of minerals and organic matter in different proportions. In classic ranges of soil pH (5-8), sorption of Pi tends to decrease with increasing pH (Barrow and Debnath, 2015). Efficiency of a fertilizer can thus increase with increasing pH, because sorption of P added onto the soil decreases. Effect of pH on Pi desorption is less obvious; desorption tends to increase with increasing pH above 7, but tends to decrease with increasing pH below 7 (Barrow et al., 2017).

Desorption of P from the soil surfaces to the roots influences plant P uptake (Barrow et Debnath, 2014). According to Barrow et al. (2017), plant P uptake tends to decrease with increasing pH, because of the decrease of desorption of P from the soil to the roots. When pH increases, P phytoavailability could thus decrease because of a lower P desorption from the soil surfaces to the roots, while P availability in a soil fertilized increases because of a lower sorption of P added from the solution to the soil surfaces. Variations in plant P uptake with pH has been studied mainly independently of fertilization effect, and mainly in hydroponic experiments or in soils with pH modified in laboratory (Mitsukawa et al., 1997; Sentenac and Grignon, 1985). There is a clear lack of studies based on field experiment investigating the relative influence of soil pH and P fertilization on plant P uptake.

Long-term organic and mineral fertilization can markedly modify soil physical-chemical properties. Organic fertilization often leads in the same time to an increase of pH and organic matter in soil, and to an accumulation of P (Chapter III.1; Haynes and Mokolobate, 1999). Both modifications of soil physical-

chemical properties and accumulation of P with long-term organic fertilization can increase P availability, but their relative effects have been poorly investigated. We previously showed that the rate of P applied, and the modifications of pH and organic carbon determine Pi sorption capacity and P availability in an andosol fertilized in the long-term. Nevertheless, it is well known that P available in soil reflects only partially P uptake by plants, because of rhizosphere modifications induced by plant roots (Hinsinger et al., 2011). Variations in plant P uptake with modifications of soil physical-chemical properties and P accumulation due to long-term fertilization need to be investigated.

We thus aimed to determine the effects of modifications of soil physical-chemical properties and P accumulation due to long-term fertilization, on P availability, on P phytoavailability, and on the efficiency of fresh phosphate applied. We used soils from a 12 years old organic and mineral fertilization experiment, exhibiting different residual P content, pH and organic carbon among fertilization modalities. We determined P availability in these soils by isotopic exchange method associated to anion exchange membrane (E_{AEM}), and then we realized a growth experiment using pearl millet (*Pennisetum glaucum*) with or without fresh phosphate application, to determine P phytoavailability.

2.2. Material & Methods

2.2.1. Description of field experiment and soil sampling

Soil samples were collected from a long-term field experiment located in Réunion, a French volcanic island (2500 km²) in the Indian Ocean (55°30'E, 21°05'S). The experimental area is characterized by a tropical climate with an average annual precipitation of 2020 mm, with most of the rain between December and April, and an average temperature varying from 9.1 to 18.7°C (Météo-France, 2017). The experiment was cultivated under grassland with five cuts per year for 12 years on an andosol (IUSS Working Group WRB, 2014). Table 1 shows the soil parameters at the beginning of the field experiment. Plots were arranged in a randomized block design with three replicates.

Ten modalities with organic and/or mineral fertilization were performed yearly as follows (Table S1): a control without fertilization, two mineral fertilizations with both 52 kg P ha⁻¹ yr⁻¹ as soft rock phosphate (75% soluble in 2% formic acid) but differing by the dose of N applied as NH₄NO₃ (NPK 1 and 2, respectively); two fertilizations with dairy slurry corresponding to either 170 or 290 kg P ha⁻¹ yr⁻¹ (slurry low dose (Ld) and high dose (Hd), respectively); two fertilizations with dairy manure compost corresponding to either 70 or 120 kg P ha⁻¹ yr⁻¹ (compost Ld and Hd, respectively); and three mixed fertilizations of organic fertilizers and N applied as NH₄NO₃: dairy slurry at low dose and NH₄NO₃ (slurry Ld/N); dairy manure compost at low dose or at high dose and NH₄NO₃ (compost Ld/N or compost Hd/N, respectively). Compost and slurry were lyophilized and crushed at 2mm before analyses. Table 2 shows slurry and compost parameters.

Table 1 Parameters of andosol sampled at 0-15cm under grassland cover at the beginning of the field experiment.

	Unit, dry mass	
Clay (< 2 μm)	g kg^{-1}	139
Silt (2 - 50 μm)	g kg^{-1}	680
Sand (50 – 2 000 μm)	g kg^{-1}	181
Bulk density	g cm^{-3}	0.55
Organic C ^a	g kg^{-1}	123
N total ^b	g kg^{-1}	10.9
P total ^c	mg kg^{-1}	3030
Pi-Olsen ^d	mg kg^{-1}	23.7
Pi-water ^e	mg kg^{-1}	0.36
pH-water ^f		5.8

^a ISO 10694

^b ISO 13878

^c ISO 14869-1

^d Inorganic phosphorus extracted with Olsen method

^e Inorganic phosphorus extracted with water

^f Soil:liquid ratio 1:5

The soil was sampled after 12 years of fertilization at 0-15 cm depth in each plot, and soil samples (hereafter referred to as soils) were air dried and sieved at 2 mm. The three replicates per fertilization were then mixed to obtain a composite for each of the ten fertilization modalities. Soils were analyzed by a routine soil testing laboratory (CIRAD, US Analyses). The soil is classified as an andosol (IUSS Working Group WRB, 2014); Table 1 shows the soil parameters at the beginning of the field experiment.

Table 2 Parameters of organic fertilizers used in the field experiment.

	Unit, dry mass	Slurry	Compost
Dry matter 105°C	%	9.1	46.3
Organic C ^a	g kg ⁻¹	890	232
N total ^a	g kg ⁻¹	24.8	22.4
P total ^b	g kg ⁻¹	8.0	7.0
K total	g kg ⁻¹	45.4	11.1
Pi-water ^c	g kg ⁻¹	0.6	0.9
pH-water ^d		7.5	7.5

^a ISO 10694

^b ISO 14869-1

^c Inorganic phosphorus extracted with water

^d Soil:liquid ratio 1:5

2.2.2. Determination of total, inorganic, and organic phosphorus in soils

For the determination of total P, 1 g of dry soil was heated in a muffle furnace at 500°C to ensure the oxidation of the organic P (Po) into inorganic P (Pi). The ashes were then digested for 16 h with 25 ml of 0.5 M H₂SO₄ (Saunders and Williams, 1995). The digest was centrifuged for 15 min at 1500 × *g* and filtered at 0.45 μm (Minisart, Sartorius). The concentration of Pi was determined in the filtrate by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES, Thermo Fisher iCAP 7200). For the determination of Pi, the same procedure was performed but without oxidizing Po. The concentration of Po was calculated by making the difference between total P and Pi. This method is well established and commonly used for the determination of total Po (Luo et al., 2017). Nevertheless, a part of total P could not be extracted with 0.5 H₂SO₄ in some soils (with or without ignition), we cannot thus be sure that it corresponded to soil total P. Walker and Adams (1958) found higher values of P extracted with this method than classic method for the determination of total P in several soils. Moreover, we previously determined soil total P in soils from the same field experiment, using a classic established method (P extracted with HF, HClO₄ and HNO₃ after ignition) (Chapter III.1), and we found very similar amount of P than in the present study. We thus considered in this study, that total P extracted with 0.5 H₂SO₄ after ignition of the soil corresponded to soil total P.

2.2.3. Determination of available inorganic phosphorus in soil by isotopic exchange method associated to anion exchange membrane

Classic isotopically exchangeable inorganic P (Pi) can be difficult to determine in the andosol studied, which has a high Pi sorption capacity (Chapter II) and thus a low concentration of water or CaCl₂ extracted Pi (Chapter III.1), close to the limit of quantification (LQ) (0.02 mg L⁻¹) when using the green Malachite colorimetry method (Rao et al. 1997; Van Moorleghe et al. 2011). Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) has a lower LQ (0.008 mg L⁻¹), but cannot be used in the classic isotopic exchangeable Pi method, because it measures total P and is therefore not able to differentiate Pi from Po. We thus used the isotopic exchange method associated to anion exchange membrane (AEM) proposed by Maertens et al. (2004), which assumes that only Pi is binding to AEM. Concentration of Pi in AEM eluates can thus be determined by ICP-MS and errors due to low concentration of water or CaCl₂ extracted Pi are reduced.

An equivalent of 3g dry soil was mixed with 30 mL of CaCl₂ 5 mM for 16 h for pre-equilibration of the soil-solution system. Radioactive phosphate ³³PO₄ (0.1 MBq 30mL⁻¹) and two anion exchange membranes (AEM) of 5 cm² loaded with HCO₃⁻ (55164 2S, BDH Laboratory Supplies) with an anion exchange capacity of 0.037 cmol_c cm⁻² were added concomitantly to the soil-solution mixture and shaken for 5 days more. Then, AEM were removed from the soil-solution mixture, rinsed with ultra-pure water, and eluted for 16 h in 20 mL of HCl 0.5 M. The concentration of ³³Pi and total P was measured with a β-counter (Packard Tri-Carb 1600CA liquid scintillation counter; scintillation cocktail Ultima Gold AB) and by ICP-MS (Agilent 7700x), respectively. We calculated the E_{AEM} values and the solid-solution partitioning coefficient of Pi (K_d) according to Maertens et al. (2004), assuming that AEM binding capacity was the same for ³¹Pi and ³³Pi:

$$E_{AEM} = C_{31\text{Pi},\text{liquid}} \left(\frac{V}{M} + K_d \right) \quad \text{Eq. (1)}$$

With $C_{31\text{Pi},\text{liquid}}$ the concentration of Pi in the AEM eluate (mg L⁻¹), V the volume of CaCl₂ in soil suspension (L) and M the mass of the soil (kg).

$$K_d = \frac{C_{33\text{Pi},\text{solid}}}{C_{33\text{Pi},\text{liquid}}} = \frac{R - r}{r} * \frac{V}{M} \quad \text{Eq. (2)}$$

with $C_{33\text{Pi},\text{solid}}$ the concentration of ³³Pi on the soil solid phase (mg L⁻¹) and $C_{33\text{Pi},\text{liquid}}$ the concentration of ³³Pi in the AEM eluate (mg L⁻¹), R the total radioactivity introduced in the soil suspension (Bq mgP⁻¹) and r the final radioactivity in AEM eluates after 5 d (Bq mgP⁻¹).

We thus have from equations (1) and (2):

$$E_{AEM} = \frac{1}{SA_{AEM}} \frac{R}{M} \quad \text{Eq. (3)}$$

with SA_{AEM} the specific activity of P in AEM eluate (Bg mgP^{-1}).

To check the assumption that only P_i was binding to EAM, we also measured P_i concentration in AEM eluates by colorimetry with the malachite green method. On the range of high concentrations, i.e. between 0.06 and 0.3 mg P L^{-1} determined by colorimetry, concentrations determined by colorimetry and by ICP-MS were closely correlated on the 1:1 line ($y = 0.99x + 0.01$, $r^2 \text{ adj} = 0.98^{***}$) (Figure S1). Soils with low P concentrations are soils that received low P inputs at the field (control, NPK 1 and NPK 2 fertilizations), and thus soils with a higher proportion of P_o versus P_i in water extract (72-81% of P_o) than soils that received high P inputs (29-61% of P_o) (Chapter III.1). We can thus conclude that P bound to AEM corresponds likely to P_i only, when the AEM method is deployed on soils with a low proportion of P_o , but we cannot conclude for soils with a high proportion of P_o (> 70% in water extract).

2.2.4. Determination of phytoavailable phosphorus with plant growth experiment

In the treatment without fresh phosphate addition ($\emptyset P$), the ten soils from the field experiment were fertilized with a nutritive solution containing NH_4NO_3 and KCl to provide 120 mg N and 100 mg K kg^{-1} dry soil. In the treatment with fresh phosphate addition (+P), the ten soils were fertilized with a nutritive solution containing NH_4NO_3 and KH_2PO_4 to provide 120 mg N, 100 mg K, and 80 mg P kg^{-1} dry soil. Soils were moistened to reach 70% of pF 2.5 and were pre-incubated for 6 days in a phytotron in the darkness at 24 °C and 65% of relative humidity. After pre-incubation, each soil was separated into four replicates in plastic pots containing 225 g dry soil, and 8 seeds of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) were sowed per pot. Pots were placed in a phytotron with the following climatic conditions: 12 h of light day^{-1} , 28/20°C (day/night) and 65% of relative humidity. Soils were then moistened daily to maintain 70% of pF 2.5. Five days after sowing, we kept only four plants per pot by cutting the shoots of extra plants, and 10 days after sowing only two plants. After 19 days of growth, the shoots of remaining plants were cut 1 cm above soil surface, cut into small pieces and dried at 65°C for 48h to determine shoot biomass. Plant shoots were heated in a muffle-oven at 500°C during 6h and ashes were then digested in 300 mL HCl (37% w w⁻¹) and 100 mL HNO_3 (68% w w⁻¹) per liter. The concentration of Ca, K, Mg, and P in plant digests was measured by ICP-OES. Certified reference corn (*Zea mays* L.) was included in the digestions and analyses; the measurement recovery was 101% for Ca, 93% for K, 91% for Mg and 108% for P.

2.2.5. Data processing and analysis

Data were statistically analyzed with the R package (R Core team, 2013). ANOVA was used to study the effect of the field fertilization modalities and the effect of laboratory fresh phosphate application (treatment \emptyset P or +P) on soil and plant parameters. Pairwise Tukey HSD (Honest Significant Difference) tests were used to rank field fertilizations modalities, with a threshold of significant at 0.05. Linear regressions were used to study the effect of soil total P, pH and organic carbon on soil and plant parameters.

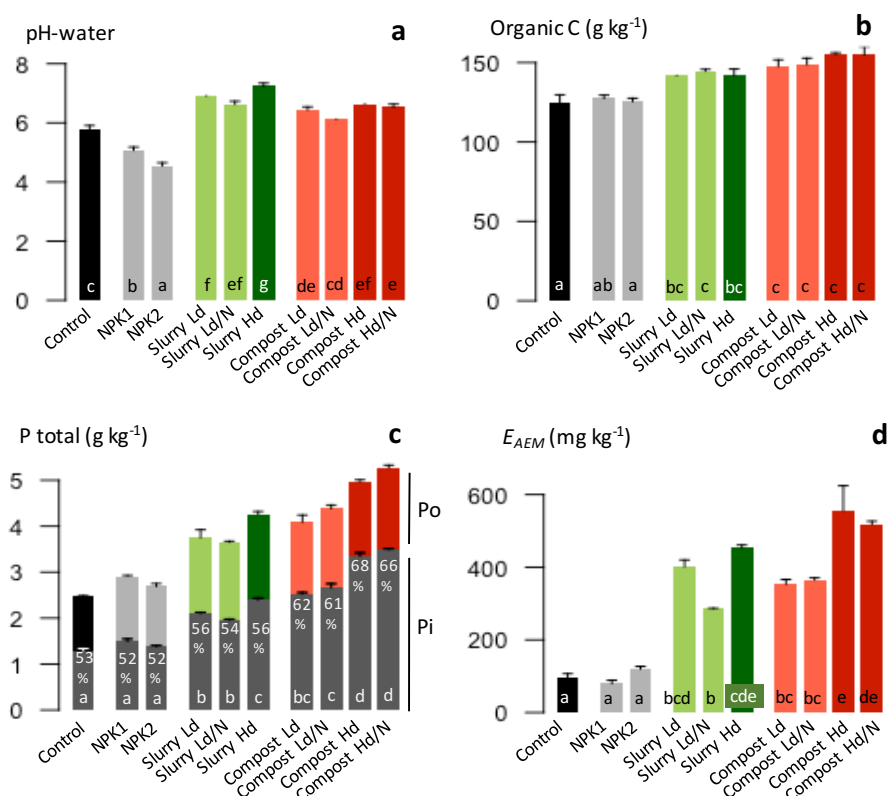
2.3. Results and discussion

2.3.1. Long-term fertilization modifies pH and organic carbon content in soil

Long-term organic, NPK, and mixed fertilization modified soil pH compared to the control soil (Figure 1a). After 12 years of fertilization, NPK fertilizations decreased pH compared to the control soil by 0.7 and 1.2 units for NPK 1 and NPK 2, respectively. By contrast, organic and mixed fertilizations increased soil pH, with higher increases with slurry (up to 1.4) than compost modalities (up to 0.8). Decrease of pH induced by application of NH_4NO_3 and increase of pH induced by organic fertilization have been previously reported in a study performed on the same field experiment after 10 years of fertilization (Chapter III.1); differences are larger here after 12 years. Acidification with NH_4 that produces protons (Thomson et al. 1993), while increase of pH with organic fertilization can be due to the organic matter applied, and subsequent decarboxylation of organic anions (de Vries and Breeuwsma, 1987; Yan et al., 1996).

Organic and mixed fertilization increased the organic carbon content in soil compared to the control, NPK 1, and NPK 2 modalities (Figure 1b). After 12 years of fertilization, organic C was equal to 125 g kg^{-1} in control soil. Slurry induced an increase up to 20 g kg^{-1} , while compost induced an increase up to 30 g kg^{-1} ; nevertheless, differences of organic C between slurry and compost modalities were not significant. Accumulation of organic C with long-term organic fertilization agreed with the literature (Peltre et al., 2012) and has been previously reported on the same field experiment after 10 years of fertilization (Chapter III.1). Nevertheless, organic C was significantly higher in soil with compost than with slurry after 10 years of fertilization. Between 10 and 12 years of fertilization, organic C increased with slurry modalities (by 8 g kg^{-1} for Ld and by 5 g kg^{-1} for Hd), while it remains almost constant with compost modalities. Further analyses should be realized in the long-term to confirm the stagnation of organic C in soils with compost.

Figure 1 Changes in properties and phosphorus availability (E_{AEM}) in the andosol after 12 years of no fertilization (control), mineral, organic or mixed organic/N fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) and high dose (Hd); mixed fertilization consisted in organic plus NH_4NO_3 fertilization. Error bars stand for standard error ($n = 2$). Different letters indicate significant difference at the 0.05 level. In graph (c), letters stand for P total; inorganic P (Pi) total is in gray; organic P (Po) total is in color and was determined by difference between P total and Pi total; percentages are percentage of total Pi compared to total P.



2.3.2. Long-term fertilization increases the total phosphorus content and the proportion of inorganic phosphorus in soil

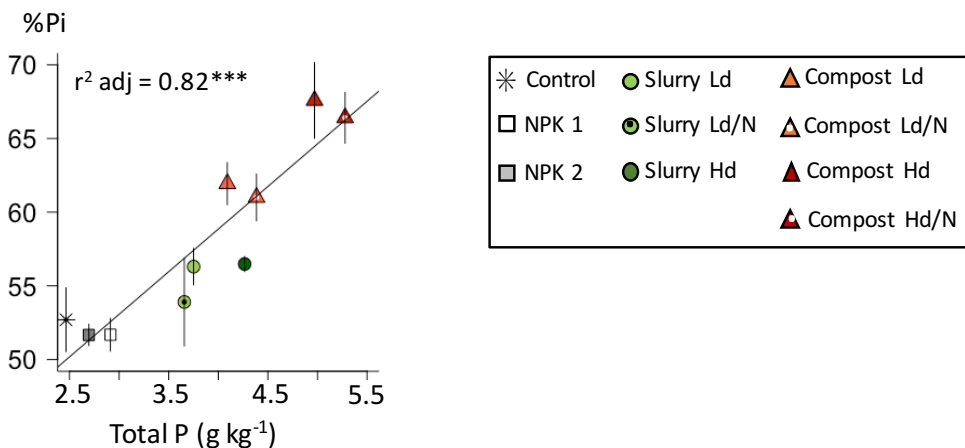
Organic and mixed fertilization increased the total P content in soil compared to the control, NPK 1, and NPK 2 modalities (Figure 1c). After 12 years of fertilization, total P was not significantly different in control soil (2.5 g kg^{-1}), and in soils with NPK 1 (2.9 g kg^{-1}) or NPK 2 (2.7 g kg^{-1}) modalities. By contrast, organic and mixed modalities induced an accumulation of total P in soils; compared to the control increase of total P was lower with slurry modalities (increase up to 1.8 g kg^{-1} with slurry Hd), than with compost modalities (increase up to 2.8 g kg^{-1} with compost Hd/N). Accumulation of P in soil was due to high rates of P applied with organic residues compared to plant P uptake in the field experiment (Chapter III.1). In the literature, cumulated P budget (P applied – P uptake by plants) in long-term field experiments generally ranges from about -0.1 to 0.5 g kg^{-1} , but can reach up to 1.8 g kg^{-1} (Morel et al.

2013). In our study, the accumulation of P was thus high, particularly with organic and mixed fertilizations at the highest doses.

The proportion of total Pi relatively to total Po (%Pi) in soil after 12 years of fertilization was higher with organic and mixed fertilization compared to control, NPK 1 and NPK 2 fertilizations (Figure 1c). Proportion of total Pi was equivalent in control (53%), NPK 1 (52%) and NPK 2 (52%) fertilizations, then higher with slurry modalities (up to 56%) and then higher with compost modalities (up to 68%). Previous studies showed also an increase of %Pi with medium-term or long-term organic fertilization (Negassa and Leinweber, 2009).

The proportion of total Pi (%Pi) increased linearly with soil total P content, whatever the source of P applied ($r^2 \text{ adj} = 0.82$) (Figure 2). These results show that the rate of P applied with NPK fertilization was too low to increase %Pi in soil. By contrast, organic and mixed fertilizations increased %Pi in soil because of high rate of P applied. Previous studies performed on several field experiments in Réunion including the experiment of the present study, showed that long-term organic fertilization increased in majority Pi while it had few effect on Po in readily available pools, i.e. in water extracts or in Diffusive Gradients in thin Films eluates, or in moderately available pools, i.e. Olsen and Olsen-Dabin extracts (Chapters II and III.1). We showed here that fertilization increased total Pi relatively to total Po in the andosol studied, irrespective of whether P was applied as organic or mineral fertilizer.

Figure 2 Relationship between proportion of total inorganic phosphorus (%Pi) and total phosphorus in the andosol after 12 years of no fertilization (control), mineral, organic or mixed organic/N fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) and high dose (Hd); mixed fertilization consisted in organic plus NH_4NO_3 fertilization. Error bars stand for standard error ($n = 2$). The line represents the regression fit; *** p-value < 0.001.

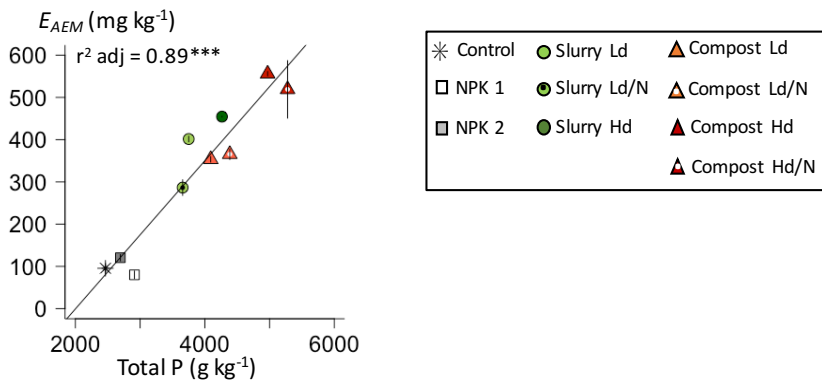


2.3.3. Inorganic phosphorus availability increases with total phosphorus and pH in soil

Values of E_{AEM} in the ten soils varied from 80 to 556 mg kg⁻¹ (Figure 1d). Maertens et al. (2004) studying 14 different fertilized soils with a wide range of sorption capacities found E_{AEM} ranging from 2.55 mg kg⁻¹ to 222 mg kg⁻¹. In our study, E_{AEM} were thus high, which suggests a high P availability in soils studied. Nevertheless, a previous study reported low values of water extracted Pi (median: 0.36 mg kg⁻¹) and Olsen extracted Pi (median: 29 mg kg⁻¹) in the same field experiment, due to a high Pi sorption capacity of the soil (Chapter II), but high values of Olsen-Dabin extracted Pi (median: 318 mg kg⁻¹). These results show that E_{AEM} determined after 5 days of isotopic exchange can be very high in a soil with high Pi sorption capacity, but a high total P content.

Organic and mixed fertilization increased E_{AEM} values in soil compared to the control, NPK 1, and NPK 2 modalities (Figure 1d). Values of E_{AEM} were not significantly different between control soil (95 mg kg⁻¹), NPK 1 (80 mg kg⁻¹) and NPK 2 (121 mg kg⁻¹) fertilizations. By contrast, organic and mixed modalities led to higher E_{AEM} , ranging from 287 mg kg⁻¹ (slurry Ld/N) to 556 mg.kg⁻¹ (compost Hd). Increases of water extracted Pi and Olsen extracted Pi were previously reported in a study performed on the same field experiment (Chapter III.1), and has been reported elsewhere in the literature (Negassa and Leinweber, 2009). We showed here that P availability determined by E_{AEM} changed with fertilization modality.

Figure 3 Relationship between phosphorus (P) availability (E_{AEM}) and soil total P in the andosol after 12 years of no fertilization (control), mineral, organic or mixed organic/N fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) and high dose (Hd); mixed fertilization consisted in organic plus NH₄NO₃ fertilization. Error bars stand for standard error ($n = 2$). The line represents the regression fit; *** p-value < 0.001.



The variations of total P and pH in soil explained concomitantly 94% of variation of E_{AEM} . Values of E_{AEM} were highly and positively correlated to soil total P (r^2 adj = 0.89) (Figure 3) but less to soil total Pi (r^2 adj = 0.84), and positively correlated to soil pH (r^2 adj = 0.59) (Table 3). The best linear regression explaining the variations of E_{AEM} included both total P and soil pH ($E_{AEM} = 0.14 P \text{ total} + 61 \text{ pH} - 589$; r^2 adj = 0.94; p -value $< 10^{-3}$). It is noteworthy that soil organic carbon was also positively correlated to E_{AEM} (r^2 adj = 0.84), but organic carbon and total P were highly and positively correlated (r^2 adj = 0.91), that avoids a distinction of their relative contribution to the variation of E_{AEM} . By contrast, soil pH and soil total P were poorly correlated (r^2 adj = 0.38). In a previous study, we showed that water extracted Pi increased mainly with total P and pH in soil (Chapter III.1), but pH had a much stronger effect on water extracted Pi (r^2 adj = 0.78) than here on E_{AEM} . Positive correlation between available Pi and soil pH can be explained by an increase of negative charges on soil surfaces leading to a decrease of Pi sorption (Barrow, 2017). Low effect of pH on E_{AEM} suggests that exchangeable Pi after 5 days varies little with sorption capacity of soil altered by pH. By contrast, E_{AEM} varies closely with the soil total P content. The present study confirmed that the rate of P applied and changes of pH due to long-term fertilization determine soil available Pi, but shows that pH had a much lower effect on E_{AEM} than on water extracted Pi.

Table 3 Linear regressions of E_{AEM} (mg kg^{-1}) against soil soil total P (mg kg^{-1}) and soil pH in the andosol after 12 years of fertilization ($n = 10$).

	Soil parameters	Intercept	r^2 adj	p -value
$E_{AEM}^a =$	$0.18 P \text{ total}^b$	- 352	0.89	$< 10^{-3}$
$E_{AEM} =$	166 pH^c	- 708	0.59	$6 \cdot 10^{-3}$
$E_{AEM} =$	$0.14 P \text{ total} + 61 \text{ pH}$	- 589	0.94	$< 10^{-3}$

^a E_{AEM} was determined after 5 d of isotopic exchange

^b ISO 14869-1

^c pH measured , at soil:liquid ratio 1:5

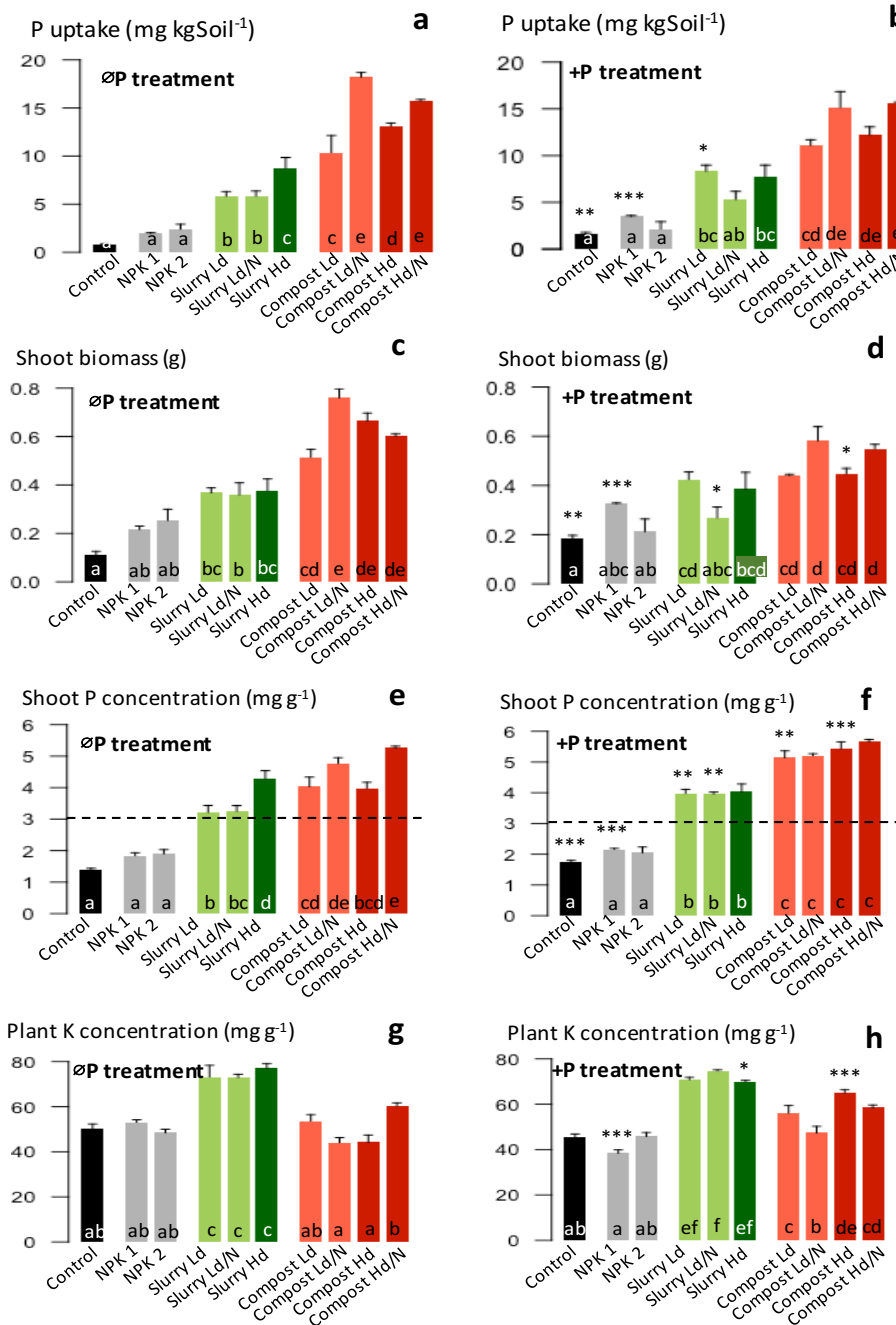
2.3.4. Phosphorus phytoavailability increases with available inorganic phosphorus, but decreases with pH in soil

Organic and mixed fertilization increased plant P uptake compared to the control, NPK 1 and NPK 2 fertilizations (Figure 4a and b, Table S2). Without fresh phosphate application (treatment \emptyset P), plant P uptake varied from 0.8 to 18.2 mg kgSoil⁻¹ following the order: control, NPK 1, NPK 2 < slurry 1, slurry 1/N < slurry 2, compost 1 < compost 2 < compost 1/N, compost 2/N (Figure 4a, Table S2). Rank of fertilization modalities was different between plant P uptake and E_{AEM} . Mixed fertilization with compost (compost Ld/N and compost Hd/N) led to highest P uptake than only compost fertilization at the same dose (compost Ld and compost Hd). Effect of fertilization type on plant P uptake has been mainly studied with application of organic or mineral fertilizers in controlled conditions just before sowing, and thus in the short-term with only one application of fertilizer (Shafqat and Pierzinsky, 2013; Shepherd et al., 2017). We showed here that plant P uptake changed highly between fertilization types after 12 years of fertilization at the field.

