

Année - Nom de Cochrane

A R. Guennelon, en  
toute amitié

TH-CE11

Mariotti

# THÈSE

## DE DOCTORAT D'ÉTAT ÈS SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

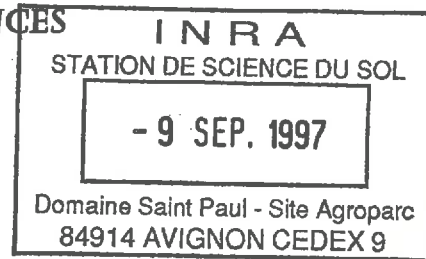
- Paris 6 -

par

**André MARIOTTI**

pour obtenir le grade de

DOCTEUR ÈS SCIENCES



## APPORTS DE LA GÉOCHIMIE ISOTOPIQUE A LA CONNAISSANCE DU CYCLE DE L'AZOTE

Soutenue le 26 Avril 1982, devant le jury composé de :

MM. R. LETOLLE *Président, Rapporteur*  
J. BOULEGUE *Rapporteur*  
D.H. KOHL »  
G. BOCQUIER *Examineur*  
G. CATROUX »  
J.-C. FONTES »  
S. HENIN »



**Unité d'Enseignement et de Recherche des Sciences de la Terre  
4, place Jussieu - 75230 Paris cedex 05**

Cet ouvrage appartient à une série intitulée :

**Mémoires des Sciences de la Terre**  
**Université P. et M. CURIE PARIS**

**Référence bibliographique : *Mém. Sc. Terre Univ. Curie, Paris, n° 82-13***

Tout ou partie de ce mémoire ou de tout autre mémoire de la collection des Sciences de la Terre de l'Université Pierre et Marie Curie de Paris, peut être obtenu en reproduction.

Pour tous renseignements et tarifs s'adresser à :

**C. N. R. S.**

**Centre de Documentation Scientifique et Technique**

26, rue Boyer

75971 PARIS CEDEX 20 - FRANCE

Tél. 358.35.59 - Télex CNRSDOC 220 880 F

AVANT-PROPOS

## AVANT - PROPOS

Au terme de la rédaction d'une thèse, c'est un devoir agréable d'exprimer en quelques lignes la reconnaissance que l'on doit à tous ceux dont on a recherché ou rencontré la collaboration. Au delà même de l'expression d'une sincère gratitude, c'est justice d'associer ceux qui ont participé à l'élaboration du travail, voire infléchi son évolution.

Aborder l'étude d'un cycle biogéochimique aussi important et complexe que celui de l'azote impose, si on ne veut pas être taxé de prétention, de rechercher des collaborations: elles furent ici très nombreuses. A cet égard, on comprendra que la rédaction de ce mémoire n'est pas marquée au sceau d'une forme du pluriel de majesté: derrière ce "nous", maints visages se dessinent, de nombreuses heures de travail collectif s'évoquent, il témoigne enfin de sincères amitiés.....

Avant le jugement de la collectivité scientifique, certaines personnalités, composant le jury, acceptent la responsabilité et la tâche de lire, corriger, améliorer et estimer la valeur d'un manuscrit qui devient une thèse. La diversité des thèmes abordés dans cette étude: Géochimie fondamentale, Hydrogéologie, Pédologie, Sédimentologie, Microbiologie, Agronomie ... fait de ce jury une assemblée dont l'éclectisme ne cède qu'à la compétence.

René LETOLLE, Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie, a été à l'origine de ce travail, en 1974, à une époque où les données bibliographiques ne laissaient pas présager l'importance du traçage isotopique naturel pour l'étude du cycle de l'azote. Au delà d'une indispensable initiation aux techniques isotopiques, j'ai pu profiter, à son contact quotidien, de sa connaissance quasi-encyclopédique de la Géochimie des isotopes stables. Il n'a cessé de m'encourager tout au long de l'élaboration de cet ouvrage et, en présidant mon jury de thèse, en assume la conclusion. Enfin, il a su, dans une période difficile, me donner les moyens de travail coûteux qui m'étaient nécessaires. Je lui dis ici toute ma gratitude.

Daniel H. KOHL, Professeur à la Washington University, à St Louis, anime depuis plus d'une décennie une équipe de recherche sur le thème du cycle isotopique de l'azote. Travaillant au même instant sur des sujets communs, nous devons rapidement nous retrouver: la compétence et la chaude bienveillance que j'ai trouvées auprès du Professeur KOHL et de son *alter ego* Georgia SHEARER, ont été les guides et les soutiens les plus précieux dans ma démarche de chercheur. La présence de Daniel H. KOHL dans ce jury témoigne de sa confiance; j'espère que ce travail pourra le convaincre qu'il n'a pas complètement perdu tout le temps qu'il a consacré, avec Georgia SHEARER, à lire, critiquer et améliorer les différents manuscrits que je leur ai soumis et qui sont devenus des publications.

G. BOCQUIER, Professeur de Pédologie à l'Université Paris VII,

J. BOULEGUE, Professeur de Géologie appliquée et Géochimie à l'Université P.M. Curie,

G. CATROUX, Directeur adjoint de Recherche à l'INRA, Directeur du Laboratoire de Microbiologie des Soils de Dijon,

J.C. FONTES, Professeur d'Hydrologie et Géochimie isotopique à l'Université Paris XI,

S. HENIN, Directeur de Recherche honoraire à l'INRA, Membre de l'Académie d'Agriculture,

ont accepté de participer au jury, après avoir, sans compter leur temps, assumé la charge d'une lecture critique et constructive du manuscrit. La dette que j'ai contractée auprès d'eux témoigne de l'intérêt qu'ils ont pris au sujet: à cet égard, elle m'est très précieuse.

Vouloir remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à ce travail, sans n'oublier personne, relève de la gageure: que l'on veuille bien m'excuser par avance des oublis involontaires de cette liste.

Mes premières discussions scientifiques sur ce sujet très spécialisé sont à l'origine d'une amitié précieuse: Gérard GUIRAUD, du Service de Radio-Agronomie du CEA à Cadarache a toujours encouragé mon entreprise et et m'a fait bénéficier de son expérience des techniques isotopiques en marquage artificiel, expérience dont il va bientôt, dans sa thèse en cours de préparation, faire profiter la communauté scientifique.

Le sujet abordé devait me conduire tout naturellement à prendre des contacts avec des chercheurs de l'INRA. Les premières collaborations se sont nouées avec Noëlle AMARGER et Jean Claude MULLER: ils m'ont honoré de leur confiance et, je crois, de leur amitié. On reconnaîtra dans ce travail la qualité de leur collaboration.

Rapidement des programmes de recherche se sont établis avec d'autres chercheurs et techniciens, dans diverses Stations de l'INRA: - à Châlons sur Marne, où j'ai toujours reçu le meilleur accueil du Directeur de la Station, M. P.DUTIL, avec R.DURAND, J.L.BALLIF et E.MARNE; - à Dijon avec J.C.GERMON, R.CHAUSSOD et B.NICOLLARDOT; - à Laon avec J.C.REMY et B.MARY; - à Versailles avec Mme R.BONIFACE.



A l'Institut National Agronomique, M. le Professeur R.MOREL, M.LINDEMANN (Grignon); A.& P.TARDIEUX et P.KAYSER (Paris) ont mis à ma disposition leurs dispositifs expérimentaux ou réalisé les délicates cultures microbiennes qui m'étaient nécessaires.

Le Directeur du Centre de Pédologie Biologique du CNRS, M. le Professeur B.SOUCHIER m'a ouvert l'accès à ses laboratoires où d'étroites collaborations se sont amorcées avec S.BRUCKERT, F.TOUTAIN et J.C.VEDY. L'ancien Directeur de ce Centre, M. le Professeur Ph.DUCHAUFOUR, dans sa studieuse retraite, Lucile JOCTEUR-MONROZIER et Francis ANDREUX, au CPB, ont accepté de relire le chapitre concernant l'évolution isotopique de l'azote dans la matière organique des sols: leurs observations et critiques en ont guidé la rédaction définitive: je leur exprime ici ma sincère reconnaissance.

Pierre HUBERT, du Centre d'Informatique Géologique de l'ENSM à Fontainebleau m'a prêté son concours pour les traitements mathématiques et statistiques de mes résultats: c'est un gage de leur qualité.

Les contacts avec mes collègues universitaires furent nombreux: je citerai en particulier ceux noués: - à l'Université Paris XI, avec M. le Professeur A.MOYSE et Mlle M.L.CHAMPIGNY; - à l'Université libre de Bruxelles, avec Gilles BILLEN et Ch.LANCELOT, membres de l'équipe de M. le Professeur R.WOLLAST.

Enfin, j'ai rencontré auprès du groupe de l'Institut d'Hydrologie et Climatologie animé par André CHESTERIKOFF, le soutien le plus efficace pour la réalisation de nombreuses analyses chimiques.

Je remercie les différents organismes qui ont apporté leur concours aux expérimentations décrites dans ce mémoire: - le CTGREF, dont les principaux interlocuteurs furent MM. G.OBERLIN et R.BELAMIE qui ont mis à ma disposition l'infrastructure des Bassins de l'Orgeval; - l'IFP en la personne de MM. B.DURAND et J.P.BOUDOU; - les SRAE, notamment celui de la région de Paris et tout particulièrement M. B.RUBIOLLO; - la Chambre d'Agriculture du Loiret et le Directeur de son Laboratoire d'analyses chimiques, M. M.De SOUMAGNAT. Sans l'aide efficace du BRGM, maintes études sur le terrain eussent été impossibles: à cet égard la collaboration de MM. C.MEGNIEN, G.BERGER, A.MARCE et N.DESPRES me fut des plus précieuses.

Les Agences de Bassin Seine-Normandie, Loire-Bretagne et Rhin-Meuse ont été à l'origine, par leur soutien financier, du développement d'une unité de recherche isotopique sur l'azote au Laboratoire de Géologie dynamique. Je remercie pour leur confiance MM. les Directeurs de ces organismes ainsi que MM. A.LESOUF, R.DELOUVEE, A.RECEVEUR, Ph.CROUZET et S.RAMON.

J'ai également reçu le soutien financier:

- du CNRS dans le cadre de l'ERA 604, dont je remercie le Directeur, M. le Professeur A.JAUZEIN et de l'ATP "Géochimie", dont le responsable était M. le Professeur M.JAVOY;
- du Ministère de l'Environnement où M. J.P.CARBONNEL m'a toujours réservé le meilleur accueil;
- de la DGRST dans le cadre de l'Action concertée "Fixation biologique de l'azote".

J'ai eu la chance de diriger les thèses de 3ème cycle de quatre étudiants des DEA des Sciences de l'Eau et de Pédologie. Successivement Achour Ben HALIMA, Daniel PIERRE, Marie-Christine DUTRIAX et Anne LECLERC ont fait un bout de chemin avec moi. Ils reconnaîtront dans de mémoire leurs influences et leurs apports. A tous quatre, j'adresse mes plus sincères remerciements et vœux de réussite dans leur vie professionnelle.

Je n'oublierai pas toute l'équipe du Laboratoire de Géologie dynamique, le concours de B.BLAVOUX, J.CARBONE, A.CHALAMET, M.DRAY, J.C.FARDEAU, A.FEHRI, R.GONFIANTINI, P.HOREMANS, C.JUSSERAND, R.KARAMANOS, C.MARTINET, F.MELIERES, L.MERLIVAT, G.ODIN, P.OLIVE, A.PERSON, Y.PEYRE, C.PIERRE, G.PIZELLE, A.M.ROBIN, N.WALKER, G.M.ZUPPI et je remercie les lecteurs anonymes des textes soumis pour publication, pour leurs conseils et critiques.

La frappe du manuscrit a été réalisée par Mlle S.DAMATHA, assistée de Mlles L.HOINARD et A.DINDELEUX. La frappe définitive et l'impression ont été confiées, au Centre de Recherches Géodynamiques, à Mme M.BOUVET et Mlle A.M.CHIARA.

Je remercie enfin tous les habitants du village de Soccia, en Corse, qui ont créé, par leur calme complicité, les conditions les plus favorables à la rédaction.

Une thèse de Doctorat d'Etat se construit sur un dossier analytique étoffé. Derrière chacune des analyses de ce travail, on retrouve une personne dont la discrétion et la gentillesse n'ont d'égales que la compétence: c'est à Josiane GUILLEMOT que l'on doit aussi ce mémoire. Dans cette tâche, elle fut secondée par Patrick LECOLLE et, plus récemment par Micheline GRABLY.

Enfin, j'ai reçu la collaboration précieuse de mon épouse, tant au Laboratoire par son activité de recherche, qu'à chacune des étapes de la rédaction du mémoire. Il m'est impossible, en quelques mots, de lui exprimer ici publiquement toute mon affectueuse reconnaissance....

CHAPITRE 1 : LE CYCLE DE L'AZOTE ET LE TRACAGE ISOTOPIQUE NATUREL

## CHAPITRE 1

### 1.1. - INTRODUCTION - GENERALITES

## 1.1. - INTRODUCTION - GENERALITES.

Antoine Laurent de LAVOISIER (1743-1794) a nommé AZOTE ("sans vie") l'élément constituant essentiel de l'atmosphère : en effet, contrairement à l'oxygène, deuxième composante de la masse atmosphérique, la molécule  $N_2$  ( $N \equiv N$ ) est, en première approximation, incapable de contribuer directement au métabolisme des organismes vivants.

On mesure le paradoxe et l'ironie involontaire attachés à cette appellation : l'azote, élément essentiel des protéines (notamment les enzymes), macromolécules provenant de la polymérisation d'acides aminés selon l'ordre du code génétique propre à chaque individu, est une nécessité absolue à toute forme de vie ; facteur limitant de la croissance des végétaux et des animaux, c'est une des causes essentielles contribuant au déficit des ressources alimentaires de la planète.

Ce paradoxe s'explique aisément : si l'azote moléculaire, sous forme  $N_2$ , découvert par LAVOISIER, compose environ 80 % de la masse atmosphérique, cette forme est tellement inerte chimiquement qu'elle n'est pas métabolisable pour la majorité des organismes vivants\*. L'azote ne peut entrer aisément dans les systèmes biologiques par la voie des chaînes trophodynamiques que sous forme combinée avec d'autres éléments : l'usage a consacré le terme de fixation pour désigner cette combinaison. Cette fixation, à la base de l'industrie des engrais, peut être effectuée de nos jours industriellement par réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac, en présence d'hydrogène (procédé de Fritz HABER et Karl BOSCH).

L'azote est un élément relativement peu abondant sur Terre, comme dans l'Univers (tableau 1-1) : il semble que la cause réside dans sa structure nucléaire, moins stable que celle des éléments de masse voisine, carbone ou oxygène.

---

\* Certaines bactéries libres et végétaux supérieurs vivant en association symbiotique ou non avec des bactéries (Légumineuses par exemple) étant toutefois capables de fixer l'azote moléculaire atmosphérique.

Abondance relative de l'azote dans divers milieux en p.p.m.	
Cosmos	2-6
Soleil	3000
Météorites	1
Roches ultrabasiques	1
basiques	20
granitiques	20
Schistes	20
Carbonates	60-720
Sols	1000
Eau de mer	0,5
dont :	
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10 <sup>-3</sup> à 0,7
N organique	0,03 à 0,2
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	< 10 <sup>-4</sup>
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,05 à 0,005

Abondance absolue sur Terre	
Hydrosphère	≈ 10 <sup>10</sup> t
Lithosphère	≈ 57.10 <sup>15</sup> t
Sédiments frais + sols	≈ 4,5.10 <sup>12</sup> t
Atmosphère	3,86.10 <sup>15</sup> t

Abondance dans les composés organiques (%)	
Phytoplancton	3
Zooplancton	10
Plantes continentales	2,8
Humus	3,5
Lignite	0,8
Bois	1
Charbon bitumineux	0,8
Graisses	0,6
Protéines	18

Composés dans l'atmosphère (% volume)	
N <sub>2</sub>	75,53
N <sub>2</sub> O	2,5 à 6.10 <sup>-5</sup>
NO <sub>2</sub>	< 3.10 <sup>-7</sup>
NH <sub>3</sub>	< 1,9.10 <sup>-6</sup>

Tableau 1-I : Abondance de l'azote dans divers milieux.

*In LETOLLE (1974), tiré essentiellement de RÖSLER et LÄNGE (1972), (modifié par les données de BECKER et CLAYTON, 1977 ; SWEENEY et al., 1978).*

Sur Terre, l'essentiel de l'azote compose la masse atmosphérique, résultant de l'adjonction à l'atmosphère primitive, au cours des temps géologiques, du produit de dégazage des roches endogènes amenées à la surface et soumises à l'altération. Cette situation s'oppose à celle des planètes voisines : Vénus dont la teneur en azote de l'atmosphère est proportionnellement plus basse, la plus grande partie étant composée de  $\text{CO}_2$  (sur Terre fixé sous forme de carbonate ou dissocié en  $\text{O}_2$  et C réduit) ; Mars où l'azote a été moins bien retenu du fait de la pesanteur que les gaz plus denses,  $\text{CO}_2$ , A, constituants essentiels de l'atmosphère martienne.

Nous rappellerons rapidement un certain nombre d'éléments essentiels du cycle biogéochimique de l'azote, avant d'envisager le comportement spécifique de l'isotope stable le plus rare de cet élément, l'azote 15.

#### 1.1.1. - CARACTERISTIQUES CHIMIQUES DE L'AZOTE. DIAGRAMMES DE STABILITE.

L'azote occupe, dans la classification périodique, la colonne V A ; sa structure électronique est représentée par  $1s^2, 2s^2, 2p^3$  ; son électro-négativité dans l'échelle de PAULING est de 3 ; enfin, ses degrés d'oxydation varient de - 3 ( $\text{NH}_4^+$ ) à + 5 ( $\text{NO}_3^-$ ). Il est présent dans les êtres vivants, associé aux molécules organiques (il représente 4 à 6 % du poids sec d'un animal) ; on le rencontre également, sous forme organique, dans les sols et les sédiments. Les formes minérales essentielles sont  $\text{N}_2, \text{NH}_4^+, \text{NO}_2^-, \text{NO}_3^-$  ; des formes moins fréquentes peuvent se rencontrer dans l'atmosphère ( $\text{NH}_3$ , oxydes d'azote). Nous avons représenté, sur la figure 1.1, les domaines de stabilité des diverses espèces minérales azotées, en solution aqueuse.

La très faible réactivité de la molécule diatomique  $\text{N}_2$  et la lenteur de la plupart des réactions d'interconversion purement chimiques de  $\text{N}_2$  avec les autres formes minérales de l'azote permettent une simplification du système en considérant la forme  $\text{N}_2$  comme inaccessible aux transformations et, en conséquence, en négligeant cette espèce. On peut ainsi établir un diagramme (B de la figure 1-1) en considérant les autres formes minérales comme métastables par rapport à  $\text{N}_2$ . Ce diagramme est plus proche de la réactivité réelle du système de l'azote, faisant en particulier apparaître l'espèce  $\text{NO}_2^-$  (nitrites) susceptible d'être rencontrée dans les milieux naturels, on le verra, comme intermédiaire de l'oxydation de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NO}_3^-$  (nitrification) ou de la réduction de  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{N}_2$  (dénitrification *sensu stricto*).

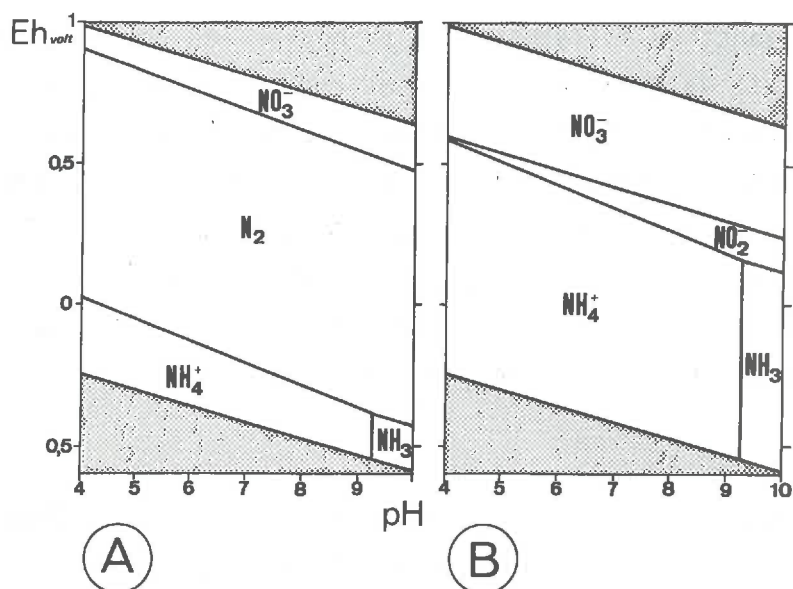


Figure 1-1 : Diagrammes Eh-pH de stabilité des principales formes minérales de l'azote en solution aqueuse (t = 25°C).

A : équilibre thermodynamique

B : diagramme caractérisant l'existence d'état métastable excluant N<sub>2</sub>.

En fait, les transformations purement chimiques des formes minérales de l'azote sont, pour la plupart, extrêmement lentes\* et l'essentiel du comportement de cet élément dans les milieux naturels est conditionné par des catalyses enzymatiques microbiologiques rendant le système très réactionnel et donnant aux transformations de l'azote un "turn-over" très important.

### 1.1.2. - LE CYCLE DE L'AZOTE.

L'apparition de la vie sur terre est liée à la genèse d'azote combiné à partir du réservoir atmosphérique *via* les processus de la fixation qui aboutissent à la synthèse de matière organique. Or, au cours des temps géologiques, il n'y a pas eu accumulation de cette matière organique à la

---

\* Le diagramme A de la figure 1-1 montre que, à l'équilibre, dans les conditions de Eh et de pH de la surface en présence d'oxygène, la forme thermodynamiquement stable est le nitrate et non l'association N<sub>2</sub> + O<sub>2</sub> : la vitesse de cette réaction est, heureusement, infiniment lente.

surface du globe : elle subit en effet des dégradations au cours desquelles l'azote passe à l'état minéral, voire élémentaire : on aboutit ainsi à la notion du *cycle de l'azote*, dont on trouvera une représentation imagée sur la figure 1-2.

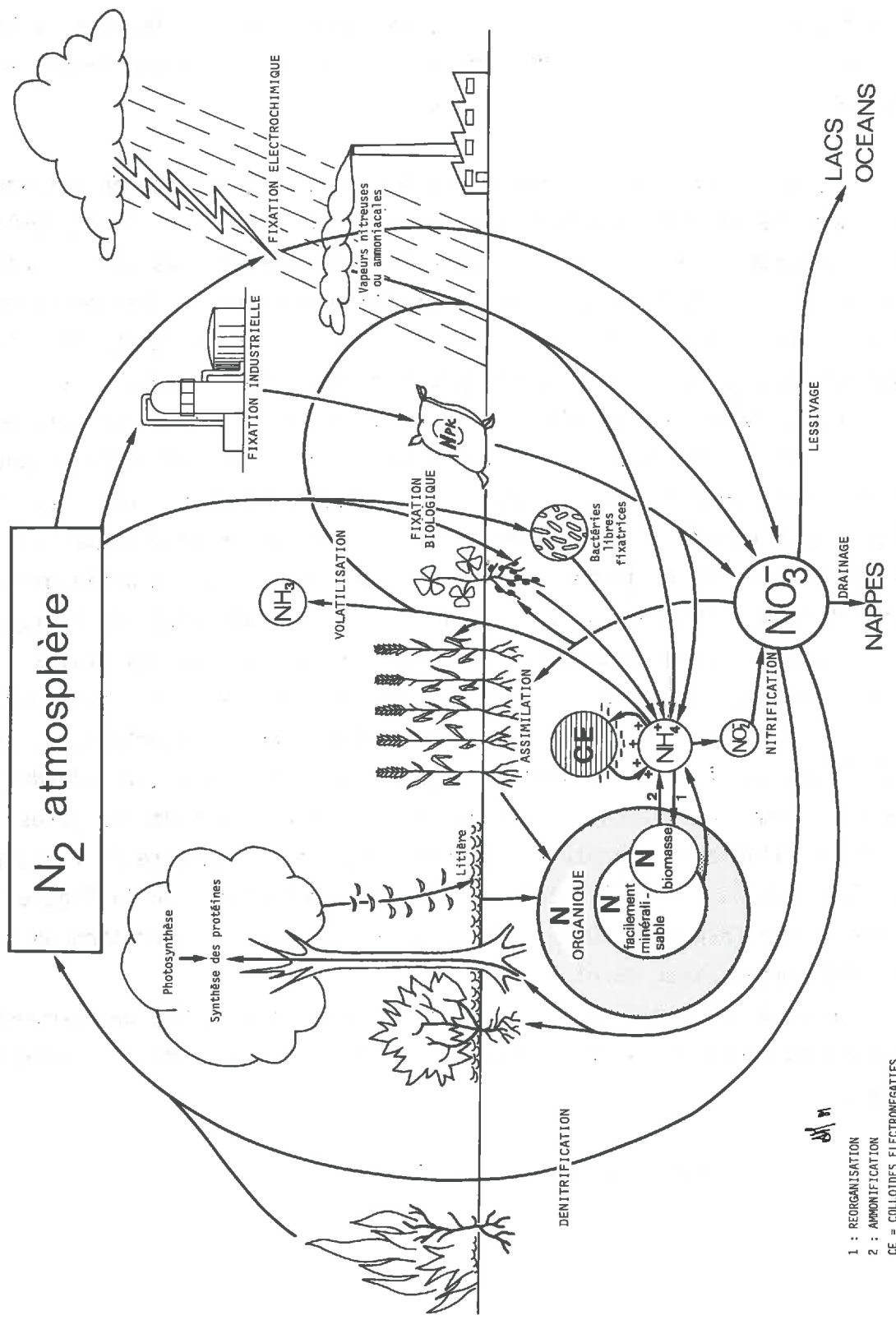
A) La *fixation* est le phénomène qui permet le passage de cet azote gazeux en azote combiné. Avant la mise au point du procédé HABER et BOSCH de fixation industrielle, qui fut à la base de l'utilisation des engrais azotés en agriculture, cette fixation était réalisée uniquement par les organismes fixateurs : bactéries libres (*Azotobacter*, *Azospirillum*) ou bactéries vivant en association, quelquefois symbiotique, avec des végétaux supérieurs (ex. *Rhizobium* avec les Légumineuses : les bactéries disposent des glucides fournis par la légumineuse et en échange cette dernière peut utiliser des composés azotés secrétés par la bactérie). Cette fixation naturelle est à l'origine de l'essentiel du pool de matière organique de la planète. Il existe également des fixations naturelles électrochimiques et photochimiques produisant dans l'atmosphère, par combinaison de  $N_2$  avec l'eau ou l'oxygène,  $NH_3$ ,  $N_2O$  et des oxydes supérieurs qui retournent au sol par les pluies ; ces réactions endothermiques sont catalysées par la foudre et les rayons U.V.

La réaction de fixation représente donc, pour l'essentiel, le passage de l'azote de l'état d'oxydation 0 ( $N_2$ ) à l'état d'oxydation -3 ( $NH_3$ ). Plusieurs schémas réactionnels conduisant à l'ammoniac ont été proposés : réduction préalable de l'azote en di-imine, oxydation première de l'azote en  $N_2O$  (cf. résumé *in* MARTIN, 1979). Nous représenterons, sur la figure 1-3 un autre schéma (HARDY et BURNS, 1968) faisant état de l'apparition de complexes métalliques avec Mo et Fe.

