

LA FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE COMME OUTIL DE DIAGNOSTIC

BOURRIÉ Bruno
 Laboratoire SADEF – Rue de la Station - 68700 Aspach le Bas
 bourrieb@sadef.fr

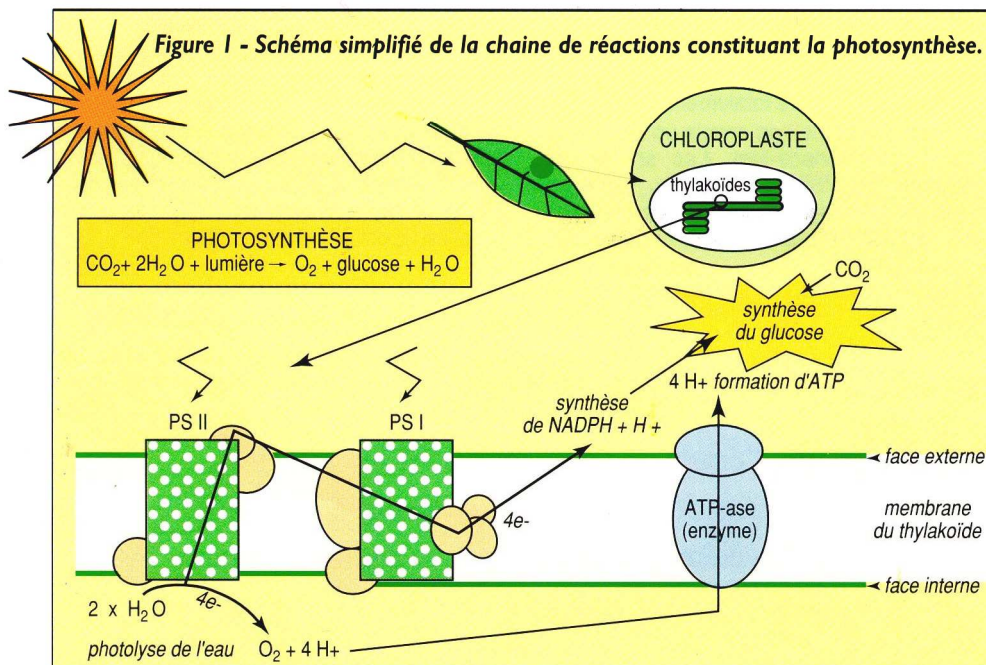
Résumé

La mesure de fluorescence chlorophyllienne (fluorimétrie) est une technique qui permet de mesurer un ensemble de stress perturbant l'activité photosynthétique des plantes. Elle permet de révéler la présence d'un stress et d'en identifier la cause, de prévoir l'apparition de symptômes (de 2 à 25 jours selon les carences) et de mesurer l'effet correctif des apports d'engrais. A ce jour, sept types de stress minéraux (N, K, Ca, Mg, Fe, Mn, B) ont pu être identifiés, auxquels il convient d'ajouter récemment le soufre.

1. Principe de photosynthèse et fluorescence

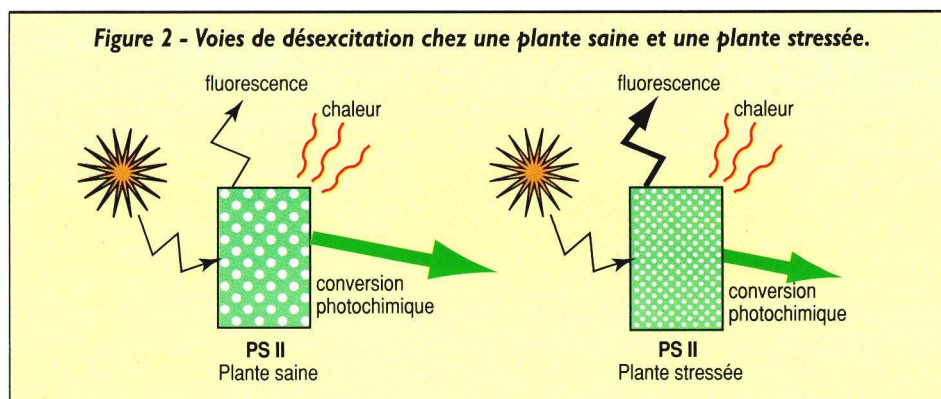
La photosynthèse résulte d'une chaîne de réactions enzymatiques. Elle se produit essentiellement dans les feuilles, au sein des thylakoïdes et fait intervenir deux photosystèmes (PSI et PSII), composés de protéines associées à des pigments chlorophylliens.

Dans une première phase, le végétal piège les photons de la lumière solaire et s'en sert pour scinder les molécules d'eau (H₂O) en oxygène (O₂), protons (H⁺) et électrons (e⁻). Cette réaction a lieu au niveau du PSII. Les protons interviennent dans la formation d'ATP (adénosine triphosphate), stock d'énergie pour la plante. Les électrons parcourent une chaîne de transfert complexe aboutissant à la formation d'une autre molécule énergétique, le NADP (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate). Cette énergie en attente est exploitée ultérieurement pour la réduction du CO₂ (dioxyde de carbone) en sucres, à l'origine de la plupart des molécules organiques de la plante.