Plant P uptake increased with E_{AEM} (r^2 adj = 0.60) (Figure 5a). Relationship between plant P uptake and E_{AEM} was mainly defined by two groups of soils; on the one hand soils with low E_{AEM} (80 – 121 mg kg⁻¹), i.e. control soil or soils with NPK 1 and NPK 2 fertilizations, and on the other hand soils with high E_{AEM} (286 – 560 mg kg⁻¹). In soils with high E_{AEM} values only, plant P uptake was poorly related to E_{AEM} (r^2 adj = 0.12). Previous studies showed that exchangeable Pi was the P available for plants (Morel and Planchette, 1994). Nevertheless, Tran et al. (1988) showed that P uptake and E values after a 1 min of exchange were closely correlated in soil with low Pi sorption capacity ($r^2 = 0.81$), but poorly correlated in soil with high Pi sorption capacity ($r^2 = 0.22$). Our results show that plant P uptake changed with E_{AEM} after 35 days of exchange, but other factors are implied.

Plant P uptake decreased with pH in soil with organic and mixed fertilization (r^2 adj = 0.39) (Figure 5b). The variations of soil pH and E_{AEM} explained concomitantly 70% of plant P uptake in soil with organic and mixed fertilization (Table 4). Mixed fertilization with NH₄NO₃ led to a decrease of pH in soil as compared to organic fertilization only, which seems to induce a higher plant P uptake. These results are in accordance with studies performed on hydroponic conditions or in soils with pH modified in laboratory, showing that plant P uptake decreased with increasing pH in the range from 5 to 8 (Barrow et al. 2017). For a same dose of P applied with long-term fertilization, plant P uptake and thus P phytoavailability decreased when soil pH increased.

Figure 4 Phosphorus phytoavailability (P uptake), shoot biomass, and phosphorus and potassium concentration in plants grown in the andosol after 12 years of no fertilization (control), mineral, organic or mixed organic/N fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) and high dose (Hd); mixed fertilization consisted in organic plus NH_4NO_3 fertilization. Soils received fresh phosphate application (+P treatment) or not (\emptyset P treatment) before sowing. The dotted line represents minimum requirement for optimal plant growth. Error bars stand for standard error ($n = 4$). Different letters indicate significant difference between fertilization modalities at the 0.05 level. Asterisks represent significant differences between \emptyset P and +P treatments; *** p-value < 0.001; ** p-value < 0.01; * p-value < 0.05.



Although soil pH had a positive effect on Pi availability in soil, soil pH had however a negative effect on P phytoavailability. In agreement with this result, phosphate uptake by corn grown in hydroponics was shown to decrease at a given Pi concentration in solution with increasing solution pH within the range 3 to 7.5 (Sentenac and Grignon, 1984). Phosphorus uptake by soil-grown soybean (*Glycine max* L.) was also shown to decrease with increasing rhizosphere pH (Riley and Barber, 1971). Two concomitant mechanisms may be invoked to explain the decrease of plant P uptake with increasing soil pH at a given level of Pi availability. Firstly, phosphate, amine, and carboxyl groups borne by the root cell wall induce that root surfaces are negatively charged in classic range of soil pH and this overall negative charge increases with pH (Guigues et al. 2014). This first mechanism thus leads to an increasing repulsion of phosphate in solution from root surfaces with increasing pH. This consideration was barely evoked in the literature on P phytoavailability, but it is well accepted and widely used to describe root interaction with trace elements including arsenate which is a chemical analogue of phosphate (Wang et al. 2011). Secondly, when pH increases in solution and thus H⁺ concentration decreases, phosphate transport into the cell can decrease, because it may involve H⁺ cotransport and/or because the intrinsic sensitivity of membranes transporter can decrease (Mitsukawa et al., 1997; Sentenac and Grignon, 1985).

Table 4 Linear regressions of plant P uptake (mg kgSoil⁻¹) against soil total P (mg kg⁻¹) and soil pH in the andosol after 12 years of fertilization, without fresh phosphate application (ØP treatment) (*n* = 7).

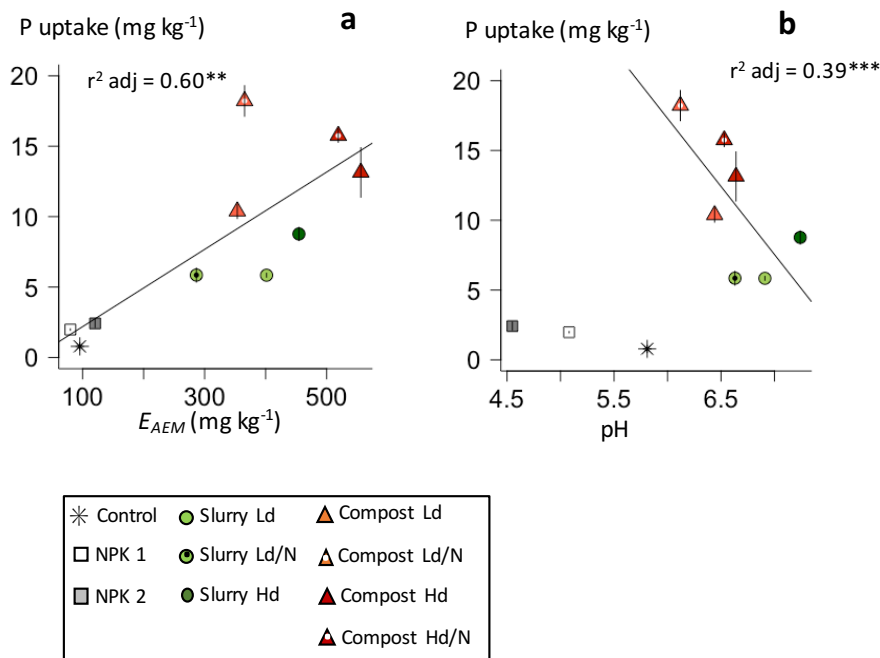
	Soil parameters	Intercept	r ² adj	p-value
P uptake ^a =	- 9.8 pH ^b	+ 76	0.39	< 10 ⁻³
P uptake =	0.02 E _{AEM} ^c	+ 2.5	0.12	0.04
P uptake =	- 12 pH + 0.03 E _{AEM}	+ 76	0.70	< 10 ⁻³

^a P uptake was determined in pearl millet after 19 d of growth in controlled conditions

^b pH measured, at soil:liquid ratio 1:5

^c E_{AEM} was determined after 5 d of isotopic exchange

Figure 5 Relationship between phosphorus (P) phytoavailability (plant P uptake) and P availability (E_{AEM}) (a), or soil pH (b), in the andosol after 12 years of no fertilization (control), mineral, organic or mixed organic/N fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) and high dose (Hd); mixed fertilization consisted in organic plus NH_4NO_3 fertilization. Error bars stand for standard error ($n = 4$). The line represents the regression fit; *** p-value < 0.001; ** p-value < 0.01.

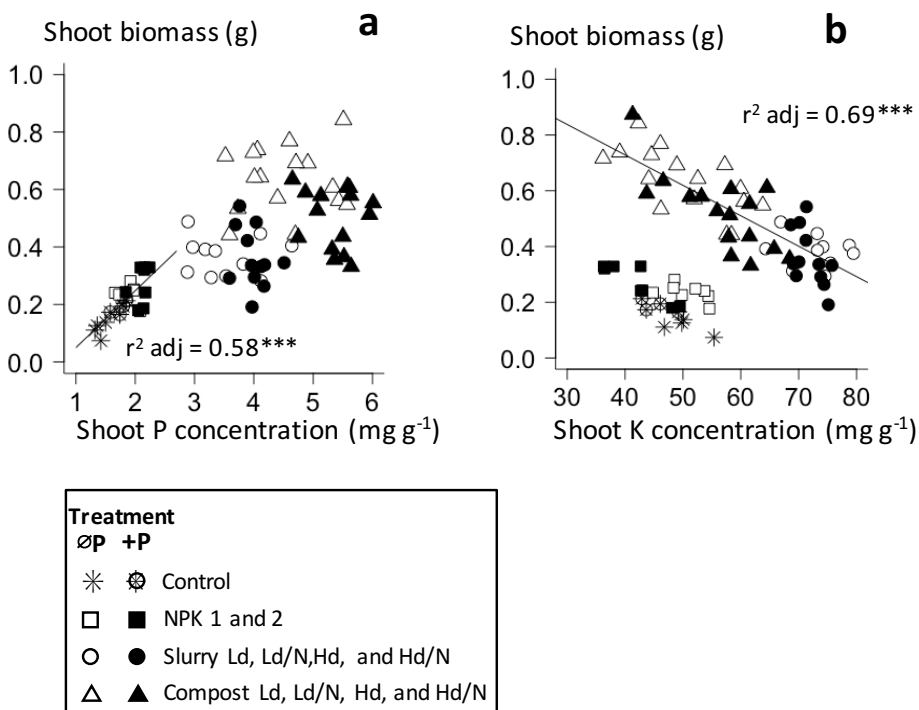


2.3.5. Low phosphorus concentration and high potassium concentration in plants limit plant growth

Shoot biomass changed with fertilization modality (Figure 4c and d, Table S2). Lowest biomasses were obtained for control (0.11 g for $\emptyset\text{P}$ treatment), NPK 1 (0.22 g for $\emptyset\text{P}$) and NPK 2 (0.25 g for $\emptyset\text{P}$) fertilizations. Compost fertilizations increased shoot biomass (up to 0.73 g for $\emptyset\text{P}$) compared to slurry fertilizations (up to 0.38 g for $\emptyset\text{P}$). Shoot biomass increased with shoot P concentration for control, NPK 1 and NPK 2 fertilizations ($r^2 \text{ adj} = 0.58$) (Figure 6a). Shoot P concentration in control, NPK 1 and NPK 2 fertilizations was below 1.90 mg g^{-1} (Figure 4e and f, Table S2), while the minimum P requirement for optimal plant growth is 3 mg g^{-1} (Marschner, 1995). In contrast, shoot P concentration in organic and mixed fertilizations were above 3.2 mg g^{-1} . These results suggest that plant growth was partly limited by shoot P concentration and consequently by P phytoavailability, especially in control, NPK 1 and NPK 2 fertilizations. Growth limitation could also be due to the low soil pH in NPK 1 (5.1) and NPK 2 (4.6) fertilizations, which can increase aluminum solubility and thus a phytotoxicity for plants (Haynes and Mokolobate, 2001).

Shoot biomass decreased linearly with shoot K concentration for organic and mixed fertilizations (r^2 adj = 0.69) (Figure 6b). Plant K concentration was higher with slurry fertilizations (up to 77 mg g⁻¹ for ØP treatment), than compost fertilizations (up to 60 mg g⁻¹ for ØP) (Figure 3g and h). Potassium content in soils was huge with slurry (from 1.5 to 6 g kg⁻¹), compared to other fertilization modalities (from 0.12 to 0.27 g kg⁻¹). As classic dairy slurries (Arienzo et al., 2009), slurry used in the present field experiment was rich in K, with a concentration four-fold higher than the compost of dairy manure used (respectively 45.4 and 11 g kg⁻¹) (Table 1). The resulting K content in soils was much higher with slurry fertilizations (from 1.5 to 6 g kg⁻¹) than all other fertilizations. Previous studies showed a phytotoxicity of K on cress (*Lepidium sativum*) and barley (*Hordeum vulgare*) grown on soil fertilized with biochar (Buss et al. 2016; Shepherd et al. 2017). In our study, shoot magnesium (Mg) and calcium (Ca) concentrations decreased linearly with K concentration for organic and mixed fertilizations (r^2 adj = 0.61 for Mg and 0.44 for Ca) (Figure S2a and b). Phytotoxicity of K could thus be due to a competition of K⁺ and Mg²⁺ or Ca²⁺ uptake, that has been previously reported (Marschner, 1995). In our study, potassium uptake limited shoot biomass, especially with slurry fertilizations.

Figure 6 Relationship between shoot biomass and phosphorus concentration (a) or potassium concentration (b) in plants grown on the andosol after 12 years of no fertilization (control), mineral, organic or mixed organic/N fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) and high dose (Hd); mixed fertilization consisted in organic plus NH₄NO₃ fertilization. Soils received fresh phosphate application (+P treatment) or not (ØP treatment) before sowing. The line represents the regression fit; *** p-value < 0.001.



2.3.6. Fresh phosphate application does not increase phosphorus phytoavailability in soil with high inorganic phosphorus availability or very low pH

Fresh phosphate application (Treatment +P) did not change plant P uptake in organic and mixed fertilizations, except for slurry Ld (Figure 4a and b, Table S2). These soils had initially high available P content ($E_{AEM} = 287\text{--}556 \text{ mg kg}^{-1}$) (Figure 1d), because of high P accumulation with fertilization at the field. Previous studies showed that the efficiency of fresh fertilization for increasing plant P uptake decreased with the soil residual P content (Bahl and Toor, 1999; Gallet et al., 2003). In our study, the initially high available P content in soils can thus explain the non-increase of P uptake with fresh phosphate application in organic and mixed fertilized soils.

Fresh phosphate application (Treatment +P), increased plant P uptake on control and NPK 1 soils, but not on NPK 2 soil (Figure 4a and b, Table S2). Fresh phosphate application led to a 2-fold increase of P uptake in control soil and a 1.8-fold increase in NPK 1 soil. These soils had initially low available P content ($E_{AEM} = 96$ and 80 mg kg^{-1} for control and NPK 1, respectively) (Figure 1d), increase of P uptake with fresh phosphate application was thus expected. Nevertheless, fresh phosphate application had no effect on P uptake in NPK 2 soil, while this soil had also an initially low available P content ($E_{AEM} = 120 \text{ mg kg}^{-1}$). The non-increase of plant P uptake with fresh phosphate application on NPK 2 soil can therefore not be explained by initially high available P content.

Increase of plant P concentration with fresh mineral P fertilization was positively correlated to the soil pH in control, NPK 1 and NPK 2 soils ($r^2 \text{ adj} = 0.63$, $p\text{-value} = 0.03$). By contrast, increase of plant P concentration was not correlated to the initial available P content (E_{AEM}) in soil. We showed that soil pH decreased with the NPK 1 fertilization ($\text{pH} = 5.1$) and even more so with the NPK 2 fertilization ($\text{pH} = 4.6$) compared to the control ($\text{pH} = 5.8$) (Figure 1a), which is presumably due to NH_4 nitrification (see above for the detailed discussion). Decrease of soil pH can increase Pi sorption capacity in soils (Barrow and Debnath, 2014) and a study performed on the same field trial previously demonstrated this effect in the andosol (Chapter III.1). The lower pH in NPK 2 soil could thus lead to a higher sorption of fresh phosphate added. Our results suggest that the decrease of pH induced by long-term ammonium fertilization suppressed the ability of fresh phosphate application to increase P phytoavailability.

2.4. Conclusion

We aimed to determine the effects of modifications of soil physical-chemical properties and P accumulation due to long-term fertilization, on P availability, on P phytoavailability, and on the efficiency of fresh phosphate application. Decadal fertilization increased the total P content in soil, and modified pH and organic carbon content. Inorganic P (Pi) availability increased with soil total P and increasing soil pH. Phosphorus phytoavailability, i.e. plant P uptake, increased with available Pi, but decreased with increasing pH. Soil pH had thus an opposite effect on Pi availability and on P phytoavailability. Fresh phosphate application did not increase P phytoavailability in soil with high Pi availability or very low pH.

Acknowledgements

We thank VEOLIA-eau for funding the Ph.D. grant of C. M. Nobile. We thank Emmanuel Tillard and Expedit Rivière for sharing data and soil samples of the field trial. We thank our colleagues from recyclage and risk for lab analyses. We are grateful to S. Nawara, T. van Dael, M. Everaert, J. Boolyn, F. Shoovaerts, K. Moors and all other colleagues from KU Leuven for their involvement in the lab experiments and analyses.

2.5. Annexes

Table S1 Description of fertilization modalities conducted on the field experiment. Ld and Hd stand for low and high doses, respectively.

Fertilization	Description	Nutrient applied				
		N		P	K	
		kg ha yr ⁻¹		kg ha yr ⁻¹	kg ha yr ⁻¹	
		org	chem	tot		
Control	No fertilization	0	0	0	0	0
NPK 1	Ammonium nitrate, soft rock phosphate, KCl	0	110	110	52	80
NPK 2	Ammonium nitrate, soft rock phosphate, KCl	0	190	190	52	80
Slurry Ld	Liquid, 40 m ³ /ha/cut*	550	0	550	170	1080
Slurry Ld/N	Liquid, 40 m ³ /ha/cut*, ammonium nitrate	550	45	595	170	1080
Slurry Hd	Liquid, 70 m ³ /ha/cut*	970	0	970	290	1890
Compost Ld	Solid compost of dairy manure, 7.2t/ha/2cuts*	220	0	220	70	120
Compost Ld/N	Solid compost of dairy manure, 7.2t/ha/2cuts*, ammonium nitrate	220	90	310	70	120
Compost Hd	Solid compost of dairy manure, 12t/ha/2cuts*	370	0	370	120	200
Compost Hd/N	Solid compost of dairy manure, 12t/ha/2cuts*, ammonium nitrate	370	75	460	120	200

* 5 to 8 cuts/year

Table S2 Phosphorus phytoavailability (P uptake), shoot biomass, and phosphorus and potassium concentrations in plants grown in the andosol after 12 years of no fertilization (control), mineral, organic or mixed organic/N fertilization. Organic fertilization consisted in either dairy slurry or compost at low (Ld) and high dose (Hd); mixed fertilization consisted in organic plus NH_4NO_3 fertilization. Soils received fresh phosphate application (+P treatment) or not (\emptyset P treatment) before sowing. The four values for each fertilization correspond to the four plant replicates.

Fertilization	P uptake (mg kgSoil ⁻¹)		Shoot biomasse (g)		Shoot P concentration (mg g ⁻¹)		Shoot K concentration (mg g ⁻¹)	
	\emptyset P	+P	\emptyset P	+P	\emptyset P	+P	\emptyset P	+P
Control	1.0346	1.3680	0.1375	0.1731	1.505	1.581	50.09	43.66
	0.7336	1.7445	0.1110	0.1943	1.322	1.796	46.79	46.09
	0.5215	1.4401	0.0737	0.1652	1.415	1.743	55.38	49.17
	0.8537	1.9714	0.1260	0.2127	1.355	1.854	49.81	42.89
NPK 1	1.8418	3.5448	0.1771	0.3285	2.080	2.158	54.57	36.32
	1.9712	3.4263	0.2223	0.3285	1.773	2.086	54.38	38.04
	2.0027	3.4434	0.2406	0.3207	1.665	2.147	53.73	36.44
	2.1050	3.6858	0.2260	0.3288	1.863	2.242	49.83	42.70
NPK 2	2.6979	1.8447	0.2807	0.1802	1.922	2.047	48.54	48.11
	2.4996	1.9908	0.2519	0.1862	1.985	2.138	48.39	49.48
	2.4491	2.6268	0.2486	0.2417	1.970	2.174	52.16	42.72
	2.0313	2.2272	0.2344	0.2427	1.733	1.835	44.83	43.01
Slurry Ld	6.2289	8.8200	0.3917	0.4776	3.180	3.693	64.30	68.64
	5.2747	10.1955	0.2988	0.5425	3.531	3.759	87.20	71.34
	4.8119	7.7805	0.2937	0.3450	3.277	4.510	74.55	70.04
	7.0451	6.6441	0.4880	0.3359	2.887	3.956	66.90	73.49
Slurry Ld/N	6.5013	5.2259	0.3405	0.2915	3.819	3.585	75.48	73.82
	5.9217	5.4999	0.3990	0.2637	2.968	4.171	74.20	74.38
	4.4941	3.7940	0.3123	0.1911	2.878	3.971	68.95	75.13
	6.4821	6.8361	0.3865	0.3319	3.354	4.119	73.25	75.76
Slurry Hd	9.1802	9.8308	0.4464	0.4861	4.113	4.045	73.20	70.15
	9.3882	7.0670	0.4043	0.3378	4.644	4.184	78.75	69.09
	7.7373	8.1977	0.3753	0.4220	4.123	3.885	79.46	71.26
	NA	5.9110	NA	0.2949	NA	4.009	NA	69.58
Compost Ld	13.2056	14.7672	0.6430	0.6351	4.107	4.650	52.58	46.58
	7.9376	10.2614	0.4420	0.4324	3.592	4.746	58.38	57.89
	10.4227	10.0659	0.4431	0.3650	4.704	5.516	57.56	58.33
	9.9638	9.3405	0.5336	0.3315	3.735	5.635	46.19	61.70
Compost Ld/N	16.9897	14.8167	0.6918	0.5779	4.912	5.128	48.95	51.19
	14.9679	23.6112	0.7380	0.8729	4.056	5.410	39.07	41.30
	17.6938	14.3731	0.7687	0.5899	4.604	4.873	46.10	43.73
	23.2017	16.3045	0.8423	0.5789	5.509	5.633	42.31	53.20
Compost Hd	12.8825	11.9971	0.6422	0.4362	4.012	5.501	44.10	61.50
	14.5354	9.5416	0.7285	0.3561	3.990	5.359	44.57	68.43
	12.5389	17.0364	0.5700	0.6111	4.400	5.576	51.96	64.52
	12.5929	10.4103	0.7163	0.3916	3.516	5.317	36.19	65.76
Compost Hd/N	16.1929	17.0232	0.6076	0.6068	5.330	5.611	59.96	58.29
	15.2398	13.3622	0.5610	0.5271	5.433	5.070	60.53	55.91
	15.2396	16.6152	0.5476	0.5530	5.566	6.009	63.79	61.52
	16.3257	15.2659	0.6925	0.5128	4.715	5.954	57.23	58.09

2.6. References

- Arienzo, M., Christen, E.W., Quayle, W. & Kumar, A. 2009. A review of the fate of potassium in the soil-plant system after land application of wastewaters. *Journal of Hazardous Materials*, 164, 415–422.
- Bahl, G.S. & Toor, G.S. 1999. Efficiency of P utilization by sunflower grown on residual P fertility. *Bioresource Technology*, 67, 97–100.
- Barrow, N.J. & Debnath, A. 2014. Effect of phosphate status on the sorption and desorption properties of some soils of northern India. *Plant and Soil*, 378, 383–395.
- Barrow, N.J. & Debnath, A. 2015. Effect of phosphate status and pH on sulphate sorption and desorption. *European Journal of Soil Science*, 66, 286–297.
- Barrow, N.J. 2017. The effects of pH on phosphate uptake from the soil. *Plant and Soil*, 410, 401–410.
- Buss, W., Graham, M.C., Shepherd, J.G. & Masek, O. 2016. Risks and benefits of marginal biomass-derived biochars for plant growth. *Science of the Total Environment*, 569–570, 496–506.
- Cordell, D., Rosemarin, a, Schröder, J.J. & Smit, A L. 2011. Towards global phosphorus security: a systems framework for phosphorus recovery and reuse options. *Chemosphere*, 84, 747–58.
- De Vries, W. & Breeuwsma, A. 1987. The relation between soil acidification and element cycling. *Water, Air, and Soil Pollution*, 35, 293–310.
- Faucon, M.-P., Houben, D., Reynoird, J.-P., Mercadal-Dulaurent, A.-M., Armand, R. & Lambers, H. 2015. Advances and perspectives to improve the phosphorus availability in cropping systems for agroecological phosphorus management. *Advances in Agronomy*, 134, 51–79.
- Gallet, A., Flisch, R., Ryser, J. P., Nosberger, J., Frossard, E. & Sinaj, S. 2003. Uptake of residual phosphate and freshly applied diammonium phosphate by *Lolium perenne* and *Trifolium repens*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166, 557–567.
- Gérard, F. 2016. Clay minerals, iron/aluminum oxides, and their contribution to phosphate sorption in soils — A myth revisited. *Geoderma*, 262, 213–226.
- Guigues, S., Bravin, M.N., Garnier, C., Masion, A. & Doelsch, E. 2014. Isolated cell walls exhibit cation binding properties distinct from those of plant roots. *Plant and Soil*, 381, 367–379.
- Haynes, R. J. & Mokolobate, M. S. 2001. Amelioration of Al toxicity and P deficiency in acid soils by additions of organic residues: A critical review of the phenomenon and the mechanisms involved. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 59, 47–63.
- Hinsinger, P., Brauman, A., Devau, N., Gérard, F., Jourdan, C., Laclau, J.-P., Le Cadre, E., Jaillard, B. & Plassard, C. 2011. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant and Soil*, 348, 29–61.
- Luo, L., Ma, Y., Sanders, R. L., Xu, C., Li, J. & Myneni, S.C.B. 2017. Phosphorus speciation and transformation in long-term fertilized soil: evidence from chemical fractionation and P K-edge XANES spectroscopy. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 107, 215–226.
- Maertens, E., Thijs, a., Smolders, E., Degryse, F., Cong, P.T. & Merckx, R. 2004. An anion resin membrane technique to overcome detection limits of isotopically exchanged P in P-sorbing soils. *European Journal of Soil Science*, 55, 63–69.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd edn. Academic Press, London, UK. 889 p.
- Menezes-Blackburn, D., Giles, C., Darch, T., George, T.S., Blackwell, M., Stutter, M., Shand, C., Lumsdon, D., Cooper, P., Wendler, R., Brown, L., Almeida, D.S., Wearing, C., Zhang, H. & Haygarth, P.M. 2017. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review. *Plant and Soil*, 1–12.

- Météo-France. Description du climat de La Réunion. Available at: <http://www.meteofrance.re/climat/description-du-climat>; accessed 11/4/2017.
- Mitsukawa, N., Okumura, S., Shirano, Y., Sato, S., Kato, T., Harashima, S. & Shibata, D. 1997. Overexpression of an Arabidopsis thaliana high-affinity phosphate transporter gene in tobacco cultured cells enhances cell growth under phosphate-limited conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 7098-102.
- Morel, C., Schaub, A., Valentin, N. & Houot, S. 2013. Dynamics of plant-available phosphorus for 11 years in a French loamy soil amended with biological sewage sludge amended or not with lime. Presented at 15. International Conference RAMIRAN - Recycling of organic residues for agriculture: from waste management to ecosystem services, Versailles, France.
- Murphy, J. & Riley, J. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31–36.
- Negassa, W. & Leinweber, P. 2009. How does the hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172, 305–325.
- Peltre, C., Christensen, B.T., Dragon, S., Icard, C., Kätterer, T. & Houot, S. 2012. RothC simulation of carbon accumulation in soil after repeated application of widely different organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 52, 49–60.
- Rao, A.S., Reddy, K.S. & Takkar, P.N. 1997. Malachite green method compared to ascorbic acid for estimating small amounts of phosphorus in water, 0.01 M calcium chloride, and Olsen soil extracts. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 28, 589–601.
- R. Core Team 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN3-900051-07-0. URL (<http://www.R-project.org/>).
- Regelink, I.C., Weng, L., Lair, G.J. & Comans, R.N.J. 2015. Adsorption of phosphate and organic matter on metal (hydr)oxides in arable and forest soil: a mechanistic modelling study. *European Journal of Soil Science*, 66, 867–875.
- Riley, D. & Barber, S.A. 1971. Effect of ammonium and nitrate fertilization on phosphorus uptake as related to root induced pH changes at the root soil interface. *Soil Science Society of America Proceedings*, 35, 300–306.
- Sattari, S.Z., Bouwman, A.F., Giller, K.E. & van Ittersum, M.K. 2012. Residual soil phosphorus as the missing piece in the global phosphorus crisis puzzle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, 6348–53.
- Sentenac, H. & Grignon, C. 1985. Effect of pH on Orthophosphate Uptake by Corn Roots. *Plant Physiology*, 77, 136–41.
- Shafqat, M.N. & Pierzynski, G.M. 2013. The Freundlich adsorption isotherm constants and prediction of phosphorus bioavailability as affected by different phosphorus sources in two Kansas soils. *Chemosphere*, 99, 72–80.
- Shepherd, J.G. & Buss, W. 2017. Bioavailability of phosphorus, other nutrients and potentially toxic elements from marginal biomass-derived biochar assessed in barley (*Hordeum vulgare*) growth experiments. *Science of the Total Environment*, 584–585, 448–457.
- Stroia, C., Morel, C. & Jouany, C. 2007. Dynamics of diffusive soil phosphorus in two grassland experiments determined both in field and laboratory conditions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 119, 60–74.
- Thomson, C.J., Marschner, H. & Römheld, V. 1993. Effect of nitrogen fertilizer form on pH of the bulk soil and rhizosphere, and on the growth, phosphorus, and micronutrient uptake of bean. *Journal of Plant Nutrition*, 16, 493–506.
- Tran, T.S., Fardeau, J.-C. & Giroux, M. 1988. Effects of soil properties on plant-available phosphorus determined by the isotopic dilution phosphorus-32 method. *Soil Science Society of America Journal*, 52, 1383–1390.

- Van Moorleghe, C., Six, L., Degryse, F., Smolders, E. & Merckx, R. 2011. Effect of Organic P Forms and P Present in Inorganic Colloids on the Determination of Dissolved P in Environmental Samples by the Diffusive Gradient in Thin Films Technique, Ion Chromatography, and Colorimetry. *Analytical Chemistry*, 83, 5317–5323.
- Walker, T. & Adams, A. 1958. Studies on soil organic matter: I. influence of phosphorus content of parent materials on accumulations of carbon, nitrogen, sulfur, and organic phosphorus in grassland soils. *Soil Science*, 85, 307–318.
- Wang, P., Kinraide, T.B., Zhou, D., Kopittke, P.M. & Peijnenburg, W.J. 2011. Plasma membrane surface potential: dual effects upon ion uptake and toxicity. *Plant Physiology*, 155, 808–820.
- Withers, P.J.A., Flynn, N.J. & Warren, G.P. 2016. Are stabilized biosolids a eutrophication risk? *Soil Use and Management*, 32, 138–148.
- Yan, F., Schubert, S. & Mengel, K. 1996. Soil pH increase due to biological decarboxylation of organic anions. *Soil Biology and Biochemistry*, 28, 617–624.

IV. Effets du type de fertilisant et du type de sol sur la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore, à dose égale de phosphore apportée

Dans le chapitre III, nous avons étudié l'effet du type de fertilisant et de la dose de phosphore (P) accumulé dans un andosol du fait de l'historique de fertilisations (P résiduel) sur la capacité de sorption en P inorganique (Pi) et sa disponibilité dans le sol et in fine la phytodisponibilité du P. Ce chapitre a montré que la disponibilité et la phytodisponibilité de P augmentaient avec le P résiduel, mais évoluaient également selon le type de fertilisant apporté. A une même teneur en P résiduel, l'apport de résidus organiques a généré une augmentation du pH et de la teneur en carbone organique du sol, qui a eu pour effet de diminuer la capacité de sorption et d'augmenter la disponibilité de Pi dans le sol. En revanche, le P phytodisponible a semblé diminuer avec l'augmentation de pH du sol.

Dans ces précédentes études, les fertilisants n'étaient pas apportés selon une dose équivalente en P. Les modifications de pH induites par les fertilisants ont donc été corrélées à la dose de P apportée. On ne peut donc pas à partir de ces études, préciser l'effet dû aux modifications de pH sur la disponibilité et la phytodisponibilité du P indépendamment de l'effet du P résiduel. A La Réunion, il n'existe pas d'essai de terrain testant différents types de fertilisants apportés à dose équivalente de P.

L'objectif de ce chapitre IV est donc de déterminer l'effet des modifications des propriétés physico-chimiques du sol induites par le type de fertilisant, à dose égale de P apportée, sur la disponibilité de Pi dans le sol et la phytodisponibilité de P. L'étude présentée dans ce chapitre est basée sur des incubations successives de sol et résidus organiques en conditions contrôlées, avec des apports répétés de fertilisants de manière à simuler des apports répétés de fertilisants en champ. L'importance des modifications des propriétés physico-chimiques du sol sur la (phyto)disponibilité du P peut varier selon le type de sol comme nous l'avons vu au chapitre II. Nous avons donc réalisé cette expérimentation dans deux types de sol, d'une part l'andosol étudié dans le chapitre III précédent, et d'autre part dans un nitisol étudié dans le chapitre II et présentant une capacité de sorption plus faible que l'andosol. Ces deux types de sol représentent les extrêmes de la gamme d'évolution des sols réunionnais, l'andosol étant le moins évolué et le nitisol le plus évolué.