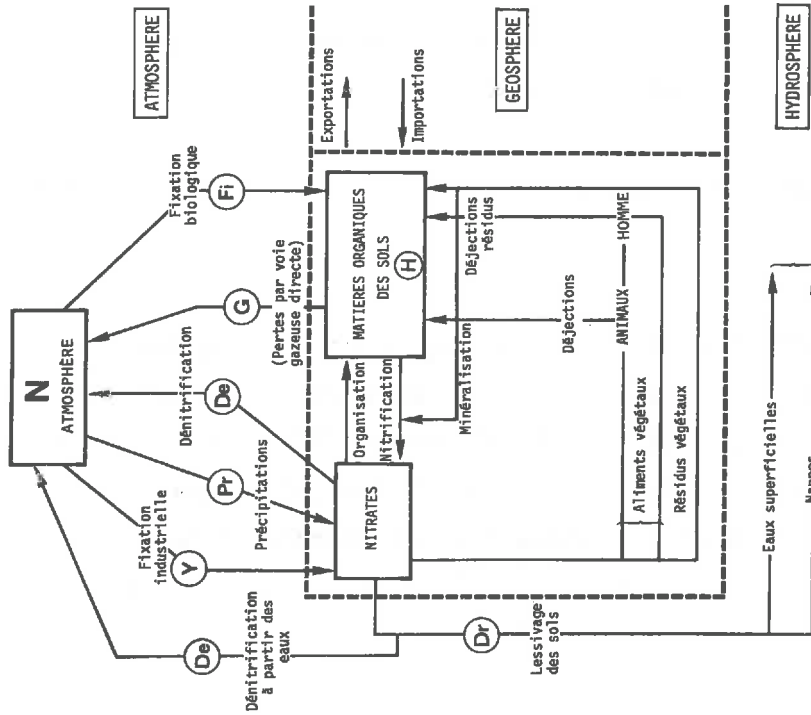
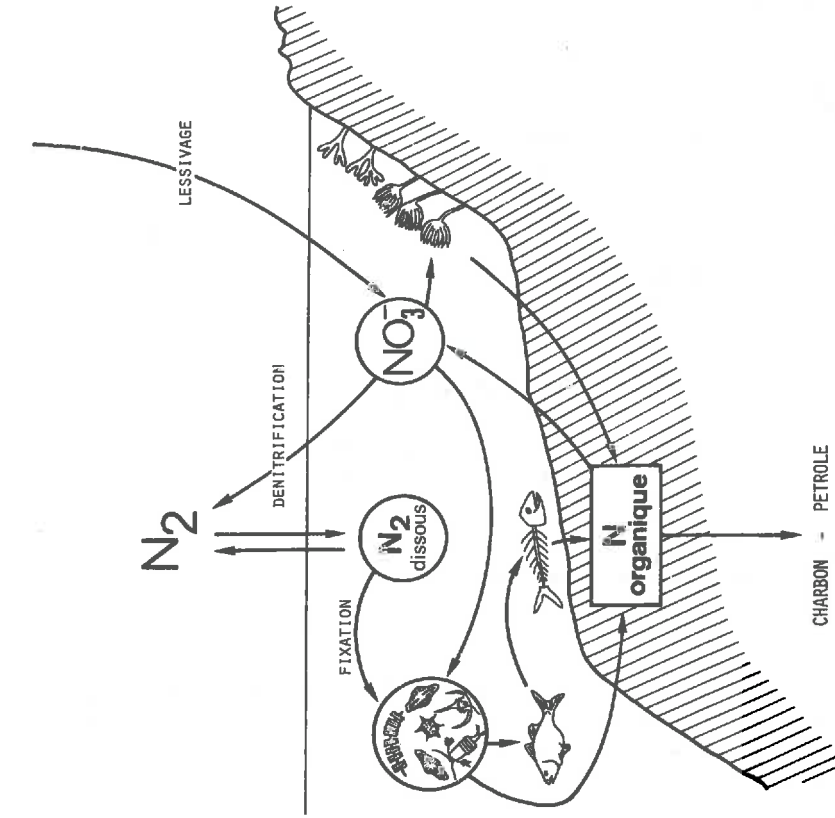
L'ammoniac formé sera alors utilisé pour la synthèse des composés protéiques au cours de la phase d'assimilation, étape suivante du cycle de l'azote :







1 : REORGANISATION  
2 : AMMONIFICATION  
CE = COLLOIDES ELECTRONEGATIFS



LE FONCTIONNEMENT DU CYCLE DE L'AZOTE A L'ECHELLE D'UNE UNITE DE SURFACE TERRESTRE EST DECRIT PAR L'EQUATION (HENIN, 1981) :

$$Pr + Fi + k_1 H + Y + m X_1 = De + Dr + X_2$$

[  $k_1$  = coefficient de décomposition de l'humus ;  $m X_1$  = quantité d'azote de la récolte de l'année précédente mise à la disposition de la récolte de l'année ;  $X_2$  = azote présent dans la récolte de l'année. ]

Figure 1-2 : Le cycle de l'azote.

Reproduit de HENIN, 1981.

(inspiré graphiquement de DUVIGNEAUD, 1974).

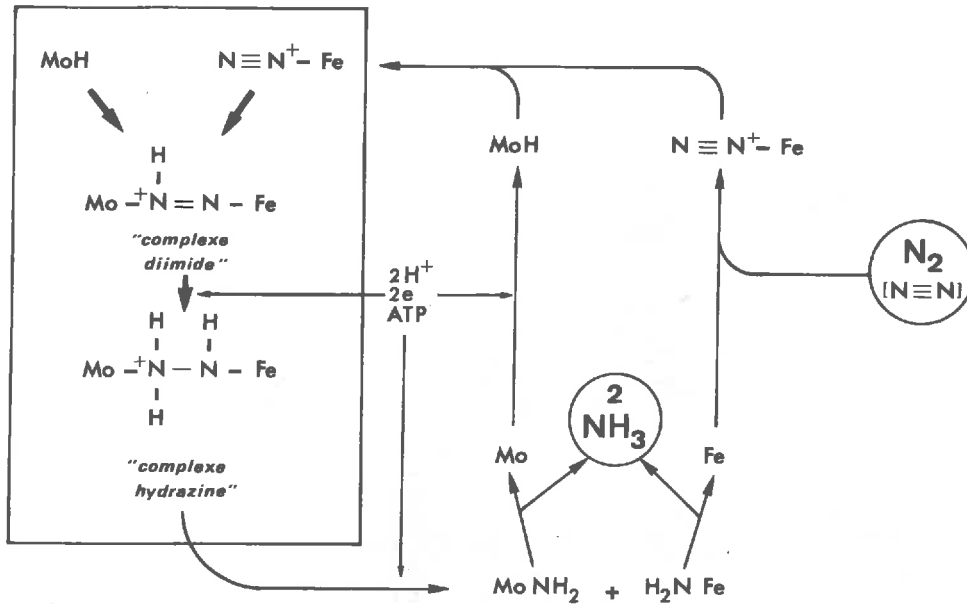
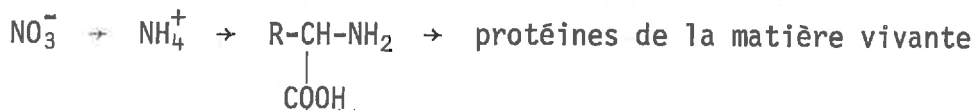


Figure 1-3 : Mécanisme réactionnel conduisant à la formation de  $NH_3$  au cours de la fixation biologique de l'azote atmosphérique, faisant intervenir la formation de complexes métalliques avec Mo et Fe (adapté d'après HARDY et BURNS, 1968).

B) Assimilation. Réorganisation.

C'est la transformation de matière azotée minérale (ou, éventuellement, organique inerte) en matière vivante.



Elle peut s'effectuer à partir de  $NH_3$  ou de  $NO_3^-$ , ce dernier devant être au préalable réduit avant assimilation. Cette réduction est catalysée par des enzymes : successivement nitrate-réductase ( $NO_3^- \rightarrow NO_2^-$ ) puis nitrite-réductase. Ces réactions sont endothermiques, l'énergie provenant des transporteurs classiques : phosphates d'adénosine. La première étape de la synthèse organique est la fixation de  $NH_4^+$  sur l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique aboutissant à la formation de l'acide glutamique.

Les végétaux supérieurs assimilent pour la plupart le nitrate, certains, comme le riz, préfèrent la forme ammoniacale. Beaucoup de micro-organismes, bactéries, champignons, assimilent  $\text{NH}_4^+$  préférentiellement à  $\text{NO}_3^-$ \*. Certains travaux ont montré que la réduction de  $\text{NO}_3^-$  est supprimée en présence d'ammoniac : l'assimilation de  $\text{NO}_3^-$  reprend lorsque  $\text{NH}_4^+$  est totalement assimilé. L'utilisation préférentielle de l'ammonium par ces microorganismes peut s'interpréter aisément sur le plan énergétique : c'est un court-circuit dans la synthèse des protéines qui permet d'éviter la dépense d'énergie (environ 325 kJ/mole  $\text{NO}_3^-$  à 25°C) nécessaire à la réduction de l'azote nitrique en azote ammoniacal.

L'azote entre dans la composition de la matière organique vivante essentiellement sous forme de groupes aminés, où l'azote se trouve à l'état d'oxydation -3. Le catabolisme de cette matière organique s'effectue par désamination enzymatique et conduit, dans le règne animal, à l'excrétion d'azote sous forme ammoniacale, sans variation du degré d'oxydation, chez les organismes aquatiques, sous forme d'urée, d'acide urique, d'allantoïne, d'acide allantoïque chez les organismes terrestres, ce qui représente une adaptation physiologique permettant la détoxification de l'ammoniac dans le milieu terrestre où sa dilution instantanée dans un grand volume d'eau n'est pas possible.

D'autre part, l'azote organique des êtres vivants retourne au sol après leur mort, les végétaux composant la litière. Cet azote organique présente un double devenir :

- d'une part il acquiert des liaisons stables avec la fraction minérale du sol pour constituer une matière organique stabilisée : on donne à ce processus le nom d'*humification*,
- d'autre part il peut subir des transformations microbiennes le portant sous forme ammoniacale : on nomme ce processus *minéralisation ou ammonification*.

c) *Minéralisation (ou ammonification)*.

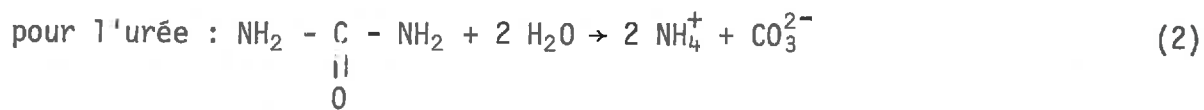
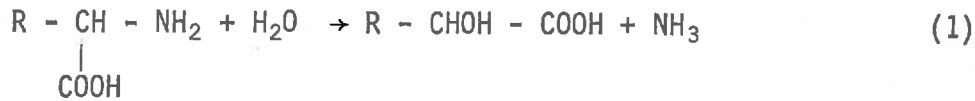
Cette transformation est le fait de germes très nombreux et de certains enzymes libres (uréase par exemple). L'azote organique du sol ne présente pas un comportement homogène vis-à-vis de ce processus : on pourra

---

\* L'assimilation d'azote minéral par les microorganismes est appelée *réorganisation (ou immobilisation)*.

Il y a des compartiments plus sensibles à la transformation : on parlera alors d'azote aisément minéralisable. Dans le sol, la biomasse microbienne élaborée par assimilation pourrait constituer une fraction importante de cet azote minéralisable aisément.

Parmi les réactions conduisant à la formation de  $\text{NH}_3$ , on peut citer les désaminations (oxydatives ou réductives) (1), l'hydrolyse, par exemple celle de l'urée par *Micrococcus ureae* (2) :



D'une manière générale, la minéralisation s'écrit :

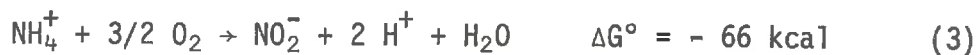


Dans des conditions aérobies, cet ammoniac peut subir une oxydation et passer du degré -3 au degré +5 (nitrate). Cette transformation, qui est essentiellement le fait de microorganismes autotrophes, est la *nitrification*.

#### D) Nitrification.

On peut distinguer deux étapes principales à ce processus :

a. - La *nitritation* ( $\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^-$ ) est réalisée par les bactéries nitreuses (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*).



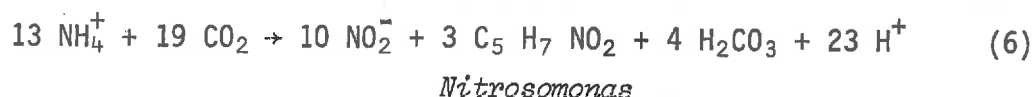
b. - La *nitratation*, oxydation de l'ion nitrite en ion nitrate, est réalisée par des bactéries nitriques (ex : *Nitrobacter winogradskyi*)



Les genres bactériens évoqués ci-dessus sont aérobies stricts, chimio-lithotrophes obligatoires, ils utilisent l'oxydation de leur substrat minéral comme source d'énergie et le CO<sub>2</sub> comme source de carbone. L'équation globale de la nitrification s'écrira :



L'énergie produite par l'oxydation de l'ammoniac est utilisée pour la synthèse de protoplasme et la formation de nouvelles cellules bactériennes. Si on assimile la matière vivante de ces cellules à la formule C<sub>5</sub> H<sub>7</sub> NO<sub>2</sub>, la réaction de nitritation accompagnée de la synthèse bactérienne s'écrit :



Le taux de croissance de *Nitrobacter* est plus élevé que celui de *Nitrosomonas* : la vitesse limitante du processus de nitrification sera donc le plus souvent celle de la nitritation. Ce taux de croissance est décrit par une équation de Michaelis à deux substrats, N ammoniacal et oxygène. Le pH optimum pour la nitrification semble se situer vers des valeurs de l'ordre de 8.

On peut toutefois concevoir dans le sol des devenir autre que la nitrification, à l'azote ammoniacal :

- dans des conditions de pH élevé, il peut y avoir *volatilisation de l'ammoniac*, NH<sub>3</sub> : ceci peut se passer par exemple dans des sols calcaires ou encore au cours de processus de fermentation de composés organiques : on estime par exemple que les pertes d'azote par cette voie peuvent atteindre 30 % dans le fumier (POCHON et DE BARJAC, 1958 ; on consultera également CATROUX et GERMON, 1981),
- dans les sols, *l'ion ammonium peut être adsorbé sous forme échangeable sur les colloïdes électro-négatifs du sol (argiles, complexe argilo-humique) ou encore fixé sur les argiles* : cette fixation résulte du remplacement par NH<sub>4</sub><sup>+</sup> des cations Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, retenus sur des sites au contact de la phase liquide. L'ammonium, comme le potassium, peut d'autre part être piégé entre les feuillets des argiles de type 2-1 : on dit qu'il est rétrogradé. L'accessibilité de cet ammonium à la métabolisation (nitrification, assimilation) varie fortement selon ces situations.

- Enfin, dans des milieux fortement réducteurs ou réducteurs et acides, comme les tourbières à Sphaignes par exemple, les conditions (notamment de pH) requises pour l'activité nitrifiante ne sont pas remplies et l'ammonium peut persister dans la solution du sol, d'autant plus qu'il est placé dans des conditions de Eh et pH (cf. figure 1-1) où il se trouve en équilibre thermodynamique.

Dans les conditions aérobies, la forme minérale azotée thermodynamiquement stable est le nitrate (degré d'oxydation +5) ; c'est la forme à laquelle aboutissent les processus d'oxydation, catalysés enzymatiquement par les microorganismes. Le devenir de ce nitrate est soit d'être assimilé par les végétaux supérieurs et certains microorganismes, soit d'être lessivé en fonction d'épisodes hydrodynamiques particuliers.

Dans des conditions anaérobies, une autre voie de transformation de ce nitrate sera le processus de *dénitrification*.

#### E) *Dénitrification*.

Le terme *dénitrification* recouvre plusieurs phénomènes, chimiques ou biologiques.

a. - La *dénitrification* chimique repose sur l'instabilité et la réactivité des sels de l'acide nitreux. Plusieurs mécanismes réactionnels sont possibles : auto-décomposition de l'acide nitreux en milieu acide, désamination nitreuse des amines aliphatiques, décomposition du nitrite d'ammonium, réduction des nitrites par des cations métalliques réduits : ces divers mécanismes exigent un milieu acide.

b. - La *dénitrification* biologique *sensu stricto* est la réduction de l'azote nitrique (degré d'oxydation +5) à l'état d'azote gazeux (degré d'oxydation 0) ou de  $N_2O^*$ .

C'est le principal mécanisme par lequel l'azote combiné peut retourner à l'atmosphère sous forme d'azote moléculaire. Sans cette voie de retour,

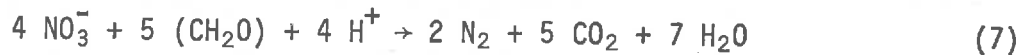
---

\* Pour certains auteurs, on peut définir une *dénitrification* au sens large qui est la transformation des nitrates en composés où l'azote présente un nombre d'oxydation plus faible : dans cette acception du terme, la réduction assimilative (assimilation des nitrates) est aussi une *dénitrification*.

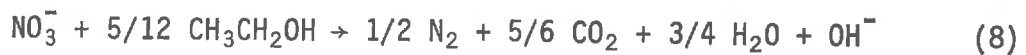
on a pu estimer que le seul enfouissement d'azote organique dans les sédiments marins est susceptible d'épuiser le réservoir d'azote atmosphérique en  $10^8$  années environ (VACCARO, 1965).

Cette réduction dissimilative est réalisée par des bactéries anaérobies facultatives dont le cycle de Krebs fonctionne en anaérobiose avec les nitrates, les nitrites ou l'oxyde nitreux comme accepteur d'électrons : c'est donc un phénomène respiratoire où, en anaérobiose, le nitrate (ou une autre forme oxydée de l'azote) remplace l'oxygène dans le processus d'oxydation de la matière organique du sol : on peut parler d'une "respiration des nitrates".

On peut écrire, du point de vue stœchiométrique, en symbolisant la matière organique par  $(CH_2O)$ , monomère d'un sucre :



ou, en prenant comme matière organique l'éthanol :

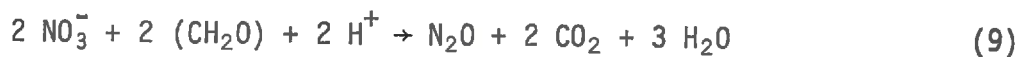


La matière organique joue le rôle de *donneur d'électrons* : on comprendra pourquoi ce processus de dénitrification est conditionné par la matière organique effectivement disponible.

Cette réduction présente en fait plusieurs étapes élémentaires : on retient généralement la séquence réactionnelle suivante :



Les produits gazeux de la dénitrification peuvent être  $N_2O$  et  $N_2$  : pour le stade  $N_2O$  on peut écrire :



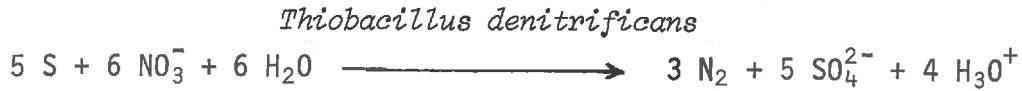
A partir d'hydrate de carbone, il faut théoriquement un atome de carbone pour réduire une mole de  $NO_3^-$  au stade  $N_2O$  et 1,25 atome de carbone pour la réduction au stade  $N_2$ .

Le pH optimum de dénitrification semble se situer vers 7 à 8,5 , le pH influence les produits de la réaction ( $N_2O$  ou  $N_2$ ).

Alors que la nitrification diminue l'alcalinité (équations 3, 5, 6), la dénitrification l'augmente (équation 8).



Enfin, la dénitrification biologique qui n'est ci-dessus envisagée que par voie hétérotrophique utilisant un substrat carboné, peut être autotrophe, le composé oxydable étant le soufre (MARTIN, 1979). Par exemple en anaérobiose on peut obtenir :



Notre résumé serait incomplet si nous n'évoquions pas rapidement - les phénomènes de réduction dissimilative incidente : certaines bactéries capables de fermenter les hydrates de carbone peuvent réduire, en anaérobiose, le nitrate en nitrite, - la réduction dissimilative du nitrate en ammonium (genre *Clostridium*) dont on ne sait encore avec certitude si elle correspond à un excédent du processus assimilatoire ou à un processus respiratoire élémentaire.

La réaction inverse de la dénitrification, soit l'oxydation de  $\text{N}_2$  en  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$  ne semble catalysée par aucun microorganisme (de même que l'oxydation directe de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{N}_2$ ).

#### F) Flux de transfert dans le cycle de l'Azote.

Sur la figure 1-4, inspirée de HENIN (1981), nous avons reporté des estimations récentes synthétisées dans l'ouvrage de ROSSWALL (1981, tableau 2-4, pages 42 et 43 : estimates of global Nitrogen transferts) concernant les taux de transfert et d'interconversion entre les différents compartiments du cycle de l'azote. Cette figure doit donner à ce bref rappel des étapes élémentaires de ce cycle, un aspect plus quantitatif.

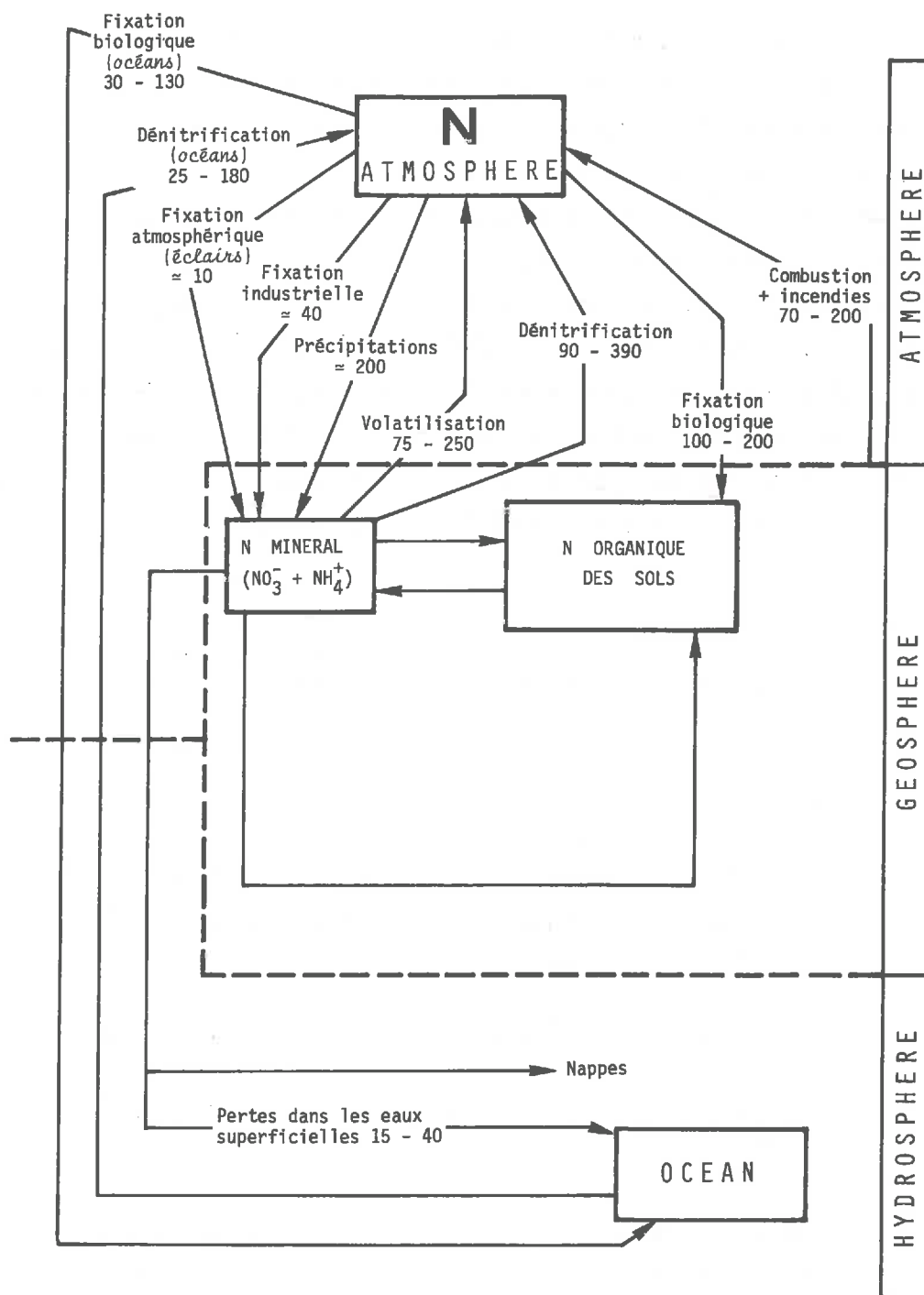


Figure 1-4 : Estimation des flux de transferts de l'azote dans son cycle exprimés en  $10^6$  tonnes.an<sup>-1</sup>.

Les valeurs retenues sont extraites de ROSSWALL (1981) ; seules les données postérieures à 1970 sont prises en considération ; pour les valeurs dont les estimations sont très variables, nous proposons la gamme maximale de cette variation ; dans le cas contraire, nous proposons une valeur moyenne.

1.1.3. - INTRODUCTION A LA GEOCHIMIE ISOTOPIQUE DE L'AZOTE.

Comme pour les autres grands cycles biogéochimiques, l'intimité des divers mécanismes du cycle de l'azote a pu être pénétrée grâce à l'utilisation de traceurs capables dans certains cas de déterminer ou de préciser l'origine de composés et de quantifier des processus.

Dans les recherches utilisant des traceurs, les radio-isotopes sont préférés aux isotopes stables\*. Pour l'azote la difficulté d'utilisation des isotopes radioactifs réside dans le fait qu'ils ont une demi-vie très brève : on constatera sur le tableau 1-II (HAUCK et BREMNER, 1976 ; LETOLLE *in* FRITZ et FONTES, 1980) que le radio-isotope qui présente la plus longue période,  $^{13}\text{N}$ , a une demi-vie de seulement 10 minutes. En dépit de cette difficulté, on note une recrudescence de l'utilisation de  $^{13}\text{N}$  pour des études de phénomènes brefs (NICHOLAS *et al.*, 1961 ; CAMPBELL *et al.*, 1967).

Isotope	Demi-vie	Abondance naturelle (atmosphère) en atome $^{15}\text{N}$ %
$^{12}\text{N}$	0,012 sec.	-
$^{13}\text{N}$	10,05 min.	-
$^{14}\text{N}$	stable	99,6337 $\pm$ 0,0004
$^{15}\text{N}$	stable	0,3663 $\pm$ 0,0004
$^{16}\text{N}$	7,4 sec.	-
$^{17}\text{N}$	4,2 sec.	-

Tableau 1-II : Isotopes stables et radioactifs de l'azote : respectivement abondance naturelle et demi-vie.

L'étude du cycle de l'azote à l'aide de traceurs a donc été abordée essentiellement par le *marquage isotopique artificiel*, utilisant des produits enrichis (ou plus récemment appauvris) en  $^{15}\text{N}$ , isotope stable le plus rare

---

\* Ce qui s'explique par la commodité de mesure et des seuils de détection extrêmement bas. Le tritium par exemple, largement utilisé en hydrologie et hydrogéologie existe dans le milieu naturel, a une abondance isotopique relative de l'ordre de  $10^{-18}$  atome % : il n'eût probablement jamais été découvert dans ces milieux s'il n'avait été radioactif.

de cet élément. La première utilisation de  $^{15}\text{N}$  en Agronomie fut celle de NORMAN et WERKMAN en 1943, et portait sur l'étude de l'assimilation de l'azote par le soja. Depuis, ces études ont largement contribué à la connaissance du cycle de cet élément (HAUCK et BYSTROM, 1970).

Enfin une troisième approche de l'utilisation de traceurs, de développement récent (années 70) et encore peu usitée, consiste à l'utilisation du *traçage isotopique naturel* en prenant en compte de faibles variations dans l'abondance naturelle en  $^{15}\text{N}$ , mesurables néanmoins avec précision grâce à la mise au point de spectromètres de masse spécialement conçus pour cette utilisation. Ces variations sont liées à l'existence de fractionnements isotopiques qui, dans certaines des étapes du cycle de l'azote, entraînent une partition différente des isotopes entre le produit et le réactif.

L'existence de variations dans les abondances des isotopes stables de différents éléments a été reconnue dans les années 1930. La première démonstration expérimentale de l'existence d'un effet (ou fractionnement) isotopique en cinétique chimique date de la découverte, en 1932, par WASHBURN et UREY, de l'enrichissement en deutérium de l'eau (phase liquide) pendant son électrolyse. On citera en outre les travaux de DOLE (1935) sur l'oxygène, la première observation en 1939 de l'existence de fractionnements isotopiques chez les végétaux qui concentrent  $^{12}\text{C}$  préférentiellement à  $^{13}\text{C}$  dans leurs tissus (NIER et GULBRANSON, 1939). La même année, SCHOENHEIMER et RITTENBERG ne peuvent pas démontrer l'existence de fractionnement isotopique entre  $^{15}\text{N}$  et  $^{14}\text{N}$  dans le monde vivant : ils concluent que les processus du métabolisme et du catabolisme azotés se déroulent sans effet isotopique.