Les deux photosystèmes sont branchés en série via des molécules qui servent de navettes de transport aux électrons qu'elles génèrent. Ce sont les pigments chlorophylliens excités par les photons qui émettent les électrons pour se décharger et retourner à leur état fondamental de repos. Il existe deux autres voies de désexcitation au niveau du PSII : l'émission de chaleur et celle de fluorescence (c.à.d. de photons sur une longueur d'onde particulière). Ces deux voies sont des pertes nettes pour le rendement photosynthétique.

Lorsqu'une plante subit un stress, la photosynthèse est perturbée. Or toutes les voies de désexcitation sont interdépendantes : si l'émission d'électrons est perturbée, la chaîne de transport détériorée, la dissipation d'énergie (chaleur ou fluorescence) augmente. L'intensité de la fluorescence est donc directement liée par une relation inverse au rendement photochimique. Il est donc permis de considérer la fluorimétrie comme un indicateur précis de l'état de la première phase de la photosynthèse, à savoir le piégeage de la lumière, le transfert de l'énergie d'excitation au niveau des chlorophylles et l'émission d'électrons par le PSII. Ces réactions étant sensibles aux conditions environnementales (stress nutritionnel), la moindre perturbation sera détectée par la fluorimétrie.



2. Matériel et utilisation – Principe de fonctionnement

Les mesures ont été réalisées avec un fluorimètre PEA de la firme Hansatech, avec lequel SADEF travaille depuis 1993. Il se compose de :

- Une unité centrale composée d'une batterie rechargeable et d'un ensemble de microprocesseurs.
- Un projecteur (dispositif optique) équipé de 6 diodes (Leds) qui génère une illumination concentrée sur la surface préalablement mise à l'obscurité. Elles produisent une lumière rouge avec une longueur d'onde maxi de 650 nm (absorbée par les chloroplastes).
- De leaf clips qui sont positionnés sur les feuilles pour générer l'obscurité nécessaire à la mesure.

La mesure se déroule en deux étapes :

- **Une surface foliaire test** est placée à l'obscurité durant 30 minutes : sur un plan physiologique, cette opération supprime le moteur énergétique de la photosynthèse (les photons) et vide la chaîne de transfert d'électrons. Les centres réactionnels sont alors totalement disponibles.
- **Un flash lumineux** est envoyé sur la surface test. Les accepteurs d'électrons du PSII sont saturés. L'énergie lumineuse excédant les possibilités de collecte du PSII est alors réémise sous forme de fluorescence, selon une cinétique particulière. Ensuite, la chaîne de transfert d'électrons s'enclenche et atteint un régime stationnaire.

Ces mesures sont répétées 4 à 6 fois en fonction du développement de la végétation, afin de produire un ensemble de données statistiquement interprétables (analyse de variance avec STATITCF).

L'intensité de la fluorescence monte rapidement d'une valeur initiale F_0 vers une valeur maximale (F_m) en moins d'une seconde. Au cours de cette phase, le fluorimètre enregistre les mesures toutes les 10 μ sec. Le tracé de la courbe montre des différences sensibles entre les plantes saines et les plantes stressées.

Deux types de renseignements peuvent être tirés de ces courbes :

- Le repérage de points remarquables qui évoluent selon la nature et le degré du stress
- Le paramétrage des courbes à partir de ces points afin de quantifier le stress subi et d'interpréter physiologiquement les phénomènes observés.

A partir de la mesure, un ensemble de points remarquables les plus importants est indiqué par le fluorimètre:

- **F0 ou fluorescence à l'état initial** : Intensité de la fluorescence lorsque tous les centres réactionnels du PSII sont ouverts (quinones oxydées). Il s'agit de la fluorescence minimale dans l'état adapté à l'obscurité. La valeur prise en compte est obtenue par extrapolation à partir de la valeur F50 μ s mesurée.
- **Fm ou fluorescence maximale** : Intensité de la fluorescence lorsque tous les centres réactionnels du PSII sont fermés. Il s'agit de la fluorescence maximale dans l'état adapté à l'obscurité.
- **Fv/Fm** : C'est le rapport de fluorescence variable (Fm-F0) et de fluorescence maximale. Il est proportionnel au rendement quantique de photochimie et montre un degré de corrélation élevé avec le rendement quantique de la photosynthèse nette. Il traduit l'efficacité du PSII à utiliser la lumière pour la conversion photochimique. Sa valeur est d'environ 0.8 chez une plante saine, et diminue en cas de stress.
- **TFm ou temps de fluorescence maximale** : C'est le temps nécessaire pour obtenir Fm. Plus le transport d'électrons est bloqué au niveau de PSII, plus le temps pour obtenir Fm est court.
- **Area** : Il s'agit de la surface au dessus de la courbe de fluorescence entre F0 et Fm. En général, ce paramètre est divisé par (Fm-F0 ou Fv) qui ainsi exprime l'énergie nécessaire pour fermer tous les centres réactionnels (Area-S). En cas de stress (turn over des quinones QA bloqué), cette valeur chute fortement.
- **F(x)** : Valeur de fluorescence à 50, 100 et 300 μ s et 2 et 30 ms.

A partir de ces valeurs de référence, un ensemble de paramètres de détermination et de caractérisation sont calculées (23 principaux). Ils indiquent la capacité de la plante à piéger la lumière et à l'utiliser.