A dose équivalente de phosphore, la minéralisation du carbone et l'évolution des propriétés physico-chimiques du sol contrôlent la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore lors d'apports successifs de fertilisants organiques ou minéraux

C.N. Nobile^{1,2}, C. Grigis¹, M.N. Bravin¹

¹CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-97743 Saint-Denis, Réunion, France

²VEOLIA-eau, Saint-Denis, Réunion, France

Résumé

Les mécanismes déterminant l'effet des résidus organiques sur la (phyto)disponibilité du phosphore (P) sont mal connus. Nous avons donc réalisé des incubations en conditions contrôlées avec des apports répétés de résidus à dose égale de P, pour déterminer l'importance des modifications des propriétés physico-chimiques du sol et de la minéralisation des résidus sur la (phyto)disponibilité du P dans un nitisol et un andosol. Des incubations successives ont été réalisées pendant 150 jours, avec cinq apports répétés de résidu (compost, lisier ou boue) ou de fertilisant minéral (solution KH_2PO_4) espacés de 30 jours. La minéralisation du carbone (C) a été suivie au long des incubations. Le P directement disponible, i.e. la concentration de P inorganique (Pi) dans l'extrait à l'eau (Pi-eau), et le pH ont été déterminés après 30 jours d'incubation suivant chaque apport. Le P phytodisponible a été déterminé en mesurant le P prélevé par du millet (*Pennisetum glaucum*) après dix jours de croissance sur les sols issus des incubations. Le bilan en C organique (C apporté – C minéralisé) était positif dans les sols fertilisés avec les résidus organiques, et particulièrement fort avec le lisier et le compost. Le lisier et le compost ont engendré une augmentation du pH des deux sols, induite par l'augmentation du C organique. Dans le nitisol, l'apport de fertilisant minéral a engendré le plus fort Pi-eau dans le sol, alors que l'effet des résidus organiques semblait limité par l'adsorption du Pi avec le calcium (Ca) apporté. Dans l'andosol, le lisier et le compost ont engendré le plus fort Pi-eau, qui augmente avec le pH et la concentration en C organique dissous en solution. Le P prélevé par la plante augmente significativement avec la concentration en Pi-eau dans le sol (r^2 ajusté = 0,55), mais les différences de Pi-eau observées selon les fertilisants ne correspondent pas toujours aux différences de P prélevé. Notre étude suggère que l'efficacité des résidus organiques est déterminée par la minéralisation du C apporté et les modifications des propriétés physico-chimiques du sol, principalement l'augmentation du Ca et du pH.

1. Introduction

Les fertilisants chimiques phosphatés sont synthétisés à partir de réserves minérales finies qui s'épuisent, leur utilisation doit donc être remise en question (Cordell et al., 2009). Les fertilisants chimiques pourraient être substitués par les résidus organiques, à condition de comparer leur efficacité pour fournir du phosphore (P) aux cultures. Les études menées en champ montrent que l'effet d'un résidu organique sur le P disponible du sol dépend de la dose P apporté (Morel et al., 2013 ; Chapitres III.1 et III.2) ; on observe néanmoins des différences de P disponible dans les sols fertilisés avec différents résidus organiques ou avec un fertilisant minéral, apportés à une même dose de P (Achat et al. 2014 ; Guivarch, 2001). Le P disponible est généralement inférieur ou similaire dans un sol fertilisé avec un résidu organique que dans un sol fertilisé avec un fertilisant minéral (Frossard et al. 1996 ; Oberson et al. 2010 ; Morel et al. 2013).

L'efficacité d'un résidu organique peut être estimée en déterminant sa valeur fertilisante (VF), qui correspond au rapport entre le P (phyto)disponible dans un sol avec le résidu organique et le P (phyto)disponible dans un sol avec un fertilisant chimique de référence, apportés à dose égale de P. La VF des résidus organiques est souvent supérieure à 80% (Esco Mafor, 2014). Néanmoins, la VF change fortement selon l'indicateur utilisé (Guivarch, 2001). La VF d'un résidu peut notamment être différente si elle basée sur un indicateur de P disponible, i.e. mesuré dans le sol, ou si elle est basée sur un indicateur de P phytodisponible, i.e. mesuré dans la plante. Peu d'études cherchent à expliquer ces différences, et les mécanismes déterminant l'effet des résidus organiques sur le P (phyto)disponible sont mal connus.

La disponibilité du P dans les résidus organiques semble peu influencer la disponibilité du P dans les sols fertilisés (Guivarch, 2001). La spéciation du P dans les résidus organiques a également une faible influence sur la disponibilité et la spéciation du P dans les sols fertilisés à long-terme (Annaheim et al. 2016 ; Negassa and Leinweber, 2009). La faible relation entre les mesures effectuées dans les résidus organiques et les mesures effectuées dans les sols fertilisés, peut être due aux mécanismes de sorption, précipitation et minéralisation dans le sol, qui transforment la spéciation et la disponibilité du P apporté.

L'influence de la minéralisation des résidus organiques sur la disponibilité du P varie selon les études. Les résidus organiques apportés à long-terme en champ engendrent généralement la même augmentation de P_i disponible dans les sols qu'un fertilisant minéral (Negassa and Leinweber, 2009 ; Chapitres II et III), ce qui est souvent expliqué par la faible proportion de P organique (P_o) dans les résidus organiques, se situant autour de 20-30% (Darch et al., 2014), et donc la faible influence de leur minéralisation. En revanche, en conditions contrôlées (incubations ou cultures de plantes en pots), la disponibilité du P_i dans les sols varie selon la nature du résidu organique apporté et est souvent plus forte avec un fertilisant minéral. La vitesse et le taux de minéralisation sont très variables d'un résidu organique à l'autre (Thuriès et al. 2000), et certaines études montrent une corrélation positive entre la minéralisation des résidus organiques et la disponibilité du P_i dans les sols amendés (Guivarch, 2001). En conditions contrôlées, les apports sont souvent réalisés sur des sols avec peu de P résiduel (ne contenant pas de P accumulé par de précédentes fertilisation) et la disponibilité du P_i est mesuré peu de temps

après l'apport de résidus organiques ; l'influence de la minéralisation des résidus organiques sur la disponibilité du P peut donc être plus forte. Les incubations en conditions contrôlées sur un temps court avec un seul apport pourraient donc mal représenter l'effet d'apports répétés de résidus organiques en champ sur le Pi disponible.

Les modifications des propriétés physico-chimiques du sol dues à l'apport de résidus organiques peuvent influencer la sorption et donc la disponibilité du Pi dans les sols. De nombreuses études montrent que les résidus organiques modifient le pH et la teneur en carbone organique des sols (Esco Mafor, 2014) et ces deux paramètres peuvent fortement modifier la capacité de sorption en Pi du sol. L'augmentation de pH peut diminuer la capacité de sorption, en diminuant l'affinité de certains minéraux du sol pour le Pi, comme les (hydr)oxydes de Fe et/ou d'Al, ou les minéraux argileux, en augmentant le nombre de charges négatives à leur surface (Gérard 2016). La sorption du Pi peut par ailleurs diminuer avec la teneur en carbone organique, car les molécules organiques solubles entrent en compétition avec le Pi pour les mêmes sites de sorption (Regelink et al., 2015). Les différences de disponibilité en fonction du résidu organique apporté sont par ailleurs souvent attribuées aux modifications des teneurs en calcium, fer et aluminium, qui peuvent augmenter la sorption et/ou la précipitation du Pi dans les sols (Frossard et al. 1996 ; Vanden Nest et al., 2016).

Nous avons donc réalisé des incubations en conditions contrôlées afin de comprendre les mécanismes à l'origine de l'efficacité des résidus organiques sur la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore, avec des apports répétés de résidus organiques pour simuler les effets d'apports répétés en champ. Le but de notre étude était ainsi de déterminer l'importance des modifications des propriétés physico-chimiques des sols et de la minéralisation des résidus organiques sur la disponibilité et la phytodisponibilité en phosphore. Les résidus organiques ont été apportés selon une même dose de P, sur des sols n'ayant pas été fertilisés depuis plus de dix ans. L'importance relative des mécanismes déterminant la (phyto)disponibilité du P pouvant varier selon le type de sol, de même que les paramètres influençant chaque mécanisme, nous avons basé notre étude sur deux types de sols, un nitisol et un andosol, ayant une capacité de sorption en Pi très différente. La disponibilité a été déterminée en mesurant la concentration en phosphore inorganique dans l'extrait à l'eau des sols issus des incubations, et la phytodisponibilité en déterminant la quantité de P prélevé par les plantes développées sur les sols issus des incubations.

2. Matériels et méthodes

2.1. Nature et propriétés des sols

Deux types de sols réunionnais ont été prélevés sur l'horizon 0-10 cm. Un andosol de La Plaine des Cafres à 1600 m d'altitude (précédemment étudié dans les Chapitres II, III.1 et III.2) et un nitisol de La Mare à 100 m d'altitude (précédemment étudié dans le Chapitre II). Ces deux sols se sont développés sur des matériaux d'origine volcanique ; le nitisol est beaucoup plus évolué que l'andosol et ils présentent

ainsi des propriétés physico-chimiques très contrastées (Tableau 1). Les sols prélevés pour cette étude n'avaient reçu aucun apport de fertilisant depuis plus de 10 ans, on peut donc considérer qu'ils ne contenaient pas de P résiduel dû à de précédents apports, mais principalement du P du sol natif. Dans l'andosol, la capacité de sorption en P inorganique (Pi) est forte, avec un coefficient de répartition du Pi entre la phase solide (Kd) et la solution de 2349 L kg⁻¹; ainsi la teneur en P total est forte (2880 mg kg⁻¹) alors que la teneur en Pi extrait à l'eau est faible (0,9 mg kg⁻¹). Dans le nitisol, la capacité de sorption est moyenne ($Kd = 781$ L kg⁻¹), ainsi les teneurs en P total (1930 mg kg⁻¹) et en Pi extrait à l'eau sont moyennes (2,1 mg kg⁻¹). Une fois prélevés, les sols ont été séchés à l'air libre et tamisés à 2 mm.

Tableau 1 Paramètres des sols avant le début des incubations.

	Unité, MS*	Andosol	Nitisol
Argiles (< 2 µM)	%	13,9	52,3
Limons (2 - 63 µM)	%	68	37,5
Sables (63 - 2000 µM)	%	18,1	10,2
Densité apparente	g cm ⁻³	0,6	1,3
Carbone organique ^a	g kg ⁻¹	115	29
N total ^b	g kg ⁻¹	11,4	2,3
N-NO ₃ ^c	mg kg ⁻¹	11,9	1,0
N-NH ₄ ^c	mg kg ⁻¹	24,6	5,6
Fe total ^d	g kg ⁻¹	83,4	163
Al total ^d	g kg ⁻¹	64,4	118
P total ^d	mg kg ⁻¹	2880	1930
Pi-eau ^e	mg kg ⁻¹	0,9	2,1
Kd^f	L kg ⁻¹	2349	781
pH-eau		5,8	6,6

*Matière sèche

^a ISO 10694

^b ISO 13878

^c ISO 14256-2

^d ISO 14869-1

^e Ratio sol:liquide 1:10

^f Coefficient de répartition du Pi entre la solution et la phase solide du sol (voir Chapitre 2)

2.2. Nature et propriétés des résidus organiques

Trois résidus organiques ont été testés. D'une part, un compost de fumier de bovin (compost) et un lisier de bovin (lisier), dont les effets sur les propriétés de l'andosol ont été précédemment étudié en champ, où ils induisaient une augmentation du pH et de la teneur en carbone organique après 12 ans d'apports pluriannuels (Chapitre III.1). D'autre part, une boue de la station d'épuration du Grand Prado (boue), relativement riche en P et faible en carbone organique, pouvant ainsi potentiellement engendrer différentes modifications des propriétés du sol comparé au compost et au lisier. Cette boue a été produite nitrification, dénitrification puis abaissement de la charge en P des eaux usées par apport de sels de Fe et Al. La boue a ensuite été successivement digérée, séchée et chaulée (communication personnelle, Veolia-Eau Réunion). Le Tableau 2 résume les caractéristiques des résidus organiques. Les résidus organiques ont été lyophilisés et broyés à 2 mm avant d'être apportés au sol.

Tableau 2 Paramètres des résidus organiques, lyophilisés et broyés à 2 mm.

	Unité, MS*	Lisier	Compost	Boue
P total ^a	g kg ⁻¹	7,5	8,5	28,7
Ca total	g kg ⁻¹	16,7	55,5	97
Mg total	g kg ⁻¹	7,7	21,7	5,7
Carbone organique ^b	g kg ⁻¹	475	410	357
N-NO ₃ ^c	mg kg ⁻¹	0,03	245	1,6
N-NH ₄ ^c	mg kg ⁻¹	3128	730	1157
Pi-eau	mg kg ⁻¹	570	888	5
pH-eau ^d		7,5	7,5	11,2
VN directe ^e	mol kg ⁻¹	1,07	4,77	3,88

* Matière sèche

^a ISO 14869-1

^b ISO 10694

^c ISO 14256-2

^d Ratio sol:liquid 1:10

^e Valeur neutralisante directe (voir Eq.2)

2.3. Incubations successives des sols et des résidus organiques en conditions contrôlées

Les sols ont été incubés pendant cinq mois (150 jours) en conditions contrôlées, au cours desquels ils ont reçu cinq apports successifs de résidus organiques ou de phosphore minéral (solution de KH_2PO_4 à 10gP L^{-1}), à dose égale de phosphore correspondant à 80 kg ha^{-1} . Nous avons choisi de baser les apports par rapport au volume de sol. Les sols ayant des densités apparentes différentes (Tableau 1), la quantité de P apporté à chaque apport a donc été différente entre les deux sols. Les teneurs en phosphore variant selon le résidu, la masse apportée n'était donc pas la même pour chaque résidu. La masse et les éléments apportés avec les résidus organiques à chaque apport sont résumés dans les Tableaux 3 et 4 pour le nitisol et l'andosol, respectivement. Les apports successifs ont été espacés de 30 jours, ce qui correspond généralement au temps nécessaire pour que la minéralisation du carbone des résidus organiques tende vers un plateau (NF XP-U44-1683 T2).

Tableau 3 Masse sèche apportée et quantités d'éléments apportés par les résidus organiques sur le nitisol à chaque apport. Les apports ont été basés sur une dose de P équivalente à 80 kg ha^{-1} .

	Unité	Compost	Lisier	Boue
Masse sèche	g kgSol^{-1}	7,5	8,77	2,28
P	g kgSol^{-1}	0,062	0,062	0,062
C	g kgSol^{-1}	2,97	3,88	0,76
K	g kgSol^{-1}	0,081	0,37	0
Ca	g kgSol^{-1}	0,4	0,14	0,21
Mg	g kgSol^{-1}	0,16	0,06	0,01
N-NO ₃	mg kgSol^{-1}	1,77	0	0
N-NH ₄	mg kgSol^{-1}	5,28	25,57	2,48

Les incubations se sont déroulées comme suit : le jour J0, les résidus organiques lyophilisés ou la solution minérale a été ajoutée et mélangée à 100 g de sol équivalent sec. De l'eau distillée a été ajoutée pour atteindre 70% du pF 2,5, puis les mélanges ont été introduits dans des récipients en plastique ouverts. Afin de ne pas limiter l'activité des microorganismes, sur le nitisol et uniquement pour le premier apport, une solution de KNO_3 (1gN L^{-1}) a été ajoutée de manière à atteindre une teneur en N minéral de 35 mg kg^{-1} après le premier apport (NF XP-U44-1683 T2), représentant un apport de 2,90 à $28,5\text{ mgN kgSol}^{-1}$ selon la modalité de fertilisation. Le volume à ajouter pour chaque modalité a été calculé en fonction de la teneur totale en N minéral (N-NO₃ et N-NH₄) du sol initial et de chaque résidu organique. Quatre répétitions par modalité ont été réalisées. Les récipients ont alors été placés dans des bacs en plastique fermés, possédant un volume 5 fois supérieur au volume du sol, permettant ainsi de contenir un volume d'air suffisant pour les échanges gazeux nécessaires à l'activité des microorganismes.

L'humidité du sol a été maintenue à 70% du pF 2,5 en réajustant la perte d'eau une fois par semaine. A J30, la totalité des mélanges contenus dans les récipients en plastique a été versé dans une barquette, et un second apport de résidu organique lyophilisé ou de solution minérale a alors été effectué. Après homogénéisation à la spatule, la totalité du mélange avec le second apport a été replacé dans le récipient en plastique, puis l'humidité a été réajustée en ajoutant de l'eau distillée à la pipette. Un troisième, quatrième et cinquième apport ont été réalisés de la même manière, à J60, J90 et J120. Nous avons effectué plusieurs incubations en parallèle de manière à pouvoir analyser les sols ayant reçu un, deux, trois, quatre ou cinq apports. Nous avons donc pour chaque sol $n = 20$ par apport, donc $n = 100$ pour les cinq apports, et au total pour les deux sols $n = 200$. A la fin des incubations, les sols ont été conservés par lyophilisation.

Tableau 4 Masse sèche apportée et quantités d'éléments apportés par les résidus organiques sur l'andosol à chaque apport. Les apports ont été basés sur une dose de P équivalente à 80 kg ha^{-1} .

	Unité	Compost	Lisier	Boue
Masse sèche	g kgSol^{-1}	19,51	22,90	5,73
P	g kgSol^{-1}	0,16	0,16	0,16
C	g kgSol^{-1}	7,71	10,09	1,98
K	g kgSol^{-1}	0,21	0,97	0,01
Ca	g kgSol^{-1}	1,04	0,36	0,54
Mg	g kgSol^{-1}	0,41	0,16	0,03
N-NO3	mg kgSol^{-1}	4,61	0	0,01
N-NH4	mg kgSol^{-1}	13,72	66,48	6,44

2.4. Mesure de la minéralisation du carbone au cours des incubations successives

Une série d'incubations successives identique a été réalisée en parallèle, de manière à suivre la minéralisation du carbone. Pour cette série, le mélange sol et résidu, sol et solution minérale, ou sol seul, a été placé dans un bocal en verre hermétique, avec un pilulier contenant une solution de soude à 1N (30 mL), permettant de piéger le CO_2 issu de la minéralisation, et un pilulier contenant de l'eau afin de maintenir une humidité constante dans le bocal (NF XP-U44-1683 T2). Au cours de chacune des 5 incubations de 30 j, la soude a été remplacée à J3, J7, J14, J21, J30. La concentration de carbone dans la soude a été mesurée par colorimétrie en flux continu (PROXIMA, Alliance instruments).

La quantité de carbone apportée n'était pas identique avec chaque résidu organique, puisque nous avons basé les apports sur la dose de P. Pour comparer la minéralisation entre les résidus organiques, nous avons alors calculé le pourcentage de carbone minéralisé apporté ($\%C_{\text{apporté,min}}$) en fonction de la quantité de carbone apporté avec le résidu :

$$\%C_{\text{apporté, min}} = \frac{C_{\text{min(sol+résidu)}} - C_{\text{min(sol témoin)}}}{C_{\text{apporté(résidu)}}} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

où $C_{\text{min(sol + résidu)}}$ (mg kg^{-1}) est la quantité mesurée de carbone minéralisée dans le mélange sol et résidu organique, $C_{\text{min(sol témoin)}}$ (mg kg^{-1}) est la quantité mesurée de carbone minéralisé dans le sol seul et $C_{\text{apporté(résidu)}}$ (mg kg^{-1}) est la quantité de carbone apporté avec le résidu organique à chaque apport (Tableaux 3 et 4).

2.5. Analyses des solutions de sol

Une extraction à l'eau a été réalisée sur les sols lyophilisés : 10 mL d'eau distillée ont été ajoutés à 1 g de sol, puis le mélange a été placé dans un agitateur rotatif à 40 rpm pendant 24h, afin d'atteindre l'état stationnaire. Le mélange a ensuite été centrifugé à $3500 \times g$ pendant 10 minutes, puis le surnageant a été filtré à $0,22 \mu\text{m}$ avec un filtre seringue (Minisart, Sartorius). Le P inorganique (P_i) mesuré dans l'extrait à l'eau à l'équilibre entre la phase solide et la solution est considéré comme le P de la solution du sol. La concentration en P_i a été mesurée par colorimétrie au vert de malachite (Rao et al. 1997 ; Van Moorleghem et al., 2011). Le pH de la solution a immédiatement été mesuré avec une électrode combinée. Les concentrations en phosphore total, aluminium et fer ont été mesurées par spectroscopie de masse (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) (Q-ICP-MS X Series II+CCTM ; Thermo Fischer). Les concentrations en calcium et magnésium ont été mesurées par spectroscopie d'émission optique (ICP optical emission spectroscopy, ICP-OES). La concentration en composés organiques dissous (COD) a été mesurée par un analyseur TOC en mode NPOC (Shimadzu, TOC-L). Les carbonates ont été éliminés par ébullition pendant 90 s avec 1,5% HCl juste avant l'injection dans l'étuve ($680 \text{ }^\circ\text{C}$). La qualité des mesures de COD a été validée avec le matériel de référence Mississippi-03.

2.6. Croissance des plantes en conditions contrôlées

A la fin des incubations, les échantillons de sols ont été lyophilisés et nous avons conservé les mêmes quatre répétitions pour réaliser l'expérimentation de croissance de plante. L'équivalent de 15 g pour l'andosol et de 30 g pour le nisitol a été introduit dans un pot de 12 cm de hauteur et de 1,7 cm de diamètre, de manière à obtenir le même volume pour les deux sols en reproduisant leurs masses volumiques respectives mesurées au champ. Une solution nutritive apportant 80 mgN kg^{-1} et 50 mgK kg^{-1} sous forme de NH_4NO_3 et de K_2SO_4 , respectivement, ainsi que de l'eau distillée ont été ajoutées à l'aide d'une micropipette pour atteindre 70% de la capacité maximale de rétention en eau des sols (i.e. pF 2,5). Cinq graines de millet perlé (*Pennisetum glaucum*) par pot ont été semées à 1 cm de profondeur, puis les pots ont été placés en chambre d'incubation en conditions contrôlées, avec 16 h de lumière par jour, 15 min d'humidification (humidificateur produisant de la vapeur d'eau) toutes les 2 h par jour, une température de 26°C le jour et de 22°C la nuit. La teneur en eau des sols a été maintenue quotidiennement en ajoutant de l'eau distillée à la micropipette. Après 10 jours de croissance, la partie

aérienne des plantes a été coupée, lavée à l'eau distillée pour enlever les particules de sol, et séchée à l'étuve à 60°C pendant 24 h. La matière sèche des plantes a alors été déterminée.

L'intégralité de chaque échantillon de plante sèche a été calcinée dans un four à moufles à 500°C pendant 6 h, puis digérée dans avec de l'eau régale (300 mL HCl (37% w w⁻¹) et 100mL HNO₃ (68% w w⁻¹) par litre d'eau distillée). Les tubes ont été centrifugés pendant 15 min à 3500 x g, et les éléments totaux contenus dans le surnageant analysés par ICP-OES (Thermo Fisher iCAP 7200). Des échantillons certifiés de maïs (*Zea mays* L.) ont été inclus dans les digestions et les analyses ; les pourcentages de recouvrement étaient de 101% pour Ca, 91% pour Mg et 108% pour P.

2.7. Mesure de la valeur neutralisante directe et indirecte des résidus organiques

La valeur neutralisante (VN) correspond à l'effet alcalinisant d'un résidu organique. Plus la VN est forte, plus le résidu organique est supposé pouvoir augmenter le pH du sol. Deux méthodes peuvent être utilisées pour déterminer la VN, la méthode directe et la méthode indirecte.

La valeur neutralisante directe (VN directe) prend uniquement en compte le pouvoir tampon physico-chimique du résidu organique. Plus le pouvoir tampon d'un résidu organique augmente, plus la valeur neutralisante diminue. Pour déterminer la VN directe, 1 g sec de résidu organique a été mélangé à 50 mL de HCl (0,46 mol L⁻¹), puis une solution de NaOH (0,25 mol L⁻¹) a progressivement été ajoutée jusqu'à l'obtention d'un pH égal à 7 (NF EN 12945 A). La VN (mol kg⁻¹) du résidu organique a été calculée de la façon suivante :

$$VN = \frac{C_{HCl} \cdot V_{HCl} - C_{NaOH} \cdot V_{NaOH}}{m} \quad \text{Eq. (2)}$$

où C_{HCl} (mol L⁻¹) est la concentration molaire de HCl, et V_{HCl} (L) le volume initial de HCl, C_{NaOH} (mol L⁻¹) la concentration molaire de NaOH, V_{NaOH} (L) le volume de NaOH ajouté pour atteindre le pH 7, et m (kg) la masse de résidus organiques apportée. Plus le pouvoir tampon du résidu organique est grand, plus la quantité de OH⁻ et donc le volume de NaOH à apporter sont grands et donc plus la VN diminue.

La VN directe ne prend pas en compte les mécanismes biologiques liés à la minéralisation du résidu organique qui peuvent affecter le pH du sol. En revanche, la valeur neutralisante indirecte (VN indirecte) prend en compte les mécanismes physico-chimiques et les mécanismes biologiques se déroulant dans le sol après ajout du résidu organique (NF EN 14984). Cette méthode consiste à réaliser des incubations en conditions contrôlées de sol seul, de sol et de résidu organique (1 g kg⁻¹) ou de sol et d'un amendement minéral et de mesurer le pH du sol après 24 h, deux ou quatre semaines. Dans notre étude, l'effet des résidus organiques sur le pH des sols a été mesuré sur le même principe au cours des incubations successives.

2.8. Traitements statistiques des données

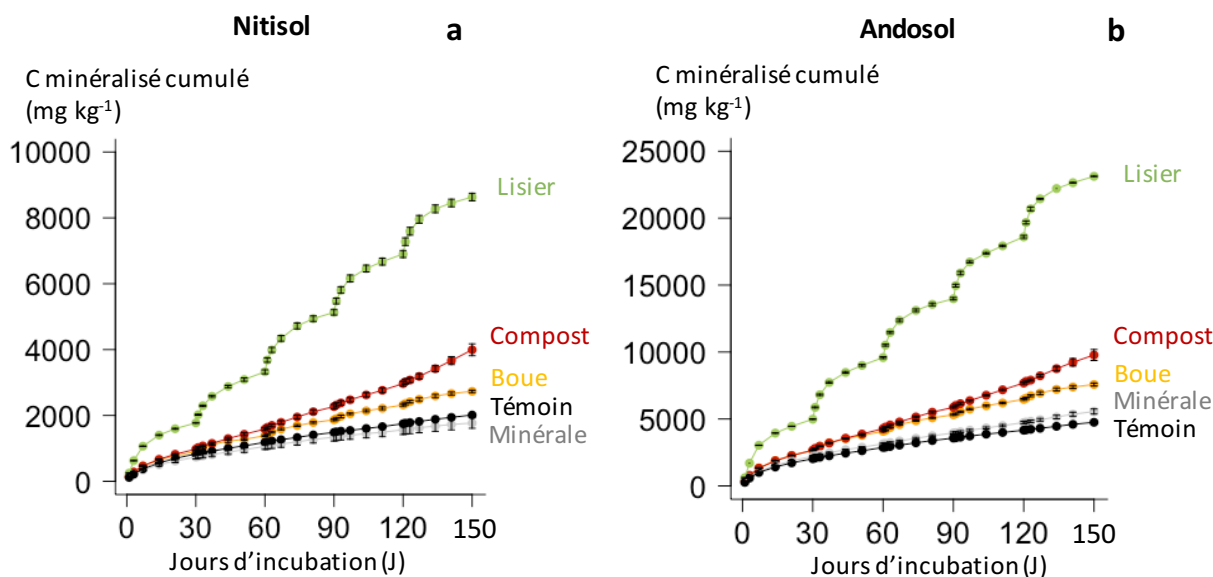
L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel R (R Core team, 2013). Le modèle ANCOVA a été utilisé pour étudier l'effet du type de sol, du type de fertilisant et des paramètres du sol sur le Pi-eau et le Pt-eau. Le test HSD Tukey a été utilisé pour classer les modalités de fertilisation, avec un seuil de significativité à 0,05. La relation entre le pH et le bilan carbone des sols a été modélisée par une équation de type $ax + bx^2 + c$; les relations entre les autres données (transformées en log si nécessaire) ont été modélisées avec des régressions linéaires. La significativité ($p \leq 0.05$) a été déterminée par l'analyse de la variance en utilisant un test classique de Fisher.

3. Résultats et discussion

3.1. La nature des résidus organiques contrôle la minéralisation du carbone de manière similaire dans les deux sols

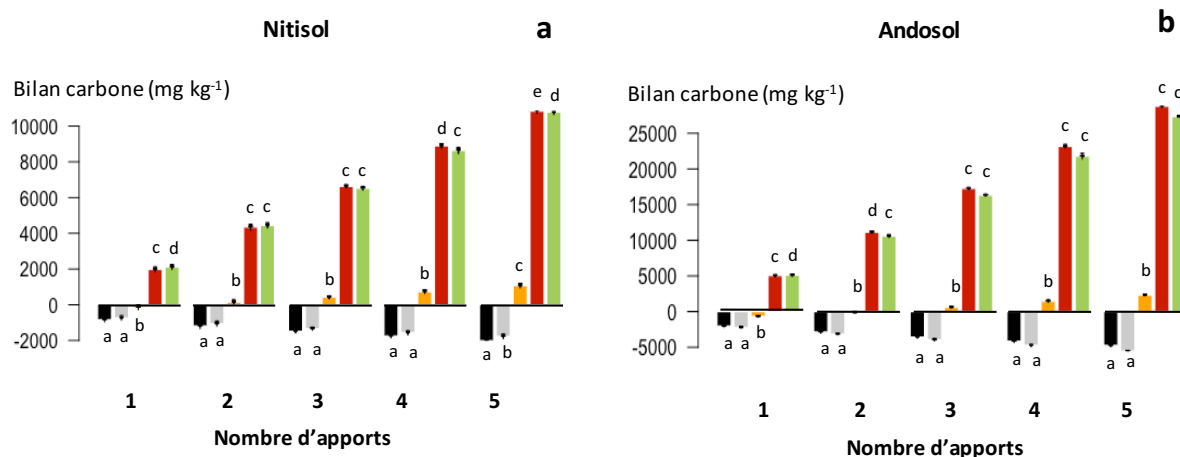
La quantité totale (sol + fertilisant) de carbone (C) minéralisé diffère selon les résidus organiques de manière similaire sur les deux sols (Figure 1). Pour toutes les modalités de fertilisation, la quantité de C minéralisée est plus forte dans l'andosol que dans le nitisol (4750 mg kg⁻¹ contre 2015 mg kg⁻¹ dans les sols témoins à J150), ce qui peut être expliqué par la plus forte teneur initiale en C organique dans l'andosol (Tableau 1). Le pourcentage de C (%C) minéralisé en fonction de la quantité de C apporté diffère selon les résidus organiques et suit l'ordre : compost < boue < lisier (Figure S1). Au bout de 30 jours et avant chaque nouvel apport, sur l'andosol et le nitisol en moyenne 13% du carbone apporté a été minéralisé avec le compost ; 25% avec la boue ; et 35% avec le lisier. La minéralisation des résidus organiques compostés est plus faible comparés à celle des résidus non compostés (Esco Mafor, 2014), le mécanisme de compostage induisant la perte de molécules facilement minéralisables (Eghball et al. 1997). Concernant les boues de station d'épuration, le traitement comme la méthanisation peut également limiter la biodisponibilité de certaines molécules (Tarrason et al. 2008).

Figure 1 Evolution de la masse cumulée de carbone minéralisée au cours des 150 jours d'incubation selon le fertilisant, dans le nitisol (a) et dans l'andosol (b). Les sols ont reçu des apports successifs de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH_2PO_4) à J0, J30, J60, J90 et J120. Les sols témoins n'ont reçu aucun apport. La barre d'erreur représente l'erreur standard ($n = 4$).



Le carbone organique des sols a fortement augmenté au fur et à mesure des apports de compost et de lisier, a légèrement augmenté avec la boue, et a diminué avec la modalité minérale et dans le sol témoin (Figure 2). Le bilan cumulé en carbone a été calculé par différence entre la quantité cumulée de carbone apporté et la quantité cumulée de carbone minéralisé au fur et à mesure des apports. Les sols témoin et avec la fertilisation ont des bilans négatifs (-2015 mg kg^{-1} et -1770 mg kg^{-1} , respectivement), car ils n'ont pas reçu de C mais une part du C du sol a été minéralisée. La quantité de C apporté était plus forte avec le lisier que le compost (Tableaux 3 et 4), néanmoins la quantité de C minéralisée était plus forte avec le lisier (Figure 1) et le bilan de C cumulé est ainsi similaire avec le lisier (10785 mg kg^{-1}) et le compost (10835 mg kg^{-1}). La quantité de C apporté avec la boue était plus faible qu'avec le lisier ou le compost, le bilan de C cumulé dans le sol est donc plus faible (1080 mg kg^{-1}).