L'expérience a montré que la mesure des faibles variations dans les teneurs en isotopes stables d'autres éléments (C, H, O, S) peut être extrêmement utile. Dans certains cas, ces mesures ont fourni des informations inaccessibles aux méthodes conventionnelles de traçage. Dans d'autres cas, elles ont permis l'élaboration d'hypothèses nouvelles sur des mécanismes d'interconversion intervenant dans les transformations des cycles d'un certain nombre d'éléments, hypothèses nouvelles qui ont pu être testées par des moyens d'analyse plus conventionnels. Ainsi, les mesures de variations d'abondance naturelle et les études portant sur les fractionnements isotopiques de ces éléments ont-elles permis d'obtenir des données utiles sur le fonctionnement de ces systèmes. L'utilisation de ces méthodes est une technique reconnue en cinétique chimique (FRY, 1970 ; MELANDER, 1960), ainsi qu'en géochimie (les ouvrages généraux suivants : HOEFS, 1973 ; PILOT, traduction et adaptation

française de R. LETOLLE, 1974 ; FRITZ et FONTES, 1980, fourniront une abondante bibliographie et une vision synthétique de ces travaux).

Les recherches dans le domaine des isotopes stables en abondance naturelle s'orientent sur deux voies principales :

1) Nous nommerons la première "*identification des sources*" : elle consiste à estimer la contribution à un mélange de deux sources d'un même composé, sources différenciées par leur composition isotopique.

Deux conditions obligatoires doivent être remplies pour pouvoir permettre cette estimation :

a. - Il doit exister une différence mesurable de composition isotopique entre les sources ; de l'ordre de grandeur de cet écart dépend, entre autres, la précision de l'estimation.

b. - Cette différence de composition isotopique doit se maintenir au cas où l'élément en considération subit des transformations dans le système étudié : les fractionnements isotopiques accompagnant ces transformations ne doivent pas masquer la différence de composition isotopique originelle. Le cas le plus favorable est, bien sûr, celui où, dans le système étudié, n'interviennent pas de transformations, c'est-à-dire que ce système se limite à un simple mélange. Dans le cas contraire, l'estimation de l'origine est encore possible à condition que les modifications d'abondances isotopiques dues aux effets isotopiques ne soient pas trop importantes et que la connaissance précise de ces derniers permette les corrections voulues.

2) La deuxième voie de recherche est introduite par ce qui précède : elle porte sur la mesure des fractionnements isotopiques attachés aux diverses transformations, dans le cas présent, du cycle de l'azote. Cette recherche se justifie :

- par un intérêt géochimique fondamental,
- par la nécessité de la connaissance de ces effets pour les recherches sur l'identification des sources,
- enfin, par le fait que ces travaux peuvent être considérés comme un moyen d'investigation des processus étudiés : nous verrons que l'altération des abondances isotopiques résultant du fractionnement associé à une réaction peut d'une part être à la base de l'acquisition de données nouvelles sur

Le mécanisme de la réaction étudiée, d'autre part peut permettre d'estimer, dans un système complexe de transformations, la part relative du processus dont on a mesuré l'effet isotopique. On pourrait appeler cette voie de recherche : *"les abondances isotopiques naturelles comme traceurs de mécanisme et de sens d'évolution des systèmes"*.

On trouvera dans les ouvrages généraux cités plus haut des exemples d'application aux isotopes du carbone, de l'oxygène, de l'hydrogène et du soufre, notamment un certain nombre d'applications à des problèmes géologiques et biologiques (photosynthèse, réduction des sulfates, etc...). Pour ce qui concerne l'azote, les premières données précises datent de la fin des années soixante. Il ne sera pas procédé ici à une revue des résultats de la littérature, celle-ci sera effectuée par thèmes plus avant dans le texte.

Pour résumer, nous pouvons dire que dans l'une de ces deux voies de recherche, l'existence du fractionnement isotopique sera à la base de l'acquisition de l'information, alors que dans l'autre, ce fractionnement isotopique est un paramètre défavorable qui vient gêner le chercheur et, quelquefois, rendre son objectif inaccessible\*.

L'existence de cette dualité dans les buts de la recherche sur le traçage isotopique naturel sera le guide de présentation de ce travail.

Il débutera par quelques données sur la notion de fractionnement isotopique, son expression et les méthodes de mesure, puis suivront des rappels brefs, mais fondamentaux, concernant les techniques analytiques spécifiquement développées pour cette étude et leur corollaire : la précision des résultats constituant le dossier analytique.

Comme les recherches portant sur l'identification des sources nécessitent également la connaissance des fractionnements isotopiques, notre premier objectif sera d'effectuer une investigation à caractère systématique des effets isotopiques associés aux différents processus physico-chimiques, mais surtout biologiques, définissant le cycle de l'azote : cette information de base est nécessaire afin de pouvoir espérer utiliser les variations d'abondances isotopiques naturelles en  $^{15}\text{N}$  pour l'étude de ce cycle, comme il a été fait pour d'autres éléments. Nous nous attacherons en particulier à déterminer la gamme de variation dans l'amplitude observée des fractionnements associés

---

\* Remarquons toutefois que dans de telles recherches sur l'identification de sources, une différence originelle de composition isotopique peut être due justement à un fractionnement isotopique ou une série de fractionnements.

à ces transformations et d'étudier ces variations en réponse à la variation de paramètre du milieu. Dans certains cas, ces travaux permettront d'émettre des hypothèses quant au fonctionnement métabolique des systèmes étudiés. Nous présenterons également quelquefois des applications concrètes des conséquences de ces effets isotopiques sur l'étude de l'évolution de systèmes naturels.

La dernière partie de ce travail portera sur l'utilisation de  $^{15}\text{N}$  en abondance naturelle comme traceur d'origine de composés en mélange. Parmi les possibilités offertes par les résultats acquis au cours des sept années passées sur ce sujet, nous retiendrons :

- un exemple à *caractère sédimentologique*, portant sur l'utilisation de  $^{15}\text{N}$  comme traceur de l'origine de la matière organique des sédiments dans le domaine côtier estuarien,
- un exemple à *caractère hydrogéochimique* portant sur le traçage de l'ion nitrate en *hydrologie et hydrogéologie* : une certaine sensibilisation actuelle aux problèmes de pollution par les nitrates fera de ce chapitre un "point chaud" de ce travail,
- enfin, nous terminerons sur un exemple à *caractère plus agronomique* mais dont l'importance scientifique et économique justifie de conclure ce travail : il portera sur l'estimation de la fixation biologique de l'azote atmosphérique par les diazotrophes symbiotiques.

Avant de commencer cet exposé, il n'est pas inutile de rappeler que cette approche du cycle de l'azote ne saurait en aucun cas se substituer à l'utilisation de produits marqués artificiellement en  $^{15}\text{N}$ , méthode qui restera une des principales voies d'accès à la connaissance de ce cycle. La méthode des abondances naturelles est complémentaire et devra être utilisée en association avec cette dernière ; dans certains cas elle apportera des données et permettra des interprétations inaccessibles au traçage artificiel. Nous espérons le montrer dans les pages qui suivent, nous espérons également que les résultats qui y sont développés puissent apporter une contribution pérenne à la connaissance du cycle de l'azote.

Avant tout il nous appartient de rappeler, rapidement, la terminologie concernant l'expression des abondances isotopiques naturelles.



1.1.4. - NOTATION ISOTOPIQUE. UNITES D'EXPRESSION DES ABONDANCES ISOTOPIQUES NATURELLES.

L'abondance en  $^{15}\text{N}$ , exprimée en atome  $^{15}\text{N}$  % est définie par :

$$A = \frac{\text{nombre d'atomes } ^{15}\text{N}}{\text{nombre d'atomes } ^{14}\text{N} + \text{nombre d'atomes } ^{15}\text{N}} \cdot 100 \quad (1)$$

L'abondance isotopique de l'azote atmosphérique est de  $0,3663 \pm 0,0004$  atome  $^{15}\text{N}$  % (JUNK et SVEC, 1958).

Les techniques du *marquage isotopique artificiel* par  $^{15}\text{N}$  conduisent à l'expression des compositions isotopiques en abondance absolue ou en *excès isotopique*, cet excès se définissant comme la différence entre l'abondance isotopique de l'échantillon mesuré et celle de l'azote atmosphérique.

Le spectromètre de masse mesure le rapport des intensités de courants d'ions produits par les deux faisceaux d'ions correspondants aux deux isotopes : il mesure donc un *rapport isotopique*  $R$  qui est celui de  $M/e = 29$  ( $^{14}\text{N}^{15}\text{N}^+$ ) à  $M/e = 28$  ( $^{14}\text{N}^{14}\text{N}^+$ ).

$$R = \frac{[^{14}\text{N}^{15}\text{N}]}{[^{14}\text{N}^{14}\text{N}]} \quad (2)$$

On trouvera très fréquemment dans la littérature une expression de ce rapport isotopique sous la forme  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ , qui ne peut être qu'une simplification d'écriture.

La précision requise pour mesurer et interpréter *les faibles variations d'abondance isotopique dans les milieux naturels* a rendu nécessaire la mise au point de techniques analytiques, détaillées ci-après dans le paragraphe 1-3, faisant appel à une *mesure relative* de ces abondances isotopiques. On est ainsi conduit à l'utilisation d'une *unité relative d'expression de la composition isotopique* : l'unité  $\delta$ .

Cette unité, classique en Géochimie isotopique, s'écrit, pour l'azote :

$$\delta^{15}\text{N} = \frac{R_{\text{échantillon}} - R_{\text{étalon}}}{R_{\text{étalon}}} \quad (3)$$



Compte tenu des faibles variations d'abondance isotopique dans les milieux naturels,  $\delta$  sera petit, ce qui conduit à l'utilisation pratique d'une expression en part pour mille :

$$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰} = \left[ \frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{étalon}}} - 1 \right] \cdot 1000 \quad (4)$$

C'est cette dernière expression qui sera utilisée dans l'ensemble de l'exposé, l'étalon choisi étant l'azote atmosphérique (cf. paragraphes 1.3.3. et 1.3.4.).

## CHAPITRE 1

1.2. - LES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES : CONSIDERATIONS THEORIQUES,  
DEFINITIONS, MESURE. NOTION D'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE.



## 1.2. - LES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES : CONSIDERATIONS THEORIQUES, DEFINITIONS, MESURE. NOTION D'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE\*.

### 1.2.1. - INTRODUCTION.

Les isotopes sont des éléments chimiques de même cortège électronique et possédant le même nombre de protons mais différant par leur composante neutronique, déterminant un nombre de masse différent.

Alors que la structure extranucléaire d'un élément détermine son comportement chimique, le noyau est plus ou moins responsable de ses propriétés physiques. L'inégalité de masse entraîne l'existence de différences dans certaines propriétés physico-chimiques des isotopes : densité, température de plus grande densité, volume molaire, températures d'ébullition et de fusion, pression de vapeur, viscosité mais également vitesse de réaction, constante d'équilibre.

Ces différences de propriétés sont à l'origine de différences de comportement et de répartition des isotopes, par exemple au cours de réactions chimiques ou d'équilibres ; *la partition des isotopes entre deux composés ou entre deux phases d'un même élément avec des rapports isotopiques différents est appelée fractionnement (ou effet) isotopique.*

Nous allons très sommairement rappeler la théorie des effets isotopiques et de leurs mécanismes. Pour plus de détail et plus de rigueur, on consultera : BIGELEISEN (1965), MELANDER (1960), UREY (1947).

### 1.2.2. - BREF RAPPEL THEORIQUE SUR LE FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE.

La théorie des quanta est la base théorique qui permet d'expliquer les différences de propriétés physico-chimiques des isotopes. L'énergie d'une molécule est décrite, outre par l'énergie électronique, par ses énergies de translation, de rotation et de vibration.

- L'énergie cinétique relative aux mouvements de translation des particules est proportionnelle à la température absolue :

$$\frac{m}{2} \cdot v^2 = a \cdot T$$

---

\* MARIOTTI *et al.*, 1981.

Pour deux espèces isotopiques de masse  $m_1$  et  $m_2$ , de vitesse relative de translation  $v_1$  et  $v_2$ , il vient :

$$\frac{m_1}{2} \cdot v_1^2 = \frac{m_2}{2} \cdot v_2^2 = a.T$$

$$\text{d'où } \left[ \frac{v_1}{v_2} \right]^2 = \frac{m_2}{m_1}$$

Le carré des vitesses est inversement proportionnel à la masse : l'espèce isotopiquement légère possède donc la plus grande vitesse de déplacement (sur cette base, on peut procéder par exemple par diffusion à des séparations d'isotopes).

- Vibration d'une particule liée : cette liaison peut être une liaison chimique, d'absorption.

Si on rapproche l'une de l'autre deux particules initialement suffisamment éloignées pour n'avoir aucune influence réciproque, on constate qu'elles ne peuvent se rapprocher au-delà d'une distance  $x_0$  à partir de laquelle s'exerce une force de répulsion qui tend à les écarter. Les particules vibrent autour de l'écartement  $x_0$  en fonction de la température. La quantité d'énergie qu'elles peuvent prendre est déterminée par la théorie des quanta. Cette énergie s'écrit :

$$E = h \omega$$

$h$  est la constante de PLANK

$\omega$  la fréquence de vibration

La fréquence fondamentale de vibration,  $\omega_0$  est inversement proportionnelle à la masse réduite des particules :

$$\omega_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

$k$  est la constante de liaison = constante de BOLTZMANN ;

$\mu$ , masse réduite des particules de masses élémentaires  $m_1$  et  $m_2$ , s'écrit :

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2} \quad \text{soit } \mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}$$

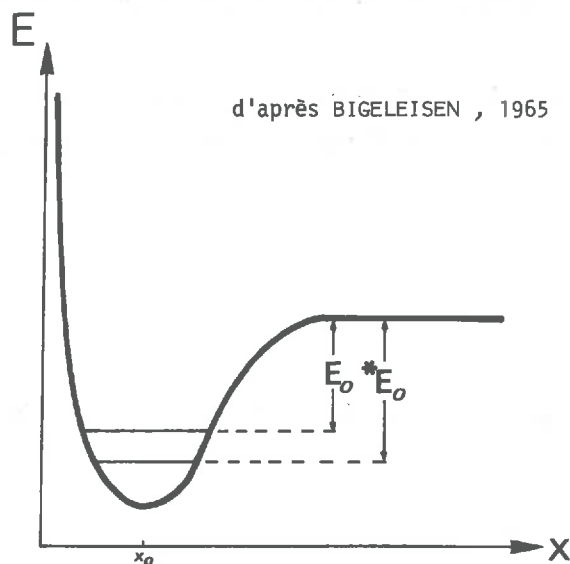


Figure 1-5 : Relation entre l'énergie potentielle et la distance entre deux particules liées.

$E_0$  = énergie point-zéro d'une particule légère  
 $*E_0$  = énergie point-zéro d'une particule lourde

La figure 1-5 décrit la variation d'énergie E d'une molécule diatomique en fonction de la distance x entre les deux atomes. Un résultat surprenant de la mécanique quantique est que l'énergie  $E_0$  correspondant au zéro absolu n'est pas nulle : on l'appelle énergie point-zéro. Elle ne correspond pas au point le plus bas de la courbe mais à celui correspondant à l'énergie  $1/2 h \omega_0$ . L'énergie au point zéro, proportionnelle à  $\omega_0$ , dépend donc de la constante k et de la masse réduite  $\mu$ . Pour différents isotopes d'un même élément, k est à peu près identique mais  $\mu$  sera plus grand pour l'isotope le plus lourd. Ainsi, l'énergie point-zéro d'une particule ou molécule contenant l'isotope léger, soit  $E_0$ , sera plus élevée que celle d'une particule ou molécule contenant l'isotope lourd, soit  $*E_0$ . Ceci est présenté schématiquement sur la figure 1-5 où l'horizontale supérieure représente l'énergie point-zéro de la molécule légère,  $E_0$  et l'horizontale inférieure  $*E_0$ . Ceci signifie que les liaisons établies par l'isotope léger seront plus aisément et plus rapidement brisées que celles faisant intervenir l'isotope lourd : ainsi, lors d'une réaction chimique, les molécules contenant l'isotope lourd réagiront légèrement moins vite que celles contenant l'isotope léger. En résumé : l'énergie des composés isotopiques dépend des fréquences de vibration des molécules, elles-mêmes dépendantes des masses des atomes de ces molécules.

Une autre présentation, schématique, peut être faite de ces mécanismes (OLIVE, 1979).

Si on considère deux espèces isotopiques, leurs fréquences de vibration respectives seront  $\omega_0$  pour l'espèce isotopiquement légère et  $^*\omega_0$  pour la lourde. Il vient :

$$\frac{^*\omega_0}{\omega_0} = \left[\frac{\mu}{^*\mu}\right]^{1/2}$$

$\mu$  et  $^*\mu$  étant les masses réduites des espèces légères et lourdes.

$$\text{d'où } ^*\omega_0 = \omega_0 \left[\frac{\mu}{^*\mu}\right]^{1/2}$$

En mécanique quantique, la vitesse de réaction est donnée par :

$$v = e^{-\frac{h}{2kT} \cdot \omega_0}$$

$$\text{d'où } \frac{^*v}{v} = e^{-\frac{h}{2kT} \cdot (\omega_0 - ^*\omega_0)}$$

$$\text{soit } \frac{^*v}{v} = e^{-\frac{h}{2kT} \{1 - [\frac{\mu}{^*\mu}]^{1/2}\} \omega_0}$$

$^*\mu$  se référant à l'espèce rare lourde (ex :  $^{15}\text{N}$ ), on a :

$$^*\mu > \mu ; \frac{\mu}{^*\mu} < 1 \text{ et } \left[\frac{\mu}{^*\mu}\right]^{1/2} < 1$$

$h$  et  $k$  étant des constantes positives,

$$-\frac{h}{2kT} \{1 - [\frac{\mu}{^*\mu}]^{1/2}\} \omega_0 < 0$$

$$\text{et } e^{-\frac{h}{2kT} \{1 - [\frac{\mu}{^*\mu}]^{1/2}\} \omega_0} < 1$$

$$\text{d'où } \frac{^*v}{v} < 1 \rightarrow ^*v < v$$

Dans une réaction chimique, où intervient une modification dans les liaisons chimiques de l'élément considéré, les molécules contenant l'isotope léger vont en général réagir plus rapidement (vitesse  $v$ ) que celles contenant l'isotope lourd (vitesse  $*v$ ). Ainsi, en cours de réaction, les produits seront-ils enrichis en isotopes légers (appauvris en isotopes lourds) relativement au substrat de départ. Il est évident que lorsque la réaction est complète (cas d'un processus irréversible), le contenu isotopique du produit est semblable à celui du substrat originel.

De cette approche simplifiée des mécanismes du fractionnement isotopique, il ressort les faits suivants :

- Le fractionnement isotopique est un phénomène cinétique, il peut être associé à une réaction à l'équilibre, résultante de deux réactions unidirectionnelles jouant en sens inverse, telles que le flux de matière entre les deux composés (ou phases) soit nul : le fractionnement isotopique sera dit alors à l'équilibre ; il peut être également associé à un processus unidirectionnel irréversible (par abus de langage "cinétique") : on parlera de fractionnement isotopique cinétique.
- Le fractionnement isotopique est thermodépendant.
- On doit s'attendre à ce que la molécule isotopiquement légère réagisse plus rapidement que la lourde dans les réactions où l'élément considéré change de liaisons chimiques.

### 1.2.3. - LES PROCESSUS.

Les phénomènes principaux susceptibles d'introduire des effets isotopiques seront donc :

- 1) Les réactions d'échange isotopique.
- 2) Les processus cinétiques sous la dépendance de différences dans la vitesse de réaction des molécules isotopiques.

#### A) Les échanges isotopiques intermoléculaires.

Ils se produiront dans tous les processus où la distribution des isotopes varie entre substances ou entre phases.

Dans une réaction en équilibre :  $A \rightleftharpoons B$  où A et B sont deux substances contenant le même élément ou deux phases de la même substance le facteur de fractionnement isotopique  $\alpha$  sera le quotient des rapports isotopiques de A et B :

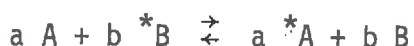


$$\alpha_{A/B} = \frac{R_A}{R_B} \quad \text{ou} \quad \alpha_{B/A} = \frac{R_B}{R_A}$$

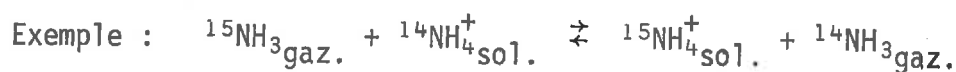
soit en écriture  $\delta$  :

$$\alpha_{B/A} = \frac{10^3 + \delta_B}{10^3 + \delta_A}$$

Dans le cas d'une réaction d'échange isotopique du type :



A et B étant des molécules ayant un élément en commun. A ou B : la molécule contient uniquement l'isotope léger de l'élément en question ;  ${}^*A$  ou  ${}^*B$  : la molécule contient l'isotope lourd.



L'équilibre de la réaction d'échange est caractérisée par la constante d'équilibre K (thermo-et barodépendante) et le facteur de fractionnement isotopique  $\alpha$ . Lorsque l'équilibre intéresse deux substances ne contenant qu'un seul atome de l'élément dont on analyse la composition isotopique, on a  $K = \alpha$ . Dans le cas contraire, la relation K -  $\alpha$  est plus complexe : elle dépend du nombre d'atomes échangeables, n, et de la position de ces atomes dans la molécule (lorsque ces atomes sont tous en position équivalente, on a :  $\alpha = K^{1/n}$ ). Pour l'exemple donné ci-dessus il vient :

$$K = \frac{{}^{15}\text{NH}_4^+\text{sol.} \cdot {}^{14}\text{NH}_3\text{gaz.}}{{}^{14}\text{NH}_4^+\text{sol.} \cdot {}^{15}\text{NH}_3\text{gaz.}} = \frac{R_{\text{NH}_4^+\text{sol.}}}{R_{\text{NH}_3\text{gaz.}}} = \alpha_{\text{NH}_4^+/\text{NH}_3}$$

On peut, bien évidemment, définir également le facteur de fractionnement

$$\alpha_{\text{NH}_3/\text{NH}_4^+} = 1/\alpha_{\text{NH}_4^+/\text{NH}_3}$$

Pour un nombre limité de réactions ces facteurs de fractionnements isotopiques sous contrôle thermodynamique ont été déterminés théoriquement ou expérimentalement : ils sont répertoriés sur le tableau 1-III, tiré de LETOLLE (*in* : FRITZ et FONTES, 1980). De grandes différences existent selon les auteurs ; les valeurs données par RICHET (1976) et RICHET *et al.* (1977) basées sur des données récentes et des traitements mathématiques perfectionnés

paraissent devoir être retenues. Dans le tableau 1-III les facteurs de fractionnements isotopiques à l'équilibre sont exprimés de façon à ce que l'espèce enrichie se trouvant en numérateur de la fraction,  $\alpha$  soit, par convention, toujours  $> 1$ .

Espèces enrichies

	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (aq)	NO <sub>2</sub> (gaz)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (aq)	NO (gaz)	N <sub>2</sub> O (gaz)	N <sub>2</sub> (gaz)	NH <sub>3</sub> (gaz)
NO <sub>2</sub> (gaz)	1.073 (25) <sup>a</sup> 1.053 (25) <sup>a</sup> 1.057 (25) <sup>b</sup>						
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (aq)	1.0744 (0) <sup>k</sup> 1.0722 (10) <sup>k</sup> 1.0685 (15) <sup>k</sup> 1.0664 (20) <sup>k</sup> 1.050 (25) <sup>d</sup> 1.090 (25) <sup>e</sup> 1.071 (25) <sup>e</sup>	1.015 (25) <sup>a</sup> 1.034 (25) <sup>a</sup>					
NO (gaz)	1.096 (25) <sup>a</sup> 1.086 (0) <sup>f</sup> 1.060 (25) <sup>c</sup> 1.099 (25) <sup>b</sup>	1.021 (25) <sup>a</sup> 1.040 (25) <sup>a</sup> 1.0447 (0) <sup>h</sup> 1.0390 (25) <sup>h</sup>	1.066 (25) <sup>a</sup> 1.027 (25) <sup>g,***</sup> 1.024 (25) <sup>g,***</sup>		1.0435 (0) <sup>h</sup> 1.0384 (25) <sup>h</sup>	1.0148 (0) <sup>h</sup> 1.0137 (25) <sup>h</sup>	1.0033 (0) <sup>h</sup> 1.0033 (25) <sup>h</sup>
N <sub>2</sub> O (gaz)		1.00098 (0) <sup>h</sup> 1.00063 (25) <sup>h</sup>					
N <sub>2</sub> (gaz)	1.0772 (0) <sup>k</sup> 1.0678 (20) <sup>k</sup>	1.0295 (0) <sup>h</sup> 1.0250 (25) <sup>h</sup>		1.016 (0) <sup>i</sup> 1.007 (327) <sup>i</sup>	1.0285 (0) <sup>h</sup> 1.0243 (25) <sup>h</sup>		1.012 (0) <sup>i</sup> 1.004 (327) <sup>i</sup>
NH <sub>3</sub> (gaz)		1.0414 (0) <sup>h</sup> 1.0355 (25) <sup>h</sup>			1.0318 (0) <sup>h</sup> 1.0349 (25) <sup>h</sup>	1.0115 (0) <sup>h</sup> 1.0103 (25) <sup>h</sup>	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (aq)	1.0485 (0) <sup>k</sup> 1.0453 (10) <sup>k</sup> 1.0438 (15) <sup>k</sup> 1.0422 (20) <sup>k</sup> 1.041 (25) <sup>k</sup>			1.042 (0) <sup>i</sup> 1.036 (25) <sup>i</sup> 1.027 (127) <sup>i</sup>		1.025 (0) <sup>i</sup> 1.022 (25) <sup>i</sup> 1.015 (127) <sup>i</sup>	1.039 (0) <sup>i</sup> 1.031 (25) <sup>i</sup> 1.024 (127) <sup>i</sup>

Tableau 1-III : Extrait de LETOLLE (in FRITZ et FONTES, 1980).

Facteurs de fractionnement isotopique à l'équilibre pour diverses espèces azotées.

\* Les chiffres entre parenthèses indiquent la température en °C

\*\* calculé

\*\*\* mesuré

<sup>a</sup>SPINDEL (1954), deux valeurs ; <sup>b</sup>MAHENC (1965) ; <sup>c</sup>LONDON (1961) ; <sup>d</sup>BROWN et DRURY (1968) ; <sup>e</sup>BEGUN et FLETCHER (1960) ; <sup>f</sup>STERN et al. (1960) ; <sup>g</sup>BROWN et DRURY (1969) ; <sup>h</sup>RICHEL (1976) ; <sup>i</sup>UREY (1947) ; <sup>j</sup>THODE et UREY (1939) ; <sup>k</sup>in MIYAKE et WADA (1971).

### B) Les effets cinétiques.

Par exemple dans une phase gazeuse, les molécules contenant l'isotope léger se déplacent plus rapidement que celles contenant le lourd. La vitesse de déplacement des molécules gazeuses dans un fluide isotherme est inversement proportionnelle à la racine carrée du rapport des poids moléculaires :

pour N<sub>2</sub> :

$$\frac{\text{vitesse } ^{14}\text{N } ^{14}\text{N}}{\text{vitesse } ^{14}\text{N } ^{15}\text{N}} = \sqrt{\frac{29}{28}} = 1,0177$$

La vitesse moyenne de N<sub>2</sub> de masse 28 est 1,77 % supérieure à celle de la masse 29. Ceci explique les effets isotopiques associés à la diffusion des gaz dans un matériel poreux. La diffusion de l'azote dans de tels matériaux a été étudiée expérimentalement par CRAIG (1968) qui démontre que des fractionnements importants se produisent lorsque N<sub>2</sub> est injecté latéralement dans un courant gazeux, par exemple de CO<sub>2</sub>. *La migration des gaz naturels s'accompagne d'un appauvrissement en <sup>15</sup>N avec la distance de migration* (BOKHOVEN et THEUWEN, 1966 ; WOLLANKE *et al.*, 1974 ; STAHL *et al.*, 1975). On peut ainsi expliquer selon toute probabilité la composition isotopique de l'azote dans l'atmosphère de la planète Mars (McELROY *et al.*, 1976) : la faible gravité à la surface de cette planète favorise le dégazage des roches ; le fractionnement isotopique accompagnant l'effet diffusif de ce dégazage et la perte des gaz légers de l'atmosphère primitive expliquent l'abondance isotopique actuelle de 0,6 ± 0,1 <sup>15</sup>N % (δ de l'ordre de 600 par rapport à l'azote de l'atmosphère terrestre !).

Ces processus cinétiques irréversibles vont toujours introduire un enrichissement en <sup>15</sup>N dans le substrat, plus d'énergie étant requise pour détruire les liaisons dans une molécule contenant l'isotope lourd. Ils interviennent également dans des réactions chimiques. Ces processus cinétiques, le plus souvent catalysés biologiquement, dominent dans le cycle de l'azote : ils méritent un examen plus détaillé.