3. Détection de la sous nutrition soufrée

1. Contexte de l'essai

La culture du colza en France est appelée à un développement important au cours des prochaines années, afin de satisfaire la demande grandissante liée à l'utilisation des bio-carburants. De nombreux travaux ont jadis permis de définir une politique de fertilisation raisonnée permettant d'atteindre des rendements toujours plus importants (doses et stades d'application pour N, quantités de potassium et de magnésium, fertilisation foliaire à base d'oligo-éléments). En revanche, les conseils sur la fertilisation soufrée, au demeurant très importante (besoins total de 220 kg/ha SO₃), ont toujours été pénalisés par l'absence de moyens de détection précoces et fiables. Jusqu'à présent, plusieurs méthodes ont été testées :

- Analyse de terre d'automne ou de sortie d'hiver (soufre Scott) : Cette technique est peu pertinente car la biodisponibilité en soufre dépend des conditions de température du sol (minéralisation de la matière organique) et de la pluviométrie (lessivage important du soufre) en sortie d'hiver. L'information qui en découle est donc très dépendante de facteurs incontrôlables.
- Diagnostic foliaire à D2 (méthode usuelle) : Cette approche permet d'établir un point au début de l'assimilation importante du soufre. Elle permet de définir une concentration en soufre dans la plante, révélatrice de la biodisponibilité du soufre à partir du sol. Elle n'est pas en revanche un modèle prédictif. Si de fortes pluies surviennent après le stade D2, le risque de carence en soufre peu se faire sentir, particulièrement en sols légers ou hydromorphes, peu propices à la libération de cet élément.
- Diagnostic foliaire après D2 : En théorie, cette méthode est la meilleure, mais son utilisation est limitée eu égard au coût de l'analyse et au délai d'attente entre le prélèvement, la réception du résultat et la mise en œuvre de l'apport de fertilisant.

En raisons de ces difficultés d'appréciation du besoin réel instantané, des conseils basés sur une longue expertise et de nombreux essais, ainsi que sur les besoins de la plante sont données aux agriculteurs au moyens de bulletins ou avertissements. Derrière ce conseil global, se cache une multiplicité de situations (types de sols, climats, précédents culturaux, pratiques usuelles de fertilisation de l'exploitant, ...) qui nécessiteraient une approche plus fine permettant de préciser les

termes de la fertilisation soufrée (dates et doses). C'est dans ce sens que les travaux utilisant la fluorescence chlorophyllienne sur la carence en soufre du colza ont été conduits en 2005 et 2006.

2. Méthode utilisée

Une carence en soufre sur colza a été créée en batterie de culture. Afin de vérifier la pertinence des résultats, la modélisation de la carence du colza (plante exigeante) a été comparée à celle du maïs (plante peu exigeante).

Ces deux espèces ont été mises en croissance dans des bacs de quatre kilos de sable préalablement lavés à l'acide et rincés à l'eau déminéralisée afin d'éliminer toutes traces d'éléments minéraux.

L'alimentation minérale s'effectue par irrigation de solutions nutritives en provenance de bacs de solutions de 20 l à raison d'une séquence de 40 secondes toutes les heures (nuit et jours). Les solutions sont changées tous les quinze jours en début de cycle, puis toutes les semaines.

Le dispositif expérimental est le suivant :

Maïs Témoin Bloc 1	Maïs Témoin Bloc 2	Maïs Carencé Bloc 1	Maïs Carencé Bloc 2
Maïs Témoin Bloc 3	Maïs Témoin Bloc 4	Maïs Carencé Bloc 3	Maïs Carencé Bloc 4
Bac de solution témoin 1	Bac de solution témoin 2	Bac de solution carencée 1	Bac de solution carencée 2
Colza Témoin Bloc 1	Colza Témoin Bloc 2	Colza Carencé Bloc 1	Colza Carencé Bloc 2
Colza Témoin Bloc 3	Colza Témoin Bloc 4	Colza Carencé Bloc 3	Colza Carencé Bloc 4

La composition des solutions nutritives est en annexe 1.

4. Résultats et discussion

4.1. Validation du dispositif

Hormis la validation visuelle (apparition de symptômes caractéristiques sur les plantes), plusieurs contrôles en cours d'expérimentation ont vérifié les teneurs des solutions nutritives en soufre. En fin d'expérience, une analyse des feuilles a permis de situer quantitativement le niveau de déficience en S induit par l'irrigation des solutions différenciées.

Tableau 1 : Teneur moyenne en soufre des solutions nutritives et de la végétation en fin d'expérimentation

	Teneur moyenne des solutions nutritives mg/l SO ₄ ⁻⁻	Teneur des feuilles de colza % S	Teneur des feuilles de maïs % S
Témoin	200.00	1.30	0.25
Carence en soufre	3.44	0.26	0.15

En terme de concentration S dans le végétal, la différence entre le témoin et les plantes carencées est nettement plus élevée pour le colza que pour le maïs, alors que d'un point de vue visuel, la carence en S était plus marquée sur le maïs.