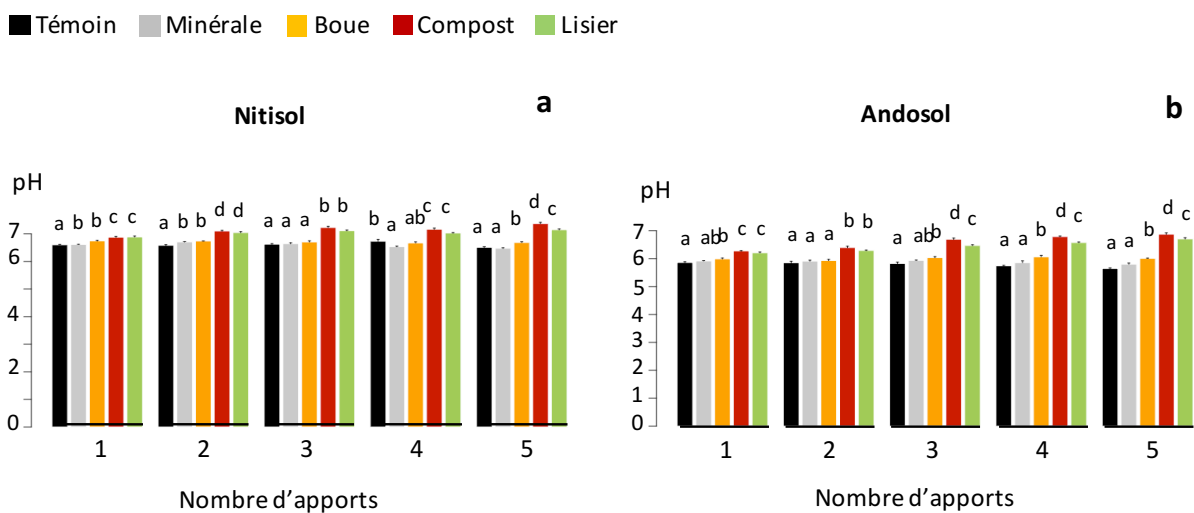
Figure 2 Evolution du bilan carbone (C apporté – C minéralisé) cumulé au fur et à mesure des apports selon le fertilisant dans le nitisol (a) et dans l’andosol (b). Le bilan cumulé a été calculé après 30 jours d’incubation suivant chaque apport. Les sols ont reçu des apports successifs de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH₂PO₄). Les sols témoins n’ont reçu aucun apport. La barre d’erreur représente l’erreur standard (*n* = 4) ; les lettres indiquent les différences significatives entre les fertilisants après chaque apport à un niveau 0,05.



3.2. Les apports répétés de lisier et de compost augmentent progressivement le pH des sols, contrairement aux apports répétés boue

Le lisier et le compost ont induit une augmentation progressive du pH des deux sols au fur et à mesure des apports, alors que la boue a peu modifié le pH (Figure 3). Après cinq apports, le compost et le lisier ont respectivement augmenté le pH initial du sol de 0,8 et 0,6 unité sur le nitisol, et de 1,1 et 0,9 unités sur l’andosol. La boue a légèrement augmenté le pH, de 0,1 et 0,2 unité respectivement sur le nitisol et l’andosol après cinq apports. Une légère diminution du pH a en revanche été observée dans le sol témoin et dans le sol avec fertilisation minérale, mais ne dépassant pas 0,2 unité après cinq apports. Notre précédente étude basée sur un essai en champ sur le même andosol (chapitre III.1), montrait également une augmentation progressive du pH avec des apports annuels de compost et de lisier (de 1,4 et 0,8 respectivement pour le lisier et le compost après 12 ans d’apports). L’augmentation de pH observée précédemment en champ a donc été reproduite lors de l’incubation sur l’andosol, et a été également observée sur le nitisol.

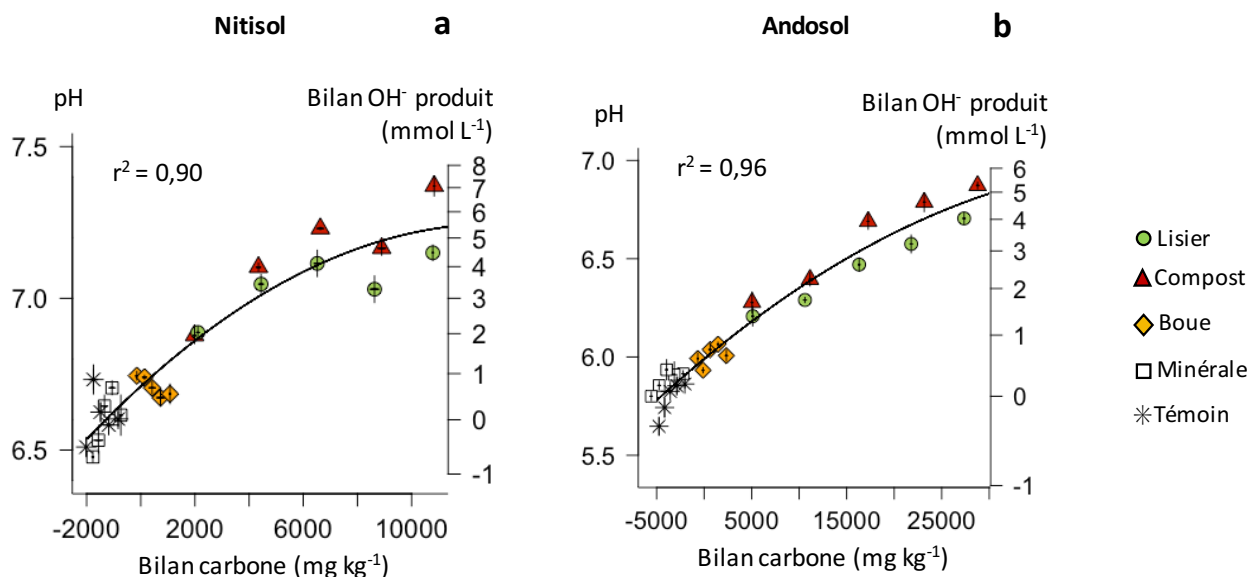
Figure 3 Evolution du pH au fur et à mesure des apports selon le fertilisant dans le nitisol (a) et dans l'andosol (b). Le pH a été mesuré après 30 jours d'incubation suivant chaque apport. Les sols ont reçu des apports successifs de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH₂PO₄). Les sols témoins n'ont reçu aucun apport. La barre d'erreur représente l'erreur standard ($n = 4$) ; les lettres indiquent les différences significatives entre les fertilisants après chaque apport à un niveau 0,05.



L'augmentation du pH du sol avec les résidus organiques ne semble pas reliée à leur valeur neutralisante (VN) directe. La VN direct du lisier était faible (1,07 mol kg⁻¹), comparée à celle de la boue (3,88 mol kg⁻¹) et celle du compost (4,77 mol kg⁻¹). Rapportée à la masse de résidu organique apportée au sol, cela correspond à une quantité de OH⁻ similaire pour la boue et le lisier (respectivement 22,2 mmol kgSol⁻¹ et 24,5 mmol kgSol⁻¹ sur l'andosol à chaque apport), mais bien supérieure pour le compost (97,1 mmol kgSol⁻¹). La VN directe, qui ne prend en compte que les mécanismes physico-chimiques liés au pouvoir tampon du résidu organique, ne permet donc pas d'expliquer l'effet alcalinisant des résidus organiques.

Les variations de pH du sol sont fortement et positivement corrélées au bilan cumulé en carbone du sol (Figure 4). La relation entre le pH et le bilan cumulé en C suit une équation de type $a*x + b*x^2 + c$ ($r^2 = 0,90$ pour le nitisol et 0,96 pour l'andosol). Ces résultats suggèrent que les modifications de pH induites par les résidus organiques sont dues à l'apport exogène de matière organique, qui peut augmenter le pH du sol via sa complexation avec des protons (Haynes and Mokolobate, 2001). Dans notre étude, les variations du bilan cumulé en C sont bien plus importantes dans l'andosol que le nitisol, pourtant l'augmentation de pH est similaire sur les deux sols. Le pouvoir tampon de l'andosol semble donc plus fort et limiter l'augmentation de pH induite par l'apport de matière organique. Nos résultats suggèrent que la matière organique apportée et restant dans le sol présente des groupements réactifs pouvant complexer les protons du sol et ainsi en augmenter le pH.

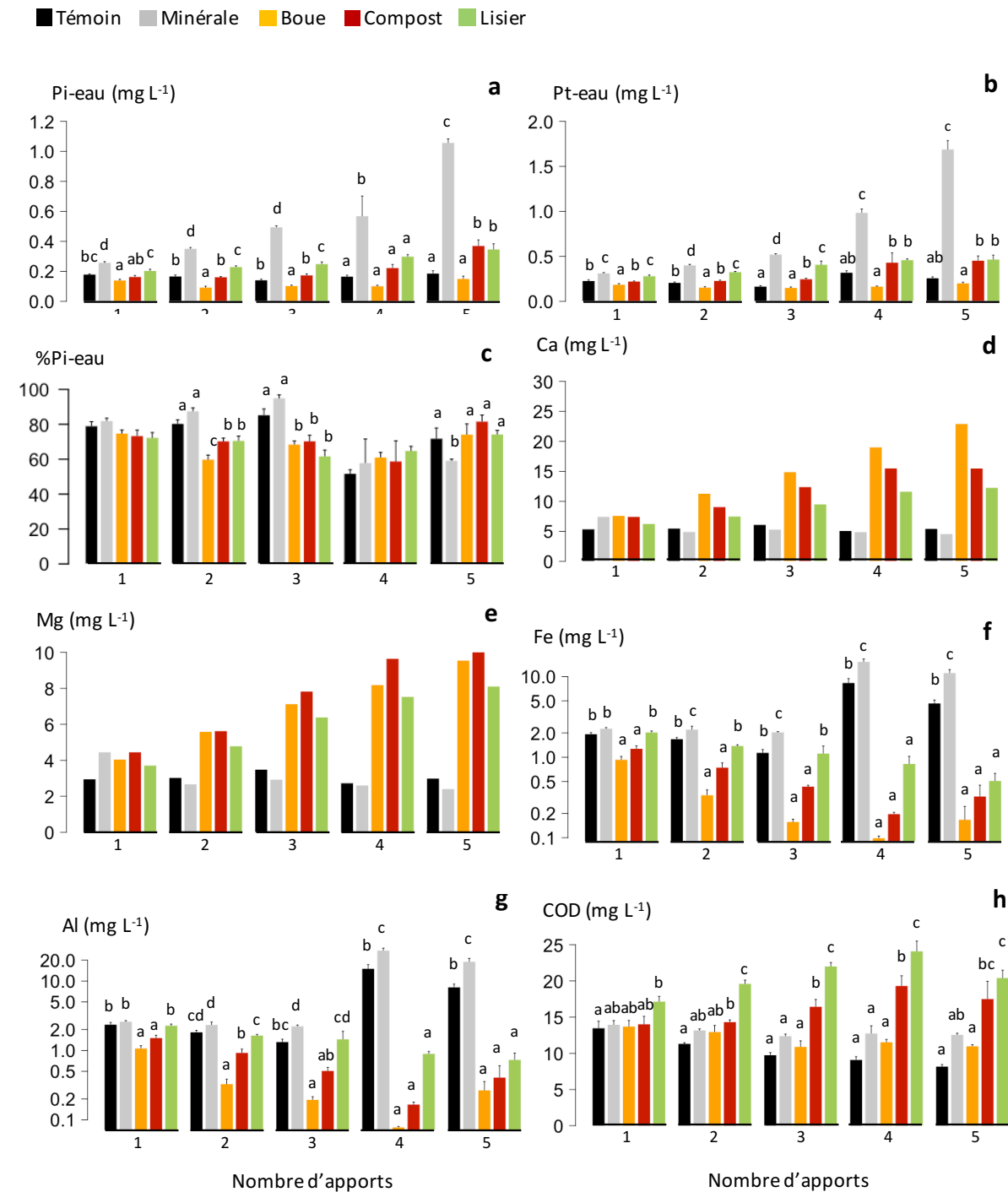
Figure 4 Relations entre le pH ou le bilan de OH⁻ produits et le bilan carbone (C apporté – C minéralisé) dans le nitisol (a) et dans l'andosol (b). Les sols ont reçu un à cinq apports successifs de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH₂PO₄). Les sols témoins n'ont reçu aucun apport. Le pH a été mesuré après 30 jours d'incubation suivant chaque apport. La barre d'erreur représente l'erreur standard ($n = 4$). La courbe représente le modèle ajusté de type $ax + bx^2 + c$.



3.3. Dans le nitisol, l'effet des résidus organiques sur la disponibilité du phosphore semble majoritairement contrôlé par l'adsorption avec le calcium apporté

Dans le nitisol, l'apport de fertilisant minéral engendre les plus fortes concentrations de phosphore inorganique (Pi) (Pi-eau) et de phosphore total (Pt-eau) dans les extraits à l'eau au cours des cinq mois d'incubation (Figure 5a et b). Les valeurs de Pi-eau et de Pt-eau évoluent de manière similaire au cours de l'incubation, et se classent de la façon suivante selon les fertilisants apportés : témoin et boue < compost et lisier < minérale. Le fertilisant minéral engendre une valeur de Pi-eau de 0.8 mg L⁻¹ à la fin de l'incubation (J150), soit une concentration quatre fois supérieure à celle du témoin (0.18 mg L⁻¹). Le compost et le lisier engendrent une valeur de Pi-eau deux fois supérieure à celle du témoin avec 0.32 mg L⁻¹. Ces résultats sont cohérents avec ceux de la littérature. Les études basées sur des incubations en conditions contrôlées comparant des fertilisants à dose égales de P apporté, montrent en effet que la disponibilité du P dans les sols fertilisés avec des résidus organiques est plus faible ou équivalente à celle des sols fertilisés avec du P minéral (Frossard et al. 1996 ; Huang et al. 2011 ; Shafqat and Pierzynski, 2013).

Figure 5 Effet du fertilisant sur les paramètres du nitisol au fur et à mesure des apports successifs à dose équivalente de P de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH_2PO_4). Le sol témoin n'a reçu aucun apport. Les paramètres ont été mesurés après 30 jours d'incubation suivant chaque apport. La barre d'erreur représente l'erreur standard ($n = 4$) ; les lettres indiquent les différences significatives entre les fertilisants après chaque apport à un niveau 0,05.



Le pourcentage de Pi comparé au P total dans les extraits à l'eau (%Pi-eau) est similaire pour tous les types de fertilisants à partir du 4^{ème} apport (Figure 5c). Après le 3^{ème} apport, le %Pi-eau est plus fort dans le sol témoin (86%) et avec la modalité minérale (95%), que dans les sols avec les résidus organiques (69% en moyenne). En revanche, après le 4^{ème} et 5^{ème} apport, le %Pi-eau est similaire quelle que soit la modalité de fertilisation (en moyenne de 73% après le 5^{ème} apport). Ces résultats montrent que les résidus organiques et le fertilisant minéral augmentent dans les mêmes proportions la concentration de Pi et de Po après le 4^{ème} apport, correspondant à 120 jours d'incubation. Plusieurs études ont tenté d'expliquer l'évolution de la disponibilité du Pi dans les sols fertilisés avec des résidus organiques par la transformation du Po apporté, mais les résultats restent peu convaincants (Criquet et al. 2007 ; Garg and Bahl, 2008 ; Oehl et al. 2004). Dans notre étude, le %Pi-eau suggèrent que la transformation du Po en Pi n'explique pas les différences de Pi disponible (Figure 5a). La minéralisation des résidus organiques ne semble donc pas être le principal mécanisme expliquant la disponibilité du Pi dans le nitisol.

Les concentrations de calcium (Ca) et de magnésium (Mg) dans les extraits à l'eau augmentent au fur et à mesure des apports de résidus organiques, alors qu'elles diminuent avec la modalité minérale (Figure 5d et e). Entre le premier et le dernier apport (entre J30 et J150), la concentration en Ca dans l'extrait à l'eau a triplé avec la boue, doublé avec le lisier et le compost, mais diminué de moitié avec la fertilisation minérale. Ces concentrations résultent de la forte teneur en Ca dans la boue, et à moindre mesure dans le compost et le lisier (Tableau 2). La concentration de magnésium présente des évolutions similaires. Au contraire, les concentrations en Al et Fe diminuent au fur et à mesure des apports de résidus, mais augmentent avec la modalité minérale ou dans le sol témoin (Figure 5f et g). Huang et al. (2011) ont également observé une augmentation de Ca et une diminution d'Al et Fe en solution, dans des sols fertilisés avec des boues de station d'épuration. L'adsorption des ions Ca à la surface des minéraux du sol peut augmenter l'adsorption du Pi (Devau et al., 2011). Ces résultats suggèrent que le principal mécanisme déterminant la disponibilité du Pi dans le nitisol est dû à l'apport de Ca et Mg avec les résidus organiques, qui augmentent l'adsorption du Pi.

3.4. Dans l'andosol, l'effet des résidus organiques sur la disponibilité du phosphore semble majoritairement contrôlé par les modifications de pH et de concentration en carbone organique dissous

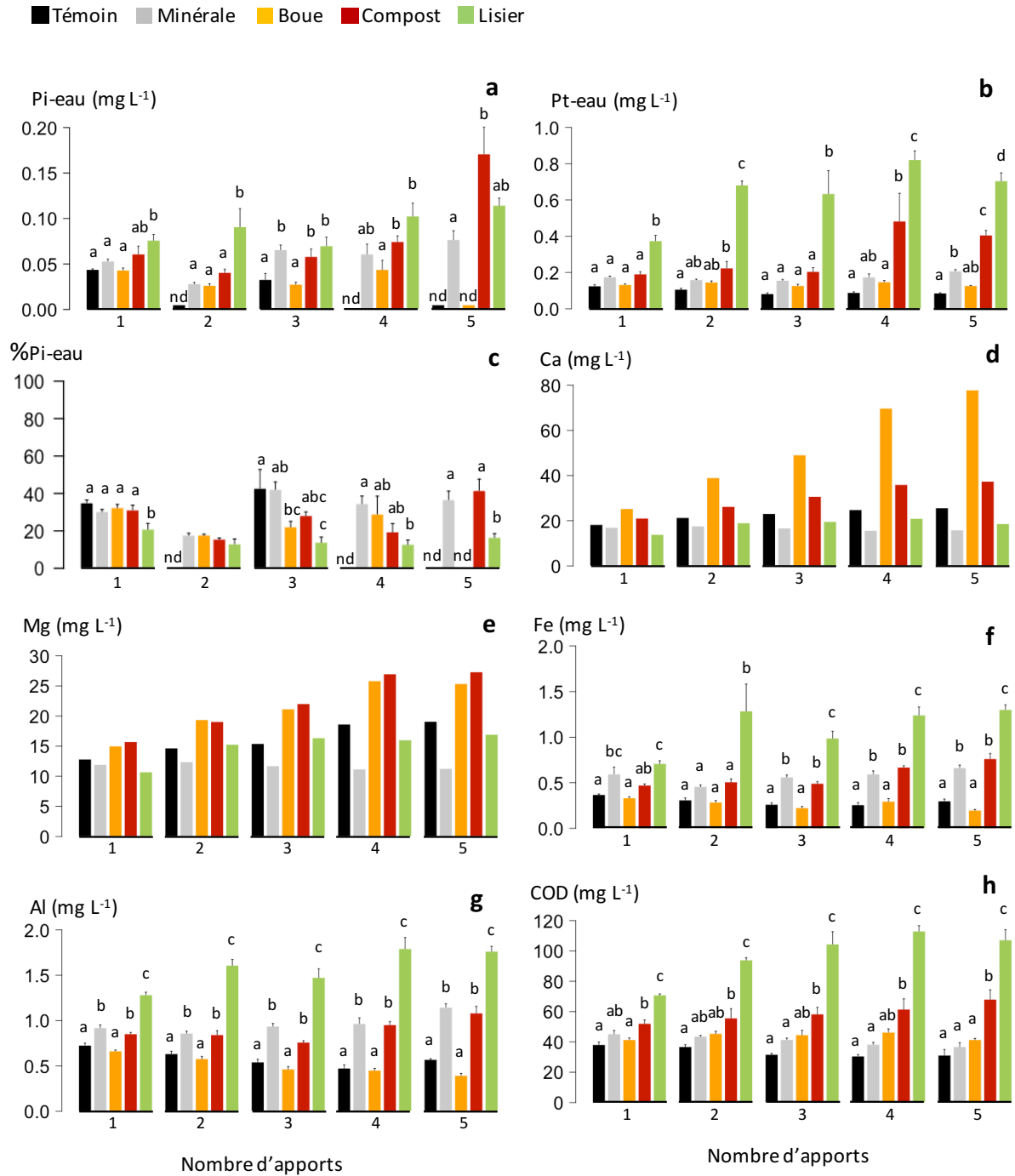
Dans l'Andosol, le lisier et le compost engendrent les plus fortes concentrations de Pi-eau et de Pt-eau au cours de l'incubation (Figure 6a et b). Les différences de Pi-eau selon les fertilisants sont peu claires au cours des premiers mois d'incubation, puis se classent de la façon suivante à la fin de l'incubation (J150) : témoin et boue < minérale < lisier < compost. Le compost engendre donc le plus de Pi-eau avec 0.17 mg L⁻¹ à la fin de l'incubation, soit une concentration plus de huit fois supérieure à celle du témoin (< 0.02 mg L⁻¹). Le classement des valeurs de Pt-eau en fonction des fertilisants n'est pas le même que celle du Pi-eau, le lisier engendrant la plus forte augmentation de Pt-eau tout au long de l'incubation. Les plus fortes concentrations en Pi-eau et Pt-eau obtenues avec les résidus organiques contrastent avec les résultats de la littérature, qui montrent généralement des quantités de P disponible plus faibles avec les résidus organiques qu'avec un fertilisant minéral (Frossard et al., 2016; Huang et al.,

2011; Shafqat and Pierzynski, 2013). Ces résultats suggèrent que la disponibilité du P dans l'andosol est régie par des paramètres différents comparés à d'autres types de sol.

Le pourcentage de P_i comparé au P total dans les extraits à l'eau (% P_i -eau) est plus faible avec lisier (15% en moyenne pour tous les apports), qu'avec les autres fertilisants (30% en moyenne pour tous les apports) tout au long de l'incubation (Figure 6c). Ce résultat montre que le lisier augmente plus la concentration de P_o en solution que celle de P_i . Au contraire, les résultats de nos précédentes études (Chapitres II et III.1) et ceux de la littérature basés sur des expérimentations en champs (Negassa and Leinweber, 2009) montrent que l'apport de résidus organiques augmentent la quantité de P_i disponible, et ont peu d'effet sur la quantité de P_o disponible. Dans les études en champ, la disponibilité du P est étudiée après des années d'apports annuels, alors que dans la présente étude, elle est étudiée un mois après chaque apport. On pourrait donc supposer que le P_o du lisier n'a eu le temps d'être minéralisé au cours de l'incubation. Cependant, le lisier est le résidu organique qui minéralise le plus (Figures 1 et S1), il semble donc que la plus forte quantité de P_t -eau obtenue avec le lisier ne soit pas due à une plus faible transformation du P_o en P_i .

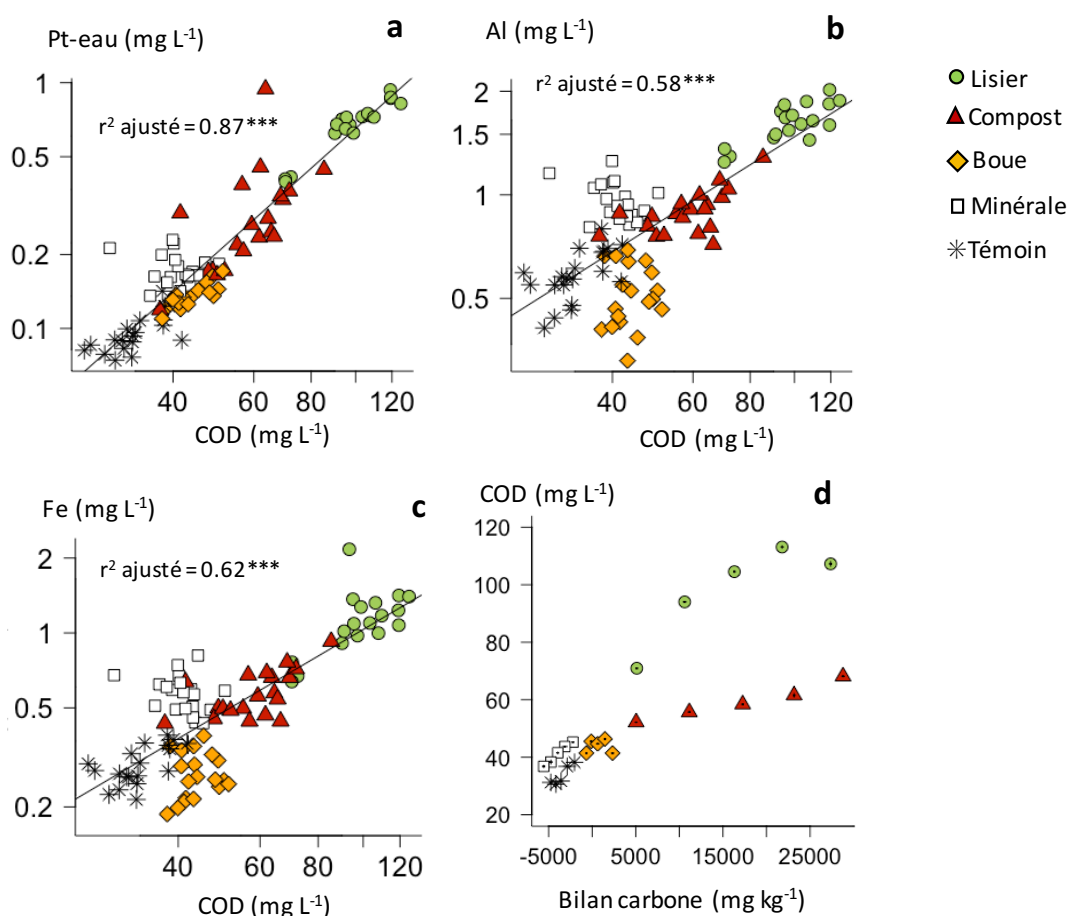
Dans l'andosol, la concentration en P total dans l'extrait à l'eau (P_t -eau) augmente avec la concentration en carbone organique dissous (COD) (r^2 ajusté = 0.87) (Figure 7a). La concentration en Al et Fe totaux dans les extraits à l'eau augmentent également avec la concentration en COD (r^2 ajusté = 0.58 et 0.62 pour Al et Fe respectivement) (Figure 7b et c). La production de COD augmente avec le bilan carbone dans l'andosol, mais est plus forte avec le lisier que les autres fertilisants (Figure 7d). Pour un même bilan carbone, la minéralisation du lisier est beaucoup plus forte que celle du compost, ce résultat suggère donc que la production de COD est induite par la minéralisation. Bollyn et al. (2017) ont montré que le P_i en solution formait des complexes avec les nanoparticules de Fe (NP-Fe), et que le COD pouvait augmenter la stabilité des NP-Fe en solution. Dans notre étude, la plus forte concentration de P_t -eau obtenue avec le lisier et à moindre mesure avec le compost, peut donc être due à la stabilisation des NP-Fe- P_i induite par l'augmentation de la concentration en COD. Dans l'andosol, la minéralisation des résidus organiques semble donc produire des molécules organiques solubles qui stabilisent le P complexé aux nanoparticules de fer ou d'aluminium.

Figure 6 Effet du fertilisant sur les paramètres de l'andosol au fur et à mesure des apports successifs à dose équivalente de P de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH₂PO₄). Le sol témoin n'a reçu aucun apport. Les paramètres ont été mesurés après 30 jours d'incubation suivant chaque apport. La barre d'erreur représente l'erreur standard ($n = 4$) ; les lettres indiquent les différences significatives entre les fertilisants après chaque apport à un niveau 0,05. nd = valeur sous le seuil de quantification.



La concentration en Pi dans l'extrait à l'eau (Pi-eau) augmente avec le pH (r^2 ajusté = 0,38) et la concentration en COD (r^2 ajusté = 0,26). Le modèle ancova avec interactions incluant le pH, la concentration en COD et le nombre d'apports, montre que les trois variables font significativement varier le Pi-eau (r^2 ajusté = 0,75). Ces résultats sont en accord avec notre précédente étude menée en champ sur le même andosol, qui montrait que l'augmentation de pH induite par l'apport de compost et de lisier diminuait la sorption du Pi et donc sa disponibilité (Chapitre III.1). L'augmentation de pH peut diminuer l'affinité de certains minéraux du sol pour le Pi, comme les (hydr)oxydes de Fe et/ou d'Al, ou les minéraux argileux, en augmentant le nombre de charges négatives à leur surface (Gérard 2016). La sorption du Pi peut par ailleurs diminuer avec le COD, car les molécules organiques solubles entrent en compétition avec le Pi pour les mêmes sites de sorption (Regelink et al., 2015). La boue et la modalité minérale modifient peu le pH et apportent peu de matière organique au sol, néanmoins le Pi-eau est plus fort avec la modalité minérale qu'avec la boue. La concentration en Ca dans l'extrait à l'eau augmente au fur et à mesure des apports avec la boue, en revanche elle augmente peu pour le compost et le lisier (Figure 6d). On peut donc supposer que comme dans le nitisol, le Ca apporté avec la boue augmente la sorption du Pi et explique la stagnation du Pi-eau et du Pt-eau au fur et à mesure des apports. En revanche, avec le lisier et le compost, la sorption due à l'apport de Ca semble peu influencer la disponibilité du Pi. Nos résultats suggèrent que le pH, le COD et le Ca sont les principaux paramètres influençant la sorption du Pi apporté avec les fertilisants, qui détermine la disponibilité du Pi dans l'andosol.

Figure 7 Relations entre la concentration en phosphore total (a), en aluminium (b) ou en fer (c), et la concentration en carbone organique dissous (COD), et entre la concentration en COD et le bilan carbone (P apporté – P minéralisé) (d) dans les extraits à l’eau sur l’andosol. Les sols ont reçu un à cinq apports successifs à dose équivalente de P de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH₂PO₄). Le sol témoin n’a reçu aucun apport. Les paramètres ont été mesurés après 30 jours d’incubation suivant chaque apport. La droite représente la régression linéaire ajustée; *** p-value < 10⁻³.



3.5. Le P prélevé par la plante augmente au fur et à mesure des apports répétés de fertilisant minéral et de résidus organiques sur les deux sols

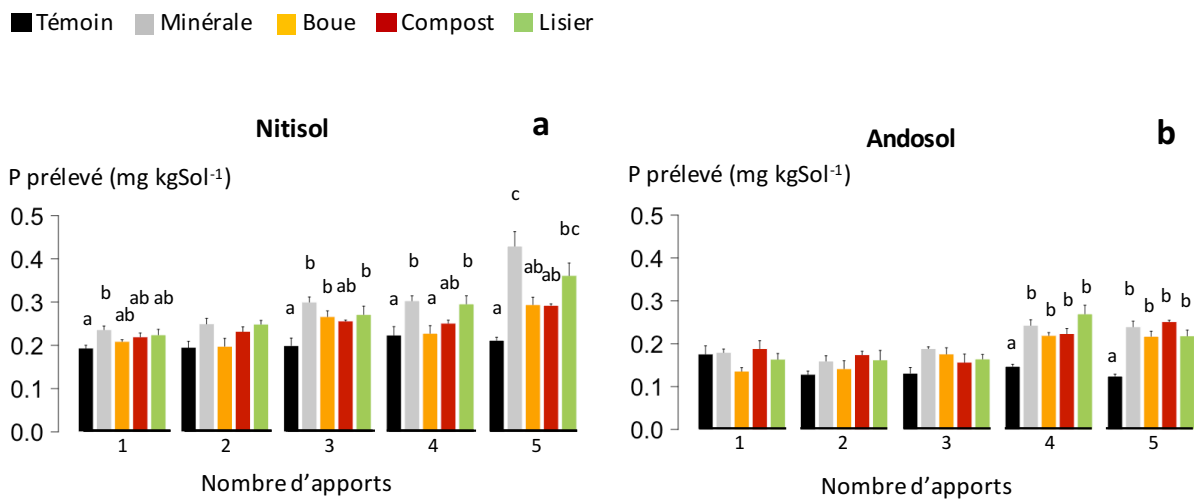
La biomasse de la plante après dix jours de croissance ne varie pas en fonction de sa concentration en phosphore (Figure S2), le P ne semble donc pas limiter la croissance des plantes. Dans une précédente expérimentation, la croissance du millet était en revanche limitée par le P dans l’andosol témoin (Chapitre III.2), mais la durée de croissance était plus longue (trois semaines) que dans la présente expérimentation. On peut alors supposer qu’une importante part du P prélevé est ici issue de la graine,

ou que le P disponible du sol témoin est suffisant pour fournir le P nécessaire à la croissance du millet pendant dix jours. Le phosphore n'est ainsi pas limitant pour la croissance même sur l'andosol témoin.