#### 1.2.4. - EXPRESSION DES FRACTIONNEMENTS ET ENRICHISSEMENTS ISOTOPIQUES. CAS DES PROCESSUS UNIDIRECTIONNELS IRREVERSIBLES SIMPLES.

Nous considérons une réaction simple unidirectionnelle :

Substrat → Produit : S → P

Sans faire aucune hypothèse sur le mécanisme et la cinétique de la réaction, et par convention d'écriture, nous appellerons  $\alpha_{p/s}$ , facteur de fractionnement isotopique, le quotient du rapport isotopique  $R_{pi}$  de l'incrément dP du produit P apparu instantanément au temps t, à celui  $R_s$ , du substrat S au même temps.

$$\alpha_{p/s} = R_{pi}/R_s$$

On peut également utiliser, ainsi que le font de nombreux auteurs (FRIEDMAN, O'NEIL, 1977 ; CHIEN *et al.*, 1977 ; REES, 1973), le facteur inverse  $\alpha_{s/p}$ .

A) Evolution de la composition isotopique du substrat.

Il vient :

$$\alpha_{p/s} = \frac{d^{15}N_p / d^{14}N_p}{^{15}N_s / ^{14}N_s} \quad (1)$$

comme :  $d^{15}N_p = - d^{15}N_s$  et  $d^{14}N_p = - d^{14}N_s$

$$\alpha_{p/s} = \frac{d^{15}N_s}{^{15}N_s} / \frac{d^{14}N_s}{^{14}N_s} \quad (2)$$

Si on postule a priori que  $\alpha_{p/s}$  est constant au cours de l'avancement de la réaction envisagée, l'intégration de (2) donne :

$$\alpha_{p/s} \cdot \ln \left\{ \frac{^{14}N_s}{^{14}N_{s,0}} \right\} = \ln \left\{ \frac{^{15}N_s}{^{15}N_{s,0}} \right\} \quad (3)$$

où  $^{14}N_{s,0}$  et  $^{15}N_{s,0}$  sont respectivement les quantités des deux isotopes dans le substrat au temps  $t = 0$ . On introduit la grandeur  $f$ , fraction non réagie du substrat : Si  $N_s$  est la quantité totale d'azote du substrat au temps  $t$  ( $N_s = ^{14}N_s + ^{15}N_s$ ),  $N_{s,0}$  cette quantité à  $t = 0$  :

$$f = \frac{N_s}{N_{s,0}} = \frac{^{14}N_s + ^{15}N_s}{^{14}N_{s,0} + ^{15}N_{s,0}}$$

Dans les milieux naturels l'abondance en  $^{15}N$  varie faiblement autour de la valeur de 0,3663 atome  $^{15}N$  % ( $0,3663 \pm 0,0183$ ) : on peut donc utiliser l'approximation :  $(^{15}N + ^{14}N) \approx ^{14}N$

$$\text{soit : } f \approx \frac{^{14}N_s}{^{14}N_{s,0}}$$

l'équation (3) devient :

$$\alpha_{p/s} \cdot \ln f = \ln \left( f \cdot \frac{R_s}{R_{s,0}} \right)$$

$$\text{d'où : } (\alpha_{p/s} - 1) \cdot \ln f = \ln \frac{R_s}{R_{s,0}} \quad (4)$$

$$\text{ou : } \frac{R_s}{R_{s,0}} = f^{(\alpha_{p/s} - 1)} \quad (4')$$

Cette équation, classique en Géochimie isotopique est celle de la distillation de Rayleigh. Elle a été introduite par Lord RAYLEIGH dans le cas de la distillation fractionnée de mélange de liquides.

Si on utilise la notation  $\delta$  en part pour mille :

$$(\alpha_{p/s} - 1) \cdot \ln f = \ln \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,0} + 1} \quad (5)$$

Ces facteurs de fractionnement isotopique diffèrent en général de moins de 5 % de l'unité et peuvent être exprimés, par analogie avec l'expression des  $\delta$ , sous la forme :

$$\alpha_{p/s} = 1 + 10^{-3} \epsilon_{p/s}$$

$$\text{d'où : } \epsilon_{p/s} = (\alpha_{p/s} - 1) \cdot 1000 \quad (6)$$

$\epsilon_{p/s}$  exprime l'enrichissement isotopique (positif ou négatif) en part pour mille du produit par rapport au substrat.

Dans la plupart des réactions isotopiques unidirectionnelles, le produit se trouve appauvri en isotope lourd par rapport au substrat. Ainsi dans la convention d'écriture utilisée,  $\alpha$  est inférieur à 1 et  $\epsilon$  négatif, exprimant ainsi clairement l'appauvrissement du produit en isotope lourd par rapport au substrat, au cours de la réaction ; par exemple  $\epsilon = -30\%$  exprime un appauvrissement en isotope lourd de 30 % du produit par rapport au substrat.

$\epsilon$  est appelé *facteur d'enrichissement isotopique* ou *facteur de séparation des isotopes*. Cette expression est d'usage pratique et permet de rapides comparaisons. De (5) et (6) il vient :

$$\epsilon_{p/s} = \frac{10^3 \cdot \ln \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,0} + 1}}{\ln f} \quad (7)$$

On sait que l'expression  $\ln(1+u)$  est peu différente de  $u$  si  $u$  est petit devant 1 et que  $\ln \frac{1+u}{1+v} \approx u-v$  si  $u$  et  $v$  sont petits devant 1.

Lorsque  $\delta_s$  et  $\delta_{s,0}$  prennent des valeurs qui ne diffèrent pas trop de 0, on peut donc utiliser l'approximation :

$$\epsilon_{p/s} \approx \frac{\delta_s - \delta_{s,0}}{\ln f} \quad (8)$$

Ainsi, dans l'hypothèse où  $\alpha$  (et donc  $\epsilon$ ) est constant au cours de l'avancement d'une réaction (lorsque  $f$  varie de 1 à 0), la variation de composition isotopique du substrat ( $\Delta\delta_s$ ) variera linéairement avec  $\ln f$ , et le facteur d'enrichissement isotopique sera la pente de cette droite, qui doit passer par l'origine ( $\delta_s - \delta_{s,0} = 0$  lorsque  $\ln f = 0$ ).

On peut utiliser la formule (8), simplifiée, avec des valeurs de  $\epsilon_{p/s}$  non supérieures, en valeur absolue, à 20 % et pour des valeurs de  $\delta_{s,0}$  pas trop différentes de 0. Au-delà la formule (7) devra être préférée.

Si on se trouve dans un système clos ( $P + S = S_0$ ) on peut également décrire l'évolution de la composition isotopique du produit accumulé ou du produit instantané et en déduire la valeur du fractionnement isotopique.

B) Composition isotopique du produit accumulé (cas d'un système clos).

Dans un système clos, on peut écrire l'équation de bilan suivante :

$$f R_s + (1-f) \bar{R}_p = R_{s,0} \quad (9)$$

où  $\bar{R}_p$  est le rapport isotopique du produit accumulé.

La combinaison de (4') et (9) donne :

$$\bar{R}_p = R_{s,0} \frac{1-f}{1-f} \alpha_{p/s} \quad (10)$$

L'équation (9) peut également s'écrire :

$$f\delta_s + (1-f) \bar{\delta}_p = \delta_{s,0}$$

dont la combinaison avec (8) donne :

$$\bar{\delta}_p \approx \delta_{s,0} - \epsilon_{p/s} \cdot \frac{f \cdot \ln f}{1-f} \quad (11)$$

Quand  $f$  est proche de 1,  $\frac{f \cdot \ln f}{1-f}$  tend vers -1, la composition isotopique de la première quantité de produit apparu diffère donc de  $\epsilon_{p/s}$  de celle du substrat initial :  $\bar{\delta}_{p,0+dt} \approx \delta_{s,0} + \epsilon_{p/s}$  (12)

Enfin, la combinaison de (8) et (11) permet de donner une relation liant les compositions isotopiques du produit et du substrat : il vient :

$$\bar{\delta}_p - \delta_s = \epsilon \frac{\ln f}{f-1}$$

C) Composition isotopique du produit instantané (cas d'un système ouvert).

La composition isotopique du produit instantané,  $\delta_{pi}$ , sera donnée par l'équation :

$$\alpha_{p/s} = R_{pi}/R_s$$

soit :

$$\alpha_{p/s} = \frac{\delta_{pi} + 1000}{\delta_s + 1000}$$

d'où

$$\delta_{pi} = \delta_s \left(1 + \frac{\epsilon_{p/s}}{1000}\right) + \epsilon_{p/s}$$

Si  $\epsilon_{p/s}$  n'est pas trop grand,  $\frac{\epsilon_{p/s}}{1000}$  peut être négligé devant 1 :

d'où

$$\delta_{pi} \approx \delta_s + \epsilon_{p/s} \quad (13)$$

En première approximation, la courbe donnant  $\delta_{pi}$  en fonction de  $f$  se déduit par une translation verticale d'ordonnée  $\epsilon$  de la courbe décrivant les variations de  $\delta_s$ .

Sur la figure 1-6, on trouvera l'expression graphique de ces variations dans le cas théorique  $\epsilon_{p/s} = -20\%$ ,  $\delta_{s,0} = 0\%$ . L'approximation de la formule (8) a été utilisée.

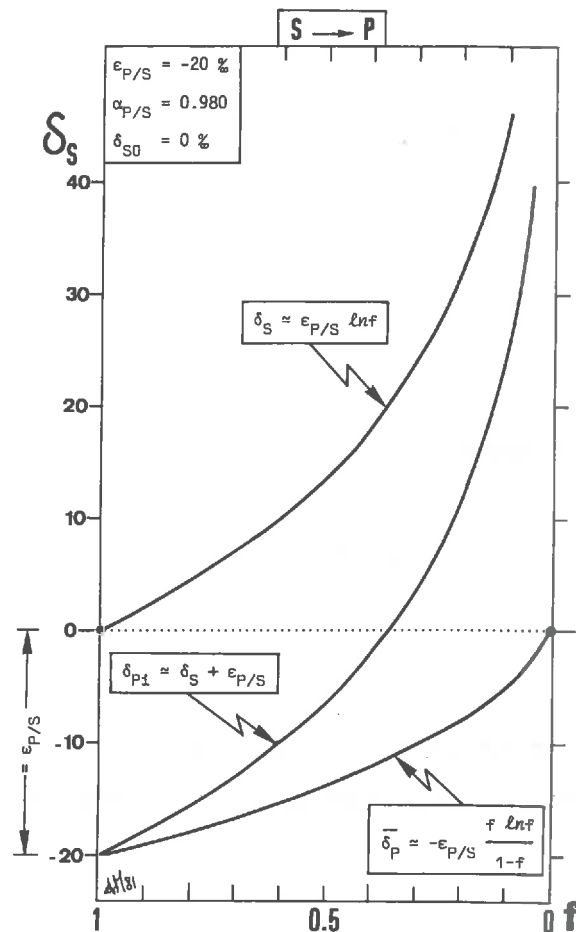


Figure 1-6 : Distillation de RAYLEIGH dans un système ouvert et un système clos (cas théorique où  $\epsilon_{P/S} = -20\%$ ,  $\delta_{S,0} = 0\%$ ).

- Le système ouvert décrit la composition isotopique du produit apparu instantanément,  $\delta_{Pi}$  et l'évolution de la composition isotopique du réservoir de substrat,  $\delta_s$ , dans l'hypothèse du parfait mélange. Dans ce cas, la différence en ‰ des compositions isotopiques du substrat et du produit instantané est constante ( $\approx \epsilon$ ) : cette différence est seulement le reflet de la différence de réactivité des deux variétés isotopiques : autrement dit, l'enrichissement isotopique ne témoigne que de l'effet du fractionnement isotopique.

On pourra mettre sous cette rubrique le cas des réservoirs infinis : dans ce cas,  $\delta_s$  est constant,  $\delta_{Pi}$  différant de  $\delta_s$  de la valeur  $\epsilon$  (voir texte).

- Dans un système fermé, le produit apparu s'accumule et présente, dans l'hypothèse du parfait mélange, une composition isotopique  $\bar{\delta}_P$  : dans ce cas, la différence en ‰ de composition isotopique entre substrat et produit reflète, outre la réactivité différentielle des espèces isotopiques, le degré d'avancement  $f$  de la réaction. De plus on a :  $\bar{\delta}_P = \delta_{S,0}$  pour  $f = 0$ .

Dans le cas où le substrat est en quantité infinie ou quasi infinie vis-à-vis de la quantité transformée en produit (par exemple lors de la fixation de l'azote par des diazotrophes symbiotiques), le rapport isotopique



$R_s$  du substrat ne varie pas : on est ramené au cas précédent (12) lorsque  $f$  tend vers 1 et on a :

$$\delta_{pi} = \bar{\delta}_p = \delta_p \approx \delta_{s,0} + \epsilon_{p/s} = \delta_s + \epsilon_{p/s}$$

En fait on a rigoureusement :

$$\alpha_{p/s} = \frac{R_p}{R_s}$$

d'où :

$$\epsilon_{p/s} = \frac{\delta_p - \delta_s}{\delta_s + 1000} \cdot 10^3$$

On peut négliger  $\delta_s$ , petit devant 1000,

et

$$\epsilon_{p/s} \approx \delta_p - \delta_s$$

Ainsi, lors de la fixation de l'azote atmosphérique par exemple, la composition isotopique de la fraction de l'azote de la plante dérivant de l'azote atmosphérique sera  $\delta_p$  :

$$\delta_p = \delta^{15N}_{air} + \epsilon_{p/s} \text{ fixation}$$

D) Relation avec la cinétique des réactions :

Le fractionnement isotopique tel que nous l'avons défini plus haut est une *grandeur totalement indépendante de la cinétique des réactions considérées*. Cependant, on peut remarquer que, dans le cas de réactions du 1er ordre on peut écrire pour le substrat S :

$${}^{14}N_S = {}^{14}N_{S,0} \cdot e^{-kt} \quad \text{et} \quad {}^{15}N_S = {}^{15}N_{S,0} \cdot e^{-k't}$$

où  $k$  et  $k'$  sont respectivement les constantes de vitesse pour l'isotope léger et lourd.

On constate que :  $f \approx e^{-kt}$

et

$$\frac{{}^{15}N_S}{{}^{14}N_S} = \frac{{}^{15}N_{S,0}}{{}^{14}N_{S,0}} \cdot \frac{e^{-k't}}{e^{-kt}}$$

donc 
$$R_s = R_{s,0} \cdot f \left( \frac{k'}{k} - 1 \right)$$

qui devient :

$$\ln \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,0} + 1} = \left( \frac{k'}{k} - 1 \right) \cdot \ln f \quad (14)$$

La comparaison de (5) et (14) montre que  $\alpha_{p/s}$ , dans le cas d'une réaction du 1er ordre, est également le rapport des constantes de vitesse de l'isotope lourd à l'isotope léger.

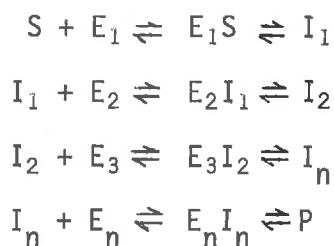
On retrouve ici la formulation de TONG et YANKWICH (1957) qui introduisent un facteur  $r = \frac{k}{k'}$ , repris par de nombreux auteurs sous l'appellation  $\beta (= 1/\alpha_{p/s})$  (DELWICHE et STEYN, 1970 ; FREYER et ALY, 1975 ; SHEARER *et al.*, 1974).

Les équations (5) et (14) sont homologues de celles de TONG et YANKWICH, d'emploi plus aisé et d'usage courant en géochimie isotopique.

#### 1.2.5. - REFLEXION SUR LES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES ASSOCIES A DES PROCESSUS COMPLEXES, PAR EXEMPLE DES PROCESSUS BIOLOGIQUES.

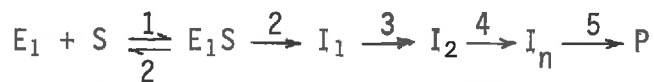
Le facteur de fractionnement isotopique,  $\alpha$ , est normalement constant pour une réaction simple unidirectionnelle, à température constante.

Les systèmes biologiques fonctionnent selon des processus réactionnels qui ne sont ni simples ni unidirectionnels : ils sont le plus souvent potentiellement réciproques et multiséquentiels. Par exemple, une réaction biologique peut être représentée par une suite de processus enzymatiques : si S est le substrat, E l'enzyme, ES le complexe enzyme-substrat, I un composé intermédiaire et P le produit, on peut écrire :



En fait, la vitesse (ou le taux) de réaction entre S et P se trouve le plus souvent limitée par l'une de ces étapes de transformation : la vitesse de réaction de cette étape est inférieure à celle des autres étapes. Les étapes de la réaction qui suivent cette étape limitante prennent alors un caractère particulier du fait que les composés intermédiaires sont transformés aussi rapidement qu'ils apparaissent : ceci se traduit par le fait que les réactions réciproques de ces étapes sont impossibles et que les fractionnements isotopiques qui leur sont associés ne peuvent s'exprimer puisque la transformation est totale à chaque instant.

Si c'est la première étape qui est limitante, il vient :



Les effets isotopiques associés aux étapes 3 à 6 ne peuvent s'exprimer dans le fractionnement isotopique global apparent.

Dans la suite de l'exposé, il sera à tout instant fait allusion à de tels processus.

#### 1.2.6. - EXEMPLES CONCRETS DE MESURES DE FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE.

Nous évoquerons deux exemples de calculs de facteurs de fractionnement isotopique à partir de données expérimentales. Le premier sera relatif à deux expériences de dénitrification dans des sols, le second à une nitrification ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$ ) sur culture de *Nitrosomonas europaea*.

Dans ces deux exemples, nous ne détaillerons pas les conditions analytiques qui seront présentées en grand détail lorsque nous traiterons de ces étapes respectives du cycle de l'azote (chapitres 2-2 et 2-3). Seuls seront présentés les calculs aboutissant à la détermination des fractionnements isotopiques.

##### A) Détermination expérimentale du fractionnement isotopique au cours du processus de dénitrification.

Dans ces expériences, le substrat est du nitrate, le produit, l'hémioxyde d'azote  $\text{N}_2\text{O}$ . Nous avons pu vérifier :

- qu'il n'apparaît pas de produits intermédiaires ( $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}$ ) de la réduction,
- que le système est clos [ $\Sigma(\text{N-NO}_3^- + \text{N-N}_2\text{O}) = \text{constante}$ ].

Dans cette expérience nous mesurerons le fractionnement isotopique à partir des données relatives à l'évolution du substrat.

Résultats :

Ils figurent, pour deux expériences parallèles effectuées à 2 températures différentes, sur le tableau 1-IV. Les variations de concentration de  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{N}_2\text{O}$ , et la composition isotopique du substrat résiduel, exprimée par  $10^3 \cdot \ln [(10^{-3} \delta_s + 1)/(10^{-3} \delta_{s,0} + 1)]$  sont reportés sur les figures 1-7 et 1-8.

Température	Temps (heures)	N- $\text{NO}_3^-$ mg/100g sol	f	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ‰ (= $\delta_s$ )	$\delta_s - \delta_{s,0}$	$10^3 \ln \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,0} + 1}$	
20°C	0	20.40	1.000	4.4	0.0	0.00	
	39	18.40	0.902	7.7	3.3	3.28	
	67.30	16.58	0.813	10.2	5.8	5.76	
	101	14.08	0.690	13.0	8.6	8.53	
	137.30	13.03	0.639	15.8	11.4	11.29	
	196.30	10.83	0.531	20.2	15.8	15.61	
	280	9.34	0.458	28.2	23.8	23.42	
	337	8.51	0.417	25.1	20.7	20.40	
	424	7.98	0.391	33.3	28.9	28.37	
	572	5.40	0.265	43.6	39.2	38.29	
	740	2.80	0.137	64.5	60.1	58.11	
	30°C	0	20.40	1.000	4.4	0.0	0.00
		21	17.72	0.869	7.7	3.3	3.28
30		16.00	0.784	9.4	5.0	4.97	
47		15.00	0.735	12.5	8.1	8.03	
68		13.07	0.641	15.7	11.3	11.19	
87.30		11.25	0.551	18.8	14.4	14.24	
114.30		10.31	0.505	21.1	16.7	16.49	
138.30		9.21	0.451	24.5	20.1	19.81	
162.30		8.16	0.400	27.1	22.7	22.35	
197.30		6.67	0.327	32.2	27.8	27.30	

Tableau 1-IV : Dénitrification (substrat  $\text{NO}_3^-$ ). Evolution des paramètres chimiques et isotopiques.

( $\delta_s$  = composition isotopique du substrat)

La somme (N- $\text{NO}_3^-$  + N- $\text{N}_2\text{O}$ ) est constante, aux erreurs analytiques près, ce qui doit être le cas dans un système clos ( $P + S = S_0$ ).

Les coefficients de corrélation des droites  $Y_1 = \delta_s - \delta_{s,0}$  et  $Y_2 = 10^3 \ln [(10^{-3} \delta_s + 1)/(10^{-3} \delta_{s,0} + 1)]$  fonction de  $\ln f$  sont calculés : ils sont significatifs à la probabilité  $p = 0,01$ . Ceci indique clairement que l'hypothèse émise sur la constance du facteur de fractionnement isotopique est valide, au moins jusqu'à l'état d'avancement atteint pour ces réactions. Il est donc loisible d'employer les relations (7) ou (8) dans ce processus.

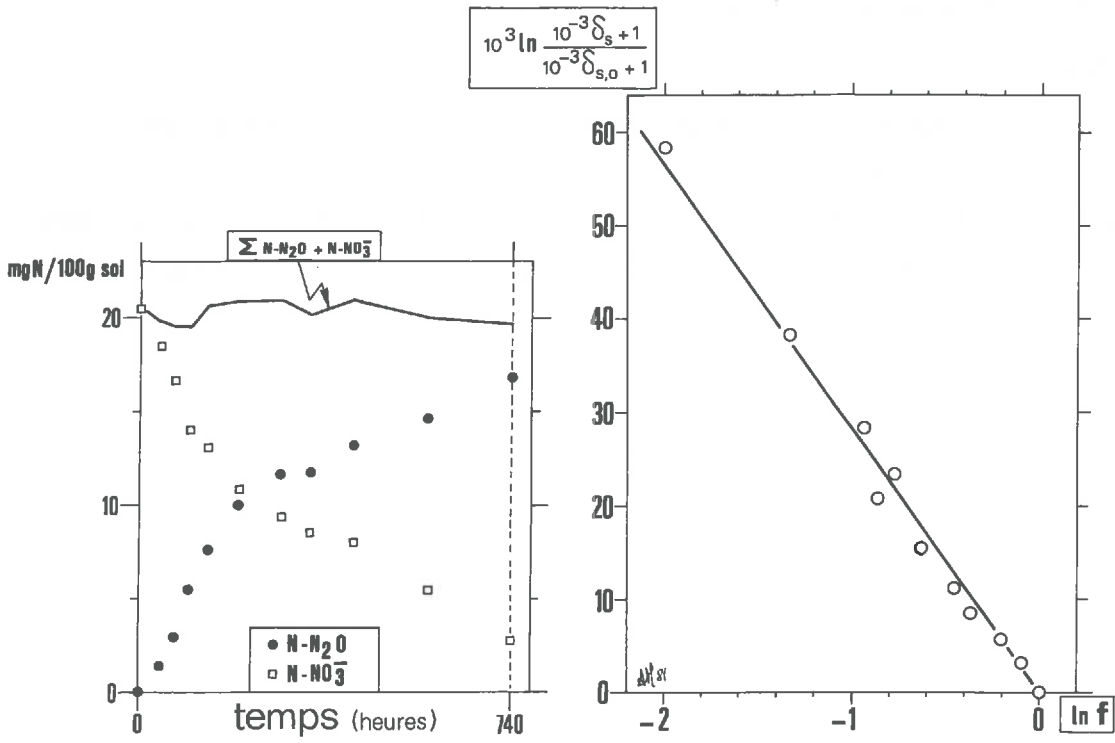


Figure 1-7 : Dénitrification (substrat  $NO_3^-$ , 20°C). Evolution des paramètres chimiques et isotopiques selon un processus de RAYLEIGH.

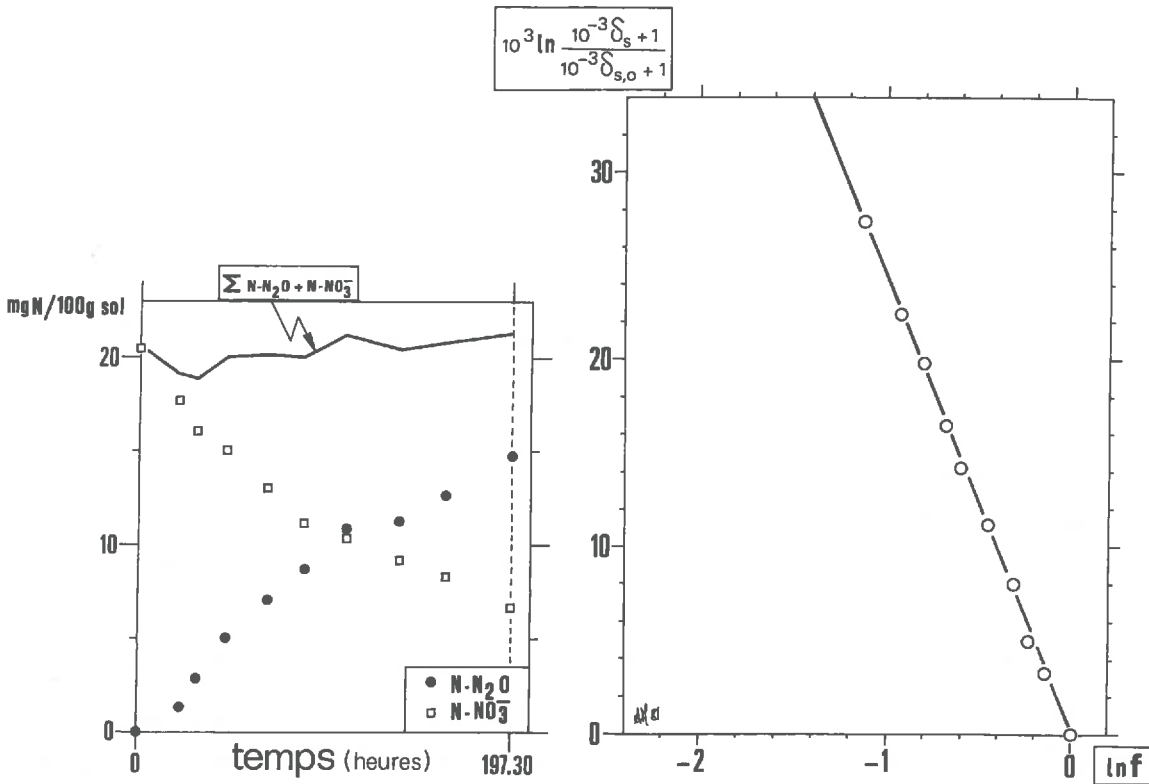


Figure 1-8 : Dénitrification (substrat  $NO_3^-$ , 30°C). Evolution des paramètres chimiques et isotopiques selon un processus de RAYLEIGH.

Les intervalles d'estimation des pentes de ces droites ont été calculés, à la probabilité  $p = 0,05$  : ils donnent la limite de confiance pour les facteurs d'enrichissement isotopiques déterminés expérimentalement. La théorie prévoit que ces droites passent par l'origine : nous avons donc calculé la meilleure pente pour qu'il en soit ainsi : cette pente est donnée par  $m = \frac{\sum XY}{\sum X^2}$ .

Enfin, nous avons testé l'hypothèse que l'ordonnée à l'origine de la droite calculée avec les points expérimentaux ne diffère pas significativement de zéro.

Ces résultats figurent sur le tableau 1-V.

Température	$Y = (c \pm ts_D) \ln f + \beta$	Pente de la droite passant par l'origine $\beta = 0 ; c = \frac{\sum XY}{\sum X^2}$	Nombre de couples	Coefficient de corrélation
20°C	$\delta_s - \delta_{s,o} = (-30.32 \pm 2.53) \ln f - 1.37^1$	- 29.12	11	- 0.994 <sup>2</sup>
	$10^3 \ln \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,o} + 1} = (-29.37 \pm 2.38) \ln f - 1,11^1$	- 28.39	11	- 0.994 <sup>2</sup>
30°C	$\delta_s - \delta_{s,o} = (-25.07 \pm 0.95) \ln f - 0.21^1$	- 24.79	10	- 0.999 <sup>2</sup>
	$10^3 \ln \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,o} + 1} = (-24.63 \pm 0.93) \ln f - 0.15^2$	- 24.43	10	- 0.999 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> : ordonnée à l'origine non statistiquement différente de zéro  
<sup>2</sup> : significatif à  $p = 0.01$

Tableau 1-V : Paramètres de la régression obtenue pour les résultats du tableau 1-IV.