Photo 1 - Colza : Comparaison entre témoin (à droite) et carencé (à gauche)



Photo 2 - Maïs : Comparaison entre témoin (à gauche) et carencé (à droite)

4.2. Résultats des mesures de fluorescence chlorophyllienne au travers des paramètres principaux mesurés par le fluorimètre

4.2.1. Evolution de F_v/F_m (« rendement de la photosynthèse »)

Le suivi de ce paramètre tout au long de l'expérimentation sur le colza montre que la détection de la carence en soufre est possible. En effet, son évolution montre que si en début d'expérimentation (début septembre) les valeurs enregistrées sur les plantes carencées et témoin sont très proches, elles deviennent peu à peu différentes, pour atteindre le seuil de significativité (au seuil alpha de 5 %) fin septembre et début octobre. A ce moment, la différence entre les deux courbes est de l'ordre de 5 à 6 % en valeur absolue. Il est à noter que si d'un point de vue de la fluorimétrie, il est possible de suspecter la présence d'un stress à partir du 13 septembre, les décolorations consécutives à la présence de la carence en soufre n'apparaissent qu'après le 20 septembre, soit environ, une semaine après les premières différenciations (non significatives).

Après une phase d'installation du stress (environ 20 jours), la croissance des plantes carencées est fortement ralentie (30 septembre) et les besoins nutritionnels sans doute très limités. Suite à cette constatation, le niveau de F_v/F_m repart à la hausse sans toutefois rattraper le niveau du témoin correctement alimenté en soufre.

LA FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE COMME OUTIL DE DIAGNOSTIC

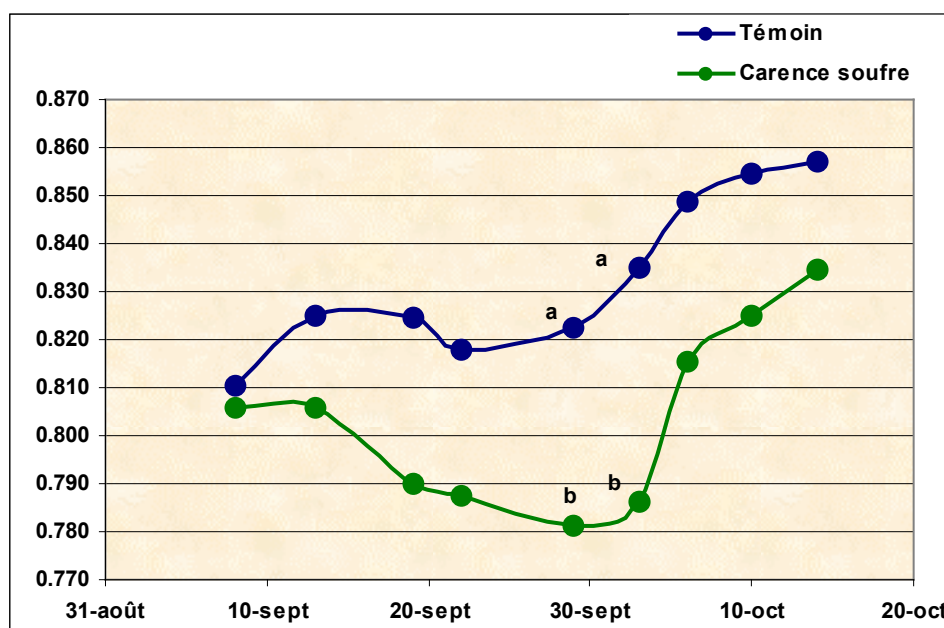


Figure 3 : Evolution lissée de Fv/Fm sur la culture du colza (pas d'unité)

L'expérimentation sur le maïs confirme la possibilité de détection de la carence en soufre, mais démontre une cinétique d'installation du stress différente. En effet, si dès les premières mesures (stade 3-4 feuilles), la fluorescence chlorophyllienne enregistre des différences assez nettes mais invisibles à l'œil nu, celles-ci deviennent très rapidement significatives (au seuil alpha de 5 %). Les premiers symptômes visuels n'apparaissent que sept jours plus tard. A cet instant, la différence entre les courbes atteint 14 %. Contrairement au colza, le maïs bénéficie d'une croissance très rapide en début de cycle, ce qui est sans doute à l'origine de cette différence d'amplitude plus élevée.

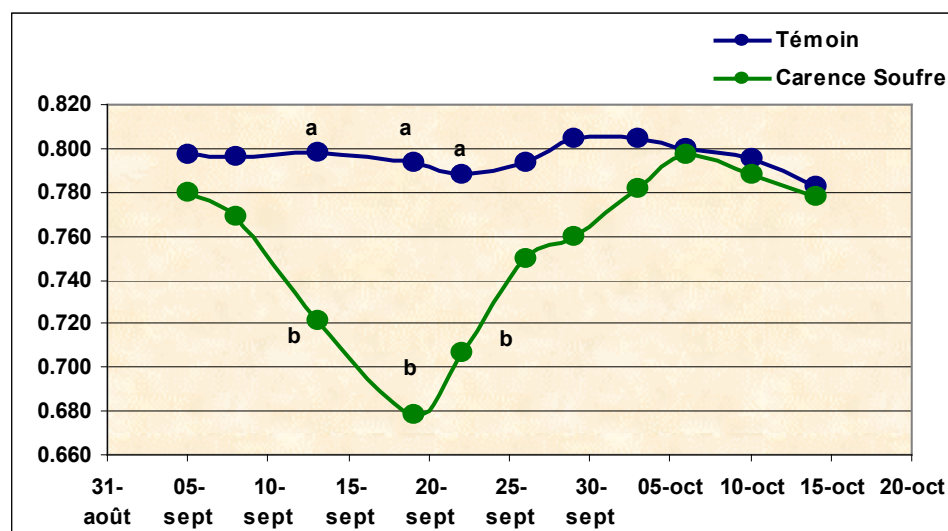


Figure 4 : Evolution lissée de Fv/Fm sur la culture du maïs (pas d'unité)