Le phosphore prélevé par la plante augmente au fur et à mesure des apports répétés de fertilisant minéral ou de résidu organique, alors qu'il stagne dans le sol témoin (Figure 8). Sur l'andosol, le P prélevé augmente de manière équivalente avec tous les fertilisants et est en moyenne 2 fois plus fort que dans le sol témoin après cinq apports. En revanche sur le nitisol, le P prélevé change selon le fertilisant. Après cinq apports, comparé au sol témoin le P prélevé est 1,4 fois plus fort avec la boue et le compost, 1,7 fois plus fort avec le lisier et 2 fois plus fort avec le fertilisant minéral. Apporté à dose équivalente de P, le type de fertilisant influence donc le P prélevé par la plante sur le nitisol, mais pas sur l'andosol. Ces résultats montrent que l'effet des résidus organiques sur le P prélevé par la plante change selon le type de sol.

Le P prélevé sur l'andosol après cinq apports répétés de fertilisant (en moyenne 0,24 mg kgSol⁻¹) dépasse à peine le P prélevé sur le nitisol témoin (en moyenne 0,21 mg kgSol⁻¹) (Figure 9). Les biomasses sont néanmoins équivalentes sur les deux sols (Figure S3). Ces résultats suggèrent que sur le nitisol, tous les fertilisants induisent une consommation de luxe de P. La croissance des plantes n'est ici pas suffisamment longue pour savoir si le P pourrait être limitant pour certaines modalités de fertilisation sur l'andosol voire sur le nitisol.

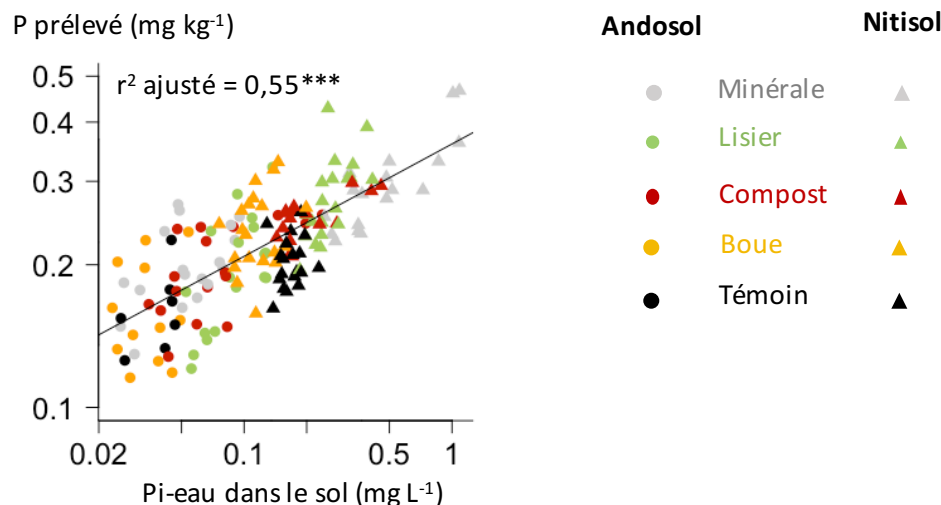
Figure 8 Effet du fertilisant sur le phosphore (P) prélevé par la plante (millet perlé) dans le nitisol (a) et l'andosol (b) ayant reçu des apports successifs à dose équivalente de P de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH₂PO₄). Les sols témoins n'ont reçu aucun apport de P. Le P prélevé a été mesuré après 10 jours de croissance en conditions contrôlées. La barre d'erreur représente l'erreur standard (*n* = 4) ; les lettres indiquent les différences significatives entre les fertilisants après chaque apport à un niveau 0,05.



3.6. La disponibilité du phosphore dans les sols explique en partie le phosphore prélevé par la plante

Le phosphore prélevé par la plante augmente significativement avec la concentration en phosphore inorganique (Pi) dans l'extrait à l'eau du sol (Pi-eau) (r^2 ajusté = 0,55) (Figure 9) ; le P prélevé est moins corrélé à la concentration en P total dans l'extrait à l'eau du sol (Pt-eau) (r^2 ajusté = 0,32). Ces résultats montrent que le P prélevé par la plante varie en fonction de la concentration en Pi dans la solution du sol. Néanmoins, au fur et à mesure du prélèvement, le Pi en solution est réapprovisionné, principalement par le Pi sorbé à la surface des minéraux de la phase solide du sol (Devau et al., 2009). Le Pi-eau n'intègre pas le Pi susceptible de réapprovisionner la solution, ce qui peut expliquer les différences observées entre le Pi-eau du sol et le P prélevé par la plante. Sur l'ensemble des deux sols, on peut considérer que le Pi directement disponible du sol, i.e. le Pi extrait à l'eau, est un indicateur du P prélevé par la plante.

Figure 9 Relation entre le phosphore (P) prélevé par la plante (millet perlé) après 10 jours de croissance et la concentration en Pi dans l'extrait à l'eau du sol (Pi-eau). Avant la croissance des plantes, les sols ont reçu un à cinq apports successifs à dose équivalente de P de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH_2PO_4). Les sols témoins n'ont reçu aucun apport de P. Le Pi-eau a été mesuré dans le sol avant la croissance des plantes. Cercles : andosol ; triangles : nitisol. La droite représente la régression linéaire ajustée ; *** p-value < 10^{-3} .



Les différences de Pi-eau observées dans les sols selon le fertilisant ne correspondent pas toujours à des différences de P prélevé par la plante. Sur les deux sols, la boue n'engendrait pas d'augmentation du Pi-eau au fur et à mesure des apports (Figures 5a et 6a), alors qu'elle engendre une augmentation du P prélevé par la plante sur les deux sols (Figure 8). Sur l'andosol, le Pi-eau était plus fort avec le lisier et le compost comparé aux autres fertilisants, alors que le P prélevé est identique pour tous les fertilisants. On peut supposer que la durée de croissance des plantes (dix jours) est trop courte pour mettre en

évidence des différences selon les fertilisants sur l'andosol, cette durée de croissance est néanmoins suffisante pour constater des différences sur le nitisol. On peut par ailleurs supposer que la plante induit des processus rhizosphériques, non suivis dans cette étude, qui pourraient être à l'origine des différences observées entre le Pi dans la solution du sol et le Pi prélevé par la plante (Hinsinger et al., 2011). Le P prélevé par la plante et le Pi-eau mesuré dans le sol donnent donc différentes informations concernant l'efficacité des fertilisants.

4. Conclusion

Nous avons réalisé des incubations en conditions contrôlées avec des apports répétés de résidus organiques (compost, lisier ou boue) ou de fertilisant minéral à dose égale de phosphore (P), dans le but de déterminer l'importance des modifications des propriétés physico-chimiques des sols et de la minéralisation des résidus organiques sur la disponibilité et la phytodisponibilité en P dans un nitisol et dans un andosol. Les apports répétés de lisier et de compost augmentent progressivement le pH des sols, contrairement aux apports répétés boue. Nos résultats suggèrent que la concentration en COD dans l'andosol augmente avec la minéralisation des résidus organiques. Dans l'andosol, l'effet des résidus organiques sur la disponibilité du P inorganique (Pi) semble majoritairement contrôlé par les modifications de pH et de carbone organique dissous (COD). Dans le nitisol, l'effet des résidus organiques sur la disponibilité du phosphore semble majoritairement contrôlé par l'adsorption avec le calcium apporté. Le P prélevé par la plante après dix jours de croissance augmente au fur et à mesure des apports répétés de fertilisant minéral et de résidus organiques sur les deux sols et est en partie expliquée la disponibilité du Pi directement disponible dans le sol. Notre étude suggère que l'efficacité des résidus organiques est déterminée par la minéralisation du C apporté et les modifications des propriétés physico-chimique du sol, principalement l'augmentation du Ca et du pH.

Remerciements

Merci à L. Thuriès pour ses conseils concernant la réalisation des incubations. Un grand merci à J. Idmond pour les nombreuses analyses de carbone effectuées, merci également à P. Légier, A. Ligdamis, A.E Lombard, J.D. Mouny-Latchimy, G. Moussard, S. Kabakian, E.M. Zellou et Q. Devresse pour leur aide lors des expérimentations. Merci à M. Montes et C. Chevassus Rosset pour les analyses d'extraits de sol, et à l'équipe du laboratoire de KU Leuven pour les analyses de plantes, en particulier à M. Everaert. Merci à l'équipe d'Aida pour avoir fourni les graines de millet. Enfin, merci à Veolia-eau pour le financement de la thèse.

5. Annexes

Figure S1 Evolution du pourcentage minéralisé de carbone apporté avec les résidus organiques (%C_{apporté,min}) cumulé par apport (voir Eq.1) dans le nitisol (a) et dans l'andosol (b). Les sols ont reçu des apports successifs de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH₂PO₄) à J0, J30, J60, J90 et J120. Les sols témoins n'ont reçu aucun apport. La barre d'erreur représente l'erreur standard ($n = 4$).

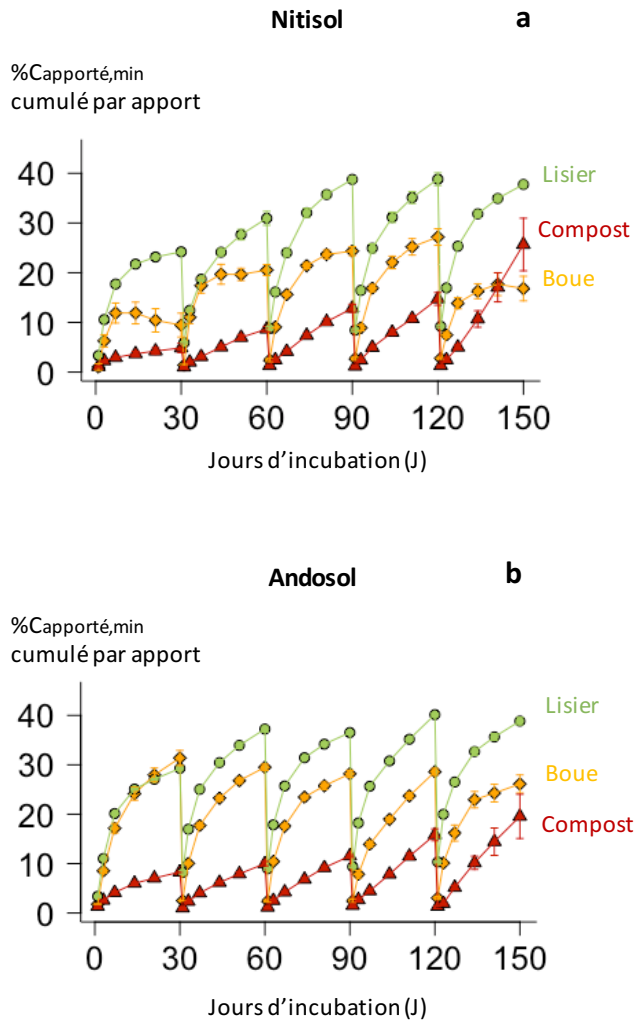


Figure S2 Relation entre la biomasse sèche et la concentration en phosphore dans la partie aérienne des plantes (millet perlé) après 10 jours de croissances. Avant la croissance des plantes, les sols ont reçus un à cinq apports successifs à dose équivalente de P de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH_2PO_4). Les sols témoins n'ont reçu aucun apport de P. Le Pi-eau a été mesuré dans le sol avant la croissance des plantes. Cercles : andosol ; triangles : nitisol.

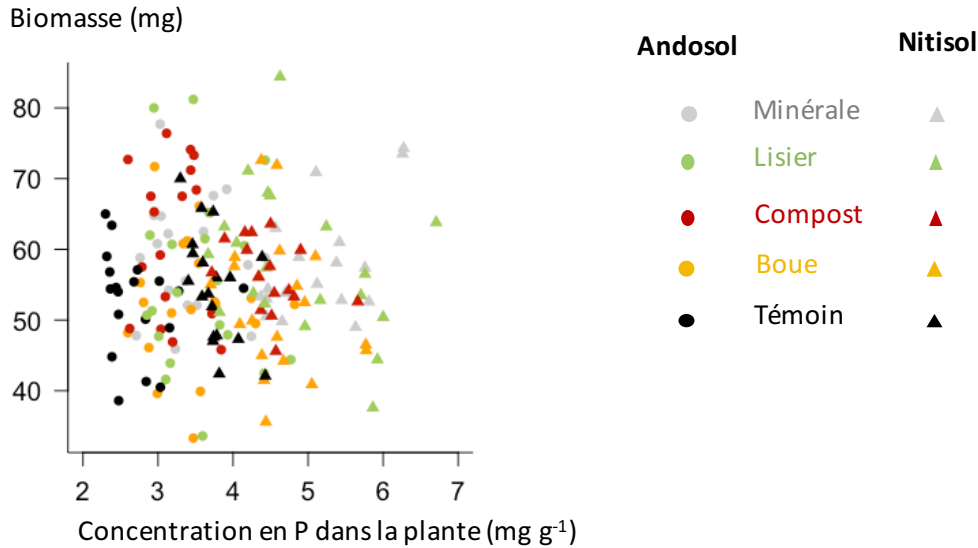
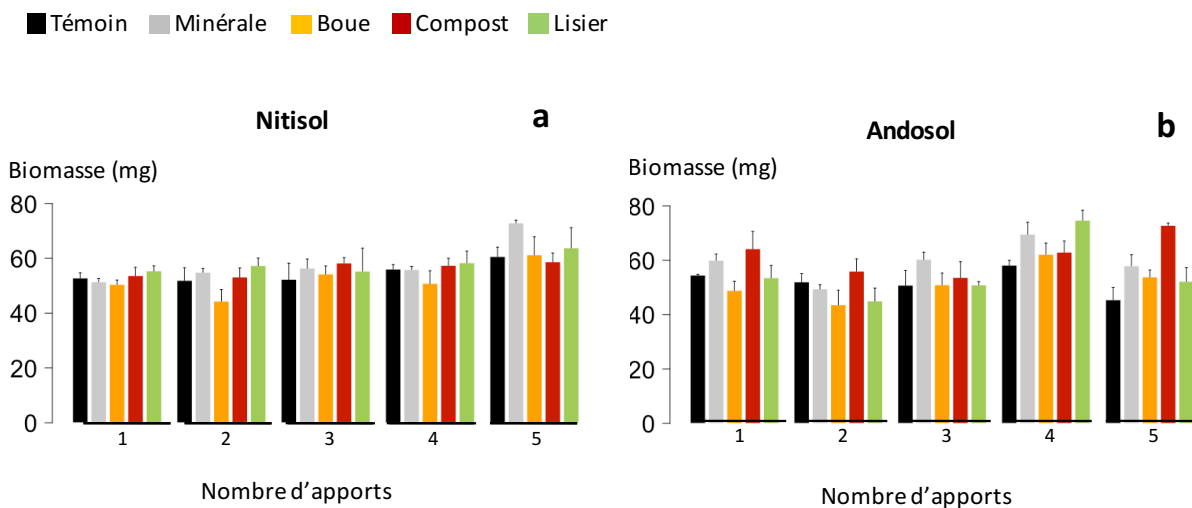


Figure S3 Effet du fertilisant sur la biomasse sèche des plantes (millet perlé) dans le nitisol (a) et l'andosol (b) ayant reçu des apports successifs à dose équivalente de P de résidus organiques (boue, compost ou lisier) ou de solution minérale (KH_2PO_4). Les sols témoins n'ont reçu aucun apport de P. La biomasse a été mesurée après 10 jours de croissances en conditions contrôlées. La barre d'erreur représente l'erreur standard ($n = 4$).



6. Références

- Achat, D.L., Sperandio, M., Daumer, M.-L., Santellani, A.-C., Prud'Homme, L., Akhtar, M. & Morel, C. 2014. Plant-availability of phosphorus recycled from pig manures and dairy effluents as assessed by isotopic labeling techniques. *Geoderma*, 232–234, 24–33.
- Annaheim, K.E., Doolette, A.L., Smernik, R.J., Mayer, J., Oberson, A., Frossard, E. & Bünemann, E. K. 2015. Long-term addition of organic fertilizers has little effect on soil organic phosphorus as characterized by ³¹P NMR spectroscopy and enzyme additions. *Geoderma*, 257–258, 1–11.
- Association française de normalisation, 1995. Qualité du sol. Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire). AFNOR Standard NF ISO 10694:1995. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 1998. Qualité du sol. Détermination de la teneur totale en azote par combustion sèche ("analyse élémentaire"). AFNOR Standard NF ISO 13878:1998. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 2001. Qualité du sol. Mise en solution pour la détermination des teneurs élémentaires totales - Partie 1 : Mise en solution par l'acide fluorhydrique et l'acide perchlorique. AFNOR Standard NF ISO 14869-1:2001. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 2009. Amendements organiques et supports de culture - Caractérisation de la matière organique par la minéralisation potentielle du carbone et de l'azote. AFNOR Standard NF XP U44-1683:2009. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 2014. Amendements minéraux basiques - Détermination de la valeur neutralisante - Méthodes par titrimétrie. AFNOR Standard NF EN 12945 A:2014. AFNOR, Paris.
- Association française de normalisation, 2016. Amendements minéraux basiques — Détermination de l'effet d'un produit sur le pH d'un sol — Méthode par incubation du sol. AFNOR Standard NF EN 14984 :2016. AFNOR, Paris.
- Bollyn, J., Nijsen, M., Baken, S., Joye, I., Waegeneers, N., Cornelis, G. & Smolders, E. 2016. Polyphosphates and Fulvates Enhance Environmental Stability of PO₄-Bearing Colloidal Iron Oxyhydroxides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 8465–8473.
- Cordell, D., Drangert, J.O. & White, S. 2009. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, 19, 292–305.
- Criquet, S., Braud, A. & Nèble, S. 2007. Short-term effects of sewage sludge application on phosphatase activities and available P fractions in Mediterranean soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 921–929.
- Darch, T., Blackwell, M.S., Hawkins, J.M.B., Haygarth, P.M. & Chadwick, D. 2014. A Meta-Analysis of Organic and Inorganic Phosphorus in Organic Fertilizers, Soils, and Water: Implications for Water Quality. *Environmental Science and Technology*, 44, 2172–2202.
- Devau, N., Cadre, E. Le, Hinsinger, P., Jaillard, B. & Gérard, F. 2009. Soil pH controls the environmental availability of phosphorus: Experimental and mechanistic modelling approaches. *Applied Geochemistry*, 24, 2163–2174.
- Devau, N., Hinsinger, P., Le Cadre, E., Colomb, B. & Gérard, F. 2011. Fertilization and pH effects on processes and mechanisms controlling dissolved inorganic phosphorus in soils. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75, 2980–2996.
- Eghball, B. & Power, J.F. 1999. Phosphorus- and Nitrogen-Based Manure and Compost Applications: Corn Production and Soil Phosphorus. *Soil Science Society of American Journal*, 63, 895–901.
- Esco Mafor 2014. Valorisation des matières fertilisantes d'origine résiduaire sur les sols à usage agricole ou forestier. Chapitre III : effets agronomiques attendus de l'épandage des Mafor sur les écosystèmes agricoles et forestiers. 196p.

- Frossard, E., Sinaj, S., Zhang, L. M. & Morel, J.L. 1996. Fate of Sludge Phosphorus in Soil-Plant Systems. *Soil Science Society of America Journal*, 60, 1248–1253.
- Garg, S. & Bahl, G.S. 2008. Phosphorus availability to maize as influenced by organic manures and fertilizer P associated phosphatase activity in soils. *Bioresource Technology*, 99, 5773–7.
- Gérard, F. 2016. Clay minerals, iron/aluminum oxides, and their contribution to phosphate sorption in soils — A myth revisited. *Geoderma*, 262, 213–226.
- Guivarch, A. 2001. Valeur fertilisante à court terme du phosphore des boues de stations d'épuration urbaines. (Thèse) Institut National Polytechnique de Loraine, France (306 pp.).
- Haynes, R.J. & Mokolobate, M.S. 2001. Amelioration of Al toxicity and P deficiency in acid soils by additions of organic residues: A critical review of the phenomenon and the mechanisms involved. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 59, 47–63.
- Hinsinger, P., Brauman, A., Devau, N., Gérard, F., Jourdan, C., Laclau, J.-P., Le Cadre, E., Jaillard, B. & Plassard, C. 2011. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant and Soil*, 348, 29–61.
- Huang, X.-L., Chen, Y. & Shenker, M. 2011. Dynamics of phosphorus phytoavailability in soil amended with stabilized sewage sludge materials. *Geoderma*, 170, 144–153.
- Morel, C., Schaub, A., Valentin, N. & Houot, S. 2013. Dynamics of plant-available phosphorus for 11 years in a French loamy soil amended with biological sewage sludge amended or not with lime. Presented at 15. International Conference RAMIRAN - Recycling of organic residues for agriculture: from waste management to ecosystem services, Versailles, France
- Negassa, W. & Leinweber, P. 2009. How does the Hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172, 305–325.
- Oberson, A., Tagmann, H.U., Langmeier, M., Dubois, D., Mäder, P. & Frossard, E. 2010. Fresh and residual phosphorus uptake by ryegrass from soils with different fertilization histories. *Plant and Soil*, 334, 391–407.
- Oehl, F., Frossard, E., Fliessbach, A., Dubois, D. & Oberson, A. 2004. Basal organic phosphorus mineralization in soils under different farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 667–675.
- R. Core Team 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN3-900051-07-0. URL (<http://www.R-project.org/>).
- Rao, A.S., Reddy, K.S. & Takkar, P.N. 1997. Malachite green method compared to ascorbic acid for estimating small amounts of phosphorus in water, 0.01 M calcium chloride, and olsen soil extracts. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 28, 589–601.
- Regelink, I.C., Weng, L., Lair, G.J. & Comans, R.N.J. 2015. Adsorption of phosphate and organic matter on metal (hydr)oxides in arable and forest soil: a mechanistic modelling study. *European Journal of Soil Science*, 66, 867–875.
- Shafqat, M.N. & Pierzynski, G.M. 2013. The effect of various sources and dose of phosphorus on residual soil test phosphorus in different soils. *Catena*, 105, 21–28.
- Tarrason, D., Ojeda, G., Ortiz, O. & Alcaniz, J.M. 2008. Differences on nitrogen availability in a soil amended with fresh, composted and thermally-dried sewage sludge. *Bioresource Technology*, 99, 252- 259.
- Thuriès, L., Larré-Larrouy, M.-C. & Pansu, M. 2000. Evaluation of three incubation designs for mineralization kinetics of organic materials in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31, 289–304.
- Van Moorleggem, C., Six, L., Degryse, F., Smolders, E. & Merckx, R. 2011. Effect of Organic P Forms and P Present in Inorganic Colloids on the Determination of Dissolved P in Environmental Samples by the Diffusive Gradient in Thin Films Technique, Ion Chromatography, and Colorimetry. *Analytical Chemistry*, 83, 5317–5323.

Vanden Nest, T., Ruysschaert, G., Vandecasteele, B., Houot, S., Baken, S., Smolders, E., Cougnon, M., Reheul, D. & Merckx, R. 2016. The long-term use of farmyard manure and compost: Effects on P availability, orthophosphate sorption strength and P leaching. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 216, 23–33.

V. Conclusion générale

1. Synthèse des résultats et perspectives scientifiques

L'objectif principal de la thèse était d'étudier et de distinguer les effets de trois facteurs sur la capacité de sorption, la disponibilité et la phytodisponibilité du P dans le sol : i) le type de sol, ii) la dose de P accumulée dans le sol par la fertilisation passée, iii) le type de fertilisant apporté. Les effets liés au type de fertilisant ont principalement été appréhendés à travers les modifications des propriétés physico-chimiques du sol induites.

Quatre études ont été menées au cours de la thèse, permettant chacune de coupler deux facteurs (type de sol, dose de P accumulé ou type de fertilisant) à deux phénomènes (capacité de sorption, disponibilité ou phytodisponibilité) (Tableau 1). Les effets observés au sein de chaque étude ont été synthétisés et hiérarchisés (Tableau 2), puis comparés entre les études, de manière à déterminer les facteurs ayant des effets majeurs sur la capacité de sorption, la disponibilité et la phytodisponibilité du P dans les sols étudiés. Les effets observés pour l'ensemble des études sont synthétisés dans le Tableau 3.

Tableau 1 Description des quatre études de la thèse.

Etude, Chapitre	Facteurs étudiés	Matériel utilisé	Phénomènes étudié	Indicateurs utilisés
Etude 1, Chapitre II	Dose de P accumulé Type de sol	Cinq essais en champ après 1 à 12 ans	Capacité de sorption Disponibilité	K_d^a Pi-eau ^b , Pi-DGT ^c , Pi- Olsen ^d , Pi-Olsen-Dabin ^e
Etude 2, Chapitre III.1	Dose de P accumulé Type de fertilisant	Deux essais en champ après 6 et 10 ans	Capacité de sorption Disponibilité	Courbe de sorption Pi-eau, Pi-Olsen
Etude 3, Chapitre III.2	Dose de P accumulé Type de fertilisant	Croissance de plantes en conditions contrôlées sur sols d'un essai en champ après 12 ans	Disponibilité Phytodisponibilité	E_{AEM}^f Prélèvement après 19 j
Etude 4, Chapitre IV	Type de sol Type de fertilisant	Croissance de plantes sur mélanges sols et fertilisants incubés en conditions contrôlées	Disponibilité Phytodisponibilité	Pi-eau Prélèvement après 10 j

^a Coefficient de répartition solution-solide du P inorganique (Pi) dans le sol

^b Concentration de Pi extrait à l'eau, après 24 h avec un ratio solid:liquid 1:10

^c Concentration de Pi déterminée par la technique de DGT (Diffusive Gradients in Thin films) après 24 h d'exposition

^d Concentration de Pi extrait avec la méthode Olsen

^e Concentration de Pi extrait avec la méthode Olsen-Dabin

^f Pi extrait par dilution isotopique associée à des membranes échangeuses d'ions, après 5 jours d'échange

Tableau 2 Synthèse des effets observés pour chaque étude.

Etude, chapitre	Facteurs	Capacité de sorption	Disponibilité	Phytodisponibilité
Etude 1, Chapitre II	Type de sol	***	***	
	Dose de P accumulé	*	***	
	Sol x dose	*	***	
	Δ pH induites par la fertilisation	***	*	
Etude 2, Chapitre III.1	Type de fertilisant	***	***	
	Dose de P accumulé	***	***	
	Fertilisant x dose	?	-	
	Δ pH induites par la fertilisation	***	***	
	Δ C org induites par la fertilisation	*	?	
Etude 3, Chapitre III.2	Type de fertilisant		*	*
	Dose de P accumulé		***	***
	Fertilisant x dose		-	-
	Δ pH induites par la fertilisation		*	*
	Δ C org induites par la fertilisation		-	-
Etude 4, Chapitre IV	Type de sol		***	***
	Type de fertilisant		***	*
	Sol x fertilisant		***	*
	Δ pH induites par la fertilisation		*	-
	Δ C org induites par la fertilisation		*	-

*** Effet fort

* Effet faible

- Pas d'effet

? Effet incertain

Tableau 3 Hiérarchisation de chaque facteur sur les trois phénomènes

Importance des facteurs	Capacité de sorption	Disponibilité	Phytodisponibilité
1	Type de fertilisant via Δ pH induites	Type de sol	Type de sol
2	Type de sol	Dose de P accumulé	Dose de P accumulé
3	Dose de P accumulé	Type de fertilisant via Δ pH induites	Type de fertilisant

1.1. La teneur en phosphore organique est due au type de sol et peu au type de fertilisant appliqué

La répartition entre le phosphore inorganique (Pi) et le phosphore organique (Po) varie fortement en fonction du type de sol, surtout dans le pool de P directement disponible pour la plante. La proportion de Po déterminé par DGT (Diffusive Gradients in Thin films technique) variait de 23% dans un andosol à 99% dans l'arenosol (valeurs médianes) (Figure 6 du Chapitre II) ; la proportion de Po dans les extraits à l'eau était de 28% dans un andosol contre 72% dans un nitisol (valeurs médianes) ayant reçu des fertilisations identiques (Figures 5c et 6c du chapitre IV).

La fertilisation organique à long-terme augmente principalement le Pi dans le sol, que ce soit dans le pool de P directement disponible pour la plante (P extrait à l'eau ou déterminé par DGT), moyennement disponible (P extrait avec la méthode Olsen), peu disponible (P extrait avec la méthode Olsen-Dabin), ou dans l'ensemble du P du sol (Figure 7 du Chapitre II). Après 12 ans de fertilisation sur un andosol, la proportion de Pi total est par exemple passé de 53% dans le sol témoin, à 66% dans un sol fertilisé avec du compost de fumier de bovins (Figure 2 du Chapitre III.2). A long-terme, le Po du sol augmente peu comparé au Pi quel que soit le type de fertilisant appliqué.

Nos résultats suggèrent que dans les différents types de sol étudiés, la majorité du Po apporté avec les fertilisants organiques est minéralisé. Afin de vérifier cette hypothèse, il faudrait déterminer la répartition entre le Pi et le Po dans les résidus organiques. La minéralisation du P organique apporté ne semble donc pas être le facteur limitant la disponibilité du P dans les sols fortement fertilisés à long-terme. Ces résultats sont cohérents avec la littérature, montrant que la teneur et les formes de Po sont majoritairement déterminées par le turnover du P lié au type de sol, plutôt qu'à la forme de P ajouté

(Huang et al., 2017 ; Negassa and Leinweber, 2009). Néanmoins, l'importance de la minéralisation du Po du sol pourrait limiter le Pi disponible dans les sols très peu fertilisés (Oehl et al., 2004). Ainsi dans les types de sol riches en Po (par exemple les andosols) et peu fertilisés, il paraît intéressant de chercher à augmenter l'utilisation du Po par les plantes (Menezes-Blackburn et al., 2017). Il serait intéressant de déterminer quelles espèces, variétés ou associations de cultures pourraient permettre d'augmenter l'utilisation du Po dans un andosol, à travers des exsudations racinaires permettant notamment la désorption du Po et sa minéralisation (Darch et al., 2017 ; Faucon et al., 2015).

1.2. La disponibilité est limitée par les capacités de sorption du sol vis-à-vis du phosphore inorganique

Le Pi extrait à l'eau et déterminé par DGT diminuent quand la capacité de sorption en Pi du sol augmente. Le Pi extrait à l'eau (r^2 ajusté = 0,44) et le Pi déterminé par DGT (r^2 ajusté = 0,31) diminuent avec le K_d (coefficient de répartition solide-solution du Pi) pour l'ensemble des quatre types de sols étudiés (Figure 4 du Chapitre II). Les coefficients q (quantité de Pi qui pourrait être désorbé quand la concentration en solution tend vers zéro) et BI (indicateur de la capacité tampon du sol) de la courbe de sorption expliquent 84% des variations du Pi extrait à l'eau dans l'andosol (Chapitre III.1).

La capacité de sorption en Pi n'explique cependant pas complètement la disponibilité en Pi du sol. Dans l'andosol, une forte partie du P est présente sous forme de Po. Sa minéralisation ne semble pas être limitante pour réapprovisionner la solution. On peut supposer que sa sorption pourrait l'être. Il peut exister une compétition entre le Pi et le Po pour les mêmes sites de sorption et la présence de Po peut ainsi réduire la sorption du Pi (Berg and Joern, 2006). La disponibilité en Pi du sol serait ainsi peut-être mieux expliquée par la capacité de sorption en Po et en Pi. Il serait ainsi intéressant de déterminer les molécules de Po présentes dans l'extrait à l'eau de l'andosol, et d'évaluer la capacité de sorption de l'andosol vis-à-vis de ces molécules de Po.

1.3. La fertilisation à long-terme modifie le pH en rapport avec l'accumulation et la réactivité de la matière organique des sols

La fertilisation à long-terme modifie le pH dans l'ensemble des sols étudiés (Chapitres II, III.1 et III.2). La fertilisation organique a graduellement augmenté le pH après 6, 10 et 12 ans d'apports par rapport au témoin sans apport, la plus forte augmentation observée après 12 ans étant de 1,4 unités pH suite à l'apport de lisier de bovin. En revanche, l'apport de nitrate d'ammonium (NH_4NO_3) a diminué le pH de 1,2 unités pH après 12 ans d'apports (Figure 1a et Table S1 du Chapitre III.1 ; Figure 1 du Chapitre III.2).