La différence entre les valeurs de  $\epsilon_{p/s}$  obtenues soit par l'équation (7) soit par l'équation (8) sont faibles, nettement inférieures aux intervalles d'estimation de  $\epsilon_{p/s}$  : l'utilisation de l'approximation  $\delta_s - \delta_{s,o} = \epsilon_{p/s} \cdot \ln f$  est donc valide.

Nous pouvons conclure que les facteurs d'enrichissement isotopique à la dénitrification, dans les conditions expérimentales retenues, sont respectivement : à 20°C :  $-29,4 \pm 2,4 \%$  , à 30°C :  $-24,6 \pm 0,9 \%$  , soit pour les facteurs de fractionnement isotopique ( $\alpha_{p/s}$ ) successivement :  $0,9706 \pm 0,0024$  et  $0,9754 \pm 0,0009$ .

Dans ces expérimentations, la composition isotopique du produit, gazeux, ( $N_2O$ ), n'a pas été mesurée.

Nous présentons donc un exemple de détermination expérimentale du fractionnement isotopique où nous avons pu utiliser également la variation de composition isotopique du produit accumulé et ainsi obtenir deux déterminations indépendantes de ce fractionnement. Ceci a été réalisé au cours d'une nitrification par culture pure de *N. europaea*, l'évolution du substrat,  $\text{NH}_4^+$  et du produit,  $\text{NO}_2^-$  étant successivement utilisées pour la détermination de ce fractionnement.

B) Détermination expérimentale du facteur de fractionnement isotopique à la nitrification.

Les conditions expérimentales seront décrites dans un chapitre suivant (2-2).

Il a été procédé à quatre expérimentations (A, B, C, D) correspondant à quatre concentrations différentes du substrat ammoniacal. La détermination des fractionnements isotopiques a été effectuée séparément sur chacune de ces expérimentations ; les 4 valeurs ne sont pas statistiquement différentes les unes des autres. Nous proposerons donc une seule détermination, basée sur l'ensemble des expérimentations.

Les résultats figurent sur le tableau 1-VI et les figures 1-9 et 1-10.

Expérimentation	$\text{N-NH}_4^+$ : concentration (mg/l)	Volume de milieu (ml)	Temps (heures)	$\text{N-NH}_4^+$ (mg)	$\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$	$\epsilon$	$\text{N-NO}_2^-$ (mg)	$\delta^{15}\text{N-NO}_2^-$	$\epsilon(\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_2^-)$ (mg)	$10^3 \ln \frac{10^{-3}\delta_s + 1}{10^{-3}\delta_{s,o} + 1}$	$\delta_s - \delta_{s,o}$	$\delta_p - \delta_{s,o}$	$-\frac{\epsilon \ln f}{1 - f}$
A	350.0	125	0	43.8	5.1	1.000	0.4	-	44.2	0.00	0.0	-	-
			48	41.7	5.5	0.952	2.7	- 24.7	44.4	0.40	0.4	- 29.8	0.976
			87	30.8	15.4	0.703	7.9	- 18.8	38.7	10.20	10.3	- 23.9	0.834
			162	20.8	32.1	0.475	19.2	- 17.3	40.0	26.51	27.0	- 22.4	0.673
			246	20.8	33.1	0.475	19.2	- 15.1	40.0	27.48	28.0	- 20.2	0.673
			471	24.0	35.1	0.548	20.7	- 22.5	44.7	29.41	30.0	- 27.6	0.729
B	226.4	250	0	56.6	4.0	1.000	0.0	-	56.6	0.00	0.0	-	-
			39	55.7	5.4	0.984	4.0	- 27.8	60.6	1.39	1.4	- 31.8	0.992
			70	36.4	21.9	0.643	7.2	- 10.3	43.6	17.67	17.9	- 14.3	0.795
			117	13.4	56.1	0.237	26.4	- 10.7	39.8	50.59	52.1	- 14.7	0.447
			162	11.0	66.2	0.194	32.2	- 10.8	43.2	60.11	62.2	- 14.8	0.395
			264	7.0	79.1	0.124	37.5	- 7.1	44.5	72.14	75.1	- 11.1	0.295
C	100	250	0	25.0	4.7	1.000	0.0	-	25.0	0.00	0.0	-	-
			39	22.9	10.6	0.916	3.1	- 23.3	26.0	5.86	5.9	- 28.0	0.957
			48	18.4	17.0	0.736	3.9	- 17.2	22.3	12.17	12.3	- 21.9	0.855
			70	6.8	49.2	0.272	9.2	- 12.8	16.0	43.34	44.5	- 17.5	0.486
			96	4.4	61.1	0.176	15.2	- 13.5	19.6	54.62	56.4	- 18.2	0.371
			208	1.3	-	0.052	20.7	4.7	22.0	-	-	0.0	0.162
D	66.2	500	0	33.1	1.3	1.000	0.0	-	33.1	0.00	0.0	-	-
			39	22.0	19.7	0.665	8.4	- 23.2	30.4	18.21	18.4	- 24.5	0.810
			48	13.8	41.9	0.417	16.1	- 18.8	29.9	39.75	40.6	- 20.1	0.626
			63	4.9	77.3	0.148	21.3	- 8.4	26.2	73.16	76.0	- 9.7	0.332
			72	3.4	87.0	0.103	21.6	- 5.6	25.0	82.12	85.7	- 6.9	0.261
			208	2.9	-	0.088	23.8	2.1	26.7	-	-	0.8	0.234

Tableau 1-VI : Données chimiques et isotopiques pour l'expérimentation de nitrification avec *Nitrosomonas europaea*.

Les valeurs  $\text{N-NH}_4^+$  et  $\text{N-NO}_3^-$  mg représentent la quantité d'azote de ces deux ions présente dans le volume de milieu choisi pour l'incubation.

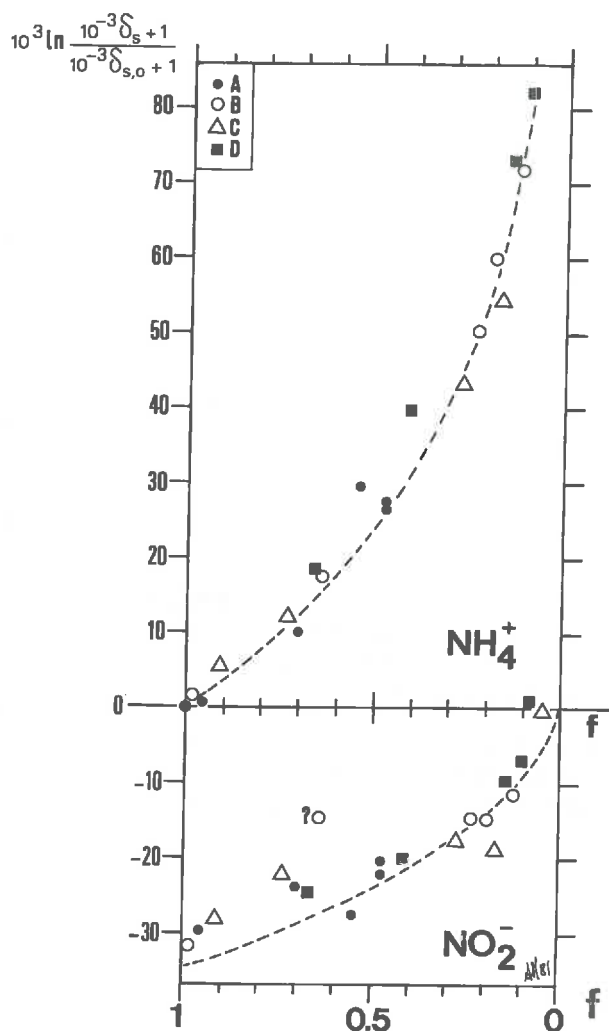


Figure 1-9 : Evolution isotopique du substrat ( $\text{NH}_4^+$ ) et du produit accumulé ( $\text{NO}_2^-$ ) en fonction de la fraction non réagie  $f$  du substrat, lors d'une expérience de nitrification par *Nitrosomonas europaea*.

Les paramètres de la droite de régression, selon l'équation (7) sont  $\epsilon_{p/s} = -34,7 \pm 2,5 \%$  avec une ordonnée à l'origine de 1,8, non statistiquement différente de 0, le coefficient de corrélation est 0,99 (significatif à  $p = 0,01$ ). Les mêmes paramètres, calculés d'après l'équation (8) sont  $\epsilon_{p/s} = -36,2 \pm 2,6 \%$ , l'ordonnée à l'origine est 1,5, non statistiquement différente de 0, le coefficient de corrélation est le même.

Le facteur de fractionnement isotopique est donc constant avec le déroulement de la réaction, dans la gamme de concentration en azote de  $2,5 \cdot 10^{-2}$  à  $5 \cdot 10^{-4} \text{M}$ . Le facteur d'enrichissement isotopique peut également être calculé en utilisant la variation de la composition isotopique du produit  $\text{NO}_2^-$ .



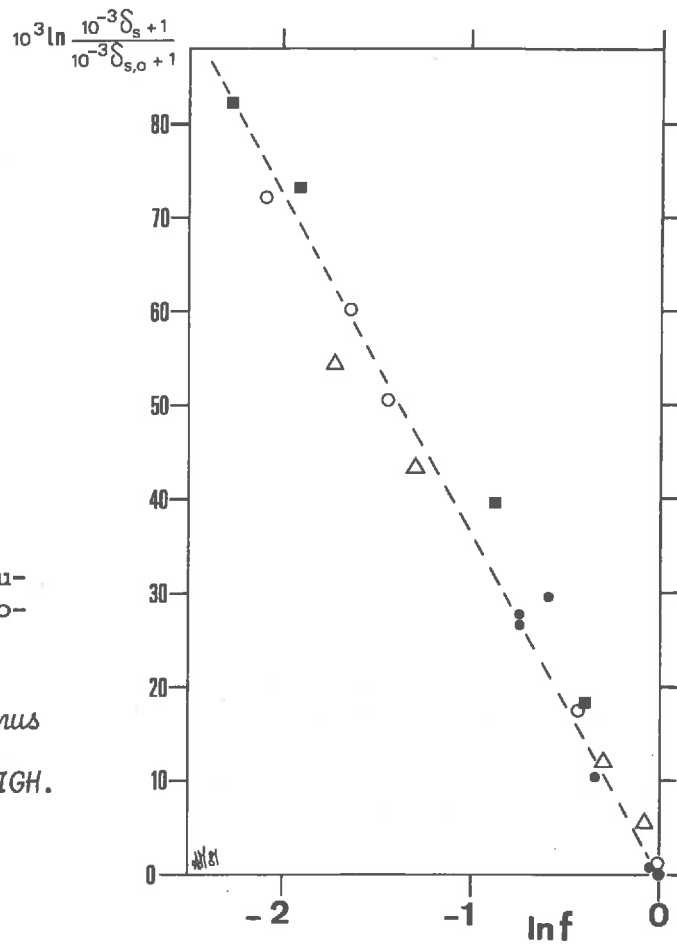


Figure 1-10 : Nitritation. Evolution de la composition isotopique du substrat ( $\text{NH}_4^+$ ) en fonction de  $\ln f$ .

Les points analytiques obtenus obéissent à une répartition selon un processus de RAYLEIGH.

L'équation (11) nous permet de déterminer  $\epsilon_{p/s}$  comme la pente de la droite  $Y = \bar{\delta}_p - \delta_{s,0}$  ;  $X = -f \cdot \ln f / (1-f)$ , (figure 1-11).

La fraction non réagie  $f$ , sera  $(\text{NH}_4^+)_t / (\text{NH}_4^+)_0^*$ .

Une des valeurs de la composition isotopique de  $\text{NO}_2^-$  (B, 70 h) nous a paru incorrecte (voir figures 1-9 et 1-11) et n'a pas été prise en compte dans nos calculs. Il vient :

$$\bar{\delta}_p - \delta_{s,0} = 0,64 - (31,91 \pm 6,39) \cdot \left(-\frac{f \cdot \ln f}{1-f}\right)$$

---

\* Nous aurions pu prendre  $f = 1 - \frac{(\text{NO}_2^-)_t}{(\text{NH}_4^+)_0}$ , expression équivalente.

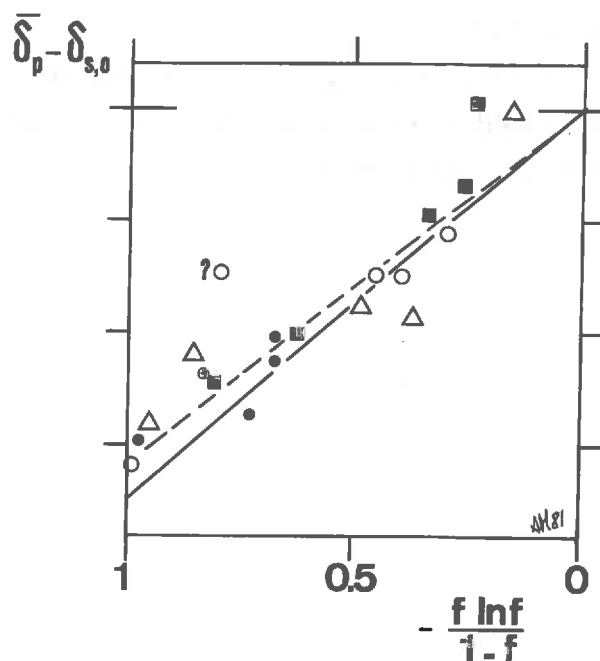


Figure 1-11 : Nitritation. Evolution de la composition isotopique du produit accumulé ( $\text{NO}_2^-$ ) en fonction de  $-\frac{f \ln f}{1-f}$ .

L'ordonnée à l'origine n'est pas statistiquement différente de zéro, le coefficient de corrélation est significatif à  $p = 0,01$ .

Nous pouvons conclure que les déterminations du facteur de fractionnement isotopique, effectuées d'après les variations de composition isotopique du substrat ou du produit ne sont pas significativement différentes. Toutefois la première estimation est nettement plus précise.

#### 1.2.7. - CONCLUSION.

En conclusion, il ressort que la détermination cinétique du facteur de fractionnement isotopique, telle qu'elle est présentée ici, nous paraît nécessaire afin de pouvoir déterminer avec précision son intervalle d'estimation, et de pouvoir contrôler la constance de ce fractionnement avec l'avancement de la réaction, ce que ne permet en aucun cas une seule mesure effectuée à un stade d'avancement de la réaction.

Dans toute la mesure du possible, les fractionnements isotopiques mesurés dans ce travail ont fait l'objet d'une détermination calquée sur les méthodes ci-dessus présentées.

Les résultats obtenus feront l'objet du deuxième chapitre de cet ouvrage, qui succèdera immédiatement à un bref rappel sur les méthodes analytiques mises au point pour cette étude.

## CHAPITRE 1

### 1.3. - METHODES ANALYTIQUES



### 1.3. - METHODES ANALYTIQUES\*.

#### 1.3.1. - INTRODUCTION.

La mesure des variations de l'enrichissement isotopique naturel se fait par *spectrométrie de masse*. En effet, les techniques de *spectroscopie optique* (FIEDLER et PROKSCH, 1975 ; GUIRAUD et BUSCARLET, 1975 ; GUIRAUD et FARDEAU, 1980 ; MIDDELBOE, 1977) qui permettent de travailler sur des quantités de matériel très faibles (jusqu'à 0,4 à 0,5 µg de N), autorisent une précision moins bonne que la spectrométrie de masse (environ 1 % en valeur relative pour des teneurs en  $^{15}\text{N}$  supérieures à 0,565 %, donc déjà très supérieures à celles des abondances naturelles) et surtout une reproductibilité incompatible avec la mesure précise des très petites variations isotopiques que nous recherchons (de l'ordre de 1 % relatif ou moins).

Les variations du rapport isotopique sont déterminées sur un *échantillon gazeux sous forme d'azote moléculaire* ( $\text{N}_2$ ). Le gaz est analysé en comparant le rapport d'abondance des ions  $M/e = 29$  ( $^{15}\text{N}^{14}\text{N}^+$ ) aux ions  $M/e = 28$  ( $^{14}\text{N}^{14}\text{N}^+$ ) d'un échantillon à celui d'un gaz de référence (étalon).

Dans les systèmes naturels, l'azote se trouve essentiellement sous forme de nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et également sous forme combinée dans la matière organique (amides, amines, acides aminés, protéines et formes plus complexes...). Ces divers composés doivent donc subir des traitements devant transformer de façon quantitative donc non fractionnante pour les deux isotopes, l'azote sous forme moléculaire.

Les procédés utilisés sont résumés sur la figure 1-12. La plupart sont des adaptations de méthodes classiques (BREMNER, 1965) et nous ne les détaillerons pas ici : nous signalerons simplement des variantes de ces méthodes qui se sont révélées indispensables pour les applications aux mesures isotopiques.

#### 1.3.2. - PREPARATION DES ECHANTILLONS.

Pour assurer une bonne précision et une bonne fidélité dans la mesure du rapport isotopique en abondance naturelle 1 à 2 mg d'azote environ sont nécessaires.

---

\* MARIOTTI et LETOLLE, 1978.

L'azote pouvant se présenter sous forme organique ou minérale, deux voies de traitement sont à envisager (figure 1-12).

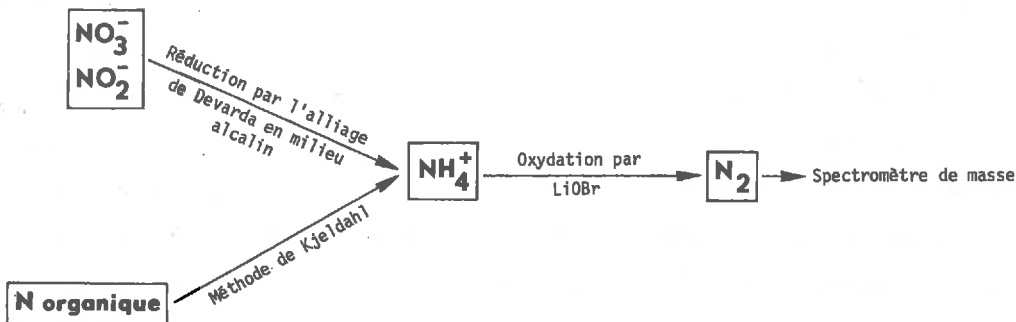


Figure 1-12 : Chaîne de traitement des produits azotés en vue de leur analyse isotopique.

A) Préparation d'un sel ammoniacal.

a. - Cas de l'azote sous forme minérale.

Les échantillons sont le plus souvent des solutions, extraites des sols ou prélevées dans des aquifères. Les analyses chimiques des diverses espèces s'effectuent soit par des méthodes colorimétriques, soit par distillation à la vapeur après réduction, le cas échéant, des formes oxydées ( $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NO}_2^-$ ) par un alliage réducteur (BREMNER, 1965). Pour les eaux de surface ou souterraines, un contrôle préliminaire de terrain est effectué avec des trousse de dosages colorimétriques (type HACH).

Dans le cas le plus favorable, une seule espèce azotée ( $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ ) est présente. L'échantillon avant traitement est alors concentré, soit par lyophilisation, soit par évaporation dans une étuve à convection forcée verticale maintenue à  $60^\circ\text{C}$ , après acidification à pH 5 s'il contient de l'ammonium.

Le cas où nitrate et ammonium coexistent est plus délicat. En effet, si la teneur, trop faible, impose une concentration, celle-ci doit s'effectuer en milieu acide pour prévenir la volatilisation d'ammoniac, laquelle favorise l'isotope léger (cf. chapitre 2-6-1). En milieu acide, toutefois, on risque de déplacer l'équilibre d'oxydoréduction entre  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NH}_4^+$  dans le sens d'une réduction (cf. figure 1-1). Ce phénomène entraîne un fractionnement isotopique tel que l'ammonium formé par réduction se

trouve enrichi en isotope léger par rapport au nitrate originel. De tels échantillons doivent donc être traités sans concentration préalable ou bien après lyophilisation. La réduction des nitrates (et nitrites) s'effectue selon des méthodes décrites par BREMNER et EDWARDS (1965) et BREMNER et KEENEY (1965). On utilise l'alliage réducteur de DEVARDA (50 % Cu, 45 % Al, 5 % Zn) en milieu alcalin (magnésie calcinée) dans un appareil comparable à celui décrit par BREMNER reproduit sur la figure 1-13.

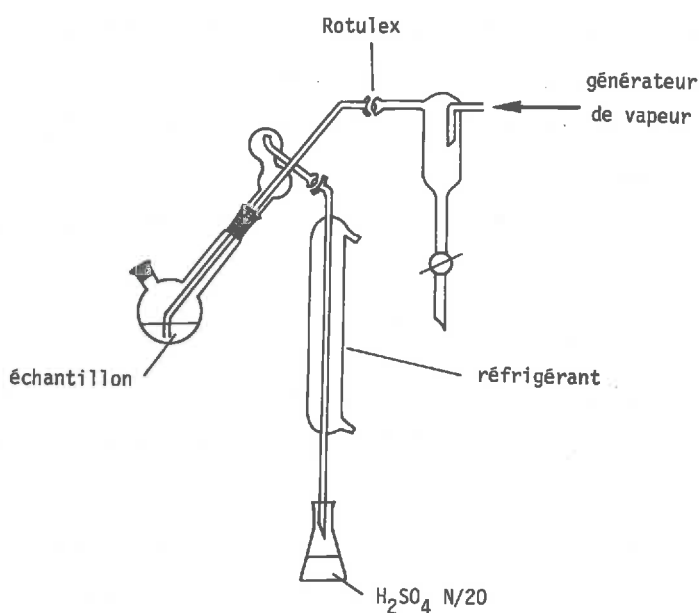


Figure 1-13 : Distillation de l'ammoniac par entraînement à la vapeur. D'après BREMNER (1965).

L'ammoniac distillé est recueilli sur de l'acide sulfurique M/40, de préférence à l'acide borique. La séparation éventuelle de  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_3^-$  s'effectue par deux distillations déplaçant successivement l'ion ammonium puis l'ammonium provenant de la réduction des nitrates, après introduction de l'alliage réducteur.

La distillation s'effectue en milieu alcalin (pour déplacer  $\text{NH}_3$  de  $\text{NH}_4^+$ ) la base choisie ( $\text{MgO}$ ) est une base faible qui évite au maximum l'altération de matières organiques dissoutes labiles susceptibles de se trouver en quantité non négligeable dans l'échantillon étudié et d'interférer de façon significative avec l'azote des composés inorganiques (BREMNER et KEENEY, 1965).



Une attention toute particulière doit être portée à la *granulométrie* de l'alliage de DEVARDA : celui-ci doit être finement divisé (granulométrie inférieure à 70  $\mu\text{m}$ ), faute de quoi, la réduction des nitrates n'est pas totale, ce qui entraîne un enrichissement isotopique favorisant l'isotope léger au détriment de l'isotope lourd. Les dernières traces d'ammoniac susceptibles d'être adsorbées sur les parois de verre, sont entraînées par l'adjonction en fin de distillation de quelques millilitres d'alcool éthylique que l'on distille. Ceci permet une récupération totale de l'ammoniac, évitant les enrichissements isotopiques et de possibles effets de mémoire d'une distillation à l'autre.

Le distillat recueilli sur  $\text{H}_2\text{SO}_4$  M/40 est ramené à pH 4, puis placé en étuve à 50°C dans un récipient spécial pour être évaporé à sec. L'expérience nous a montré que cette pratique n'entraîne aucune perte et, partant, aucun enrichissement isotopique.

L'azote se trouve alors sous forme de sulfate d'ammonium.

#### b.- Cas de l'azote organique.

La méthode retenue est la méthode de Kjeldahl selon BREMNER (1965), avec, sauf exception, un catalyseur Sélénium\*. Après minéralisation et distillation, on est ramené au cas précédent. La méthode de combustion de type Dumas avec traitement du gaz sur four à  $\text{CuO}$ ,  $\text{Cu}$  et purification à la température de l'azote liquide a été essayée. Les essais se sont révélés décevants par introduction d'enrichissements isotopiques importants sans gain de temps appréciable par rapport à la méthode de Kjeldahl.

#### B) Passage à l'azote moléculaire.

La méthode employée est une adaptation de celle de SPRINSON et RITTENBERG (1948) (voir également RITTENBERG, 1948). Elle s'effectue sous vide dans une ligne de préparation dont on trouvera une représentation sur la figure 1-14.

---

\* Produit Merck : Mélange de sélénium p.a. (pour le dosage de l'azote selon Wieninger) réf. : 8030.

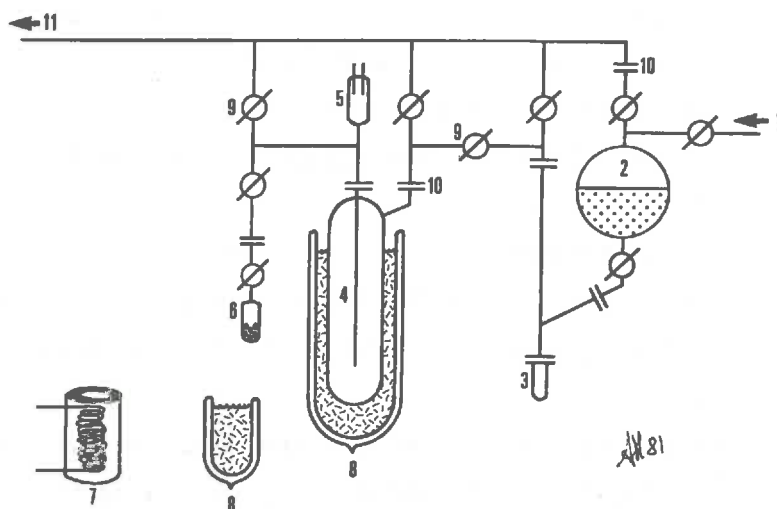
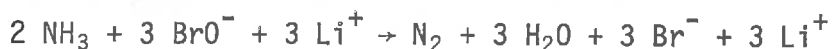


Figure 1-14 : Schéma de l'appareil permettant l'oxydation de l'ammonium en azote moléculaire. Extrait de MARIOTTI et LETOLLE, 1978.

- 1 - Hélium.
- 2 - Ampoule à hypobromite de lithium.
- 3 - Sulfate d'ammonium (résidu sec).
- 4 - Piège.
- 5 - Jauge Pirani.
- 6 - Porte échantillon à Silicagel.
- 7 - Four à 200°C (étuvage du silicagel).
- 8 - Azote liquide (purification du gaz en 4 et piégeage sur silicagel en 6).
- 9 - Vanne à vide à soufflet inox et joint torique en viton (SVT).
- 10 - Raccord à joint torique viton.
- 11 - Vide réalisé par pompe primaire à palettes et pompe secondaire à polyphényl éthers.

Après adaptation sur cette ligne, par l'intermédiaire d'un raccord spécial à joint torique en viton, du récipient dans lequel le distillat avait été précédemment évaporé à sec (3 de la figure 1-14), puis obtention d'un bon vide dans la ligne (de l'ordre de  $10^{-3}$  à  $10^{-4}$  mm de Hg), on fait réagir l'hypobromite de lithium sur le sel d'ammonium :



Le gaz obtenu est détendu dans un piège (4 de la figure 1-14), refroidi dans l'azote liquide. La vapeur d'eau et les oxydes d'azote ( $\text{N}_2\text{O}$ ) éventuellement susceptibles de se former en petite quantité (CLUSIUS et RECHNITZ, 1953) y sont retenus.

La formation d'oxydes d'azote dans cette ligne, par l'utilisation de LiOBr n'a toutefois jamais pu être clairement observée. De plus l'adjonction sur la ligne d'un four contenant du cuivre réduit sur argent et chauffé à 570°C, afin de réduire ces éventuels oxydes en azote moléculaire, n'a apporté aucune modification des résultats analytiques par rapport à la méthode simplifiée décrite ci-dessus.

L'azote ainsi soigneusement séché et purifié est ensuite adsorbé sur 5 ou 6 grains de silicagel (actigel) placés dans un porte-échantillon porté à la température de l'azote liquide et qui a été préalablement dégazé longuement sous vide à 200°C.