Si l'interprétation de l'évolution de ce paramètre permet d'être affirmatif quant à la détection de la carence en soufre en fluorescence chlorophyllienne, il faut noter que l'analyse statistique ne permet de conclure de façon formelle qu'à de trop rares occasions et lorsque les courbes sont fortement différenciées (6 % pour le colza et 14 % pour le maïs). La prudence qu'il convient de garder eu égard à cet artéfact doit être tout de même pondérée par le fait que le nombre de répétitions servant à établir la moyenne des mesures a été fixé préalablement de quatre à six. De toute évidence, ce schéma expérimental était trop restrictif et il est certain que le doublement des répétitions aurait considérablement solidifié le résultat en terme statistique. En tout état de cause, la carence en soufre fait chuter le Fv/Fm, indiquant une baisse du rendement quantique.

4.2.2. Evolution de l'allure générale de la courbe de fluorescence (Area -S)

Le paramètre Area est important car il permet d'obtenir une vision globale de la courbe de fluorescence qui intègre de fait tous les points remarquables (F0, Fm, TFM). Il est néanmoins très variable et c'est la raison pour laquelle la valeur de Area-S (area/Fv) lui est préférée. Ce paramètre indique une valeur relative du nombre d'électrons par centres récepteurs.

Sur le colza, l'évolution de Area-S s'effectue en deux temps :

- Une période en début de cycle où les valeurs sont identiques (du 8 au 22 septembre)
- Une période de forte différenciation qui atteint la significativité le 3 octobre.

Lors de la phase de stress intense (à partir du 20 septembre), les valeurs stagnent sur les plantes témoin alors qu'elles chutent sur les plantes carencées. A partir de l'arrêt de développement des plantes, les courbes s'inversent pour finalement se rejoindre. A cet instant (vers le 10 octobre) les valeurs sont très proches mais les plantes sont alors d'un développement végétatif fort différent (voir photo 1).

La différence des courbes est postérieure à l'apparition des symptômes.

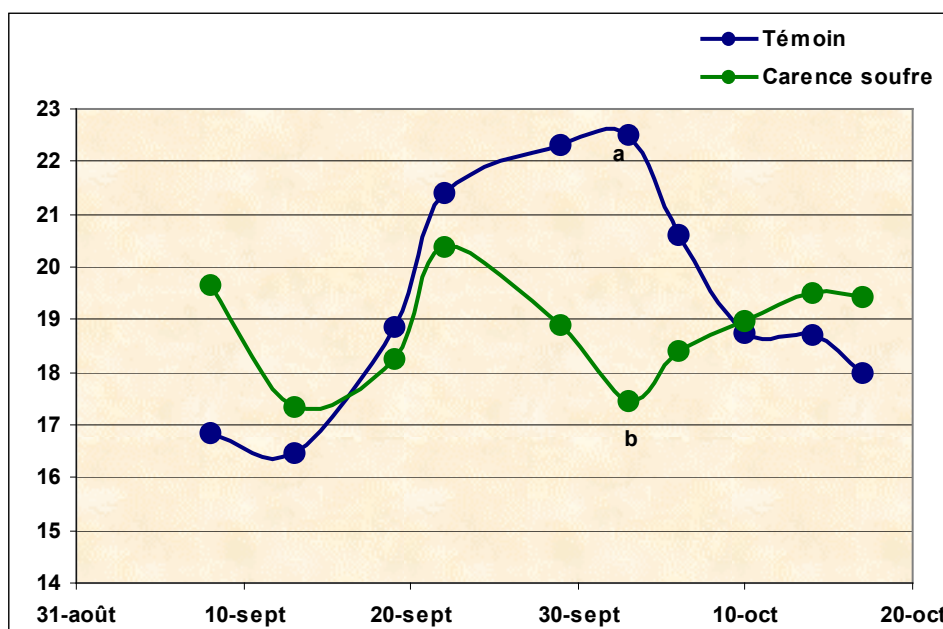


Figure 5 : Evolution lissée de Area-S sur la culture du colza (valeur relative)

Sur le maïs, les valeurs sont identiques en début de cycle, avant une dépréciation rapidement significative sur la partie carencée. Les remarques formulées pour Fv/Fm se trouvent ainsi intégralement confortées. Dès les premiers stades de développement et alors que les besoins sont importants pour assurer le développement de la plante, Area-S transcrit très bien la présence du stress soufré, mais seulement quelques jours avant l'apparition des symptômes visuels (3 jours). A l'apogée de l'écart, les différences de valeurs atteignent plus de 50 %.