L'augmentation de pH avec l'apport de résidus organique est due à l'apport de carbone organique dans le sol. Le pH augmente avec l'accumulation de carbone organique dans l'andosol (r^2 ajusté = 0,96) et dans le nitisol (r^2 ajusté = 0,90) au cours d'apports répétés en conditions contrôlées (Figure 4 du Chapitre IV). Nos résultats laissent supposer que ce n'est pas la minéralisation de la matière organique

qui augmente directement le pH en consommant des protons, mais que la matière organique apportée et restant dans le sol présente des groupements réactifs pouvant complexer les protons et ainsi augmenter le pH. L'augmentation de pH serait donc liée au pouvoir tampon de la matière organique apportée et restant dans le sol après minéralisation. Nos résultats suggèrent également que le pouvoir tampon du sol peut limiter l'effet de la matière organique sur le pH. Pour vérifier ces hypothèses, il serait alors intéressant de caractériser la matière organique présente dans les résidus organiques et de déterminer son pouvoir tampon. Néanmoins, une fois apportée au sol, cette matière organique est en partie minéralisée. Il serait donc plus intéressant de déterminer l'évolution du pouvoir tampon des sols suite à l'apport de matière organique.

1.4. Le pH a un effet opposé sur la disponibilité et la phytodisponibilité du phosphore

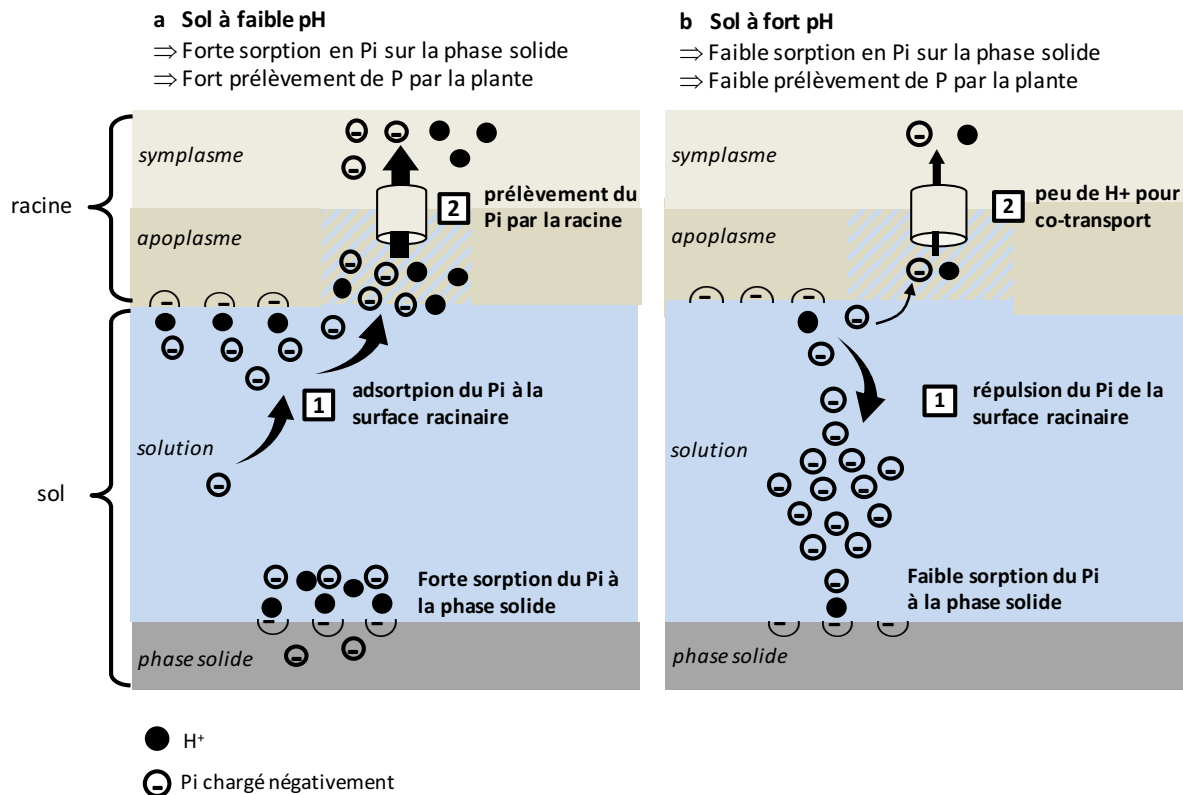
A une teneur donnée en P résiduel, la disponibilité du Pi augmente lorsque le pH du sol augmente. Le Pi extrait à l'eau (r^2 ajusté = 0,78) et le Pi extrait avec la méthode Olsen (r^2 ajusté = 0,54) augmentent avec le pH sur l'andosol (Figure 3a et b du Chapitre III.1). L'effet positif du pH sur la disponibilité peut être expliqué par la diminution de la capacité de sorption en Pi avec l'augmentation de pH. Dans l'ensemble des quatre types de sols étudiés, le K_d diminue avec l'augmentation de pH (r^2 ajusté = 0,73) (Figure 2b du Chapitre II). Dans l'andosol, le pH diminue le coefficient q de la courbe de sorption (Figures 5b et 6b Chapitre III.1). L'augmentation de pH peut diminuer l'affinité de certains minéraux du sol pour le Pi, comme les (hydr)oxydes de Fe et/ou d'Al, ou les minéraux argileux, en augmentant le nombre de charges négatives à leur surface (Gérard 2016). Le pH a donc un effet négatif sur les capacités de sorption en Pi, et donc un effet positif sur la disponibilité du Pi (Figure 1).

A une teneur donnée en P résiduel, la phytodisponibilité du P diminue lorsque le pH du sol augmente. Le prélèvement de P par la plante diminue avec l'augmentation de pH dans un andosol (r^2 ajusté = 0,39) (Figure 5b du Chapitre III.2). L'effet négatif de l'augmentation du pH sur le P phytodisponible a déjà été reporté dans la littérature (Barrow, 2017), mais les mécanismes à l'origine de cet effet ont été peu étudiés. Deux mécanismes pourraient entrer en jeu (Figure 1), d'une part une plus forte répulsion du Pi en solution à la surface des cellules racinaires, dont les charges négatives peuvent augmenter avec le pH. D'autre part, une diminution du transport de P à l'intérieur des cellules racinaires dû à une faible concentration de H^+ limitant le co-transport (Sentenac and Grignon, 1985).

D'un côté, l'augmentation de pH augmente la teneur en Pi disponible et donc la quantité de P que la plante peut prélever. D'un autre côté l'augmentation de pH semble diminuer la capacité de la racine à prélever le P. Notre étude ne nous permet néanmoins pas de conclure sur l'effet final du pH sur le prélèvement de P. Dans notre étude, la quantité de P disponible augmentait en effet avec le pH mais également avec la teneur en P résiduel, il était donc impossible de déterminer l'augmentation de P disponible proprement due à l'augmentation de pH. Il semble essentiel de déterminer la variation nette du P prélevé due à l'augmentation de pH, afin de savoir s'il est pertinent de chercher à augmenter le pH des sols pour augmenter le prélèvement de P. Pour déterminer l'effet final du pH sur le prélèvement de P, on pourrait modifier le pH d'un sol au laboratoire afin d'obtenir une gamme de pH pour une teneur de

P résiduel donnée, déterminer la quantité de Pi disponible en fonction du pH, puis réaliser une expérimentation de croissance de plantes en pot pour déterminer la quantité de P prélevé en fonction du pH.

Figure 1 Effet du pH du sol sur la sorption du phosphore inorganique (Pi) à la phase solide du sol et sur le prélèvement de phosphore par la plante.



1.5. La disponibilité du phosphore dans les sols fertilisés à long-terme est principalement déterminée par la dose de phosphore apportée et les modifications de pH induites

Dans l'ensemble des types de sols étudiés fertilisés sur le long-terme, le Pi disponible de tous les pools (Pi-eau, Pi-DGT, Pi-Olsen et Pi-Olsen-Dabin) augmente avec la teneur en P résiduel du sol, quelle que soit la source de P apportée (Figure 5 du Chapitre II). Nos résultats suggèrent que la dose de P apportée est le principal facteur faisant varier la disponibilité du P dans les sols, la nature du fertilisant étant de moindre importance. Néanmoins, pour chaque type de sol pris séparément, la dose de P n'explique qu'en partie les variations du Pi directement disponible.

Nos résultats montrent que les modifications de pH induites par la fertilisation modifient le P_i fortement disponible dans l'andosol. Le P total et le pH du sol expliquent en effet 85% des variations du P_i -eau (Tableau 3 du Chapitre III.1) et 94% des variations de E_{AEM} (déterminée après 24 h de dilution isotopique en présence de membranes échangeuses d'ions) (Tableau 2 du Chapitre III.2). Mise à part les différences liées à la dose de P apportée, nos travaux suggèrent que dans l'andosol les différences de disponibilité liées au type de fertilisant appliqué sont principalement due à leur effet sur le pH du sol. Néanmoins nos études sont basées sur des expérimentations en champ dans lesquelles les fertilisants ne sont pas apportés à dose égale de P. L'augmentation de pH induite par l'apport de fertilisant est parfois corrélée à la dose de P apportée. On ne peut donc pas à partir de ces expérimentations, observer uniquement l'effet des modifications de pH sur la disponibilité du P.

Afin d'étudier l'effet du pH indépendamment de la dose de P apportée à long-terme, il faudrait mettre en place une expérimentation en champ, comparant des résidus organiques et un fertilisant minéral apporté à dose équivalente de P. Les résidus organiques choisis auraient des effets attendus différents sur le pH du sol. On pourrait également choisir une fertilisation minérale diminuant le pH des sols, comme le nitrate d'ammonium. A partir d'une telle expérimentation, il serait alors possible de déterminer si, à dose égale de P apportée, les modifications de pH induites par la fertilisation modifient la disponibilité du P_i . Cette expérimentation pourrait être mise en place sur différents types de sols, afin de vérifier si l'importance des modifications de pH sur la disponibilité du P dans d'autres types sols.

2. Perspectives opérationnelles

La synthèse des résultats scientifiques permet d'apporter des éléments de réponses aux objectifs opérationnels de la thèse. Le premier objectif opérationnel était d'évaluer la méthode utilisée à La Réunion pour les conseils de fertilisation en P. Les conseils sont actuellement basés sur l'outil SERDAF (Système expert réunionnais d'aide à la fertilisation), présentant plusieurs limites, la principale étant liée à l'utilisation de la méthode Olsen-Dabin (Dabin, 1967) comme indicateur du P disponible du sol. Le second objectif opérationnel était de déterminer les éléments permettant de caractériser l'efficacité des résidus organiques en tant que fertilisant P sur les sols réunionnais. L'efficacité des résidus organiques est actuellement exprimée à travers des coefficient équivalent engrais, basés sur des valeurs métropolitaines (Chabalière et al., 2006). Le troisième objectif opérationnel était de déterminer l'efficacité d'un apport massif de fertilisant à la replantation pour fournir du P à la canne sucre pendant plusieurs années.

2.1. Indicateur du phosphore disponible dans le sol pour raisonner la dose à apporter

2.1.1. Comment choisir un indicateur du phosphore disponible dans les sols à La Réunion ?

Disponibilité du phosphore

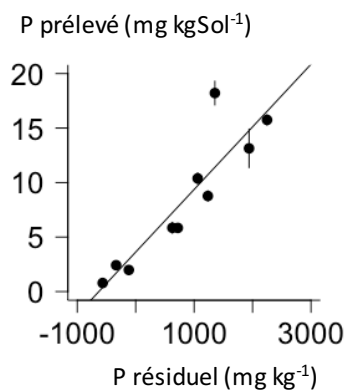
La plante prélève uniquement les ions phosphates contenus dans la solution du sol grâce à ses racines. La quantité d'ions phosphates contenue dans la solution est très faible comparée à la quantité totale de phosphore présent dans le sol (environ 0,1 %), néanmoins au fur et à mesure du prélèvement, la solution peut être réapprovisionnée (Figure 1 du Chapitre I). Dans les sols agricoles avec un fort historique de fertilisation, la solution est majoritairement réapprovisionnée par le P fixé à la phase solide du sol (Ziadi et al., 2013). Pour déterminer la quantité de P pouvant être prélevé par la plante, il faut donc déterminer la quantité d'ions phosphates présents dans la solution du sol, et la quantité de P fixé à la phase solide susceptibles de réapprovisionner la solution. Ceci correspond au P disponible du sol (Figure 5 du Chapitre I).

L'indicateur doit intégrer le P accumulé lors des précédentes fertilisations

La dose de fertilisant à apporter est généralement basée en premier lieu sur les besoins en azote de la culture. La quantité résultante de P apporté est alors généralement importante, et supérieure à la quantité de P prélevé par la culture. Il en résulte un excès de P qui s'accumule dans le sol avec les apports répétés de fertilisants, qu'on appelle P résiduel.

La disponibilité du P augmente avec le P résiduel. Une étude menée sur cinq essais de terrain à La Réunion fertilisés pendant un à douze ans montre en effet que le P disponible du sol mesuré avec différents indicateurs (P extrait à l'eau, avec la technique de Diffusive Gradients in Thin films – DGT –, avec la méthode Olsen, ou avec la méthode Olsen-Dabin) augmente avec le P résiduel (Figure 5 du Chapitre II). Une expérimentation de croissance de plantes (millet perlé, *Pennisetum glaucum*) en pots sur un andosol montre également que la quantité de P prélevé augmentent avec le P résiduel (Figure 1). L'indicateur de P disponible doit donc intégrer la quantité de P accumulé dans le sol avec les précédentes fertilisations. Néanmoins, l'augmentation du P directement disponible avec la quantité de P accumulé diffère selon le type de sol.

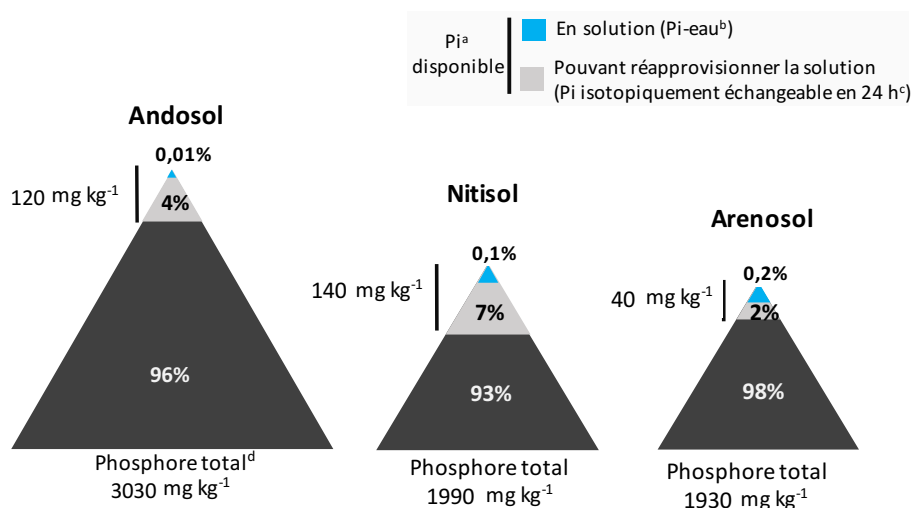
Figure 1 Augmentation du phosphore prélevé par la plante avec la quantité de P résiduel (P accumulé avec les fertilisations passées) dans le sol ; millet perlé (*Pennisetum glaucum*) après 19 jours de croissance en pots en conditions contrôlées, sur un andosol ayant reçu 12 ans de fertilisation en champ (se référer au chapitre III.2). La barre d'erreur représente l'erreur standard ($n = 4$). La droite représente la régression linéaire ; *** p-value < 10^{-3} .



L'indicateur doit intégrer la capacité de fixation en phosphore des sols

La disponibilité du P varie en fonction de la capacité de fixation en Pi du sol. Les types de sols de La Réunion ont des capacités de fixation (ou sorption) du Pi très contrastées, qui diminuent avec leur évolution (Figure 1 du Chapitre II). Ainsi, les andosols qui sont les moins évolués, ont une forte capacité de fixation, comparé au nitisol ou encore à l'arenosol. Pour une quantité similaire de P résiduel, la part de Pi en solution est donc bien plus faible dans un andosol que dans un nitisol ou un arenosol (Figure 2). En conséquence, la quantité de P prélevé par la plante change en fonction du type de sol. Des croissances de plantes (millet perlé) en pots en conditions contrôlées montrent en effet un prélèvement de P supérieur dans un nitisol que dans un andosol ayant reçu les mêmes apports de fertilisants (Figure 3). L'indicateur de P disponible doit donc prendre en compte la capacité de fixation en Pi des sols.

Figure 2 Disponibilité du phosphore dans trois types de sols de La Réunion, n'ayant pas été fertilisé.



^a P inorganique

^b Pi extrait à l'eau ultra-pure pendant 24 h avec un ratio 1:10 (se référer au chapitre 2).

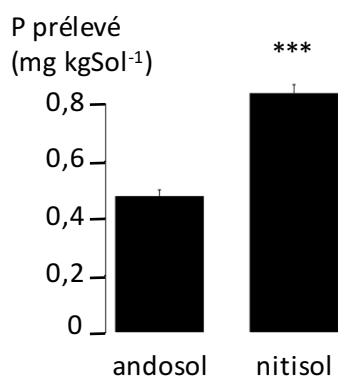
^c Ajout de ³²Pi dans le système sol-solution (ratio 1:10) à l'équilibre, puis mesure du ³²Pi restant en solution après 24 h et calcul du Pi échangé (se référer au chapitre 2)..

^d Déterminé selon la norme ISO 14869-1.

L'indicateur doit être corrélé au phosphore réellement prélevé par la plante

Le Pi extrait à l'eau (Pi-eau) est corrélé au P prélevé par la plante à court-terme (r^2 ajusté = 0,55) (Figure 9 du chapitre IV). A court-terme, on peut supposer que la plante prélève majoritairement le Pi fortement disponible, et dépend relativement peu du réapprovisionnement par les pools de P fixé à la phase solide. En revanche lors d'un prélèvement à plus long-terme au champ, le réapprovisionnement par le Pi fixé à la phase solide influence probablement de manière plus importante le prélèvement de P. L'indicateur devrait ainsi également prendre en compte la taille et la cinétique des pools de Pi disponible fixé à la phase solide. Une étude de Denoroy et al. (2012) montre une corrélation plus ou moins bonne entre le P extrait à l'eau et le rendement d'une culture en champ, selon la culture étudiée. Cette relation semble également varier en fonction du site étudié. L'étude suggère alors d'utiliser la valeur E comme indicateur de P disponible, qui est déterminée à partir de la quantité de Pi isotopiquement échangeable en 12 ou 24 h. Cependant, la méthode permettant de déterminer la valeur E nécessite l'utilisation d'isotope radioactif du P, ce qui rend difficile son utilisation en routine. Les auteurs de cette étude proposent ainsi comme perspectives de déterminer une relation permettant de calculer la valeur E à partir de la mesure du Pi-eau et de certaines propriétés classiques du sol. Dans un premier temps, la mesure du Pi-eau pourrait donc constituer un indicateur du Pi disponible.

Figure 3 Effet du type de sol sur le phosphore prélevé par du millet perlé (*Pennisetum glaucum*), après 10 jours de croissance en pots. L'andosol et le nitisol n'avait pas reçu de fertilisant. *** p-value < 10⁻³.



2.1.2. Est-il pertinent de changer d'indicateur de phosphore disponible à La Réunion ?

L'indicateur utilisé à La Réunion intègre le P accumulé dans les sols avec les précédentes fertilisations. La quantité de phosphore inorganique extrait par la méthode Olsen-Dabin (Pi-Olsen-Dabin) utilisée est en effet fortement et linéairement corrélée à la quantité de P résiduel dans les différents types de sols de La Réunion (Figure 5d du Chapitre II). Cette méthode intègre donc bien la dose de P accumulé par la fertilisation passée.

L'indicateur utilisé à La Réunion n'intègre pas la capacité de fixation des sols. Le Pi-Olsen-Dabin augmente en effet avec le P résiduel de manière linéaire pour tous les types de sols (Figure 5d du Chapitre II). Pour pallier à ce manque, l'outil SERDAF corrige la valeur de Pi-Olsen-Dabin par le type de sol. Néanmoins, la typologie des sols et les pouvoirs fixateurs qui leur sont attribués sont fortement incertains. Il serait donc préférable d'utiliser un indicateur intégrant directement la capacité de fixation en P des sols.

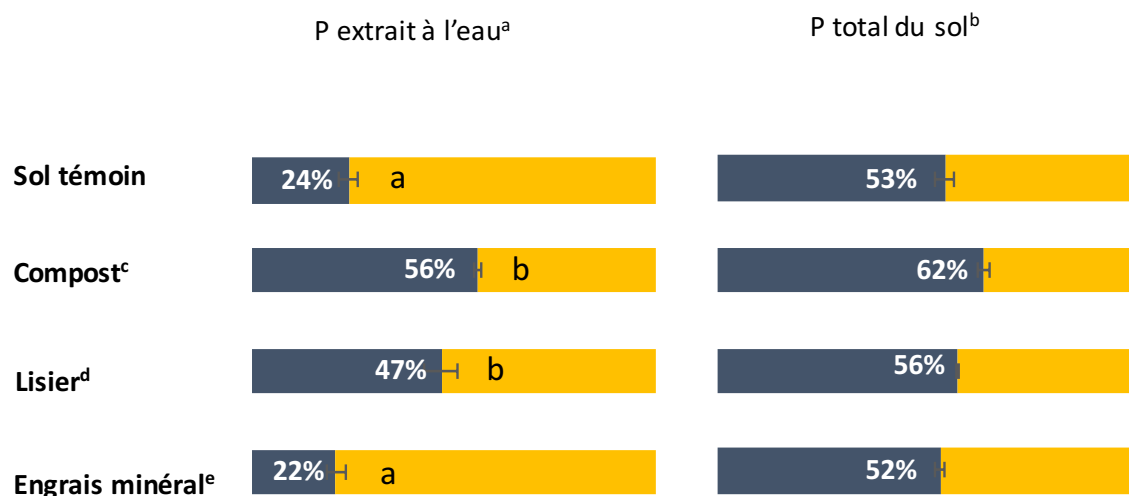
La Pi extrait à l'eau intègre à la fois la quantité de P résiduel et la capacité de fixation en P des sols (Figure 5a du Chapitre II). De plus, le Pi-Olsen-Dabin semble peu correspondre au P prélevé par les plantes (Morel and Fardeau, 1987), en revanche le travail de thèse a montré que le Pi-eau est corrélé au P prélevé par les plantes à court-terme dans deux types de sols réunionnais. Le Pi-eau est donc un meilleur indicateur que le Pi-Olsen-Dabin seul pour estimer le P disponible des sols. Néanmoins, deux raisons peuvent nuire à son utilisation. La première est que les quantités de Pi-eau sont parfois très faibles dans les andosols et donc difficilement quantifiables dans ces sols qui couvrent pourtant une large part des surfaces cultivées dans le Sud, l'Est et les hauts de l'Ouest et du Nord de La Réunion. La deuxième est qu'il n'existe pour le moment pas de références avec cet indicateur à La Réunion. Les mesures de Pi-eau sont limitées aux études réalisées au cours de cette thèse, et correspondent donc seulement à six sites. Un futur de travail de thèse en association avec eRcane prévoit d'étendre les mesures de Pi-eau sur tout le territoire.

2.2. Caractérisation des résidus organiques pour déterminer leur effet sur la (phyto)disponibilité du phosphore

2.2.1. La spéciation du phosphore dans le résidu organique détermine-t-elle son effet sur le phosphore disponible ?

Une étude basée sur un andosol après 12 ans de fertilisation montre que l'apport de résidus organiques (lisier et compost de fumier de bovins) et d'engrais minéraux augmente principalement la quantité de P inorganique et a peu d'effet sur la quantité de P organique, que ce soit dans le pool directement assimilable par les racines (Pi-eau) ou dans l'ensemble du P du sol (Figure 4). Ces résultats (Chapitres II et III.1), en accord avec la littérature (Negassa and Leinweber, 2009) suggèrent que la spéciation du P dans les résidus organiques ne déterminent pas leur efficacité.

Figure 4 Répartition du P entre les formes inorganiques et organiques dans un andosol après 12 ans sans apport (témoin), d'apports de résidus organiques, ou de fertilisant minéral (se référer au chapitre III). La barre d'erreur représente l'erreur standard ; les lettres indiquent des différences significatives à 0,05.



^a Dans l'extrait à l'eau, le P inorganique (Pi) a été déterminée par colorimétrie (Rao et al., 1997), le P total par ICP-MS; le P organique correspond à la différence entre le P total et le Pi dans l'extrait (Van Moorglehem et al.,).

^b Le P inorganique total du sol a été déterminé par extraction à l'acide sulfurique 0.5 M ; le P total du sol par oxydation du P organique puis extraction à l'acide sulfurique 0.5 M; P organique total du sol correspond à la différence entre le P total et le P inorganique total du sol (Saunders and Williams, 1995).

^c Compost de fumier de bovin.

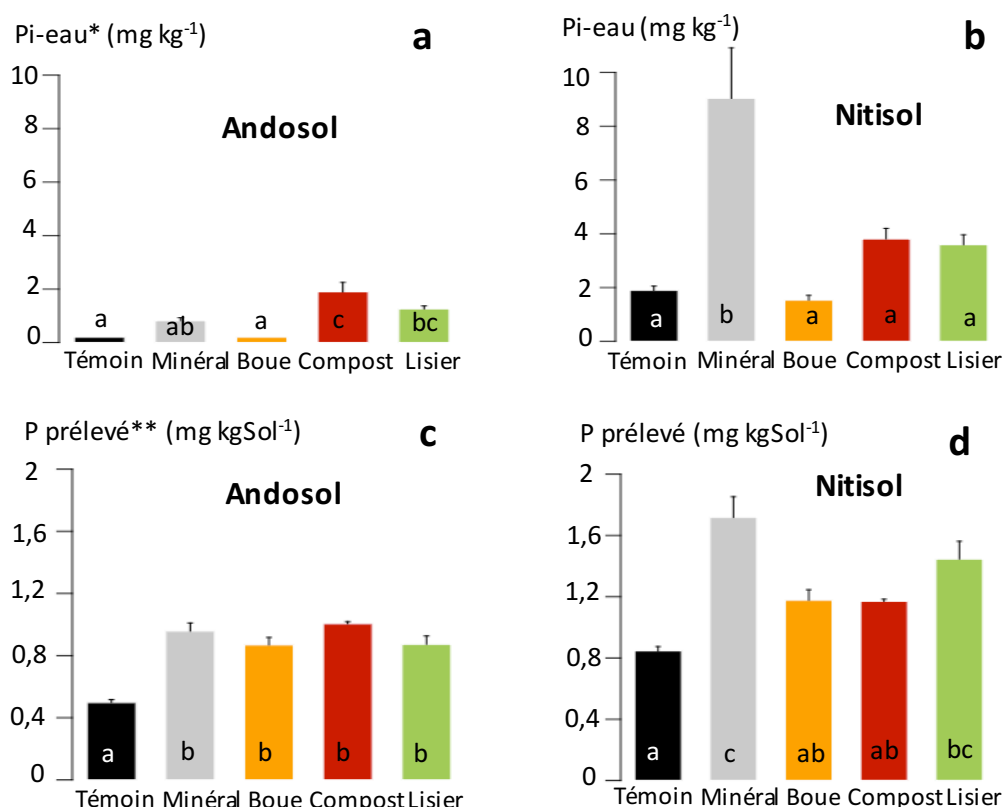
^d Lisier de bovin

^e Phosphate naturel (soluble à 75% dans l'acide formique à 2 %).

2.2.2. La solubilité du P dans les résidus organique détermine-elle son effet sur le phosphore disponible et phytodisponible ?

La solubilité du P contenu dans le fertilisant organique peut être déterminée en mesurant la concentration de Pi dans un extrait à l'eau. La solubilité du P dans la boue du Grand Prado est ainsi beaucoup plus faible que celle d'effluents d'élevage (Tableau 2 du chapitre IV).

Figure 5 Phosphore disponible et phosphore prélevé par la plante dans un andosol et dans un nitisol de La Réunion n'ayant reçu aucun apport (témoin), ou après cinq apports répétés de fertilisant minéral (solution KH_2PO_4) ou de résidus organiques apportés à dose équivalente de phosphore. Les lettres indiquent des différences significatives entre les modalités de fertilisations à 0,05.



* P inorganique extrait à l'eau ultra-pure avec un ratio 1:10, pendant 24 h

** P prélevé par du millet perlé (*Pennisetum glaucum*) après 10 jours de croissance en pots

Des incubations de sol et résidus organiques en conditions contrôlées ont été menées afin de déterminer l'effet de la solubilité du P sur la disponibilité du P dans les sols (Chapitre IV). Des apports répétés de résidus organiques (boue, lisier et compost de fumier de bovins) et de fertilisant minéral ont été réalisés pendant cinq mois, sur un andosol et sur un nitisol. La disponibilité du P dans les deux sols

était inférieure avec la boue et semble en partie liée à la solubilité du P dans le résidu (Figure 5a et b). Néanmoins, la différence de disponibilité du P dans les sols est faible (Pi-eau dans le nitisol 3 fois plus fort avec le compost qu'avec la boue après cinq apports répétés) comparé à la différence de solubilité dans les résidus organiques (Pi-eau 200 fois plus fort dans le compost que dans la boue). La solubilité semble donc avoir une faible influence sur la disponibilité du P.

Des cultures de plantes (millet perlé) à court terme (10 jours) ont été réalisées sur les sols issus des incubations afin de déterminer l'effet de la solubilité du P dans les résidus organique sur la quantité de P prélevée par la plante (Chapitre IV). La quantité de P prélevé par la plante ne varie pas en fonction de la solubilité en P des résidus organiques. La quantité de P prélevé par la plante sur le sol fertilisé avec la boue est ainsi équivalente à celle prélevée sur le sol fertilisé avec du compost (Figure 5c et d). La solubilité du P dans les résidus organiques ne semble donc pas influencer le prélèvement de P par la plante à court-terme.

2.2.3. Les modifications des propriétés du sol induites par les résidus organiques déterminent-elles leur efficacité ?

La capacité de fixation (ou sorption) du Pi du sol diminue lorsque le pH du sol augmente, et ce dans tous les types de sols réunionnais étudiés (Figure 2b du Chapitre II). Pour une teneur équivalente en P résiduel, cette diminution de fixation du Pi induit une augmentation du Pi directement disponible (Pi-eau) (Figure 4a du Chapitre II) et moyennement disponible (E_{AEM}) (Table 3 du chapitre III.2). Ces résultats, en accord avec la littérature (Faucon et al., 2015), rappellent que les modifications du pH du sol ont un rôle majeur sur la disponibilité du Pi dans les sols agricoles.

La fertilisation organique augmente le pH des sols. Une étude basée sur un essai de terrain après 12 ans de fertilisation montre que l'apport de lisier ou de compost de fumier de bovin augmente le pH de l'andosol (Figure 1a du chapitre III.1), ce qui augmente le Pi directement disponible pour les plantes (Pi-eau) (Figure 3a du chapitre III.1). L'augmentation du pH du sol induite par les résidus organiques semble donc augmenter la disponibilité du P sur l'andosol. Il faudrait confirmer ces résultats sur les autres types de sol.

L'effet du lisier et du compost de bovins sur le pH observé à long-terme en champ sur l'andosol a également été observé lors d'incubations en conditions contrôlées pendant cinq mois. Les incubations semblent donc permettre de refléter l'effet des résidus organiques sur le pH des sols à long-terme en champ. Il existe une norme basée sur des incubations en conditions contrôlées ayant pour but de déterminer l'effet des résidus organiques sur le pH des sols (NF EN 14984). Cette norme pourrait être utilisée pour déterminer l'effet des principaux types de résidus organiques produits à La Réunion sur le pH des sols. Nos résultats suggèrent également que l'intensité de l'effet du type de résidu sur le pH change selon le type de sol (Figure 9 du chapitre IV), il faudrait donc vérifier l'effet sur plusieurs types de sol de l'île. Les résultats pourraient ensuite être comparés à des essais de terrains testant les mêmes types de fertilisants.

2.3. Efficacité d'un apport massif de fertilisant à la replantation pour fournir du P à la canne sucre pendant plusieurs années

Pour fertiliser les sols canniers, la modalité d'épandage la plus pratique à réaliser consiste à réaliser un apport massif de fertilisant en enfouissant au moment de la replantation (environ tous les sept ans). L'effet sur la disponibilité du P d'une telle modalité d'épandage nécessite de déterminer si la fixation du P dans le sol au cours des années peut nuire à sa disponibilité.