L'hypobromite de lithium est préparé selon les indications de ROSS et MARTIN (1970)\*. Il est ensuite dégazé sous vide pendant 15 minutes : l'absence de contamination par l'azote de l'air dissous dans l'hypobromite est contrôlée sur le spectromètre de masse. Nous utilisons de préférence cet oxydant car il est plus stable, notamment que l'hypobromite de sodium, qui tend spontanément à se décomposer et à libérer de l'oxygène dont la présence dans le gaz analysé au spectromètre de masse est préjudiciable à une bonne marche de l'analyse.

Au cours de cette préparation, la plus grande attention doit être portée aux phénomènes de mémoire dans la ligne. Ils sont dûs à la présence d'eau qui conduit probablement à une adsorption d'azote gazeux sur les particules de glace dans le piège. Ceci nous conduit à utiliser, pour chaque préparation, un piège propre préalablement étuvé.

Le piégeage sur actigel à la température de l'azote liquide est quantitatif et ne provoque aucun enrichissement isotopique significatif.

### 1.3.3. - MESURES AU SPECTROMETRE DE MASSE.

Les spectromètres de masse à simple ou double collection et simple introduction sont adaptés aux *mesures absolues des rapports ou des abondances isotopiques*. Ils sont utilisés dans les expériences où intervient un *marquage artificiel* en  $^{15}\text{N}$ . Leur reproductibilité est, au mieux, de l'ordre de  $\pm 0,002$  à  $\pm 0,004$  atome  $^{15}\text{N}$  %. En aucun cas ces appareils ne peuvent permettre

---

\* 150 g de LiOH dans 1500 ml d'eau distillée ; après dissolution, on refroidit à 2°C environ et on ajoute goutte à goutte 50 ml de brome.

d'assurer les précisions requises pour observer et interpréter les variations de l'abondance naturelle qui sont au maximum de  $\pm 0,018$  atome  $^{15}\text{N}$  % autour de la valeur de l'azote atmosphérique. De là, la nécessité absolue d'utiliser les spectromètres de masse de type Nier à double collection et double introduction en flux visqueux, classiques en Géochimie isotopique (Mc KINNEY *et al.*, 1950). Ces spectromètres de masse permettent une mesure relative de l'abondance isotopique de l'échantillon étudié par rapport à un échantillon étalon. Ces mesures relatives introduisent l'unité  $\delta^{15}\text{N}$  d'expression de la composition isotopique (cf. paragraphe 1-1-4) et rendent nécessaires pour être valides, c'est-à-dire reproductibles et comparables avec des mesures effectuées dans des laboratoires différents, la définition d'un étalon qui doit être caractérisé du point de vue de sa composition isotopique par une parfaite homogénéité et une parfaite stabilité. De plus la composition isotopique de cet étalon ne doit pas être très différente de celle des échantillons naturels mesurés contre lui. Pour ces raisons, on recherche une référence qui sera bien représentée dans la nature, sous une forme chimique simple.

Il n'existe pas encore d'étalon défini internationalement pour l'azote. L'usage a consacré l'azote atmosphérique : son homogénéité étant *a priori* postulée par l'abondance de cet élément dans l'atmosphère et son incessant brassage par les vents.

Une série de mesures sur l'azote atmosphérique prélevé en différentes régions de France soit à distance du tissu urbain, soit en milieu urbain (Paris) montre, à l'intérieur des limites de la précision analytique du spectromètre de masse lui-même, la stabilité parfaite de la composition isotopique de cet azote (cf. figure 1-15). La variation totale est comprise entre  $+ 0,06$  % et  $- 0,04$  % avec un écart type de  $0,025$  : on peut raisonnablement proposer une précision de l'ordre de  $\pm 0,05$  % qui représente en terme d'abondance absolue une précision de  $\pm 0,000018$  atome  $^{15}\text{N}$  % !. Bien évidemment, l'abondance isotopique absolue de l'azote atmosphérique n'est pas connue avec une telle précision mais en tout état de cause sa composition isotopique est remarquablement stable : le choix de l'azote atmosphérique comme étalon pour les mesures de  $\delta^{15}\text{N}$  est totalement justifié.

Nous avons d'autre part pu disposer de prélèvements effectués dans d'autres parties du monde : les résultats figurent ci-après\* :

---

\* Nous remercions respectivement M. ZUPPI, Melle SHEARER, M. KARAMANOS, Melle PIERRE et M. BLAVOUX d'avoir pris le soin d'effectuer ces prélèvements.

- Vienne (Vienna International Center, Autriche) : - 0,02 %
- St-Louis (Missouri, U.S.A.) : - 0,01 %
- Saskatoon (Saskatchewan, Canada) : - 0,04 %
- Basse Californie (Guerrero Negro, Mexique) : + 0,04 %
- Ile de la Guadeloupe : + 0,02 %

Ces résultats confirment la grande stabilité de la composition isotopique de l'azote atmosphérique.

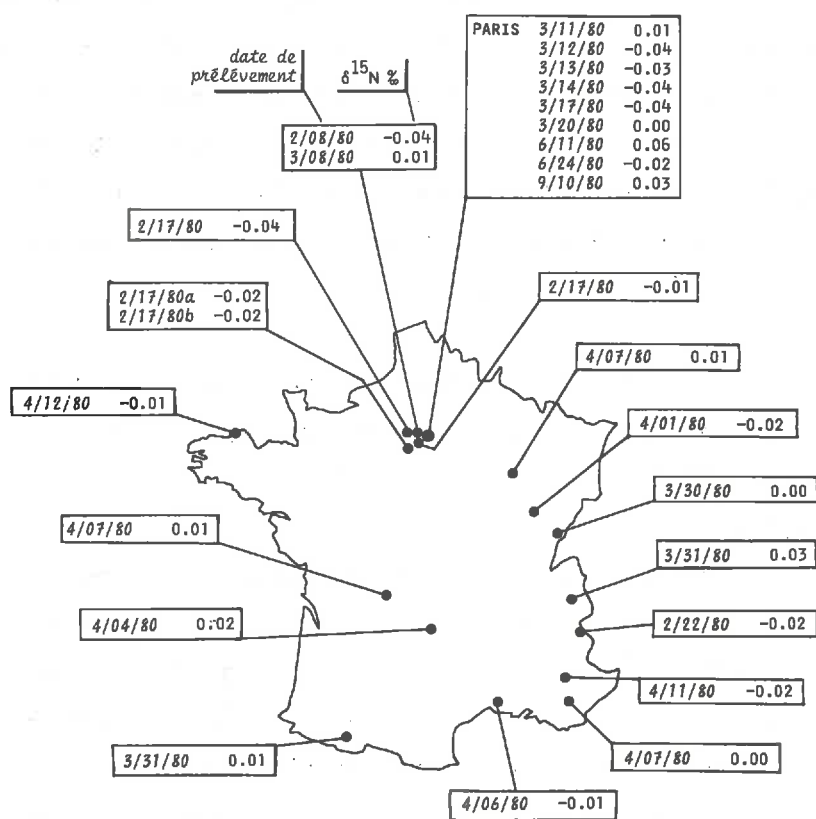


Figure 1-15 : Compositions isotopiques comparées de divers prélèvements d'azote atmosphérique en France.

Le premier chiffre indique la date de prélèvement, le deuxième la composition isotopique en unité  $\delta^{15}\text{N} \%$  versus un des prélèvements considéré arbitrairement comme étalon ( $\delta^{15}\text{N} = 0 \%$ ).

### 1.3.4. - PREPARATION DES ETALONS - PRECISION ANALYTIQUE.

La préparation de ces échantillons en vue de l'analyse isotopique mérite d'être décrite rapidement. Cette préparation consiste essentiellement en une désoxygénation et un séchage de l'échantillon qui, à cet effet, passe pendant 3 minutes sur du cuivre pur réduit sur argent à 700°C, puis est séché à la température de l'azote liquide pendant 5 minutes (cf. figure 1-16) avant d'être adsorbé sur silicagel préalablement dégazé. L'ensemble du traitement de purification n'apporte aucune modification à la composition isotopique de l'azote, ce que nous avons pu vérifier en traitant de l'azote ultra pur fourni par l'industrie et en le comparant à un échantillon non traité.

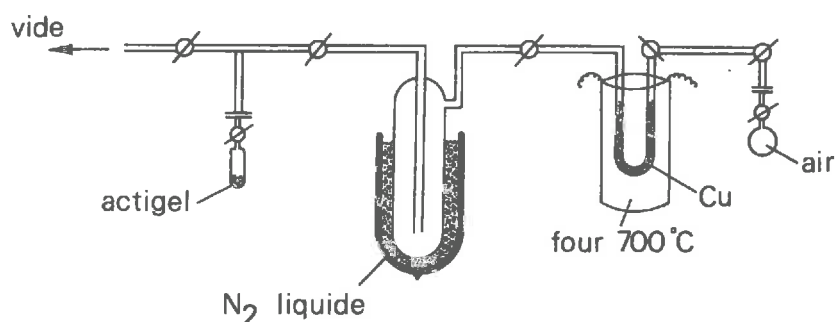


Figure 1-16 : Ligne de purification de l'azote atmosphérique en vue de la préparation des étalons.

Sur le tableau 1-VII figurent les résultats des mesures effectuées sur 10 prélèvements successifs dans une bouteille d'azote comprimé ultrapur. La variation obtenue représente pour nous essentiellement la variation introduite par le spectromètre de masse (déviation standard : 0,016 ‰). L'azote ultrapur d'une bouteille présente une composition isotopique stable, mesurée sur plusieurs années d'expérience, et peut servir d'étalon de travail en laboratoire.

Il est à noter que la composition isotopique de l'azote de bouteilles de gaz comprimé est notablement différente de celle de l'azote atmosphérique : - 3,4 ‰ *versus* N<sub>2</sub> atm. pour la bouteille utilisée actuellement comme standard de travail au Laboratoire de Géologie Dynamique.

Prélèvement	$\delta^{15}\text{N} \%$ versus prélèvement 1
1	-
2	0.01
3	- 0.02
4	- 0.02
5	0.01
6	0.02
7	- 0.02
8	0.00
9	- 0.02
10	0.00
$\bar{m}$	: - 0.004
$\sigma$	: 0.016

Tableau 1-VII : Mesure de la composition isotopique de l'azote d'une bouteille de gaz pur N 48 (99, 998 % N<sub>2</sub>). Les résultats sont exprimés par rapport au premier prélèvement considéré comme référence.

Produit : SO <sub>4</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> PROLABO	
Date d'analyse	$\delta^{15}\text{N}$ versus N <sub>2</sub> atmosphérique
6/3/80	1.81
7/3/80	1.79
7/3/80	1.80
10/3/80	1.77
10/3/80	1.83
11/3/80	1.79
12/3/80	1.82
13/3/80	1.78
14/3/80	1.78
18/3/80	1.79
19/3/80	1.72
20/3/80	1.81
21/3/80	1.77
24/3/80	1.78
25/3/80	1.82
26/3/80	1.80
Moyenne	1.79
Ecart-type	0.025

Tableau 1-VIII : Variation de la composition isotopique de l'azote du sel d'ammonium utilisé comme étalon interne aux séries de mesures effectuées au Laboratoire de Géologie Dynamique.

$\delta^{15}\text{N} \%$ versus N <sub>2</sub> atmosphérique	
VIENNA N - 1	VIENNA N - 2
0.21	20.34
0.20	20.45
0.36	20.29
0.24	20.40
0.31	20.38
0.40	20.34
0.32	20.39
0.35	20.33
0.39	20.37
0.33	20.43
$\bar{m}$	0.31      20.37
$\sigma$	0.072      0.048

Tableau 1-IX : Mesure des compositions isotopiques des échantillons d'inter-comparaison fournis par l'AGENCE INTERNATIONALE POUR L'ENERGIE ATOMIQUE (sel ammoniacal). La distribution de ces étalons est assurée par M.R. GONFIANTINI A.I.E.A., Vienne, Autriche).



Par prudence nous intercalons dans chaque série d'analyses un étalon interne sous forme de sulfate d'ammonium. Ce produit a été utilisé depuis plusieurs années : sur 70 mesures les résultats présentent un écart type de 0,09 %. Depuis quelques mois nous avons reconditionné ce produit : il a été tamisé de façon à obtenir une granulométrie moyenne et longuement homogénéisé dans un appareil à quarter. De plus, il est conservé en permanence sous vide. Sur le tableau 1-VIII figurent les résultats, exprimés *versus* N<sub>2</sub> atmosphérique, obtenus sur un mois de mesure. L'écart-type est de 0,025 %.

Avec le souci de proposer un jour un standard parfaitement défini pour l'azote, l'Agence Internationale pour l'Energie Atomique fournit deux échantillons de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> de compositions isotopiques différentes afin de permettre l'intercalibration des laboratoires : sur le tableau 1-IX nous avons fait figurer ces résultats que nous n'avons pas encore pu comparer à ceux d'autres laboratoires.

La reproductibilité du processus de préparation a également été étudiée sur un nitrate de potassium pur pour analyse, intercalé de façon aléatoire dans des séries d'échantillons donc sans précautions exceptionnelles. Sur 20 mesures l'écart type obtenu est de 0,14 %.

Pour les mesures isotopiques effectuées sur l'azote organique, la reproductibilité est meilleure que 0,4 %. Des analyses répétitives ont été menées sur des sols et des protéines ; les résultats figurent sur le tableau 1-X.

Produit analysé	Azote total d'un sol sur craie de Champagne I	Azote total d'un sol sur craie de Champagne II	Azote total d'un sol cultivé (Beauce)	Protéine I	Protéine II
Résultats analytiques	3.5	3.9	7.4	8.6	11.1
	3.4	4.0	7.9	8.6	11.0
	3.7	4.0	7.3	8.6	11.2
	3.3	3.5	7.9		
	3.3	4.0	7.7		
	3.5	4.0	7.3		
	3.5	3.7	7.2		
	3.9				
	3.2				
	3.3				
Moyenne	3.47	3.87	7.53	8.6	11.1
Ecart-type	0.22	0.20	0.30	-	0.1
Ecart maximum	+ 0.42	+ 0.13	+ 0.37	-	+ 0.1
à la moyenne	- 0.28	- 0.37	- 0.33	-	- 0.1

Tableau 1-X : Reproductibilité d'analyses test sur des composés organiques.

*Les résultats sont exprimés en δ<sup>15</sup>N versus N<sub>2</sub> atmosphérique.*



Toutes ces reproductibilités intègrent celles de la préparation des échantillons des étalons de travail et du spectromètre de masse lui-même, et l'hétérogénéité naturelle de l'échantillon.

En dépit des précautions prises en cours d'analyse, un échantillon peut se révéler pollué par de l'azote atmosphérique. On peut tenter, dans une certaine mesure, de déterminer l'importance de cette pollution par l'observation et la mesure de l'oxygène (masse  $M/e = 32$ ) ou de l'argon (masse  $M/e = 40$ ). Nous avons choisi ce dernier car l'oxygène est susceptible de se former en petite quantité par décomposition de l'hypobromite (CAPINDALE et TOMLIN, 1957). (Ce risque est toutefois limité, nous l'avons vu, par l'emploi d'hypobromite de lithium). Compte tenu de la proportion d'argon par rapport à l'azote de l'air et du rendement relatif d'ionisation de ces deux gaz dans la configuration du spectromètre de masse utilisé, on déduit de la mesure de la masse 40, par une équation de mélange, la proportion d'azote de l'air polluant dans l'échantillon. Bien que cette correction soit *a priori* applicable pour des proportions élevées d'azote de l'air dans l'échantillon pollué, on élimine toute analyse révélant une contribution atmosphérique supérieure à 5 % en volume.

### 1.3.5. - CONVERSION DES UNITES $\delta^{15}\text{N}$ EN ABONDANCE ABSOLUE.

Dans cet ouvrage, il sera traité exclusivement du traçage isotopique naturel et les compositions isotopiques seront toujours exprimées en unités relatives  $\delta^{15}\text{N}$ . Toutefois, depuis quelques années, un intérêt croissant se manifeste pour l'utilisation des méthodes d'analyses mises au point pour le traçage isotopique naturel lors d'expériences de marquage isotopique à basse teneur en marqueur artificiel ou de suivi à long terme d'expérience de marquage : dans ces deux cas, *seule la précision élevée obtenue par les mesures relatives permet une analyse fine des systèmes.*

Il peut être ainsi utile, par souci d'homogénéité, de passer des *mesures relatives de  $\delta^{15}\text{N}$  aux abondances absolues, puis aux excès isotopiques.* Les abondances isotopiques, A, s'expriment par le rapport du nombre d'atomes  $^{15}\text{N}$  au nombre total d'atomes d'azote :  $^{15}\text{N} + ^{14}\text{N}$  (équation 1, paragraphe 1-1-4), soit :

$$A = \frac{[^{14}\text{N } ^{15}\text{N}] + 2 [^{15}\text{N } ^{15}\text{N}]}{2 [^{14}\text{N } ^{14}\text{N}] + 2 [^{14}\text{N } ^{15}\text{N}] + 2 [^{15}\text{N } ^{15}\text{N}]} \cdot 100 \quad (1)$$

Pour la mesure directe des abondances absolues, il n'est pas nécessaire de mesurer le pic  $M/e = 30$  ( $^{15}\text{N } ^{15}\text{N}^+$ ), car ce terme peut être éliminé de l'équation (1) en considérant l'équilibre :



dont la constante est 4,00 à la température ordinaire :

$$\frac{[^{14}\text{N } ^{15}\text{N}]^2}{[^{14}\text{N } ^{14}\text{N}] \cdot [^{15}\text{N } ^{15}\text{N}]} = 4 \quad (2)$$

On rappelle que :

$$R = \frac{[^{14}\text{N } ^{15}\text{N}]}{[^{14}\text{N } ^{14}\text{N}]} \quad (3)$$

De la combinaison de (1), (2) et (3) il vient :

$$[^{15}\text{N } ^{15}\text{N}] = \frac{[^{14}\text{N } ^{15}\text{N}] \cdot R}{4}$$

$$\text{et : } A = \frac{100 R}{2 + R} \quad , \quad R = \frac{2A}{100-A} \quad (4)$$

L'unité  $\delta$  s'écrit :

$$\delta = \left( \frac{R}{R_{\text{ét.}}} - 1 \right) \cdot 1000$$

où  $R_{\text{ét.}}$  est le rapport isotopique de l'azote-étalon atmosphérique, R celui de l'échantillon mesuré.

L'abondance isotopique A de cet échantillon de composition isotopique  $\delta$  sera donc :

$$A \% = \frac{\left( \frac{\delta}{1000} + 1 \right) \cdot R_{\text{ét.}}}{2 + \left[ \left( \frac{\delta}{1000} + 1 \right) \cdot R_{\text{ét.}} \right]} \cdot 100 \quad (5)$$

Réciproquement :

$$\delta = \left( \frac{2 A}{R_{\text{ét.}} (100-A)} - 1 \right) \cdot 1000 \quad (6)$$

Ces formules font intervenir le rapport isotopique de l'azote atmosphérique dont l'abondance absolue est estimée à 0,3663 atome  $^{15}\text{N}$  %.

Donc :  $R_{\text{ét.}} = \frac{2 A}{100-A} = 7,35293 \cdot 10^{-3}$

La figure 1-17 représente la variation de  $\delta^{15}\text{N}$  ‰ en fonction de l'abondance absolue (atomes  $^{15}\text{N}$  %).

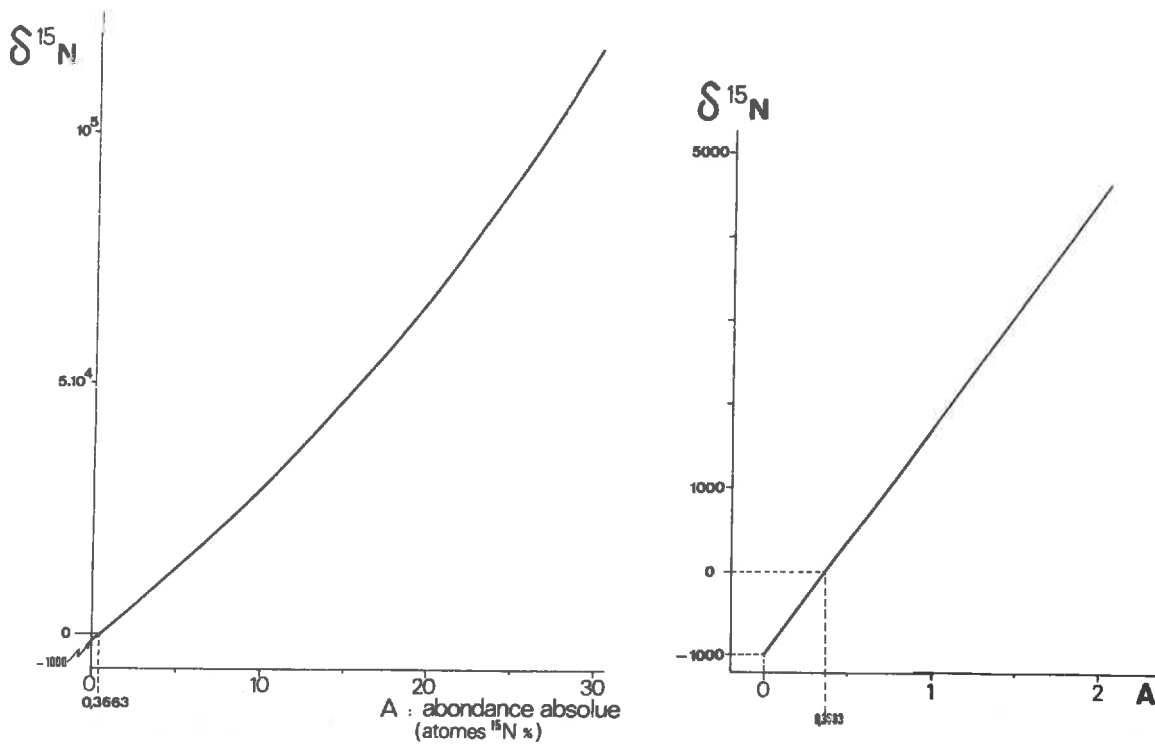


Figure 1-17 : Variation du  $\delta^{15}\text{N}$  ‰ en fonction de l'abondance absolue en atomes  $^{15}\text{N}$  %.

1.3.6. - CORRECTIONS.

La précision des mesures d'abondance isotopique effectuées sur spectromètre de masse à double collection et double introduction à flux visqueux, pour les abondances naturelles est donc, exprimée en atome  $^{15}\text{N}$  %, dans le cas le plus défavorable, de l'ordre de  $\pm 0,00014$ , *précision largement supérieure à celle à laquelle peuvent prétendre les spectromètres de masse à simple introduction, ou les spectromètres optiques.*

On peut donc envisager, comme nous l'avons évoqué plus haut, l'utilisation de ces appareils pour des expériences de marquage à faible niveau d'enrichissement, c'est-à-dire utilisant des produits faiblement marqués en  $^{15}\text{N}$ , puisque cet enrichissement sera détecté avec une précision nettement supérieure à celle des spectromètres conventionnels. Cependant, la plus grande attention doit être consacrée au fait que les appareils conçus pour les mesures d'abondances naturelles, effectuent une *mesure relative* d'abondance isotopique et voient leur *précision diminuer* avec l'augmentation de la "distance isotopique" entre l'échantillon et l'étalon. Ainsi, GONFIANTINI (1965) propose-t-il une estimation de l'erreur sur les mesures de  $\delta^{18}\text{O}$  de la forme :

$$e = \pm (0,1 + 0,01 \delta^{18}\text{O})$$

Nous avons analysé des sulfates d'ammonium plus ou moins enrichis en  $^{15}\text{N}$ , fournis par la Société A.P.C.. Les résultats figurent sur le tableau 1-XI ( $\bar{m} \pm \text{écart-type}$ ).

$\delta^{15}\text{N} \text{ \%} \pm \text{écart-type}$	Abondance absolue (atomes $^{15}\text{N} \text{ \%}$ ) $\pm \text{écart-type}$
0,11 $\pm$ 0,07	0,36634 $\pm$ 0,00003
549,2 $\pm$ 0,7	0,5663 $\pm$ 0,0002
1941,8 $\pm$ 2,1	1,0699 $\pm$ 0,0007
6240,6 $\pm$ 2,6	2,5929 $\pm$ 0,0009

Tableau 1-XI : Erreurs sur la mesure isotopique en fonction de l'abondance absolue.

Ces résultats sont tout-à-fait insuffisants pour tirer une loi significative reliant la mesure de la composition isotopique à l'erreur commise sur cette mesure. On peut toutefois l'estimer très approximativement à :

$$\text{erreur sur } \delta^{15}\text{N} = \pm (0,1 + 0,0004 \delta^{15}\text{N})$$

Dans la gamme étudiée des abondances isotopiques (de l'abondance naturelle à 2,5 atome  $^{15}\text{N}$  % environ), on peut considérer que l'augmentation de l'erreur sur la mesure, corrélative de l'augmentation de la "distance isotopique" entre échantillon et étalon, est très faible.

Ceci n'est valable bien sûr que pour le spectromètre de masse sur lequel ces mesures ont été effectuées et ne saurait avoir un caractère de généralité.

Enfin, si de tels enrichissements isotopiques sont utilisés, il faut rappeler que si l'étalon de travail contre lequel les échantillons sont mesurés n'est pas directement l'azote de l'air mais un étalon calibré par rapport à l'azote de l'air (par exemple, comme dans notre Laboratoire, de l'azote ultrapur en bouteille), le  $\delta^{15}\text{N}$  de l'échantillon exprimé *versus*  $\text{N}_2$  atmosphérique se corrige selon la formule (BOATO, 1960) :

$$\delta_{x/A} = \delta_{x/B} + \delta_{B/A} + \delta_{x/B} \cdot \delta_{B/A} \cdot 10^{-3}$$

où  $\delta_{x/A}$  est la composition isotopique de l'échantillon *versus*  $\text{N}_2$  atmosphérique,  $\delta_{x/B}$  cette composition isotopique *versus*  $\text{N}_2$  de l'étalon de travail et  $\delta_{A/B}$  la composition isotopique de cet étalon de travail *versus*  $\text{N}_2$  atmosphérique.

Cette correction mérite d'être appliquée dès lors que le terme correctif  $\delta_{x/B} \cdot \delta_{B/A} \cdot 10^{-3}$  est supérieur à 0,2 % en valeur absolue, c'est-à-dire pour des  $\delta^{15}\text{N}$  supérieurs à |50 %| lorsque la composition isotopique de l'étalon de travail exprimé *versus*  $\text{N}_2$  atmosphérique n'excède pas |4 %|.

CHAPITRE 2 : LE COMPORTEMENT DES ISOTOPES DANS LE MILIEU NATUREL :  
LES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES APPARENTS ASSOCIES  
AUX PRINCIPAUX PROCESSUS DU CYCLE DE L'AZOTE.

LES ABONDANCES ISOTOPIQUES NATURELLES DE L'AZOTE  
COMME TRACEURS DE FONCTIONNEMENT ET DE SENS D'ÉVO-  
LUTION DES SYSTEMES.

Nous allons successivement analyser, dans ce chapitre, les effets isotopiques accompagnant les diverses interconversions de l'azote dans son cycle.

La plupart de ces processus sont biologiques, catalysés enzymatiquement, multi-séquentiels et potentiellement réversibles : c'est dire que les effets isotopiques mesurés ne peuvent être considérés comme des effets accompagnant des réactions simples unidirectionnelles. Cet avant-propos informe le lecteur du fait que dans la suite de l'exposé, le terme fractionnement, ou effet isotopique, sera toujours suivi, de façon tacite, de l'attribut apparent (ou observé).

La présentation de l'ensemble des résultats sera faite, pour l'essentiel, selon la logique du cycle de l'azote.

Le réservoir essentiel d'azote mobilisable étant l'atmosphère et le phénomène de fixation biologique étant le processus qui a "amorcé" le cycle de l'azote à la surface de la planète, la première place lui revient dans ce chapitre.

Après le passage de  $N_2$  atmosphérique à l'azote organique des êtres vivants fixateurs (essentiellement N aminé) il eût été possible d'envisager les processus complexes intervenant dans les transformations entre pools organiques azotés du sol (processus de l'humification), avant d'aborder les phénomènes de minéralisation. Comme ces réactions d'interconversion s'établissent entre des composés, ceux de l'humus au sens large, encore mal définis chimiquement, on ne peut parler d'effets isotopiques entre des pools le plus souvent définis par des conditions analytiques d'extraction. Nous étudierons donc les transformations isotopiques intervenant au sein de la matière organique en cours de transformation dans un chapitre particulier, à la fin de l'exposé, séparant ainsi de façon arbitraire des processus réactionnels "organiques" et "minéraux".