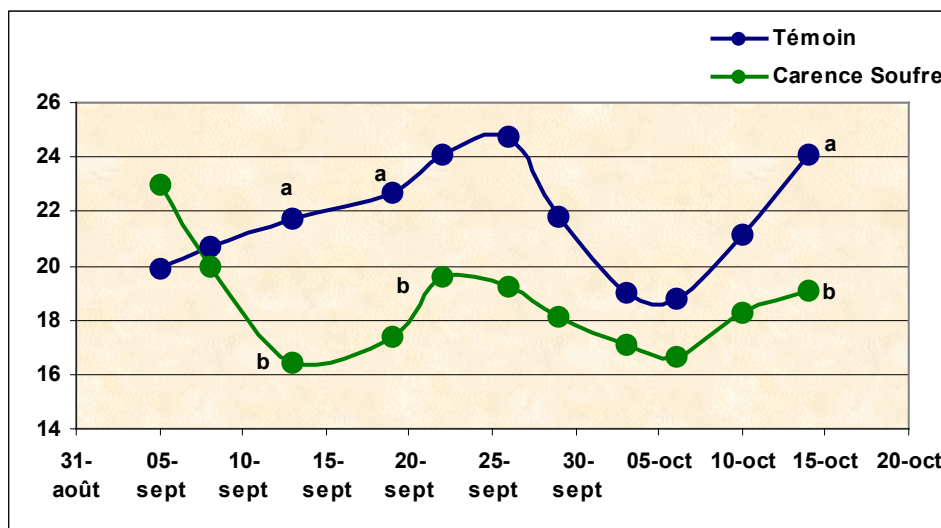


Figure 6 : Evolution lissée de Area-S sur la culture du maïs (valeur relative)

L'interprétation du paramètre Area-S permet de confirmer que la carence en soufre induit un dysfonctionnement de la photosynthèse identifiable en fluorimétrie. Il semble cependant que le dispositif statistique sans doute trop restreint ne permette pas de conclure de façon aussi formelle pour le colza que pour le maïs, bien que les tendances demeurent identiques.

4.2.3. Evolution de la fluorescence à l'état initial (F0)

En début de cycle sur colza, les valeurs sont identiques, mais les courbes respectives s'éloignent très rapidement pour atteindre le seuil de significativité fin septembre et début octobre. La différence des valeurs atteint alors environ 20 %. La différence (tendance) des deux valeurs ne devient importante qu'à l'approche de l'apparition visuelle du stress (3 jours).

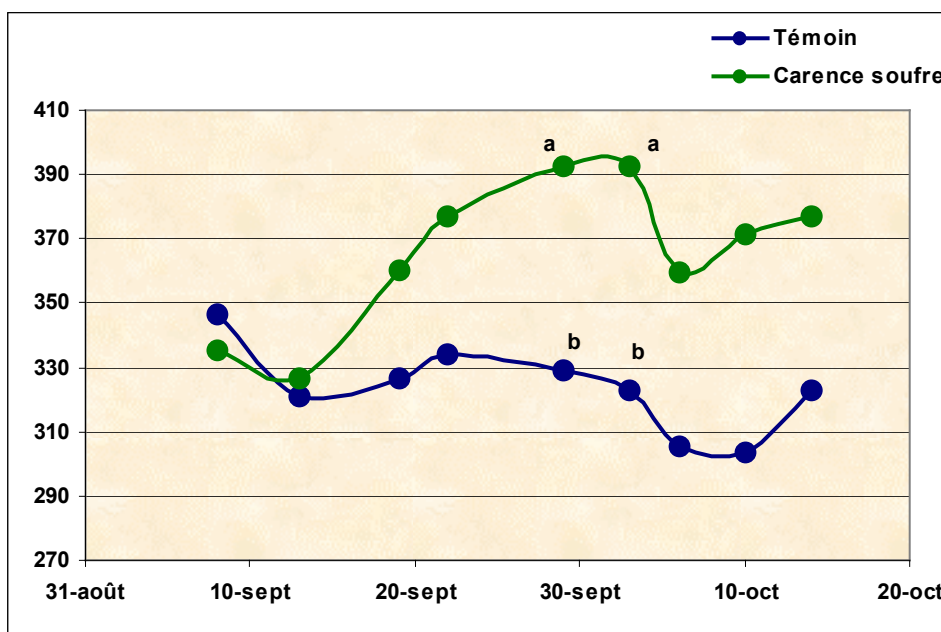


Figure 7 : Evolution lissée de F0 sur la culture du colza (bits)

Dans le cas du maïs, les premières mesures font état de la présence d'un stress, les valeurs issues des plantes carencées étant supérieures à celles issues du témoin d'environ 8 %. Ces différences ne sont jamais significatives au seuil alpha de 5 %. A ce stade, aucun symptôme visuel n'est décelable (apparition le 12 septembre). A partir du début octobre et alors que la croissance des plantes carencées est stoppée, les courbes d'évolution se croisent et finissent par s'inverser.