La disponibilité du P dans le sol après plusieurs années suivant un apport massif de résidu organique n'a pas directement été étudié au cours de la thèse, car aucun essai de terrain assez ancien ne le permettait. Néanmoins, les résultats basés sur les essais prairies montrent que le P disponible du sol (Chapitres II et III.1) et le P prélevé par les plantes augmentent avec la quantité de P accumulé dans le sol (Figure 1 ; Chapitre III.2). Les résultats laissent donc supposer que le P apporté massivement en une fois peut être disponible pour les cultures. Cependant dans tous les essais étudiés, la fertilisation était effectuée chaque année.

Une autre modalité d'épandage peut être réalisée, elle consiste à apporter le fertilisant en surface à une faible dose chaque année après la coupe de la canne. L'effet sur le P disponible d'une telle modalité d'apport nécessite de réaliser d'autres études, afin de déterminer si le P apporté peut migrer en profondeur et atteindre le lieu de prélèvement par les racines. Il serait également pertinent de mener des recherches afin de terminer l'impact environnemental lié aux pertes de P vers les eaux induites par ces deux modalités d'épandage.

Références

- Association française de normalisation, 2016. Amendements minéraux basiques — Détermination de l'effet d'un produit sur le pH d'un sol — Méthode par incubation du sol. AFNOR Standard NF EN 14984 :2016. AFNOR, Paris.
- Barrow, N.J. 2017. The effects of pH on phosphate uptake from the soil. *Plant and Soil*, 410, 401–410.
- Berg, A.S. & Joern, B.C. 2006. Sorption dynamics of organic and inorganic phosphorus compounds in soil. *Journal of Environmental Quality*, 35, 1855–1862.
- Chabalier, P.F., van de Kerchove, V. & Saint Macary, H. 2006. Guide de la fertilisation organique à la Réunion. CIRAD, Chambre d'Agriculture de la Réunion, 302p.
- Dabin, B. 1967. Sur une méthode d'analyse du phosphore dans les sols tropicaux. In : colloque sur la fertilité des sols tropicaux. Tananarive, Madagascar. 19-25 novembre, p.99-115.
- Darch, T., Giles, C.D., Blackwell, M.S.A., George, T.S., Brown, L.K., Menezes-Blackburn, D., Shand, C.A., Stutter, M. I., Lumsdon, D.G., Mezeli, M.M., Wendler, R., Zhang, H., Wearing, C., Cooper, P. & Haygarth, P.M. 2017. Inter- and intra-species intercropping of barley cultivars and legume species, as affected by soil phosphorus availability. *Plant and Soil*, 1–14.
- Denoroy, P., Butler, F., Castillon, P., Champolivier, L., Duval, R., Fourrie, L., Hanocq, D., Kouassi, A.S., Metraillé, M., Morel, C., Rabourdin, N., Raynal, C., Savoie, T., Souplet, N. & Souplet, N. 2012. Vers un raisonnement innovant de la fertilisation phosphatée. *Innovations Agronomiques*, 25, 219–230.
- Faucon, M.-P., Houben, D., Reynoird, J.-P., Mercadal-Dulaurent, A.-M., Armand, R. & Lambers, H. 2015. Advances and Perspectives to Improve the Phosphorus Availability in Cropping Systems for Agroecological Phosphorus Management. *Advances in Agronomy*, 134, 51–79.
- Gérard, F. 2016. Clay minerals, iron/aluminum oxides, and their contribution to phosphate sorption in soils — A myth revisited. *Geoderma*, 262, 213–226.
- Huang, L.-M., Jia, X.-X., Zhang, G.-L. & Shao, M.-A. 2017. Soil organic phosphorus transformation during ecosystem development: A review. *Plant and Soil*, 417, 17–42.
- Negassa, W. & Leinweber, P. 2009. How does the hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172, 305–325.
- Menezes-Blackburn, D., Giles, C., Darch, T., George, T.S., Blackwell, M., Stutter, M., Shand, C., Lumsdon, D., Cooper, P., Wendler, R., Brown, L., Almeida, D.S., Wearing, C., Zhang, H. & Haygarth, P.M. 2017. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review. *Plant and Soil*, 1–12.
- Oehl, F., Frossard, E., Fliessbach, A., Dubois, D. & Oberson, A. 2004. Basal organic phosphorus mineralization in soils under different farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 667–675.
- Sentenac, H. & Grignon, C. 1985. Effect of pH on Orthophosphate Uptake by Corn Roots. *Plant Physiology*, 77, 136–41.

Chapitre Annexe

VI. Relative contribution of phosphorus from native soil and from residual phosphorus resulting from past organic or mineral fertilization on plant phosphorus uptake

C.N. Nobile^{1, 2}, M.N. Bravin¹, C. Vermeiren³, E. Smolders³

¹CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-97743 Saint-Denis, Réunion, France

²VEOLIA-eau, Saint-Denis, Réunion, France

³KU Leuven, Department of Earth and Environmental Sciences, Leuven, Belgium

Abstract

The aims of this study were i) to determine the relative contribution of residual P pool resulting from past organic or mineral fertilization and native soil P pool on plant P uptake, ii) to determine the relative importance of modification of soil pH due to long-term fertilization, compared to the increase of residual P, on the efficiency of a fresh fertilizer. We studied soils sampled on an andosol field experiment after 12 years of organic (dairy slurry or compost of dairy manure), chemical NPK with N applied as ammonium nitrate; or mixed of organic and ammonium nitrate fertilization. Soil available Pi before growth experiment was determined by isotopic exchange method associated with anion exchange membrane (E_{AEM}). To determine the source of plant P uptake, we realized a pot experiment with pearl millet (*Pennisetum glaucum*) using the isotopic dilution technique, with fresh phosphate fertilization or not. Phytoavailable P was assessed by the exchangeable Pi determined with Larsen method (L -value). Our results show that L -value increased linearly with soil residual P (r^2 adj = 0.87). L -values were correlated with E_{AEM} measured in soils before growth experiment ($r = 0.92$), but L -values were highest. Plant P uptake derived from native soil (P_{dfsoil}) was higher in soils fertilized at the field, than in the control soil. Plant P uptake derived from residual P (P_{dfres}) increased linearly with soil residual P, whatever if P was added with organic or mineral fertilizers. The percentage of plant P uptake derived from native soil ($\%P_{dfsoil}$) and derived from residual P ($\%P_{dfres}$) changed between fertilization modalities. Nevertheless, our results suggest that the indirect method cannot be used to determine the source of P uptake if soil physical-chemical properties have changed with long-term fertilization.

1. Introduction

Intensive long-term fertilization has led over years to an accumulation of soil phosphorus (P) in many developing countries of the world (Sattari et al. 2012). Phosphorus accumulated in soil, hereafter referred to as residual P, can represent a stock for crop nutrition. Utilization of soil residual P by the crops is an interesting way to reduce the use of mineral fertilizers, that have finite reserves. Nevertheless, this supposes that residual P is available for plants.

Residual P can result from past mineral or organic fertilization. Availability of residual P could change with the type of fertilizer applied. A review of Negassa and Leinweber (2009) showed that P determined in most of the Hedley fractions tends to increase with P accumulated in soil by fertilization, irrespective of whether mineral or organic fertilizers have been applied, which suggests that organic and mineral fertilizers are equivalent nutrient P sources. Nevertheless, P determined in different soil P fractions tends to poorly represents plant P uptake (Menezes-Blackburn et al., 2017). Plant P uptake can increase with soil residual P, but studies are too scarce to conclude if residual P resulting from organic fertilization is more or less available for plants than residual P resulting from mineral fertilization (Oberson et al., 2010; Vig et al., 1983).

Long-term organic fertilization can markedly change soil physical-chemical properties, and could thus enhance the availability for plant of P within soil P pool (Faucon et al., 2015). Increase of soil pH with long-term organic fertilization has especially been shown to notably increase soil P availability (Chapitre III.1). Plant P uptake derived from residual P pool can thus be lower in a soil with past organic fertilization than past mineral fertilization, but can be compensated by a higher P uptake derived from soil P pool (Morel and Fardeau, 1989^a). Nevertheless, contribution of soil P pool to plant P uptake could be limited in soil with high P sorption capacity and knowledges about this point are scarce.

Relative contributions of soil P pool and residual P pool on plant P uptake can be determined using isotopic dilution technique (Morel and Fardeau, 1989^a). This technique could thus be used to determine the contribution of soil P pool on plant P uptake in a soil with residual P resulting from past organic fertilization, or from past mineral fertilization.

Long-term past fertilization can also change the efficiency of a fresh fertilizer. The efficiency of a fresh fertilizer can decrease with increasing amount of residual P in soils (Morel and Fardeau, 1989^b). Residual P increases the content of available P; the increase of available P with a fresh fertilizer is thus reduced in a soil containing high residual P content (Gallet et al., 2003). Moreover, the efficiency of a fresh fertilizer can change with the modifications of soil physical-chemical properties induced by previous fertilization, especially soil pH (Barrow and Debnath, 2014). Modification of pH can alter soil P_i sorption capacity (Chapter III.1), and can thus change the efficiency of a fresh fertilizer (Chapter III.2). Nevertheless, few studies investigated the relative importance of modification of soil pH due to long-term fertilization, compared to the increase of residual P, on the efficiency of a fresh fertilizer.

The aims of this study were thus i) to determine the relative contribution of residual P pool resulting from past organic or mineral fertilization and native soil P pool on plant P uptake, ii) to determine the relative importance of modification of soil pH due to long-term fertilization, compared to the increase of residual P, on the efficiency of a fresh fertilizer. We realized a pot experiment with pearl millet (*Pennisetum glaucum*) using the isotopic dilution technique to determine the source of plant P uptake on soils that previously received for 12 years organic or mineral fertilizers, with fresh phosphate fertilization (Treatment +P) or not (Treatment \emptyset P).

2. Material & Methods

2.1. Principle of indirect isotope method to determine P uptake derived from residual P and P uptake derived from native soil P without fresh fertilization

The principle of the indirect method was described by Morel and Fardeau (1989^a):

1. Radioactive isotopes of Pi (here ^{33}Pi) are added to soil suspension at steady-state. The initial radioactivity introduced (R) is known, and the amount of ^{33}Pi added is small enough to maintain the initial Pi concentration in soil solution. Exchange between Pi in solution and Pi adsorbed on solid phase occurs, but Pi concentration in solution remains constant. Then ^{33}Pi added in solution is diluted by ^{31}Pi in solution and by exchangeable ^{31}Pi of the solid phase. This exchange induces a decrease of radioactivity in solution. Exchange is very fast just after the addition of ^{33}Pi , then the kinetic of exchange reduce with time (Fardeau et al. 1991). The specific activity ($SA = ^{33}\text{Pi}/\text{Pi}$) is considered to be the same in solution and in the pool of exchangeable Pi of the solid phase.

2. The seed is sown on the radio-labeled soil, plant grows and takes up Pi. The SA of Pi uptake is considered to be equal to the SA of Pi in solution and to the SA of exchangeable Pi of solid phase (Morel and Fardeau, 1994). After plant growth, the total amount of P in plant (P_{pl}) and the specific activity in shoot (SA_{pl}) is measured.

3. The amount of exchangeable soil Pi taken up by the plant is determined by the Larsen method and called L-value (Larsen, 1952). L-value is calculated from the SA in plant (SA_{pl}) corrected by the estimated seed contribution, and the radioactivity introduced (R):

$$SA_{pl} = ^{33}P_{pl}/P_{dfsoil} = ^{33}P_{pl}/(P_{pl} - P_{dfseed}) = R/L \quad \text{Eq. (1)}$$

Where $^{33}P_{pl}$ is the ^{33}Pi activity in the plant, P_{dfsoil} and P_{dfseed} are the amounts of P uptake derived respectively from the soil and from seed.

To determine the source of P uptake in a soil with residual P, the experiment described above (steps 1, 2 and 3) should be realized in parallel in a soil with residual P and in a soil without residual P (control

soil), with a same radioactivity R introduced in both cases. In the control soil, P uptake is derived from the pool of exchangeable Pi of native soil (L), which is determined from the SA of the plant grown on the soil control corrected by the seed contribution ($SA_{plcontrol}$):

$$SA_{plcontrol} = R / L \quad \text{Eq. (2)}$$

In the soil with residual P, P uptake (P_{plres}) is derived from two pools of exchangeable Pi: exchangeable Pi of the native soil (L) and exchangeable Pi of residual P (ΔL), we have thus:

$$P_{plres} = P_L + P_{\Delta L}$$

$$SA_{plres} = {}^{33}P_{plres}/P_{plres} = R / (L + \Delta L) \quad \text{Eq. (3)}$$

Where P_L is the P uptake derived from L, $P_{\Delta L}$ the P uptake derived from ΔL , and SA_{plres} the SA in plant grown on soil with residual P.

The amount of P uptake from each pool of exchangeable Pi is considered to be proportional to the amount of Pi on each pool (Fried and Dean, 1952), then:

$$P_L/L = P_{\Delta L}/\Delta L = P_{plres}/(L + \Delta L) \quad \text{Eq. (4)}$$

The percentage of P uptake derived from the native soil ($\%P_{dfsoil}$) can be determined from SA in plant grown on control soil and SA in plant grown on soil with residual P, using equations 2, 3 and 4. The amount of P uptake derived from the soil (P_{dfsoil}), the percentage and the amount of P uptake from residual P ($\%P_{dfres}$ and P_{dfres}), can then be calculated:

$$\%P_{dfsoil} = 100 * P_L/P_{plres} = 100 * L / (L + \Delta L) = 100 * SA_{plres}/SA_{plcontrol}$$

$$P_{dfsoil} = P_{plres} * \%P_{dfsoil}$$

$$\%P_{dfres} = 100 - \%P_{dfsoil}$$

$$P_{dfres} = P_{plres} - P_{dfsoil}$$

2.2. Principle of direct isotope method to determine P uptake derived from fresh mineral fertilizer, soil residual P, and native soil P

Mineral P fertilizer is ${}^{33}\text{Pi}$ labelled and added to the soil. Exchangeable ${}^{31}\text{Pi}$ of soil dilutes in the plant, the P uptake derived from the fertilizer. The percentage of P uptake and the amount of P uptake derived from the fresh fertilizer ($\%P_{dfferti}$ and $P_{dfferti}$) can thus be calculated with the equation (Morel and Fardeau, 1989^a):

$$\%P_{dfferti} = 100 * SA_{ferti}/SA_{pl}$$

$$P_{df\text{ferti}} = P_{pl} * \%P_{df\text{ferti}}$$

Where SA_{ferti} is the specific activity of the fresh fertilizer applied, SA_{pl} the specific activity in the plant, and P_{pl} the total amount of plant P uptake.

Principle of direct isotope method to determine P uptake derived from soil residual P and native soil P

P uptake derived from residual P and from soil native P in the presence of labelled fresh P fertilizer (Treatment +P) were calculated according to Gallet et al. (2003) and Oberson et al. (2010). In the soil control, P uptake derive from two pools of exchangeable Pi: exchangeable Pi of native soil (L), and exchangeable Pi of fresh fertilizer applied (Q). We have then:

$$SA_{\text{plcontrolF}} = R / (L + Q) \quad \text{Eq. (5)}$$

In the soil with residual P, P uptake derive from three pools of exchangeable Pi: L, Q, and exchangeable Pi of residual P (ΔL). We have then:

$$P_{\text{plresF}} = P_{\text{LF}} + P_{\text{QF}} + P_{\Delta\text{LF}}$$

$$SA_{\text{plresF}} = R / (L + Q + \Delta L) \quad \text{Eq. (6)}$$

Where P_{LF} , P_{QF} and $P_{\Delta\text{LF}}$ are the amount of P uptake on soil with fresh fertilization, respectively derived from L, Q and ΔL .

The amount of P uptake from each pool of exchangeable Pi is considered to be proportional to the amount of Pi on each pool, then:

$$P_{\text{LF}}/L = P_{\text{QF}}/Q = P_{\Delta\text{LF}}/\Delta L = P_{\text{plresF}} / (L + Q + \Delta L) \quad \text{Eq. (7)}$$

The percentage of P uptake derived from the native soil ($\%P_{\text{dfsoilF}}$) can be determined from SA in plant grown on control soil and SA in plant grown on soil with residual P, using equations 5, 6 and 7. The amount of P uptake derived from the soil (P_{dfsoilF}), and the amount of P uptake from residual P (P_{dfresF}), can then be calculated:

$$\%P_{\text{dfsoilF}} = 100 * P_{\text{LF}}/P_{\text{plresF}} = 100 * L / (L + Q + \Delta L) = 100 * SA_{\text{plresF}}/SA_{\text{plcontrolF}}$$

$$P_{\text{dfsoilF}} = P_{\text{plresF}} * \%P_{\text{dfsoilF}}$$

$$P_{\text{dfresF}} = P_{\text{plresF}} - P_{\text{dfsoilF}} - P_{\text{df\text{ferti}}}$$

2.3. Description of field experiment and soil sampling

We realized the indirect isotope method described above on soils sampled on a fertilization field trial. Soil samples were collected from a long-term field experiment located in Réunion, a French volcanic

island (2500 km²) in the Indian Ocean (55°30'E, 21°05'S). The experiment was cultivated under grassland with five cuts per year for 12 years on an andosol (IUSS Working Group WRB, 2014). Table 1 shows the soil parameters at the beginning of the field experiment. Plots were arranged in a randomized block design with three replicates.

Table 1 Parameters of andosol sampled at 0-15 cm under grassland cover at the beginning of the field experiment.

	Unit, dry mass	
Clay (< 2 μm)	g kg ⁻¹	139
Silt (2 - 50 μm)	g kg ⁻¹	680
Sand (50 – 2 000 μm)	g kg ⁻¹	181
Bulk density	g cm ⁻³	0.55
Organic C ^a	g kg ⁻¹	123
N total ^b	g kg ⁻¹	10.9
P total ^c	mg kg ⁻¹	3030
Pi-Olsen ^d	mg kg ⁻¹	23.7
Pi-water ^e	mg kg ⁻¹	0.36
pH-water ^f		5.8

^a ISO 10694

^b ISO 13878

^c ISO 14869-1

^d Inorganic phosphorus extracted with Olsen method

^e Inorganic phosphorus extracted with water

^f Soil:liquid ratio 1:5

Ten modalities with organic and/or mineral fertilization were performed yearly as follows (Table S1): a control without fertilization, two mineral fertilizations with both 52 kg P ha⁻¹ yr⁻¹ as soft rock phosphate (75% soluble in 2% formic acid) but differing by the dose of N applied as NH₄NO₃ (NPK 1 and 2, respectively); two fertilizations with dairy slurry corresponding to either 170 or 290 kg P ha⁻¹ yr⁻¹ (slurry low dose (Ld) and high dose (Hd), respectively); two fertilizations with dairy manure compost corresponding to either 70 or 120 kg P ha⁻¹ yr⁻¹ (compost Ld and Hd, respectively); and three mixed fertilizations of organic fertilizers and N applied as NH₄NO₃: dairy slurry at low dose and NH₄NO₃ (slurry Ld/N); dairy manure compost at low dose or at high dose and NH₄NO₃ (compost Ld/N or compost Hd/N, respectively). Compost and slurry were frozen, lyophilized and crushed at 2mm before analyses. Table 2 shows slurry and compost parameters.

The soil was sampled after 12 years of fertilization at 0-15 cm depth in each plot, and soil samples (hereafter referred to as soils) were air dried and sieved at 2 mm. The three replicates per fertilization

were then mixed to obtain a composite for each of the ten fertilization modalities. Soils were analyzed by a routine soil testing laboratory (CIRAD, US Analyses). The soil is classified as an andosol (IUSS Working Group WRB, 2014); Table 1 shows the soil parameters at the beginning of the field experiment.

Total P, exchangeable Pi in soil determined by isotopic exchange method associated to anion exchange membrane (E_{AEM}) (Maertens et al., 2004), and classic characteristics of soil samples before growth experiment were described in Table 1 of Chapter III.2.

Table 2 Parameters of organic fertilizers used in the field experiment.

	Unit, dry mass	Slurry	Compost
Dry matter 105°C	%	9.1	46.3
Organic C ^a	g kg ⁻¹	890	232
N total ^a	g kg ⁻¹	24.8	22.4
P total ^b	g kg ⁻¹	8.0	7.0
K total	g kg ⁻¹	45.4	11.1
Pi-water ^c	g kg ⁻¹	0.6	0.9
pH-water ^d		7.5	7.5

^a ISO 10694

^b ISO 14869-1

^c Inorganic phosphorus extracted with water

^d Soil:liquid ratio 1:5

2.4. Growth experiment with indirect isotope method (Treatment ØP) and direct isotope method (Treatment +P)

In the treatment without fresh phosphate addition (ØP), the ten soils from the field experiment were fertilized with a nutritive solution containing NH₄NO₃ and KCl to provide 120 mg N and 100 mg K kg⁻¹ dry soil. In the treatment with fresh phosphate addition (+P), the ten soils were fertilized with a nutritive solution containing NH₄NO₃ and KH₂PO₄ to provide 120 mg N, 100 mg K, and 80 mg P kg⁻¹ dry soil. Soils were moistened to reach 70 % of pF 2.5 and were pre-incubated for four days in a phytotron in the darkness at 24 °C and 65 % of relative humidity. After pre-incubation, we spiked soils with 550 kBq kgSoil⁻¹ by adding 4.9 mL water solution of ³³Pi at 100 kBq mL⁻¹ on 900 g DM soil for treatment ØP, and by adding 4.9 mL mineral solution of 80 mg kg⁻¹ P (as KH₂PO₄) at 100 kBq mL⁻¹ for treatment +P. Two days after spiking, each soil was separated into four replicates in plastic pots containing 225 g dry soil, and 8 seeds of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) were sowed per pot. Pots were placed in a phytotron with the following climatic conditions: 12 h of light day⁻¹, 28/20°C (day/night) and 65 % of relative humidity. Soils were then moistened daily to maintain 70 % of pF 2.5. Five days after sowing, we

kept only four plants per pot by cutting the shoots of extra plants, and 10 days after sowing only two plants. After 19 days of growth, the shoots of remaining plants were cut 1 cm above soil surface, cut into small pieces and dried at 65°C for 48h to determine shoot biomass. Plant shoots were heated in a muffle-oven at 500°C during 6h and ashes were then digested in 300 mL HCl (37 % w w⁻¹) and 100 mL HNO₃ (68 % w w⁻¹) per liter. The concentration of Ca, K, Mg, and P in plant digests was measured by ICP-OES. Certified reference corn (*Zea mays* L.) was included in the digestions and analyses; the measurement recovery was 101 % for Ca, 93% for K, 91 % for Mg and 108 % for P. Radioactivity in solution was then measured with Beta-counter (Packard Tri-Carb 1600CA liquid scintillation counter; scintillation cocktail Ultima Gold AB).

2.5. Estimation of seed phosphorus contribution

We filled one plastic pot of 1 L with 900 mL of a free-P nutrient solution containing: 1 mM N, 1 mM Ca, 0.6 mM K, 0.25 mM Mg, 12.5 µM Fe, 7.5 µM B, 2.5 µM Mn, 0.5 µM Zn, 0.25 µM Cu, and 0.035 µM Mo. We put a mesh fixed on polystyrene at the surface of the solution and we disposed 15 seeds on the mesh, in order they just soak on the solution. After 8 days of growing, most of the seeds seem empty; plants were thus harvested and biomass and P concentration in shoots were determined as described above. The average amount of P taken up per plant was calculated and considered as the P seed contribution.

2.6. Determination of available inorganic phosphorus in soil by isotopic exchange method associated to anion exchange membrane

We thus used the isotopic exchange method associated to anion exchange membrane (AEM) proposed by Maertens et al. (2004). An equivalent of 3g dry soil was mixed with 30 mL of CaCl₂ 5 mM for 16 h for pre-equilibration of the soil-solution system. Radioactive phosphate ³³PO₄ (0.1 MBq 30mL⁻¹) and two anion exchange membranes (AEM) of 5 cm² loaded with HCO₃⁻ (55164 2S, BDH Laboratory Supplies) with an anion exchange capacity of 0.037 cmol_c cm⁻² were added concomitantly to the soil-solution mixture and shaken for 5 days more. Then, AEM were removed from the soil-solution mixture, rinsed with ultra-pure water, and eluted for 16 h in 20 mL of HCl 0.5 M. The concentration of ³³Pi and total P was measured with a β-counter (Packard Tri-Carb 1600CA liquid scintillation counter; scintillation cocktail Ultima Gold AB) and by ICP-MS (Agilent 7700x), respectively. We calculated the E_{AEM} values and the solid-solution partitioning coefficient of Pi (K_d) according to Maertens et al. (2004), assuming that AEM binding capacity was the same for ³¹Pi and ³³Pi:

$$E_{AEM} = C_{^{31}\text{Pi},\text{liquid}} \left(\frac{V}{M} + K_d \right) \quad \text{Eq. (9)}$$

With $C_{^{31}\text{Pi},\text{liquid}}$ the concentration of Pi in the AEM eluate (mg L⁻¹), V the volume of CaCl₂ in soil suspension (L) and M the mass of the soil (kg).

$$K_d = \frac{C_{^{33}\text{Pi},\text{solid}}}{C_{^{33}\text{Pi},\text{liquid}}} = \frac{R - r}{r} * \frac{V}{M} \quad \text{Eq. (10)}$$

with $C_{^{33}\text{Pi},\text{solid}}$ the concentration of ^{33}Pi on the soil solid phase (mg L^{-1}) and $C_{^{33}\text{Pi},\text{liquid}}$ the concentration of ^{33}Pi in the AEM eluate (mg L^{-1}), R the total radioactivity introduced in the soil suspension (Bq mgP^{-1}) and r the final radioactivity in AEM eluates after 5 d (Bq mgP^{-1}). We thus have from equations (9) and (10):

$$E_{AEM} = \frac{1}{SA_{AEM}} \frac{R}{M} \quad \text{Eq. (11)}$$

with SA_{AEM} the specific activity of P in AEM eluate (Bg mgP^{-1}).

3. Results and discussion

3.1. L-values in soils increases linearly with soil residual phosphorus

Exchangeable Pi determined with Larsen method (L -value) changed significantly with fertilization modalities in soils (Figure 1a). L -values were the lowest for control (0.30 g kg^{-1}), NPK 1 (0.36 g kg^{-1}) and NPK 2 soils (0.32 g kg^{-1}), and the highest for slurry Hd (1.17 g kg^{-1}) and compost Hd/N (1.45 g kg^{-1}). Previous studies showed that L -values ranged around 0.12 to 0.38 g kg^{-1} in medium or high P level soils (Achat et al. 2014; Frossard et al. 1994). In our study L -values were thus high compared to the literature, even in control soil. Nevertheless, P limited biomass of plants in control and NPK soils (Chapter III.2). Our results show that organic fertilizers increased soil exchangeable Pi compared to the control.

L -value increased linearly with soil residual P ($r^2 \text{ adj} = 0.87$) (Figure 2). This result agreed with our previous results, showing that available Pi determined with isotopic dilution associated to membranes (E_{AEM}), or Pi extracted with water (Pi-water) increased with residual P in the same andosol (Chapter III). Nevertheless, Pi-water and E_{AEM} increased also significantly with soil pH, while L -values did not change here with pH (results not shown). Contrary to L -value, E_{AEM} and Pi-water are both indicators of soil available Pi determined without plant. Effect of pH can be different on soil Pi availability and on plant P uptake (Chapter III.2), that could explain why L -value did not change with soil pH.

L -values were correlated with E_{AEM} measured in soils before growth experiment ($r = 0.92$), but L -values were highest. Ratio $L\text{-value}/E_{AEM}$ ranged between 1.8 and 4.5 (Figure 1d). Pypers and al. (2006) found also ratio $L\text{-value}/E_{AEM}$ larger than 1, and explained higher L -values by the capacity of plants to take-up non-readily available Pi. In our study, higher L -values could also be due to a difference of dilution time for the determination of L -value and E_{AEM} . For E_{AEM} , isotopic dilution occurred between spiking and AEM elution, thus during five days in our experiment (protocol detailed in Chapter III.2). For L -value, isotopic dilution in soil occurred between spiking and plant harvesting, thus during 21 days. Pypers et al.

(2006) showed that E_{AEM} were stable only after 14 days of dilution. We should thus measure E_{AEM} after 21 days and compare E_{AEM} and L -values.

Figure 1 Soils parameters before growth experiment, or plant parameters after 19 days of growth, without fresh fertilization (Treatment ØP). Andosol was fertilized for 12 years with organic fertilizers, mixed of organic and N fertilizer, or mineral NPK fertilizer. Values of soil groups with different letters are statistically different at level 0.05.

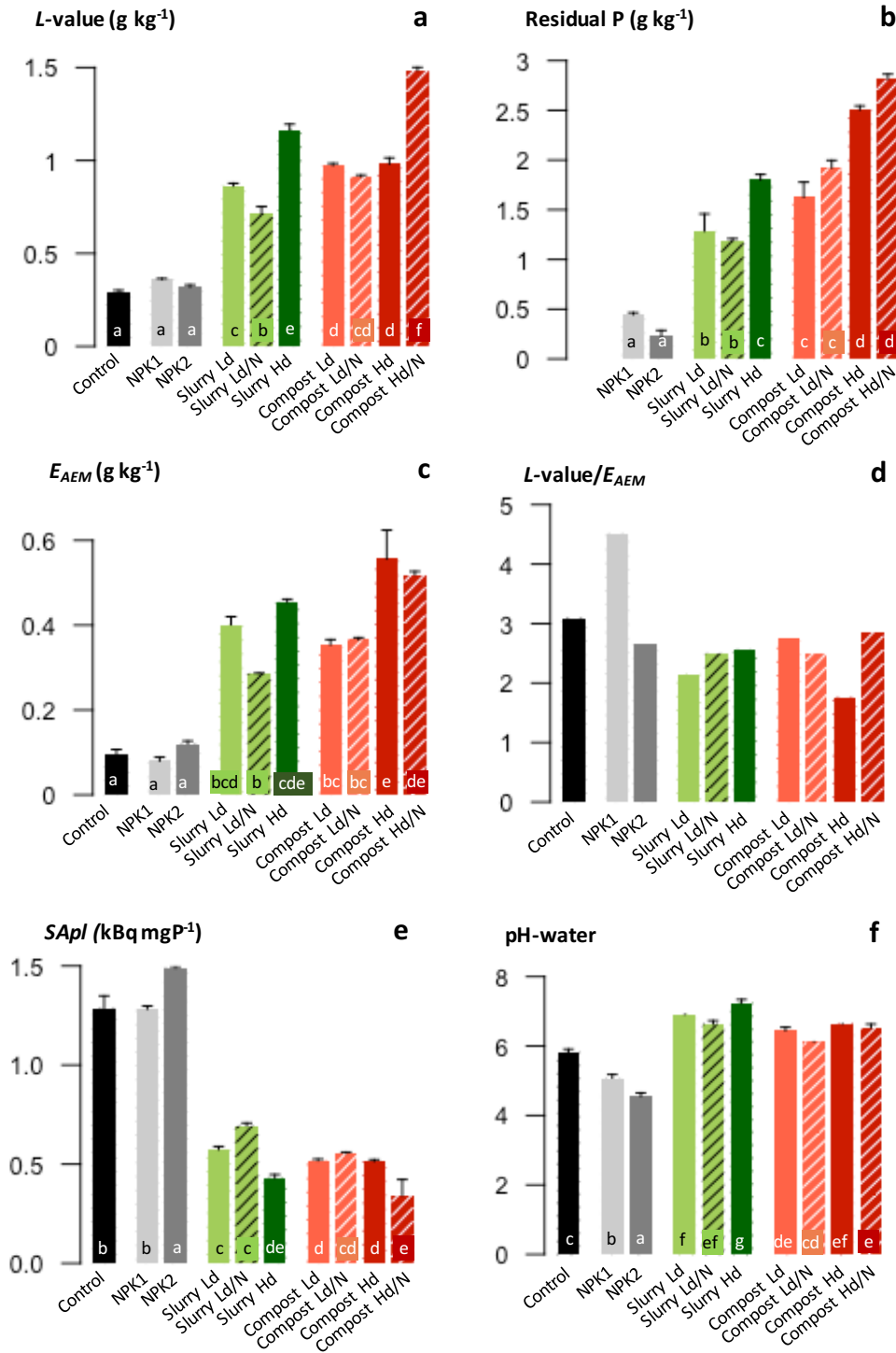
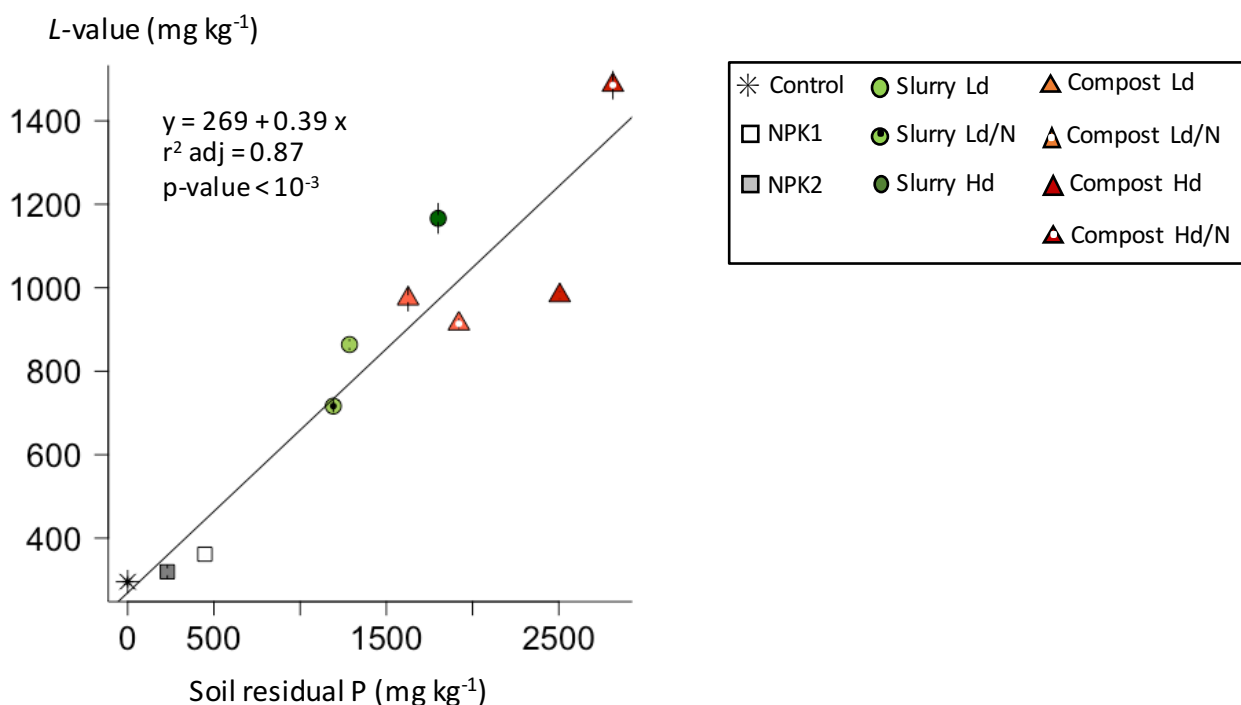


Figure 2 Evolution of exchangeable Pi determined by Larsen method (*L*-value) with the content of residual P in soil, without fresh fertilization (Treatment ØP). Andosol was fertilized for 12 years with organic fertilizers, mixed of organic and N fertilizer, or mineral NPK fertilizer.