La deuxième étape qu'impose la logique du cycle sera donc le processus de minéralisation, passage N organique - N ammoniacal, immédiatement suivi des phénomènes d'oxydation portant l'azote ammoniacal sous forme nitrique.

L'ion nitrate, forme thermodynamiquement stable dans les conditions aérobies de la surface, marque une étape essentielle du cycle de l'azote : les effets isotopiques attachés à son devenir définiront les étapes de la suite de l'ouvrage : dénitrification, absorption, réorganisation.

Ainsi, les principaux processus biologiques auront-ils été analysés. Ceci nous aura conduit à négliger un certain nombre de processus, à caractères physico-chimiques, que nous examinerons alors : fixation de l'ion ammonium sur les colloïdes électro-négatifs du sol, volatilisation de l'ammoniac, mise en solution de  $N_2$  etc...

Enfin le dernier paragraphe sera donc consacré à l'étude des modifications de composition isotopique accompagnant les transformations complexes de l'azote organique dans les sols.



## CHAPITRE 2

### 2.1. FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE AU COURS DE LA FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE ATMOSPHERIQUE.

## 2.1. - FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE AU COURS DE LA FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE ATMOSPHERIQUE\*.

Les mesures ont porté sur des couples bactéries fixatrices-légumineuses. A titre de comparaison, une série de mesures a été effectuée sur l'Aune, une autre sur une bactérie libre fixatrice, *Azotobacter vinelandii*.

Pour ce qui concerne les Légumineuses, nous avons dans un premier temps mesuré le fractionnement isotopique global réalisé dans la partie aérienne de la plante. Cette option a été prise car elle est adaptée aux besoins des Agronomes qui utiliseront les techniques de traçage naturel par  $^{15}\text{N}$  pour l'estimation de la fixation au champ (cf. chapitre 3-3) : seule la partie aérienne des végétaux leur est accessible.

Puis a été effectuée une série d'expérimentations destinée à mesurer la variation éventuelle de cet effet isotopique au cours de la croissance d'une plante.

Enfin nous avons voulu préciser la variabilité de l'enrichissement isotopique obtenu dans les différents organes, y compris souterrains, d'une légumineuse inoculée. De ces observations, seront déduites des hypothèses concernant l'influence de mécanismes physiologiques intimes du métabolisme de la fixation sur l'enrichissement isotopique associé à ce processus.

### 2.1.1. - MESURE DES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES ENTRE L'AZOTE ATMOSPHERIQUE ET LES PARTIES AERIENNES DE DIAZOTOPHES SYMBIOTIQUES.

#### A) Matériel et méthode.

Sept espèces de légumineuses (cf. tableau 2-I) ont été cultivées dans des pots de 5 litres remplis de sable stérile et arrosés avec une solution nutritive sans azote dont la composition était la suivante :

$\text{K}_2\text{HPO}_4$  :  $0,8 \cdot 10^{-3}\text{M}$  ;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  :  $0,7 \cdot 10^{-3}\text{M}$  ;  $\text{CaCl}_2$  :  $2,5 \cdot 10^{-3}\text{M}$  ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  :  $1 \cdot 10^{-3}\text{M}$  ; Fe et oligoéléments (le détail en sera donné dans le chapitre 2-4 sur l'assimilation des nitrates par les plantes supérieures). Cette solution a été apportée automatiquement suivant les besoins de la plante estimés par la mesure en continu de l'évapotranspiration. Le trèfle et la luzerne ont été

---

\* MARIOTTI *et al.*, 1980.

plantés à raison de 24 plantes par pot, les autres espèces à raison de trois plantes par pot. Plusieurs répétitions par espèce ont eu lieu. Dix jours après semis, les plantes ont été inoculées avec une suspension de *Rhizobium* : *Rhizobium leguminosarum* FH 34 pour *Pisum* et *Vicia*, *R. phaseoli* Bt 3 pour *Phaseolus*, *R. japonicum* G3 pour le soja, *R. lupini* LB 28 pour *Lupinus*, *R. meliloti* 2011 pour *Medicago*, *R. trifolii* TA 1 pour *Trifolium*. Les parties aériennes des plantes ont été récoltées 2 mois après semis, séchées, pesées, broyées et homogénéisées. Dans ce cas, la source d'azote étant l'azote atmosphérique, on est assuré de n'avoir aucun "effet réservoir", la source étant à tout instant infinie par rapport au prélèvement des plantes (cf. 1-2-4 C).

En association avec ces cultures, nous avons mesuré le fractionnement isotopique au cours de la fixation symbiotique chez l'aune (*Alnus glutinosa* Gaertn). Des germinations d'aune repiquées sur billes de verre en présence d'une solution nutritive minérale sans azote sont inoculées à l'âge de une semaine avec 1 ml d'une suspension de broyat de nodules (2 g de nodules pour 100 ml de solution minérale sans azote). Les plantes nodulent au bout de 3 semaines et sont récoltées à 14 semaines. Seuls les organes aériens sont analysés. La quantité d'azote dans ces organes est en moyenne de 50 mg N par plante. Les semences étant très petites (matière sèche 1,7 mg, azote total 0,025 mg en moyenne par semence), l'effet graine peut être considéré comme non sensible.

## B) Résultats.

Les résultats figurent sur le tableau 2-I pour ce qui concerne les légumineuses. On remarque que les enrichissements isotopiques,  $\epsilon_{p/s}$ , sont faibles pour les plantes étudiées ; ils sont compris entre - 0,6 et - 2 %, avec une tendance à la discrimination vis-à-vis de  $^{15}\text{N}$  dans l'azote organique fixé ( $\alpha_{p/s} > 0,998$ ) ; les variations entre répétitions sont également minimes. Ces variations sont beaucoup plus faibles que celles que nous enregistrerons lors de l'étude de l'absorption des nitrates par les plantes supérieures : ceci peut trouver une explication dans le fait que l'azote de l'air représente un réservoir infini et homogène parfait.

Il existe entre les fractionnements isotopiques constatés dans les parties aériennes des légumineuses étudiées des différences significatives ( $p < 0.05$ ). Le soja et le haricot réalisent le fractionnement le plus important\*, la féverole le moins grand.

---

\* Nous proposerons plus avant dans l'exposé une explication à ce phénomène.

Plante	Variété	Composition isotopique de la plante inoculée sans azote	$\bar{\epsilon}$ (1) $\pm$ écart-type	$\bar{\alpha}$
<i>Medicago sativa</i> L.....	Mireille	-0,8	-0,92 (b, c) $\pm$ 0,13	0,999 08
		-0,8		
		-1,0		
		-0,9		
		-1,1		
<i>Trifolium pratense</i> L.....	Alpilles	-0,9	-0,88 (b, c) $\pm$ 0,08	0,999 12
		-0,9		
		-0,9		
		-1,0		
		-0,8		
<i>Lupinus luteus</i> L.....	Sulfa	-0,7	-0,77 (c, d) $\pm$ 0,11	0,999 23
		-0,7		
	Sulfa (2)	-0,9		
		-0,9		
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	Contender	-1,9	-1,97 (a) $\pm$ 0,06	0,998 03
		-2,0		
	Hodgson	-1,8		
		-1,9		
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.....	Hodgson (3) Amsoy (3) Chippewa (3) Wells (3)	-1,8	-1,83 (a) $\pm$ 0,06	0,998 17
		-1,6		
		-1,2		
		-1,5		
<i>Vicia faba</i> L.....	Ascott	-1,3	-0,63 (d) $\pm$ 0,15	0,999 37
		-0,5		
		-0,6		
<i>Pisum sativum</i> L.....	Rondo	-0,8	-1,0 (b) $\pm$ 0,10	0,999 00
		-0,9		
		-1,0		
		-1,1		
		moyenne	-1,14	
		écart-type	0,53	

Tableau 2-I : Composition isotopique de Légumineuses inoculées cultivées sur milieu sans azote. Ces valeurs correspondent aux facteurs d'enrichissement isotopique  $\epsilon$ . Pour chaque espèce ou variété, les différentes valeurs correspondent à des lots différents.

( $\epsilon = \delta^{15}\text{N}$  plante -  $\delta^{15}\text{N}$  azote atmosph., avec, par définition  $\delta^{15}\text{N}$  azote atmosph. = 0). Seuls les organes aériens des végétaux sont analysés.

$\bar{\epsilon}$  et  $\bar{\alpha}$  : Valeurs moyennes.

(1) Deux valeurs non suivies de la même lettre diffèrent significativement ( $P < 0.05$ ).

(2) et (3) Ces valeurs correspondent à des mesures effectuées au cours d'expérimentations différentes mais effectuées dans les mêmes conditions (cf. chapitre 3-3) et sont données à titre de comparaison.

Reproduit, modifié de MARIOTTI et al. (1980).

BARDIN *et al.* (1977) proposent pour le soja un facteur de fractionnement isotopique plus élevé que celui proposé ici, soit :

$$\alpha_{p/s} = 0,996, \quad \epsilon_{p/s} = - 4 \%$$

Au contraire, KOHL et SHEARER (1980) trouvent un enrichissement isotopique positif : ( $\epsilon = + 0,98 \pm 0,18 \%$  et  $+ 1,88 \pm 0,14 \%$ ) respectivement chez le soja (*G. max* Merrill, var. Harosoy) et le trèfle violet (*T. pratense*).

Ces différences sont importantes. Toutefois, dans le travail de KOHL et SHEARER, les valeurs publiées concernent les plantes entières et non les parties aériennes seulement. La connaissance de la composition isotopique des racines est susceptible d'expliquer en partie, comme on le verra dans un paragraphe suivant, ces différences.

Enfin, à titre de comparaison, l'enrichissement isotopique au cours de la fixation symbiotique chez l'aune (*Alnus glutinosa*) a été mesuré. Les valeurs obtenues sur deux répétitions sont - 2,8 et - 2,4 % (plantes en alimentation azotée exclusivement symbiotique), soit une valeur moyenne pour  $\alpha_{p/s}$  de 0,9974, ordre de grandeur des valeurs maximales observées chez les légumineuses.

#### 2.1.2. - MESURE DU FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE ASSOCIE A LA FIXATION DE L'AZOTE ATMOSPHERIQUE CHEZ UNE BACTERIE LIBRE.

Nous avons retenu *Azotobacter vinelandii* UW. Les bactéries ont été cultivées dans des fioles d'Erlenmeyers de 2 litres contenant 400 ml de milieu sans azote (milieu de BURK modifié par STRANDBERG et WILSON, 1968). Les fioles sont maintenues pendant 4 jours sur un agitateur rotatif, à 30°C. Puis les bactéries sont centrifugées à 4°C (10000 x g, 10 min.), lavées une fois à l'eau, recentrifugées et séchées.

La composition isotopique de cette culture est de - 2,4 %,  $\alpha_{p/s} = 0,9976$ . Ces valeurs sont très proches de celles obtenues par différents auteurs sur *A. vinelandii*, valeurs reportées sur le tableau 2-II. Sur ce tableau, on trouvera également les résultats obtenus sur d'autres espèces d'*Azotobacter* : ils sont du même ordre de grandeur.

Il semble donc que le processus de fixation de l'azote atmosphérique, tant chez les diazotrophes symbiotiques que chez les libres, ne s'accompagne que d'un effet isotopique minimal.

Espèce	$\alpha_{p/s}$	$\epsilon_{p/s} \%$	Référence
<i>A. agile</i>	0.9985	- 1.5	HOERING et FORD (1960)
<i>A. chroococcum</i>	0.9993	- 0.7	HOERING et FORD (1960)
<i>A. chroococcum</i>	1.0003	+ 0.3	ZSCHIESCHE (1972)
<i>A. indicum</i>	1.0037	+ 3.7	HOERING et FORD (1960)
<i>A. vinelandii</i>	0.9978	- 2.2	HOERING et FORD (1960)
<i>A. vinelandii</i>	0.9961	- 3.9	DELWICHE et STEYN (1970)
<i>A. vinelandii</i>	0.9976	- 2.4	MARIOTTI <i>et al.</i> (1980)

Tableau 2-II : Facteurs d'enrichissement isotopique associés au processus de fixation de l'azote atmosphérique par des bactéries fixatrices libres du genre *Azotobacter*, Revue bibliographique.

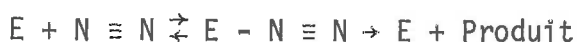
### 2.1.3. - CONSIDERATIONS THEORIQUES SUR LE FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE A LA FIXATION.

Le fractionnement isotopique associé à la fixation semble donc très faible chez les organismes diazotrophes. Or, la réaction de fixation fait intervenir une variation dans les liaisons chimiques de l'azote (de  $N \equiv N$  à  $NH_3$ ) et devrait théoriquement être accompagnée d'un effet isotopique important.

HOERING et FORD (1960) envisageant plusieurs mécanismes pour la fixation ont calculé l'effet isotopique théorique associé à chaque type de réaction : il est chaque fois important :

équation		$\epsilon_{p/s}$ théorique %
$N_2 \rightarrow N_2^+ + e^-$	ionisation	- 6.0
$N_2 \rightarrow 2N$	dissociation	- 84.0
$H_2 + N_2 \rightarrow HN = NH$	hydrogénation	- 27.0

L'absence d'effet isotopique important conduit HOERING et FORD à conclure que le processus de fixation est caractérisé par l'existence d'une étape limitante dont le mécanisme ne fait pas intervenir de variation dans les liaisons chimiques de l'azote, à partir de  $N \equiv N$ . Cette étape limitante pourrait être la formation d'un complexe enzyme-substrat dans un processus catalytique biologique :



Cette étape pourrait également être la formation d'un complexe métallique avec Fe, précédant la formation du complexe diimide décrit dans le processus de la figure 1-3 : cette première réaction s'accomplit sans changement de liaison entre les atomes d'azote par rapport à N<sub>2</sub> atmosphérique : on peut concevoir qu'elle puisse se dérouler sans s'accompagner de fractionnement isotopique, ou avec un fractionnement très faible. Si cette étape est limitante de la vitesse du processus global, elle imposera son effet isotopique à l'ensemble du processus de fixation.

Nous allons maintenant étudier la variation de cet effet isotopique au cours des stades successifs de croissance d'un couple diazotrophe symbiotique.

#### 2.1.4. - MESURE DU FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE A LA FIXATION AU COURS DE LA CROISSANCE D'UN COUPLE DIAZOTROPHE SYMBIOTIQUE.

##### A) Matériel et méthode.

Nous avons utilisé pour cette étude la luzerne, *Medicago sativa* L. (var. Mireille), inoculée avec *R. meliloti* 2011-3-S<sub>1</sub>. Les conditions de culture sont celles décrites au paragraphe 2-1-1. Deux expérimentations semblables ont été effectuées à des dates différentes : elles sont ci-après désignées A et B.

Nous avons distingué 8 stades différents (du stade cotylédons à la floraison) et mesuré à chaque stade 4 répétitions. Jusqu'au stade deux feuilles nous avons mesuré la plante entière. Au-delà de ce stade, nous avons distingué parties aériennes et racines.

##### B) Résultats.

Ils figurent sur le tableau 2-III.

On peut constater que le facteur d'enrichissement isotopique varie très peu du premier stade cotylédon à la deuxième coupe après floraison : ces variations sont de l'ordre du pour mille. Tout au plus peut-on noter une très légère augmentation de  $\epsilon$  au cours de la croissance, aux tous premiers stades. Ce phénomène peut, *pro parte*, s'expliquer par l'existence de l'effet graine : ces résultats ne sont en effet pas corrigés de l'apport azoté de la semence. Cet effet se limitera vraiment aux tous premiers stades car la graine de luzerne est très petite : son poids est de l'ordre de 1 à 2 mg : l'effet graine doit donc être limité dans le temps.

Expérimentation	Stade de végétation	$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰ versus } \text{N}_2 \text{ atmosphérique}$	
		Racines	Parties aériennes
A	Cotylédons	- 0,4 - 1,0 - 0,2 - 0,3	- 0,48 ± 0,36
B	1 feuille	0,0 + 0,2 0,0 + 0,2	+ 0,10 ± 0,11
B	2 feuilles	- 0,2 - 0,8 - 0,5 - 0,3	- 0,45 ± 0,26
B	3 feuilles	- 0,7 - 0,4 - 0,9 - 0,8	- 0,8 - 0,5 } - 0,75 ± 0,17 - 0,9
B	4-5 feuilles	- 0,7 - 0,5 - 0,5 - 0,4	- 0,5 - 0,6 } - 0,53 ± 0,10 - 0,6
B	5-6 feuilles	- 0,7 - 0,5 - 0,8 - 0,4	- 1,0 - 0,7 } - 0,78 ± 0,17 - 0,6
A	Floraison 1ère coupe	+ 0,1 - 0,1 - 0,8 - 0,8	- 1,0 - 0,4 } - 0,70 ± 0,35 - 0,4
A	Floraison 2ème coupe	- 0,6 - 0,2 - 0,5 - 1,0	- 1,5 - 1,0 } - 1,18 ± 0,23 - 1,2

Tableau 2-III : Facteur d'enrichissement isotopique à la fixation au cours de la croissance chez *Medicago sativa*. Ce facteur est donné directement par la composition isotopique de la plante exprimée *versus*  $\text{N}_2$  atmosphérique. On trouvera sur ce tableau, associés aux valeurs des quatre répétitions, la moyenne et l'écart-type.

La valeur précédemment obtenue sur la luzerne (cf. tableau 2-I) :  $- 0,92 \pm 0,13$  correspond au stade floraison; elle n'est pas statistiquement de celles du tableau 2-III.

On peut donc considérer que le fractionnement isotopique associé à la fixation d'azote atmosphérique par un couple diazotrophe symbiotique est à peu près constant au cours de la croissance végétative de la plante : c'est là un résultat essentiel qui facilitera l'application de la méthode des abondances isotopiques naturelles à l'estimation de la fixation au champ (cf. chapitre 3, partie 3-3).

Sur ce tableau 2-III, on peut constater, au dernier stade de végétation que la composition isotopique des racines diffère significativement de celle des parties aériennes. Toujours dans le dessein d'utiliser les



différences de composition isotopique pour l'estimation de la fixation *in situ*, il est essentiel, afin de pouvoir proposer une stratégie de l'échantillonnage, de connaître les différences de  $\delta^{15}\text{N}$  et donc de fractionnement isotopique entre différents organes de la même plante.

#### 2.1.5. - MESURE DES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES AU COURS DE LA FIXATION POUR DIFFERENTS ORGANES DE LEGUMINEUSES INOCULEES.

##### A) Matériel et méthodes.

Nous avons réalisé cette expérience sur deux légumineuses inoculées : le lupin (*Lupinus luteus* var. *blanca* + *Rhizobium lupini* LB 29) et le soja (*Glycine max* (L) Merr. var. *Amsoy* + *Rhizobium japonicum* G3).

Les plantes ont été mises en culture le 30.7.79 en pots de 5 litres sur sable stérilisé, à raison de 4 plantes par pot, et 5 répétitions. L'inoculation avec une suspension de *Rhizobium* a eu lieu le 8.8.79, puis le 13.8.79. La culture est menée en serre, la solution nutritive sans azote de composition donnée en paragraphe 2-1-1 est apportée 2 à 3 fois par jour.

La récolte a été effectuée à maturité soit le 16.11.79 pour le soja et le 16.1.80 pour le lupin.

##### B) Résultats.

Sur les tableaux 2-IV et 2-V figurent les résultats : teneur en azote et composition isotopique des différents organes. Nous avons calculé par bilan les compositions isotopiques de l'azote total de la plante entière et des parties aériennes de la plante, qui figurent sur les deux dernières colonnes.

On peut constater que l'écart-type sur les valeurs calculées de  $\delta^{15}\text{N}$  de la plante entière ou des parties aériennes de la plante, est toujours très nettement inférieur aux écarts-types respectifs obtenus sur les mesures de composition isotopique des organes séparés. Ceci semble indiquer que le fractionnement isotopique à la fixation est, à l'échelle du végétal entier (ou de ses parties aériennes), une valeur bien déterminée, fixe d'une répétition à l'autre dans les conditions expérimentales retenues, mais que la répartition des isotopes selon les différents organes peut varier très légèrement d'une plante à l'autre dans le cadre de ces répétitions.

Répétition	Racine		Tige		Gousse		Graine		Total des parties aériennes		Plante entière	
	N total (mg)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N	$\delta$	N	$\delta$	N	$\delta$	N	$\delta$	N	$\delta$
1	69	0.1	129	- 1.0	63	- 1.1	598	0.3	790	- 0.02	859	- 0.01
2	49	0.1	79	- 1.15	48	- 1.3	520	0.5	647	0.16	696	0.16
3	37	- 0.25	328	- 0.85	130	- 0.2	517	0.55	975	- 0.02	1012	- 0.03
4	59	0.35	184	- 1.55	78	- 1.65	1075	0.25	1337	- 0.11	1396	- 0.09
5	51	- 0.55	301	- 0.75	84	- 0.7	418	0.2	803	- 0.25	854	- 0.27
$\bar{m}$	53	- 0.05	128.6	- 1.06	80.6	- 0.99	625.6	0.36	910.4	- 0.05	963.4	- 0.05
$\sigma$	11.9	0.35	107.6	0.31	30.9	0.56	259.2	0.16	265.3	0.15	266.4	0.15

*Lupinus albus* var. *blanca* + *R. lupini* LB 29.

Tableau 2-IV : Enrichissements isotopiques entre l'azote atmosphérique et l'azote organique de différents organes du lupin (nutrition azotée exclusivement symbiotique).

*Les chiffres portés dans les colonnes "Total des parties aériennes" et "Plante entière" sont calculés par bilan.*

Répétition	Racine		Tige feuillée		Gousse		Graine		Total des parties aériennes		Plante entière	
	N total (mg)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N	$\delta$	N	$\delta$	N	$\delta$	N	$\delta$	N	$\delta$
1	54	6.3	442	- 1.8	110	- 0.3	867	- 0.8	1419	- 1.07	1473	- 0.80
2	58	7.8	385	- 1.3	100	- 0.3	704	- 1.2	1189	- 1.16	1247	- 0.74
3	40	6.3	407	- 1.7	144	- 0.2	799	- 1.1	1350	- 1.18	1390	- 0.97
4	40	5.5	509	- 1.5	119	- 0.8	438	- 1.2	1066	- 1.30	1106	- 1.05
5	44	5.0	316	- 1.7	122	- 0.2	782	- 1.1	1220	- 1.17	1264	- 0.95
$\bar{m}$	47.2	6.18	411.8	- 1.60	119.0	- 0.36	718.0	- 1.08	1248.8	- 1.18	1296	- 0.90
$\sigma$	8.3	1.06	71.2	0.20	16.4	0.25	166.9	0.16	138.8	0.08	141.1	0.13

*Glycine max* (L) Merr. var. *Amsoy* + *R. japonicum*

Tableau 2-V : Enrichissements isotopiques entre l'azote atmosphérique et l'azote organique de différents organes du soja (nutrition azotée exclusivement symbiotique).

*Les chiffres portés dans les colonnes "Total des parties aériennes" et "Plante entière" sont calculés par bilan.*

Les valeurs de  $\epsilon_{p/s}$  obtenues pour les parties aériennes sont respectivement : *L. albus* : - 0,1 %, *G. max* : - 1,2 %. On peut comparer ces résultats à ceux du paragraphe 2-1-1 (tableau 2-I) où les mesures étaient effectuées sur les plantes entières et au cours d'expérimentations effectuées à quelques années d'intervalle : on note le parfait accord pour *G. max*, var. Amsoy : - 1,2 % dans les deux cas. Pour le lupin, les espèces étudiées dans les deux séries d'expérimentations sont différentes (*L. luteus* et *L. albus*) les valeurs de  $\epsilon_{p/s}$  diffèrent, avec une valeur très faible pour *L. albus*. Il faut toutefois noter que les valeurs de fractionnement isotopique pour les parties aériennes obtenues comme il est décrit ci-dessus, c'est-à-dire par bilan à partir de la mesure de chaque organe séparé, sont bien évidemment plus entachées d'erreur (erreurs successives sur la mesure de  $\delta^{15}N$  et de teneur en N) que celle obtenue par mesure directe de l'ensemble des parties aériennes.

Sur ces deux exemples, on note une grande différence entre le soja où les racines présentent un enrichissement important en  $^{15}N$  par rapport au reste de la plante, alors que ce phénomène n'est pas sensible pour le lupin. Ces résultats sont confirmés pour le soja par les travaux de SHEARER *et al.* (1980) et SHEARER et KOHL (1978) qui observent des  $\delta^{15}N$  très élevés dans les nodules de cette plante (jusqu'à 16 %). TURNER et BERGERSEN (1980) observent des phénomènes semblables.

Les lupins et soja analysés dans cette expérimentation ne portaient que des résidus de nodosités : il n'a donc pas été possible de les analyser séparément de façon correcte. On peut toutefois penser avec une grande certitude que l'enrichissement en  $^{15}N$  des nodules observé par ces auteurs est responsable, dans notre étude, de l'enrichissement des racines du soja.

#### 2.1.6. - LIAISONS ENTRE LE METABOLISME DE LA FIXATION ET L'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE DES NODULES.

KOHL, BRYAN, FELDMAN, BROWN et SHEARER ont présenté, en 1981, à la quatrième conférence internationale sur les isotopes stables à Jülich (K.F.A.), un travail très détaillé sur ces enrichissements isotopiques dans les nodules du soja. Nous présenterons rapidement ce travail et, à la lumière de résultats personnels, nous essayerons de tirer quelques perspectives concernant le métabolisme de la fixation symbiotique par les légumineuses.

KOHL *et al.* (1981) observent sur le soja que la composition isotopique des nodules est enrichie en  $^{15}N$  par rapport à celle de la plante entière.

Cette différence de  $\delta^{15}\text{N}$  (notée par commodité  $\Delta\delta^{15}\text{N}^*$ ) varie de 2,8 à 12,8 % avec une valeur moyenne ( $n = 59$ ) de 8,3 %. L'abondance en  $^{15}\text{N}$  des autres parties de la plante est plus uniforme : la variation n'excède pas 2 %, cette homogénéité de composition isotopique des tissus non nodulés persiste au cours de la croissance, même pendant la phase de mobilisation et de transport de l'azote des tissus végétatifs vers les tissus reproducteurs.

Sur la figure 2-1, tirée de ce travail, on peut observer une nette augmentation du  $\delta^{15}\text{N}$  pendant la croissance sous différentes conditions de cultures : (A) : en culture hydroponique sans azote, (B) : en serre sur sol pauvre en azote, (C) : au champ, sur sol riche en azote. Sur cette figure, on constate également qu'à période de croissance égale, le  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  décroît (l'ordonnée à l'origine de la droite décroît) avec l'augmentation de la teneur en azote combiné, depuis l'expérience sans azote en culture hydroponique jusqu'à la culture au champ sur sol riche en N.

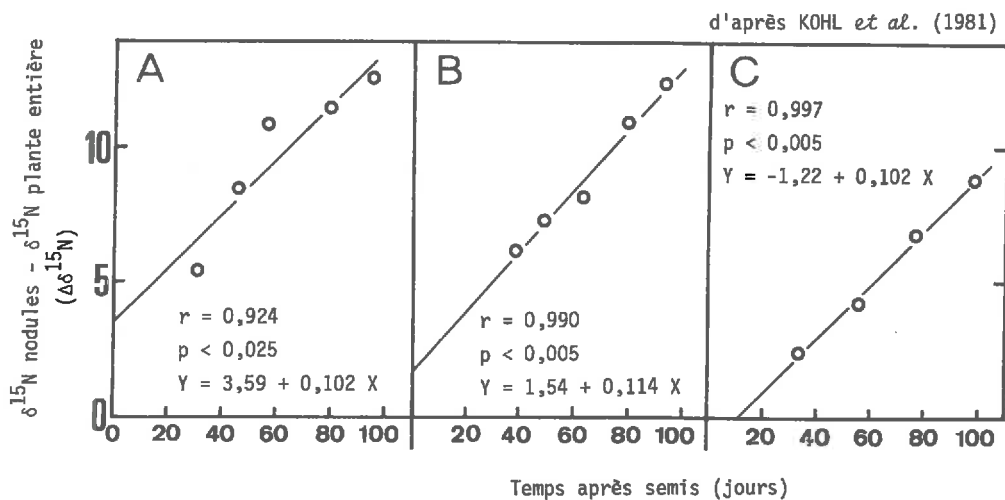


Figure 2-1 : Variation du  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  au cours de la croissance du soja dans différentes conditions de culture (voir texte).  
Figure reproduite de KOHL et al. (1981).

Ces mêmes auteurs réalisent une autre série d'expérimentations où ils inoculent un soja avec 6 souches différentes de *Rhizobium japonicum*, en condition hydroponique sans azote combiné.