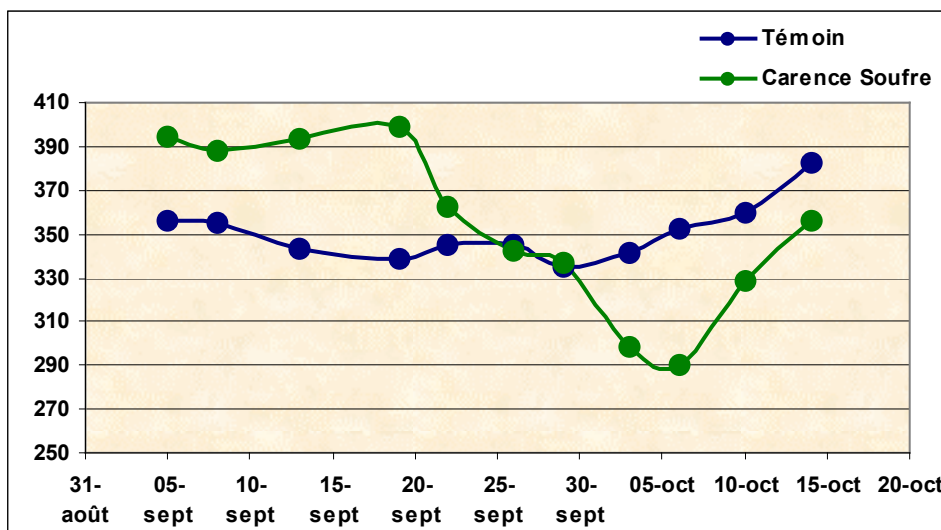


Figure 8 : Evolution lissée de F0 sur la culture du maïs (bits)

L'étude du suivi de F0 indique que la carence en soufre fait évoluer ce paramètre de façon équivalente sur les deux plantes pendant la phase d'installation du stress. Dès l'arrêt de croissance des plantes carencées et alors que le développement des plantes témoin est important (forts besoins nutritionnels), les courbes s'inversent.

4.2.4. Evolution du temps d'obtention de la fluorescence maximale (TFm)

Dans le cas du colza, après un départ identique entre les deux traitements, survient une tendance selon laquelle les valeurs issues du traitement carencé en soufre ont tendance à chuter par rapport à celles enregistrées sur le témoin. A ce moment, l'apparition visuelle des symptômes est proche (environ 3 jours). Cet écart s'accroît pour atteindre le seuil de significativité début octobre. A son apogée, la différence entre les deux courbes atteint 24 %.

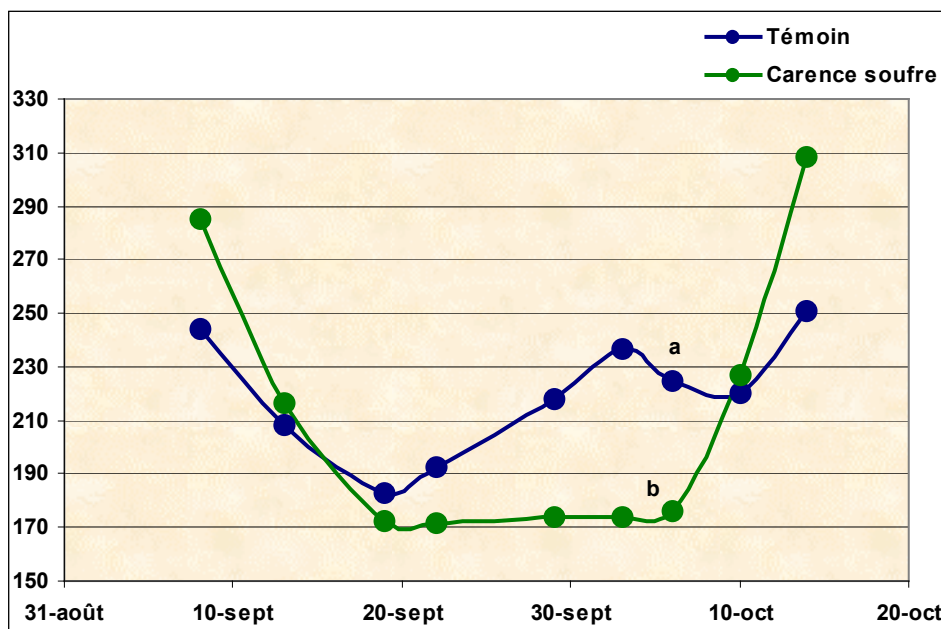


Figure 9 : Evolution lissée de TFm sur la culture du colza (ms)

Pour ce qui concerne le maïs et après une première mesure identique, les courbes se séparent rapidement (jusqu'à 25 % de différence) pour atteindre un écart significatif au seuil alpha de 5 % dès le 13 septembre. En tout état de cause, les prémices du stress sont enregistrés 9 jours avant l'apparition visuelle des symptômes.

Par la suite, si les écarts demeurent importants, la variabilité ne permet pas de les différencier significativement.