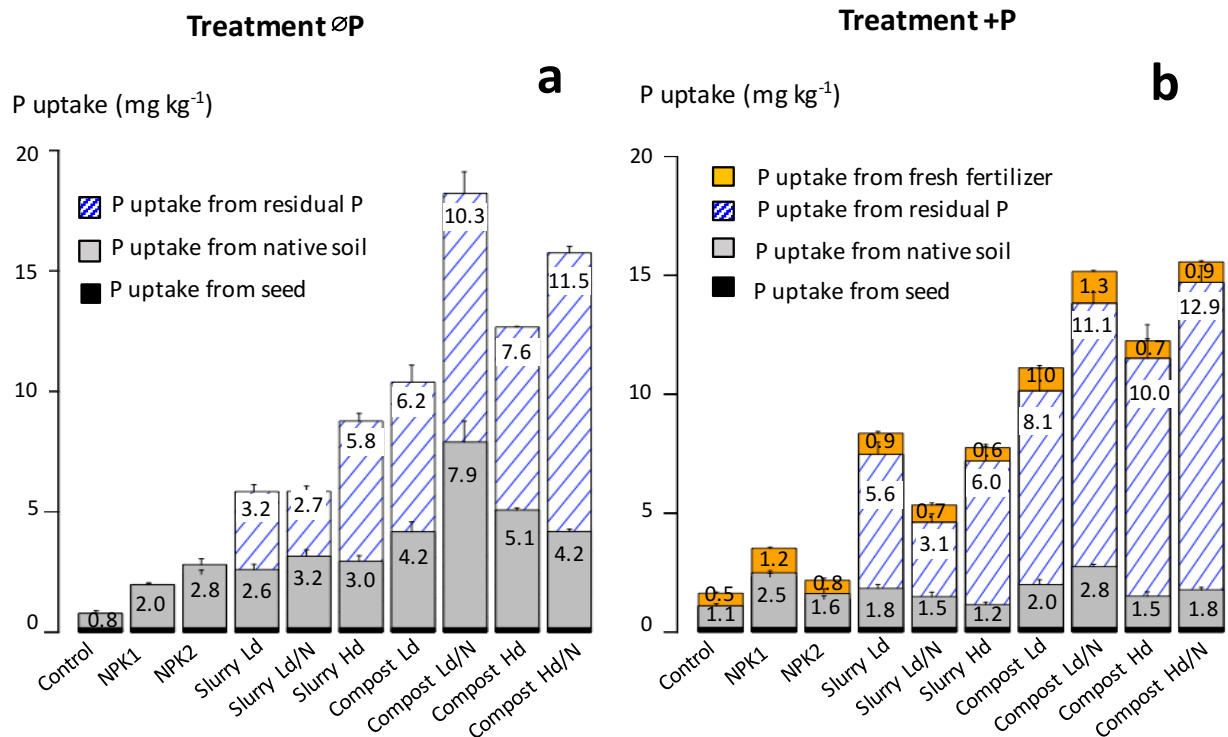
3.2. Phosphorus uptake derived from soil and from residual phosphorus in soils changes with fertilization history

Amount of plant P uptake derived from native soil (P_{dfsoil}) was higher in soils fertilized at the field, than in the control soil (Figure 3a). In the control, P_{dfsoil} was equal to 0.8 mg kg⁻¹, while it reached 7.9 mg kg⁻¹ in compost Ld/N. Gallet et al. (2003) found also that P uptake derived from native soil was higher in soil with residual P, than in control soil. In our study, plant biomass was higher in soil with residual P, than in the control soil (Chapter III.2), and P_{dfsoil} increased linearly with plant biomass ($r^2 \text{ adj} = 0.87$) (Figure 4). These results suggest that the increase of P_{dfsoil} was due to a higher plant development and a higher exploration of the soil by roots.

Amount of P uptake derived from residual P (P_{dfres}) increased linearly with soil residual P, whatever if P was added with organic or mineral fertilizers (Figure 5). In contrast, Oberson et al. (2010) found a higher P_{dfres} in soil with mineral P, than in soil with organic fertilizers, and concluded that P added with organic fertilizers was less available than P added with mineral P. Nevertheless, in this previous study content of residual P was lower in soils with organic fertilizers, and could explain the lower P_{dfres} obtained with organic fertilizers. Our results agreed with the study of Gallet et al. (2003), showing that P_{dfres}

increased with residual P in soil. Our results suggest that residual P in soil has the same availability whatever the nature of fertilizer applied.

Figure 3 Phosphorus uptake derived from seed, native soil, residual P, or fresh mineral fertilizer, in an andosol fertilized for 12 years with organic fertilizers, mixed of organic and N fertilizer, or mineral NPK fertilizer. a) without fresh fertilization (treatment \emptyset P) using indirect method, b) with fresh fertilization (treatment +P) using direct method.



The percentage of plant P uptake derived from native soil ($\%P_{dfsoil}$) and derived from residual P ($\%P_{dfres}$) changed between fertilization modalities (Figure 6a). The $\%P_{dfsoil}$ decreased with the amount of residual P in soil ($r = -0.86$) and with soil pH ($r = -0.93$). Gallet et al. (2003) found also that the $\%P_{dfsoil}$ decreased with soil residual P. They suggested that content of soil residual P drives the proportions of P uptake from each pool, and that modifications of soil physical-chemical properties had no influence. In contrast, our results suggest that modifications of soil pH due to the application of organic and mineral fertilizer influenced the proportion of P uptake from each source.

Figure 4 Relationship between plant P uptake derived from the pool of native soil (*Pdfsoil*) and biomass of aerial parts of plants, without fresh fertilization (Treatment \emptyset P). Andosol were fertilized for 12 years with organic fertilizers, mixed of organic and N fertilizer, or mineral NPK fertilizer.

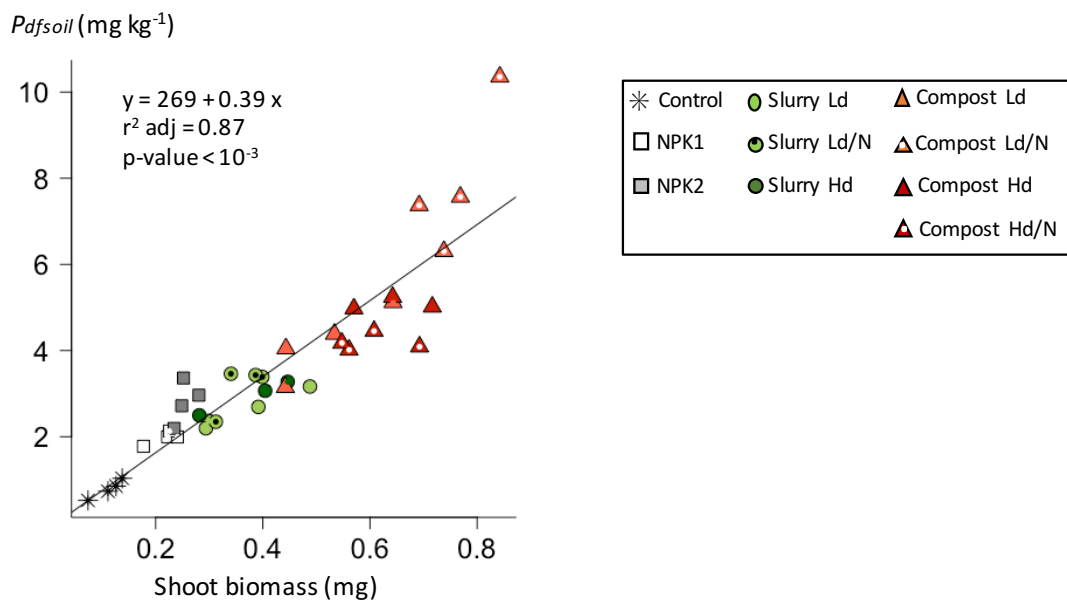
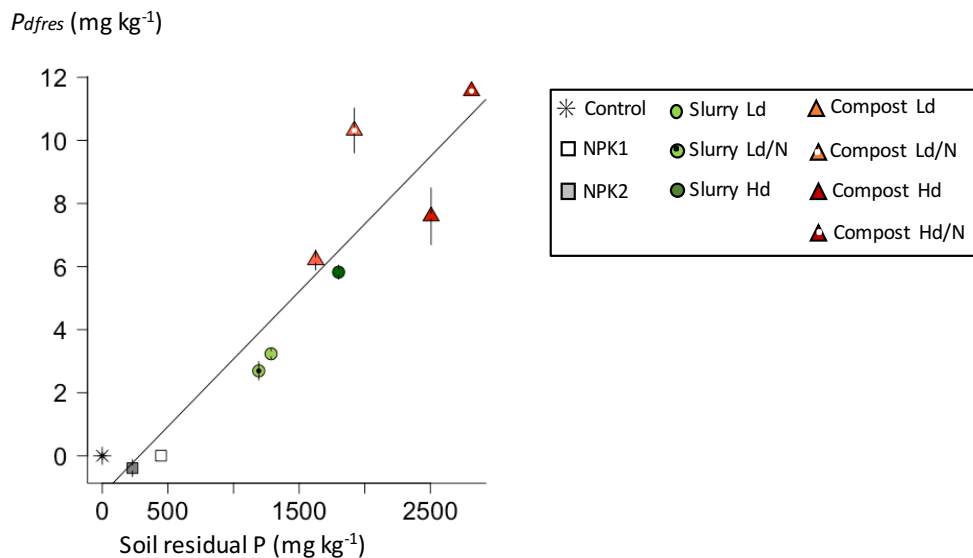


Figure 5 Relationship between plant P uptake derived from residual P (*Pdfres*) and the content of soil residual P, without fresh fertilization (Treatment \emptyset P). Andosol was fertilized for 12 years with organic fertilizers, mixed of organic and N fertilizer, or mineral NPK fertilizer.



3.3. Phosphorus uptake derived from fresh fertilizer decreases with soil residual P and soil pH

Amount of P uptake derived from fresh fertilizer (P_{dff}) was very low for all fertilization modalities (Figure 3b). P_{dff} ranged between 0.5 mg kg^{-1} (in control soil) to 1.3 mg kg^{-1} (in compost Ld/N soil), which represents only 0.7 to 1.7% of the fresh mineral P applied (80 mg kg^{-1}). Morel and Fardeau (1990) showed that P_{dff} compared to total amount of P applied depends on the form of P applied. In our study, we can suppose that a high part of P added as KH_2PO_4 solution was immediately sorbed onto solid phase of andosol, that has a high P_i sorption capacity (Chapters II and III.1), and thus participate poorly to plant P uptake. Efficiency of fresh mineral fertilizer was very low for all fertilization modalities in the andosol studied.

Proportion of P uptake derived from the fresh fertilizer ($\%P_{dff}$) changed between fertilization modalities (Figure 6b). Proportions of P_{dff} were the highest in control (33 %) and NPK 1 (34 %) and NPK 2 (36 %) soils, and the lowest in compost Hd and compost Hd/N soils (both 6 %). These results agreed with the literature, showing that $\%P_{dff}$ changed between soils fertilized with organic or mineral fertilizer (Oberson et al. 2010). These results show that efficiency of fresh fertilization changed with fertilization history.

Proportion of P uptake derived from the fresh fertilizer ($\%P_{dff}$) decreased with soil residual P and soil pH (Figure 7). Residual P and soil pH explained concomitantly 94 % of $\%P_{dff}$. This result is in accordance with Barrow and Debnath (2014), showing that efficiency of fertilization depends on previous P application and soil pH. Our results suggest that efficiency of the fresh fertilizer decreased with previous rate of P applied and with modification of soil pH induced by previous fertilization.

Figure 6 Proportion of P uptake derived from seed, native soil, residual P, or fresh mineral fertilizer, in an andosol fertilized for 12 years with organic fertilizers, mixed of organic and N fertilizer, or mineral NPK fertilizer. a) without fresh fertilization, using indirect method, b) with fresh fertilization, using direct method.

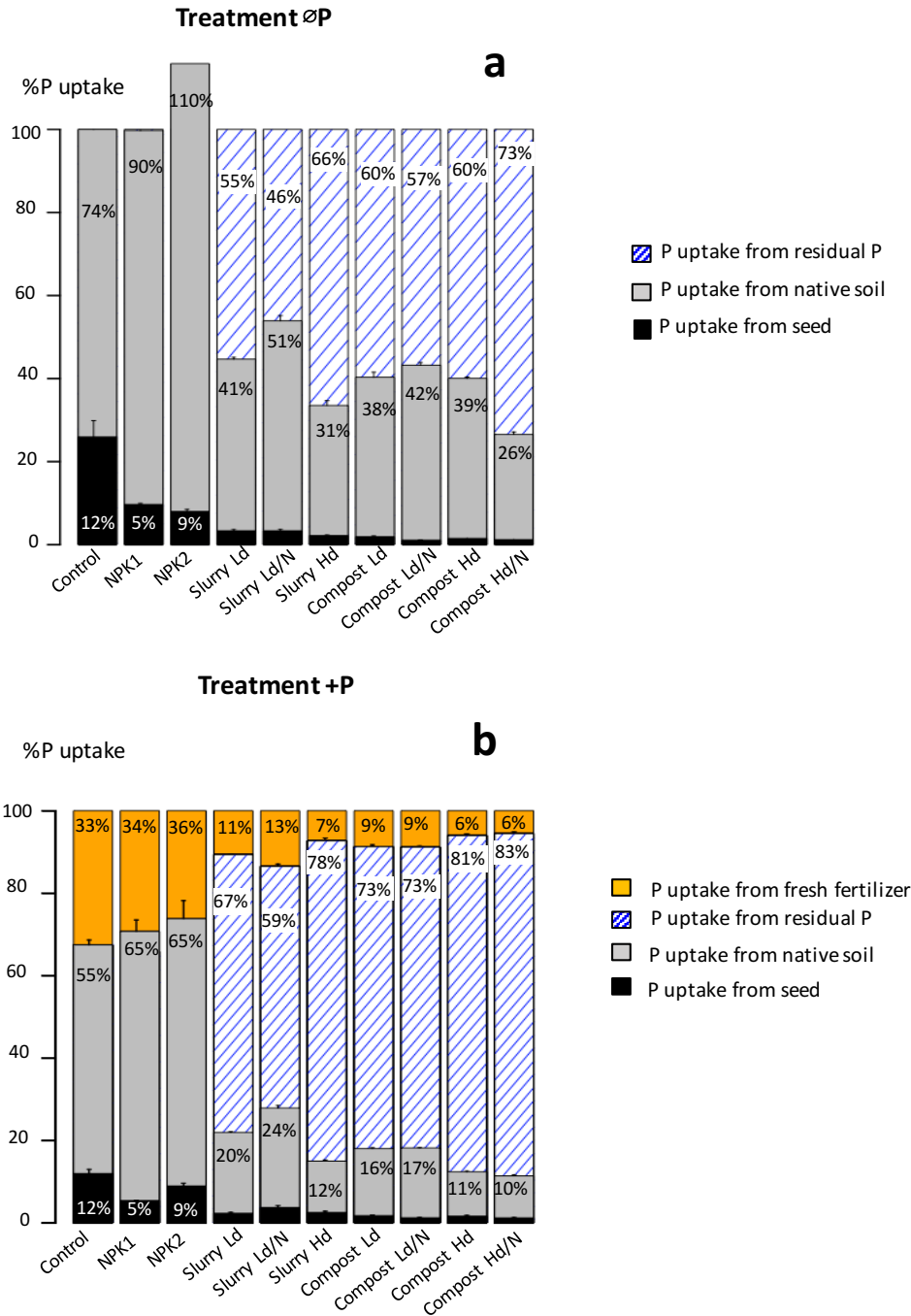
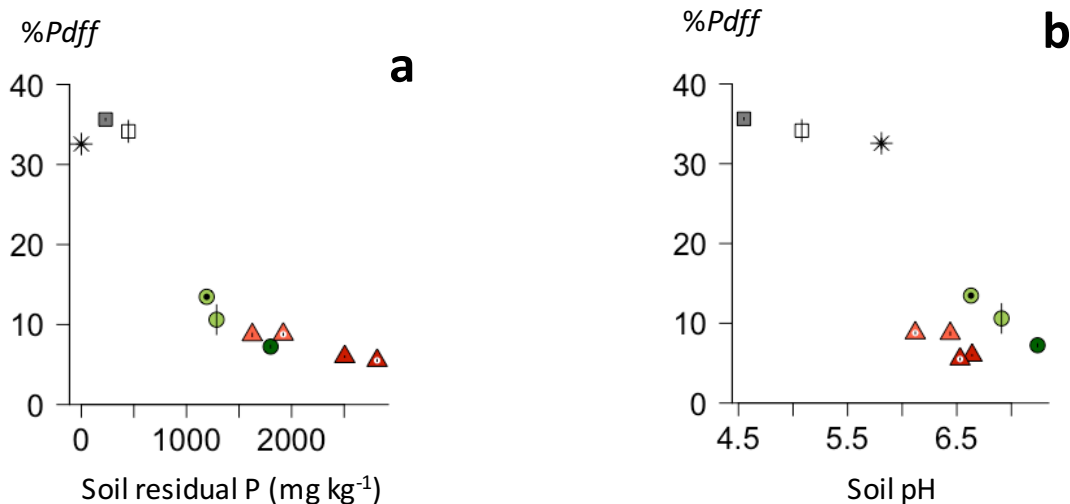
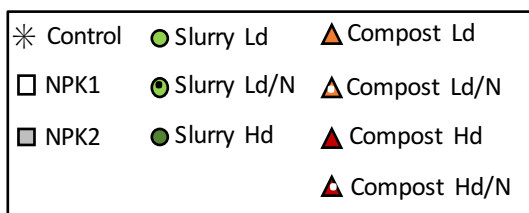


Figure 7 Relationship between the proportion of plant P uptake derived from fresh fertilizer (%*Pdff*) and the content of soil residual P (a), or soil pH (b). Andosol was fertilized for 12 years with organic fertilizers, mixed of organic and N fertilizer, or mineral NPK fertilizer.



3.4. Can the indirect method be used to determine the source of P uptake if soil physical-chemical properties have changed with long-term fertilization?

The specific activity ($SA_{pl} = {}^{33}P_{pl}/P_{pl}$) was higher in plant grown on soil with NPK2 fertilization ($SA_{pl} = 1.5 \text{ kBq mg}^{-1}$), than in plant grown on control soil ($SA_{pl} = 1.3 \text{ kBq mg}^{-1}$) (Figure 1e). In control soil, ${}^{33}P$ added is diluted by ${}^{31}P$ from soil exchangeable Pi (L). In soil NPK2, ${}^{33}P$ is supposed to be diluted by soil exchangeable ${}^{31}P$ (L), and by exchangeable ${}^{31}P$ of residual P (ΔL) (Residual P in soil NPK 2 = 230 mg kg^{-1}). In consequence, SA_{pl} of soil NPK2 should be lower than SA_{pl} of the control soil. By contrast, we found a higher SA_{pl} on soil NPK 2. This means that exchangeable Pi was lower in soil NPK 2 than in the control soil, even if soil NPK 2 contained residual P.

The pH in soil NPK 2 was much lower than the pH in the control soil (respectively 4.6 and 5.8) (Figure 1f). Pi sorption capacity of the soil can change with soil pH (Chapter II, Barrow and Debnath, 2015), and we previously showed that Pi sorption increases with acidification in andosol fertilized with ammonium nitrate (Chapter III.1). We can thus suppose that Pi sorption capacity was higher in soil NPK 2 than in

control soil, which led to a lower content of exchangeable Pi and a lower dilution of ^{33}Pi . This shows that the method cannot be used in a soil with a lower content of exchangeable Pi than the control soil.

More generally, this method cannot be used in soils with residual P, if physical-chemical properties have changed compared to the control. Two pools of exchangeable Pi are considered: exchangeable Pi of native soil (L), and exchangeable Pi of residual P (ΔP). The method is based on the hypothesis that exchangeable Pi of native soil (L) is the same in a soil not fertilized (control soil) and in a soil with residual P. Nevertheless, soil physical-chemical properties, principally pH or content of organic carbon, can change highly with long-term organic or NPK fertilization. Pi sorption capacity of soil changes with pH and organic carbon (Regelink et al., 2015), we can thus suppose that the amount of exchangeable Pi from native soil is actually different in the control soil and in a soil fertilized in the long-term. Our study shows that the indirect method cannot be used to determine the source of P uptake if soil physical-chemical properties have changed with long-term fertilization.

3.5. Can the direct method be used to determine P uptake from native soil and from residual P?

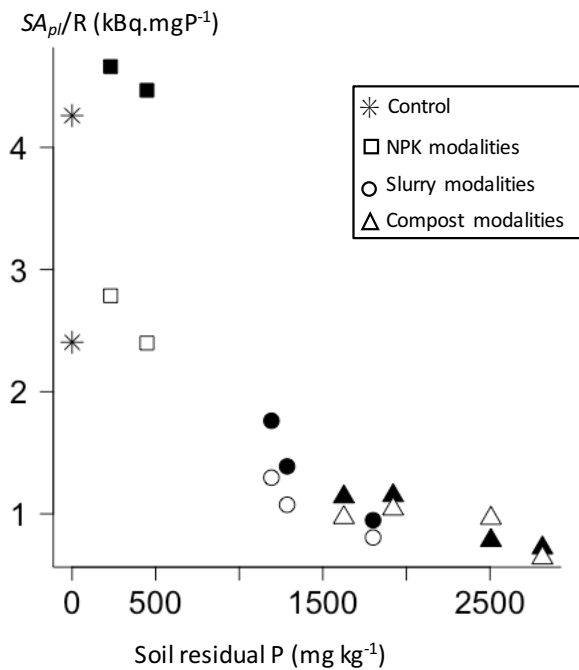
The proportion of P uptake derived from residual P ($\%P_{dfres}$) was higher in soils with fresh fertilizer (Treatment +P) than in soils without fresh fertilizer (Treatment $\emptyset\text{P}$), whatever the history of fertilization (Figure 5). Pairs of $\%P_{dfres}$ obtained with fresh fertilizer and without were 67 – 55 %; 59 – 46 %; 78 – 66 %; 73 – 60 %; 73 – 57 %; 82 – 60 %; 83 – 73 % (for organic or mixed modalities). By contrast, the proportion of P uptake derived from native soil P ($\%P_{dfsoil}$) was lower in soils with fresh fertilizer than in soil without fresh fertilizer. Gallet et al. (2003) and Oberson et al. (2006) found also higher $\%P_{dfres}$ and lower $\%P_{dfsoil}$ with the use of direct method with addition of labelled fresh P fertilizer. These results mean that addition of fresh mineral P increases the proportion of P uptake derived from residual P and decreased the proportion of P uptake derived from the soil, which seems illogical.

The specific activity ($SA_{pi} = \frac{^{33}\text{P}_{pi}}{\text{P}_{pi}}$) in plants grown on control soil and in soils with low residual P was higher with ^{33}Pi fresh fertilization (Treatment +P), than without (Treatment $\emptyset\text{P}$); by contrast SA_{pi} in soils with high residual P were equivalent for treatment +P and treatment $\emptyset\text{P}$ (Figure 8). These results showed that exchangeable Pi from fresh fertilizer applied (Q) was different in control soil and in soil with high residual P. This agreed with Morel and Fardeau (1990), showing that fresh fertilizer increases P uptake of soil P from soils poor in available P but not from soils high in available P. Then, in soil with residual P it is impossible to distinguish exchangeable Pi from native soil and exchangeable Pi from residual P. Assumptions for equation 7 are false. These results show the impossibility to compare SA_{pi} in the control soil and SA_{pi} in soil with residual P using the direct method with addition of labeled fresh fertilizer.

Three isotopes of Pi (^{31}Pi , ^{32}Pi , ^{33}Pi) are needed to distinguish the origin of P uptake from three pools (native soil, residual P, fresh fertilizer). Initially, Morel and Fardeau (1989^a) used a double labelled technique: they first labelled the exchangeable Pi from native soil with ^{32}Pi , and then added ^{33}Pi labelled

fresh fertilizer. In this way, native soil exchangeable Pi was labeled before fresh fertilizer addition, and they found a % P_{dfres} lower in soil with fresh fertilizer than without. Our results confirmed that only indirect method can be used to determined P uptake from residual P.

Figure 8 Relationship between specific activity in plant and soil residual P, without fresh fertilization (Treatment \emptyset P, white points) or with fresh fertilization (Treatment +P, black points).



4. Conclusion

The aims of this study were i) to determine the relative contribution of residual P pool resulting from past organic or mineral fertilization and native soil P pool on plant P uptake, ii) to determine the relative importance of modification of soil pH due to long-term fertilization, compared to the increase of residual P, on the efficiency of a fresh fertilizer. We used the indirect isotopic method to determine the source of P uptake in soils with residual P, and we used the direct isotopic method to determine the source of P uptake in soils with residual P and fresh P applied. Our results suggest that phosphorus uptake derived from soil and from residual phosphorus changes with fertilization history. Phosphorus uptake derived from fresh fertilizer decreases with soil residual P and soil pH. Nevertheless, our results suggest that the indirect method cannot be used to determine the source of P uptake if soil physical-chemical properties have changed with long-term fertilization.

Acknowledgements

We thank VEOLIA-eau for funding the Ph.D. grant of C. M. Nobile. We thank our colleagues from recyclage and risk for lab analyses. We are grateful to S. Nawara, T. van Dael, M. Everaert, J. Boolyn, F. Shoovaerts, K. Moors and all other colleagues from KU Leuven for their involvement in the lab experiments and analyses.

References

- Achat, D.L., Sperandio, M., Daumer, M.-L., Santellani, A.-C., Prud'Homme, L., Akhtar, M. & Morel, C. 2014. Plant-availability of phosphorus recycled from pig manures and dairy effluents as assessed by isotopic labeling techniques. *Geoderma*, 232–234, 24–33.
- Barrow, N.J. & Debnath, A. 2015. Effect of Pi status and pH on sulphate sorption and desorption. *European Journal of Soil Science*, 66, 286–297.
- Fardeau, J.C., Morel, C. & Boniface, R. 1991. Cinétiques de transfert des ions Pi du sol vers la solution du sol : paramètres caractéristiques. *Agronomie*, 11, 787–797.
- Faucon, M.-P., Houben, D., Reynoird, J.-P., Mercadal-Dulaurent, A.-M., Armand, R. & Lambers, H. 2015. Advances and perspectives to improve the phosphorus availability in cropping systems for agroecological phosphorus management. *Advances in Agronomy*, 134, 51–79.
- Fried, M. & Dean, L.A. 1952. A concept concerning the measurement of available soil nutrients. *Soil Science*, 73, 263–271.
- Frossard, E., Fardeau, J.C., Brossard, M. & Morel, J.L. 1994. Soil Isotopically Exchangeable Phosphorus: A Comparison between E and L values. *Soil Science Society of America Journal*, 58, 846–851.
- Gallet, A., Flisch, R., Ryser, J.P., Nosberger, J., Frossard, E. & Sinaj, S. 2003. Uptake of residual Pi and freshly applied diammonium Pi by *Lolium perenne* and *Trifolium repens*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166, 557–567.
- Larsen, S. 1952. The use of P32 in studies on the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 4, 1–10.
- Maertens, E., Thijs, a., Smolders, E., Degryse, F., Cong, P.T. & Merckx, R. 2004. An anion resin membrane technique to overcome detection limits of isotopically exchanged P in P-sorbing soils. *European Journal of Soil Science*, 55, 63–69.
- Menezes-Blackburn, D., Giles, C., Darch, T., George, T.S., Blackwell, M., Stutter, M., Shand, C., Lumsdon, D., Cooper, P., Wendler, R., Brown, L., Almeida, D.S., Wearing, C., Zhang, H. & Haygarth, P.M. 2017. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review. *Plant and Soil*, 1–12.
- Morel, C. & Fardeau, J.C. 1989a. The uptake by crops of fresh and residual phosphatic fertilizers by simultaneous measurements with 32P and 33P. *Applied radiation and isotopes*, 40, 273-278.
- Morel, C. & Fardeau, J.C. 1989b. Native soil and fresh fertilizer phosphorus uptake as affected by rate of application and P fertilizers. *Plant and Soil*, 115, 123–128.
- Morel, C. & Fardeau, J. 1990. Uptake of Pi from soils and fertilizers as affected by soil P availability and solubility of phosphorus fertilizers. *Plant and Soil*, 224, 217–224.
- Morel, C. & Plenchette, C. 1994. Is the isotopically exchangeable Pi of a loamy soil the plant-available P? *Plant and Soil*, 158, 287–297.
- Negassa, W. & Leinweber, P. 2009. How does the hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172, 305–325.
- Oberson, A., Tagmann, H.U., Langmeier, M., Dubois, D., Mäder, P. & Frossard, E. 2010. Fresh and residual phosphorus uptake by ryegrass from soils with different fertilization histories. *Plant and Soil*, 334, 391–407.
- Pypers, P., Van Loon, L., Diels, J., Abaidoo, R., Smolders, E. & Merckx, R. 2006. Plant-available P for maize and cowpea in P-deficient soils from the Nigerian Northern Guinea savanna - Comparison of E- and L-values. *Plant and Soil*, 283, 251–264.

- Regelink, I.C., Weng, L., Lair, G.J. & Comans, R.N.J. 2015. Adsorption of Pi and organic matter on metal (hydr)oxides in arable and forest soil: a mechanistic modelling study. *European Journal of Soil Science*, 66, 867–875.
- Sattari, S.Z., Bouwman, A.F., Giller, K. E. & van Ittersum, M.K. 2012. Residual soil phosphorus as the missing piece in the global phosphorus crisis puzzle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, 6348–53.
- Vig, A.C., Biswas, C.R., Bahl, G.S. & Rana, D.S. 1983. Yield and P uptake by wheat as affected by residual and applied P. *Fertilizer Research*, 4, 239–247.