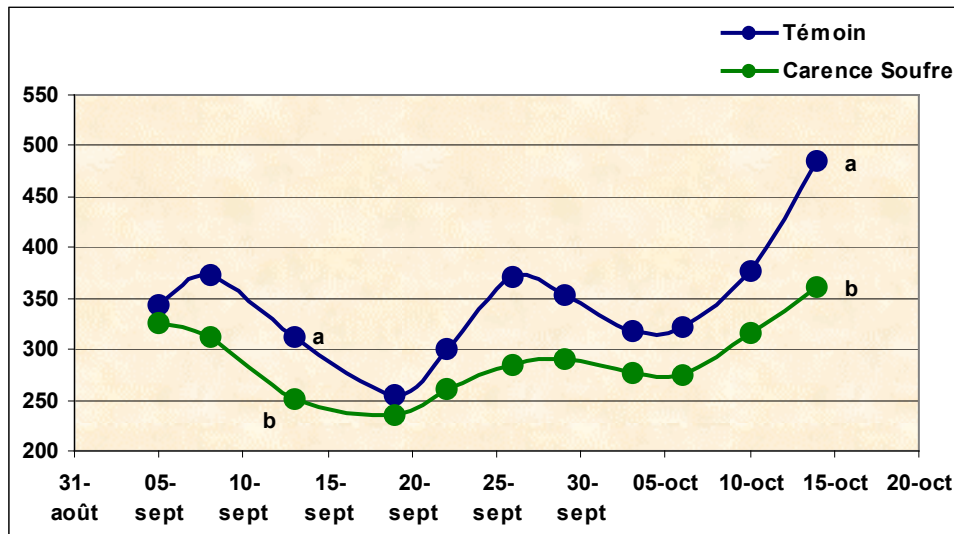


Figure 10 : Evolution lissée de TFM sur la culture du maïs (ms)

L'étude du suivi de TFM indique que la carence en soufre fait évoluer ce paramètre de façon assez nette et quelquefois significative. Avec des baisses de l'ordre de 15 à 25 % par rapport au témoin correctement alimenté, un dispositif statistique mieux adapté aurait permis d'obtenir une différence significative plus répétitive entre les deux courbes.

5. Conclusions

A la question de savoir si la carence en soufre était détectable en utilisant la fluorescence chlorophyllienne, l'étude de l'ensemble des paramètres mesurés permet de répondre par l'affirmative avec un degré de précision acceptable. Il aurait même été sans doute supérieur avec un dispositif statistique plus robuste.

Parmi les nombreux paramètres calculés (et non publiables), 82 % répondent dans le sens attendu (détection du stress) alors que 18 % sont sans réaction significative. Aucun de ces indices ne donnent une information contraire à ce qui était attendu en terme physiologique.

Des informations concordantes sont notées à la fois sur le maïs et sur le colza, bien que les besoins et la réaction à la carence soient très différents pour ces deux plantes.

Si l'observation des paramètres mesurés permet d'identifier la présence d'un stress environ 7 jours avant son apparition visuelle sur le colza (sans définition précise), une même étude sur les paramètres calculés permet de conclure que l'origine soufre est identifiable avec une précision suffisante. L'ensemble des paramètres calculés à partir de la mesure de fluorescence sur les plantes carencées se différencie de celui issu des plantes témoin entre -11 et jusqu'à + 9 jours par rapport à l'apparition visuelle du stress. En moyenne, la détection du stress dont la carence en soufre est à l'origine se situe entre 4 et 5 jours avant l'apparition visuelle du symptôme.

ANNEXE 1

• Solution nutritive témoin

- ☒ A universelle : 20 ml de (3660.3 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.)
Directement dans les 20 litres du bac
- ☒ B universelle : 500 ml de (544.4 g de KH_2PO_4 dans 5 l.) +
500 ml de (261.3 g de K_2HPO_4 dans 5 l.)
dans 5 l. ==> 200 ml / 20 l. bac
- ☒ C universelle : 1 litre de (1920.9 g de KNO_3 dans 10 l.) +
500 ml de (58.4 g de NaCl dans 5 l.) +
500 ml de (924.3 g de $\text{Mg}(\text{SO}_4, 7\text{H}_2\text{O})$ dans 5 l.) +
500 ml de (800.4g de NH_4NO_3 dans 5 l.) +
50 ml de (2.50 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.) +
50 ml de (75.0 g de H_3BO_3 dans 5 l.) +
25 ml de (76.0 g de $\text{MnSO}_4, \text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.) +
25 ml de (12.50 g de $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.) +
25 ml de (50.0 g de $\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.)
dans 5 l. ==> 200 ml / 20 l. bac
- ☒ D universelle : 150 ml de (23.33 g de fer chélate EDDHA dans 1 l.) directement dans les 20 l. du bac

• Solution nutritive carencée en soufre

- ☒ A universelle : 20 ml de (3660.3 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.)
Directement dans les 20 litres du bac
- ☒ B universelle : 500 ml de (544.4 g de KH_2PO_4 dans 5 l.) +
500 ml de (261.3 g de K_2HPO_4 dans 5 l.)
dans 5 l. ==> 200 ml / 20 l. bac
- ☒ C soufre : 1 litre de (1920.9 g de KNO_3 dans 10 l.) +
500 ml de (58.4 g de NaCl dans 5 l.) +
500 ml de (961.5 g de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2, 6\text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.) +
500 ml de (200.1g de NH_4NO_3 dans 5 l.) +
50 ml de (2.50 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.) +
50 ml de (75.0 g de H_3BO_3 dans 5 l.) +
25 ml de (72.75 g de $\text{MnCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$ dans 5 l.) +
25 ml de (5.0 g de CuCl dans 5 l.) +
25 ml de (24.10 g de ZnCl_2 dans 5 l.)
dans 5 l. ==> 200 ml / 20 l. bac
- ☒ D soufre : 150 ml de (2.41 g $\text{C}_4 \text{H}_6 \text{O}_4 \text{Fe}$ dans 2 l.) directement dans les 20 l. du bac

Il est à noter que ces solutions ne correspondent pas intégralement aux modèles Coïc-Lesaint. Elles sont modifiées, afin d'annuler les apports de soufre sous forme sulfates (selon Delmotte et all 1997, Bourrié 2006) dans la solution carencée.