\*  $\Delta\delta^{15}\text{N} = \delta^{15}\text{N nodules} - \delta^{15}\text{N plante entière (ou parties aériennes)}$ .

Ils constatent l'existence d'une *corrélation hautement significative* de  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  avec le rendement de la fixation calculé par la quantité de  $\text{N}_2$  fixée/ quantité de N dans le nodule (figure 2-2). On notera que l'une des associations est inactive vis-à-vis de la fixation : l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  de ces nodules inefficients est le même que celui du reste de la plante.

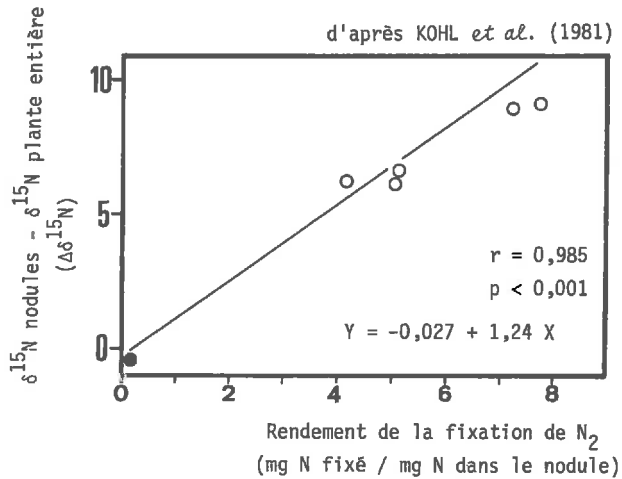


Figure 2-2 : Corrélation entre  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  et rendement de la fixation.  
Figure reproduite de KOHL *et al.* (1981).

Il existe donc une relation directe entre la capacité de fixation du soja et certains processus de fractionnement isotopique de l'azote entre les nodules et le reste de la plante. KOHL *et al.*, observent également cet enrichissement chez d'autres légumineuses, *Vigna sinensis* et *Prosopis glandulosa*.

Ces résultats suggèrent que certains événements métaboliques dans l'ensemble des processus accompagnant la fixation par les légumineuses conduisent à une élévation du contenu en  $^{15}\text{N}$  dans le pool de produits intermédiaires utilisés pour la synthèse des nodules actifs mais pas dans le pool des produits intermédiaires utilisés pour la synthèse des autres parties de la plante, y compris dans les nodules inefficients.

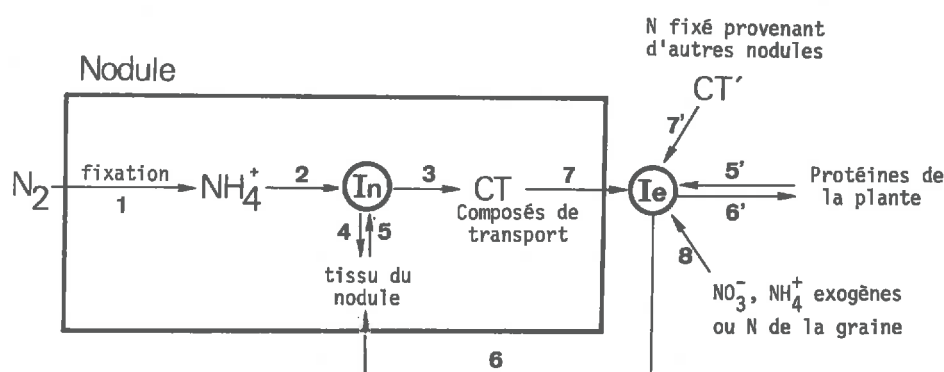
Ces auteurs ont voulu tester l'hypothèse selon laquelle ces nodules actifs sont synthétisés à partir d'un pool qui inclue une partie de nitrate, substrat résiduel d'une *dénitrification* : on peut en effet concevoir que la respiration des nitrates puisse fournir de l'énergie à la fixation de  $\text{N}_2$ , d'autre part, on a pu constater l'existence de dénitrification induite par des bactéroïdes de soja (ZABLOTOWICZ et FOCHT, 1979 ; ZABLOTOWICZ *et al.*, 1978).

On sait que le fractionnement isotopique associé au processus de dénitrification enrichit considérablement le substrat en  $^{15}\text{N}$  (cf. chapitre 2-3).

En fait l'étude par KOHL *et al.* (1981) de la réduction des nitrates par cultures pures de *R. japonicum* montre qu'il n'existe aucune relation entre l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  du nodule et la capacité de dénitrification des souches : une souche inefficace peut dénitrifier, au contraire, des souches très efficaces à la fixation, donnant des nodules à  $\delta^{15}\text{N}$  élevé, ne peuvent induire de dénitrification.

Cette observation conduit ces auteurs à l'élaboration d'un modèle basé sur l'existence de la synthèse de produits intermédiaires, nommés composés de transport, exportés de la cellule. Un fractionnement isotopique intervenant au cours de leur synthèse les appauvrit en  $^{15}\text{N}$  et tend, par effet de bilan, à enrichir en  $^{15}\text{N}$  des métabolites qui restent dans le nodule et, participant à la synthèse des tissus de ce nodule, l'enrichissent en  $^{15}\text{N}$ .

Ce modèle est représenté sur la figure 2-3 extraite de la publication citée ci-dessus.



d'après KOHL *et al.* (1981)

Figure 2-3 : Modèle théorique de fonctionnement du système de fixation et de transport de l'azote dans une légumineuse, appliqué à l'interprétation des enrichissements isotopiques intervenant au sein des nodules.

Figure reproduite de KOHL *et al.* (1981).

Il existerait donc deux pools de métabolites, un interne In, un externe Ie.

- Les sources de N du pool Ie sont les composés de transport (CT') des autres nodules, l'azote exogène ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) et l'azote de la graine. Ce pool participe à la synthèse des tissus de la plante (y compris les nodules) par les voies 6 et 6', apparemment sans fractionnement isotopique étant donnée l'uniformité de composition isotopique des différents organes autres que les nodules.
- La source de N du pool intérieur In est l'azote récemment fixé à l'intérieur de ce même nodule. Ce pool est utilisé pour la synthèse de composés de transport, CT (voie 3) et pour la synthèse du nodule (voie 4). Si un fractionnement isotopique important est associé à la formation de CT (voie 3) ou si cet effet isotopique est supérieur à celui associé à l'étape de synthèse du nodule (voie 4), la composition isotopique de In augmente et, par contre-coup, le  $\delta^{15}\text{N}$  du nodule augmente.

Ce mécanisme explique :

- (i) L'enrichissement des nodules au cours de la croissance : comme la synthèse des tissus du nodule *via* la voie 4 n'est possible qu'après que le nodule soit capable de fixer l'azote, des nodules récemment développés doivent recevoir leur azote uniquement du pool extérieur Ie *via* la voie 6 : ils doivent donc avoir un  $\delta^{15}\text{N}$  proche de celui du reste de la plante ( $\Delta\delta^{15}\text{N} \approx 0$ ). Au début de la croissance, il y a une plus grande proportion de jeunes nodules, cette proportion décroît au cours de la maturation : elle doit donc s'accompagner d'un enrichissement en  $^{15}\text{N}$  de l'ensemble des nodules.
- (ii) Si on fournit de l'azote exogène (voie 8), la contribution de Ie à la fourniture d'azote augmente relativement à celle de In et on doit donc réduire le  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  : on observe bien la décroissance de cette grandeur, de l'expérience en culture hydroponique sans N combiné à l'expérience au champ où une grande partie de l'azote de la plante vient du sol.
- (iii) Enfin, les souches qui ont une faible capacité de fixation, sans présenter de décroissance proportionnelle de la synthèse des tissus nodulaires, devraient induire des nodules où la contribution relative de In devrait être faible et celle de Ie plus élevée, se traduisant par un plus faible enrichissement en  $^{15}\text{N}$  des nodules : ceci explique la corrélation entre  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  et la capacité de fixation du système diazotrophe.



Chez les légumineuses fixatrices, l'azote fixé dans les nodules est transporté depuis ces nodules vers les parties aériennes, via le xylème, sous deux formes principales\*, correspondant à deux métabolismes différents :

(i) Amides : glutamine-asparagine : c'est le cas de la majorité des légumineuses de pays tempérés : lupin, luzerne, féverole, pois, etc...

(ii) Uréides : allantoïne, acide allantoïque : c'est le cas d'un grand nombre de légumineuses tropicales, du soja, de certaines espèces de *Vigna* (notamment *V. unguiculata*), du haricot *Phaseolus sp.*

Un grand nombre de travaux récents ont cherché à démontrer l'existence d'une corrélation entre la quantité d'uréides dans la plante et le taux de fixation. Il a été notamment montré (ISRAEL et McCLURE, 1980) que chez trois variétés de soja, inoculées avec des souches de *Rhizobium* efficaces ou non efficaces (l'efficacité étant estimée par la quantité de H<sub>2</sub> émise au cours de la fixation de N<sub>2</sub>), la concentration en uréides dans le xylème et le flux estimé de ces uréides vers les parties aériennes, sont inférieurs chez les plantes inoculées avec des souches inefficaces.

Il peut être tentant de vouloir mettre en relation ces types de métabolisme différents à l'existence ou non d'un enrichissement en <sup>15</sup>N des nodules de légumineuses.

En effet, si on prend en considération le schéma de la figure 2-3, extraite de KOHL *et al.* (1981), on peut penser que lorsque les composés de transport sont en grande partie des uréides (cas du soja), la réaction 3 (ou plutôt l'ensemble des réactions de l'étape 3) est fractionnante, entraînant un enrichissement en <sup>15</sup>N du pool In et, corrélativement, des tissus du nodule. La synthèse des uréides s'effectue par le jeu successif d'un grand nombre de réactions enzymatiques.

Par contre, lorsque les composés de transport sont la glutamine et l'asparagine (cas du lupin par exemple), on peut penser que la voie 3 qui n'implique alors que le jeu d'un nombre très limité d'enzymes ne soit que peu ou pas fractionnante : dans ce cas le nodule ne présente pas d'enrichissement isotopique par rapport au reste de la plante.

Nous avons, pour tester cette hypothèse effectué un certain nombre d'analyses sur des plantes à métabolisme différent. Nos résultats figurent sur le tableau 2-VI, associés à ceux d'autres auteurs.

---

\* ATKINS (1981), DENARIE *et* TRUCHET (1979), PATE (1980), THOMAS *et* SCHRADER (1981).



Tableau 2-VI : Composition isotopique de différents organes de Légumineuses présentant des voies métaboliques de synthèse des composés de transport de l'azote fixé différentes.

*Les conditions de culture et d'inoculation sont indiquées. Les plantes cultivées en serre poussent uniquement sur alimentation azotée par voie de fixation.*

*Pour Phaseolus coccineus, les traitements A et A' ainsi que B et B' correspondent à deux prélèvements effectués à une semaine d'intervalle.*

*A et A' : sans apport d'azote.*

*B et B' : apport de 60 unités d'azote.*

*La grandeur  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  représente la différence :  $\delta^{15}\text{N}$  nodule -  $\delta^{15}\text{N}$  plante entière (parties aériennes). Elle est significativement plus élevée chez les Légumineuses "à uréides" que chez les Légumineuses "à amides".*

*Chez Phaseolus, on constate que la composition isotopique des racines est plus élevée que celle des parties aériennes : il semble donc que l'enrichissement isotopique ne se limite pas exclusivement aux nodules mais puisse s'exercer, dans une moindre mesure, sur les racines (à moins que la séparation des nodules à partir des racines n'ait pas été tout à fait complète).*

Plante conditions de culture ou : référence bibliographique	Répétition	Composition isotopique			$\Delta\delta^{15}\text{N} \%$
		Nodules	Racines	Parties aériennes	
LEGUMINEUSES "A AMIDES"					
FEVEROLE <i>Viola faba</i> Ascott inoculation : C <sub>1</sub> : <i>R. leguminosarum</i> FS/63S C <sub>2</sub> : <i>R. leguminosarum</i> FSS1 cultivé en serre	C <sub>1</sub> I C <sub>1</sub> II C <sub>2</sub> I C <sub>2</sub> II	- 0.4 - 0.4 - 0.2 - 0.3	- 0.1 - 0.3 - 0.4 - 0.3	- 0.4 - 0.2 0.0 - 0.1	0.0 - 0.2 - 0.2 - 0.2
LUPIN <i>Lupinus mutabilis</i> inoculation : <i>R. lupini</i> LL13 cultivé au champ	I II	- 0.4 0.8	2.5 1.5	2.6 2.5	- 3.0 - 1.7
POIS <i>Pisum sativum</i> inoculation : <i>Rhizobium</i> sauvages cultivé au champ		- 1.0	0.4	- 0.9	- 0.1
<i>Pisum sativum</i> RENNIE <i>et al.</i> , 1977	a I II b I II	1.1 1.6 - 1.9 0.8	1.6 1.3 0.6 0.5	2.7 0.8 0.0 - 0.3	- 1.6 0.8 - 1.9 1.1
GESSE <i>Lathyrus sativus</i> inoculation : <i>Rhizobium</i> sauvages cultivé au champ	I II	2.5 1.8	3.3 3.4	2.9 2.7	- 0.4 - 0.9
LUZERNE <i>Medicago sativa</i> inoculation : <i>Rhizobium</i> sauvages cultivé au champ		2.3	0.6	1.4	0.9
LEGUMINEUSES "A UREIDES"					
SOJA <i>Glycine max</i> KOHL <i>et al.</i> , 1981 (58 échantillons)		-	-	-	9.1 ± 0.7
<i>Vigna sinensis</i> KOHL <i>et al.</i> , 1981 (4 échantillons)		-	-	-	6.7 ± 0.5
HARICOT <i>Phaseolus vulgaris</i> Contender inoculation : <i>R. phaseoli</i> Bt3 cultivé en serre	I II III	11.2 10.1 11.0	2.2 2.5 2.3	- 0.3 - 0.6 - 0.5	11.5 10.7 11.5
<i>Phaseolus coccineus</i> inoculation : <i>Rhizobium</i> cultivé au champ	A I II A' I II B I II B' I II	7.9 8.3 8.2 8.3 9.0 8.5 8.4 9.1	2.2 2.5 2.8 3.0 3.7 4.0 3.0 3.3	1.2 1.7 1.5 1.3 4.3 4.8 4.1 4.1	6.7 6.6 6.7 7.0 4.7 3.7 4.3 5.0

Il ressort de l'examen de ce tableau que la valeur  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  est très basse (< à 2 ‰) pour les plantes "à amides", au contraire importante pour les plantes "à uréides". Tous les résultats en notre possession semblent confirmer la liaison entre l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  des nodules par rapport aux autres organes des légumineuses et le type de métabolisme aboutissant à la synthèse des produits de transport de l'azote fixé :

Nature des composés de transport de l'azote fixé dans les nodules, vers le reste de la plante	Effet isotopique
GLUTAMINE, ASPARAGINE	Pas d'enrichissement isotopique du nodule relativement aux autres organes de la plante
UREIDES	Fort enrichissement isotopique en $^{15}\text{N}$ du nodule relativement aux autres organes de la plante (parties aériennes)

Il est intéressant de noter que le tableau 2-I pouvait déjà nous donner des indications quant à l'existence de ce phénomène : nous avons remarqué alors que les parties aériennes de certaines légumineuses ayant poussé uniquement sur l'azote de l'air étaient caractérisées par des compositions isotopiques significativement plus basses que celles d'autres espèces : les deux espèces en question étaient le soja ( $\delta^{15}\text{N}$  partie aérienne = - 1,83 ‰) et le haricot (- 2 ‰) toutes deux plantes "à uréides" ; toutes les autres espèces analysées du tableau 2-I sont des espèces "à amides". Nous pensons que l'appauvrissement significatif en  $^{15}\text{N}$  des parties aériennes des plantes du premier groupe est dû à l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  des nodules : si la composition isotopique de l'azote initialement fixé est la même pour toutes les légumineuses, celles qui concentrent  $^{15}\text{N}$  dans leurs nodules doivent obligatoirement présenter des parties aériennes caractérisées par une déplétion en cet isotope.

#### 2.1.7. - CONCLUSIONS.

Cette étude a montré que l'effet isotopique lié à la fixation de l'azote atmosphérique chez les diazotrophes libres (bactéries) et symbiotiques (légumineuses) est très faible, inférieur à 2 ‰ en moyenne, constant au cours de la vie de la plante dans le cas des légumineuses fourragères et,

toujours sur cet exemple, relativement homogène d'un organe de la plante à un autre, à l'exception des nodules de légumineuses caractérisées par le métabolisme dit "à uréides".

La faible valeur de cet effet isotopique est selon toute probabilité liée à l'existence, au cours du processus réactionnel global allant de  $N_2$  ( $N \equiv N$ ) à  $NH_3$ , d'une étape limitante de la vitesse globale du processus, caractérisée par l'absence de variation importante de liaison chimique à partir de l'état de triple liaison initial (figure 1-3).

L'existence de métabolismes différents intervenant au cours de la synthèse des composés de transport de l'azote fixé dans les nodules entraîne :

- Chez les légumineuses où l'azote est transporté des nodules vers les parties aériennes sous une forme de type uréide, l'existence d'un très net enrichissement en  $^{15}N$  des nodules relativement aux autres parties de la plante, notamment les parties aériennes.
- Chez les légumineuses où ces composés de transport sont du type amide, l'absence de cet enrichissement en  $^{15}N$ .

*Dans une certaine mesure, ce résultat est comparable à celui, fort connu, du comportement isotopique du carbone au cours de la photosynthèse des plantes en  $C_3$  (cycle de BENSON-CALVIN) ou en  $C_4$  (cycle de HATCH et SLACK) (SMITH et EPSTEIN, 1971)\*.*

L'observation faite par KOHL *et al.* (1981) (figure 2-2) de l'existence d'une corrélation entre  $\Delta\delta^{15}N$  et le rendement de la fixation chez les légumineuses à nodules enrichis en  $^{15}N$ , devrait, si elle se confirme, se révéler extrêmement importante pour l'étude de l'estimation de la fixation symbiotique au champ. On constatera à l'examen du tableau 2-VI pour le cas d'espèce du *Phaseolus coccineus* cultivé au champ, que la valeur  $\Delta\delta^{15}N$  est nettement supérieure pour le traitement A, sans engrais : ( $6,75 \pm 0,17$  %) que pour le traitement B où 60 kg N/ha sont apportés : ( $4,43 \pm 0,56$  %) : cet apport d'azote combiné diminue probablement le taux de fixation, comme il est classiquement observé et s'accompagne donc corrélativement d'un abaissement de la valeur du  $\Delta\delta^{15}N$  : ce résultat va dans le sens des observations de KOHL *et al.*

---

\* Les unes  $\{C_3\}$  présentent des  $\delta^{13}C$  compris entre - 25 et - 35 ‰ versus P.D.B., les autres  $\{C_4\}$  des  $\delta^{13}C$  compris entre - 9 et - 14 ‰ versus P.D.B.. Les plantes présentant un métabolisme de type CAM (crassulacian acid metabolism), capables de fonctionner selon un cycle photosynthétique en  $C_3$  ou  $C_4$  présentent des  $\delta^{13}C$  intermédiaires.

Si ces observations se confirmaient et pouvaient être généralisées, on aurait là un nouvel exemple où l'utilisation d'études sur le fractionnement isotopique permet une analyse claire d'un problème physiologique.

## 2.2. - FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES ASSOCIES AUX PROCESSUS DE MINERALISATION ET DE NITRIFICATION\*.

Au phénomène de minéralisation qui marque le passage de l'azote organique à l'azote ammoniacal succèdent, dans les conditions d'aérobiose, les processus de nitrification : successivement nitritation ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$ ) puis nitratisation ( $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ). Dans les sols on constate très rarement la présence, en quantité importante, de nitrites : on peut donc considérer que l'étape limitante de la nitrification est la nitritation. Ce sera donc là l'étape fondamentale qui imposera l'effet isotopique qui y est associé à l'ensemble du processus de nitrification.

L'étude expérimentale du fractionnement isotopique accompagnant la minéralisation est malaisée à appréhender : si de nombreuses bactéries sont capables d'induire cette transformation, elle s'accompagne toujours de l'assimilation en grande quantité de l'ammonium synthétisé : en fait la libération d'ammonium dans le milieu ne correspond qu'à l'excédent de consommation azotée des microorganismes. Dans ces conditions, l'effet isotopique mesuré entre N organique et N ammoniacal n'est pas le fractionnement "élémentaire" associé au processus de minéralisation.

Dans une première partie, nous étudierons les caractéristiques de l'effet isotopique associé à la nitrification, tout d'abord *in vitro*, sur des cultures pures de *Nitrosomonas*, puis dans le sol au cours d'expériences d'incubation. A cela succèdera l'étude globale des enrichissements isotopiques accompagnant la minéralisation jusqu'au stade ultime d'oxydation ( $\text{NO}_3^-$ ) de la matière organique des sols.

### 2.2.1. - MESURE DE L'EFFET ISOTOPIQUE ASSOCIE A LA NITRIFICATION.

Pour les raisons ci-dessus évoquées, ainsi que pour des raisons de commodité\*\*, l'étape élémentaire de nitritation est la plus étudiée. Elle favorise toujours l'apparition de nitrites appauvris en  $^{15}\text{N}$  par rapport à l'ammonium de départ ainsi que le montre l'analyse bibliographique :

---

\* MARIOTTI *et al.*, 1980.

\*\* Liées à la difficulté de séparation de  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$  en vue de leur analyse isotopique.

- DELWICHE et STEYN (1970) sur l'exemple de cultures pures de *N. europaea* obtiennent une valeur de  $\epsilon_{p/s}$  voisine de - 26 %.
- Des enrichissements isotopiques de - 15 à - 25 % sont reportés par MIYAKE et WADA (1971) sur l'exemple de bactéries nitrifiantes marines.
- DOMENACH et CHALAMET (1977) obtiennent, avec *Nitrosomonas* des enrichissements de l'ordre de - 40 %.
- Enfin, FREYER et ALY (1975), pour la réaction globale de nitrification, ont des valeurs de  $\epsilon_{p/s}$  voisines de - 17 %.

A) Effet isotopique au cours de la nitritation par *Nitrosomonas europaea* en culture pure.

1) Matériel et méthode.

Cette étude a été effectuée sur une culture pure de *N. europaea* (collection de Rothamsted\*). Le milieu de culture est celui décrit par LEWIS et PRAMER (1958), la seule différence résidant dans la concentration en sulfate d'ammonium. Quatre concentrations d'azote ammoniacal ont été utilisées (cf. tableau 1-VI).

- A : 350 ppm dans 125 ml de liquide nutritif en erlenmeyer de 500 ml ;
- B : 226,4 ppm dans 250 ml de liquide nutritif en erlenmeyer de 1 litre ;
- C : 100 ppm dans 250 ml de liquide nutritif en erlenmeyer de 1 litre ;
- D : 66,2 ppm dans 500 ml de liquide nutritif en fiole de Fernbach de 2 litres.

Le milieu nutritif et la solution ammoniacale sont stérilisés séparément et leur mélange réalisé aseptiquement. Dans chacune des séries, un flacon de contrôle n'est pas inoculé. Les autres flacons sont inoculés (1 % du volume) par une culture de 72 heures sur milieu de Lewis et Pramer à concentration  $10^{-2}$  M de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Tous les flacons, y compris les non inoculés, sont incubés en agitation à 28°C. Le processus de nitritation a été suivi en sacrifiant des fioles successivement, les nitrites étant mesurés par une méthode de GRIESS-ISLOVAY modifiée (*in* BARNES et FOLKARD, 1951). Le temps d'incubation, lié à

---

\* Les souches nous ont été fournies par le Dr. N. WALKER auquel nous exprimons nos plus vifs remerciements.

L'avancement de la réaction est différent dans chaque série : de 39 à 208 heures pour les séries C et D, de 39 à 264 heures pour la série B et de 48 à 471 heures pour la série A. En fin d'incubation, les cultures sont refroidies et un traitement biocidal ( $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ) est appliqué. Les échantillons sont ensuite congelés jusqu'à l'analyse. L'ammonium résiduel est dosé, après distillation, avec une électrode spécifique (Orion modèle 95-10).

## 2) Résultats (cf. tableau 1-VI).

Au cours de ces expérimentations, la biomasse bactérienne est croissante. Toutefois, la quantité d'azote assimilé par cette biomasse est toujours négligeable devant la quantité présente d'azote combiné ( $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ ). Dans ces conditions, l'enrichissement isotopique associé à la nitritation ne se trouvera pas altéré de façon significative par l'enrichissement associé à la réorganisation.

La détermination des facteurs d'enrichissement isotopique a été effectuée séparément pour les quatre séries d'expérimentation à concentration en ammonium croissante. Les résultats figurent sur le tableau 2-VII :

Expérimentation	Ordonnée à l'origine	$\epsilon_{\text{P/S}}$ ( $\pm$ limite de confiance)	Coefficient de corrélation
A	- 0.93*	- 39.96 $\pm$ 13.95	- 0.970
B	1.06*	- 34.75 $\pm$ 2.18	- 0.999
C	1.98*	- 30.89 $\pm$ 3.34	- 0.998
D	3.38*	- 35.89 $\pm$ 6.43	- 0.995

\* non statistiquement différente de 0.

Tableau 2-VII : Facteurs d'enrichissement isotopique au cours de la nitritation pour quatre concentrations différentes de substrat ammoniacal.

Les quatre valeurs obtenues ne sont pas statistiquement différentes les unes des autres. Nous pouvons donc proposer, pour les quatre expérimentations confondues une valeur du facteur d'enrichissement isotopique. Le détail en a été donné à titre d'exemple dans le chapitre portant sur l'expression et le mode de calcul des fractionnements isotopiques (cf. paragraphe 1-2-6). Le coefficient d'enrichissement isotopique, calculé d'après l'évolution chimique



et isotopique du substrat\* est :

$$\varepsilon_{p/s} = - 34,7 \pm 2,5 \%$$

Ce coefficient et, partant, le facteur de fractionnement isotopique, reste constant avec l'avancement de la réaction (cf. figures 1-9 et 1-10) dans la gamme de concentration en N -  $\text{NH}_4^+$  de  $2,5 \cdot 10^{-2}$  à  $5 \cdot 10^{-4}$  M.

La valeur obtenue pour le facteur  $\varepsilon$  est supérieure à la valeur moyenne déterminée par DELWICHE et STEYN (1970) : - 26 %. Toutefois dans cette publication, les variations de ce paramètre sont importantes : ces auteurs obtiennent, sur 9 répétitions, des résultats compris entre - 17,6 et - 36 % !

Nous avons vu que DOMENACH et CHALAMET (1977) obtiennent avec *Nitrosomonas sp.* une valeur proche de - 40 %.

Il est essentiel de mesurer l'effet isotopique associé au processus de nitrification, non pas seulement sur des cultures pures de bactéries, mais également dans des conditions proches de l'état naturel, dans des sols.

#### B) Fractionnement isotopique au cours de la nitrification dans un sol en incubation.

##### 1) Matériel et méthode.

Le sol étudié provient de l'horizon Ap d'un sol brun lessivé sur limon des plateaux provenant de la parcelle expérimentale de Chaussy-en-Beauce (profil 5, cf. figure 3-35). Les caractéristiques physico-chimiques et pédologiques de ce sol seront décrites en détail dans le chapitre 3 (3-2-3-I) ainsi que dans le paragraphe traitant du fractionnement isotopique associé à la fixation de l'ammonium sur les colloïdes électronégatifs du sol (tableau 2-XXXVI). La méthode d'incubation utilisée est dérivée de celle de STANFORD et SMITH (1972) : elle est décrite par MARY (1978). Les échantillons de sol prélevés ont été séchés à l'air, tamisés à 2 mm et homogénéisés.

A 100 g de sol, on ajoute 100 g de sable siliceux purifié et calciné. L'incubation est menée à 14°C, avec une humidité égale à 65 % de la capacité de rétention du mélange.

Les échantillons pré-incubent 38 jours afin de s'affranchir des conséquences de la rapide minéralisation de la biomasse détruite par séchage à l'air ("flush effect" : POWLSON et JENKINSON, 1976).

---

\* Qui donne la limite de confiance la plus étroite.

Au bout de cette période, on ajoute 300 ppm d'azote ammoniacal. Une série de témoins est maintenue sans apport d'azote. L'extraction de l'azote minéral se fait, sur des bocaux sacrifiés à intervalles de temps croissants, par agitation pendant une heure en présence de KCl 0,5 M (rapport sol-solution, 1 : 4).

## 2) Résultats.

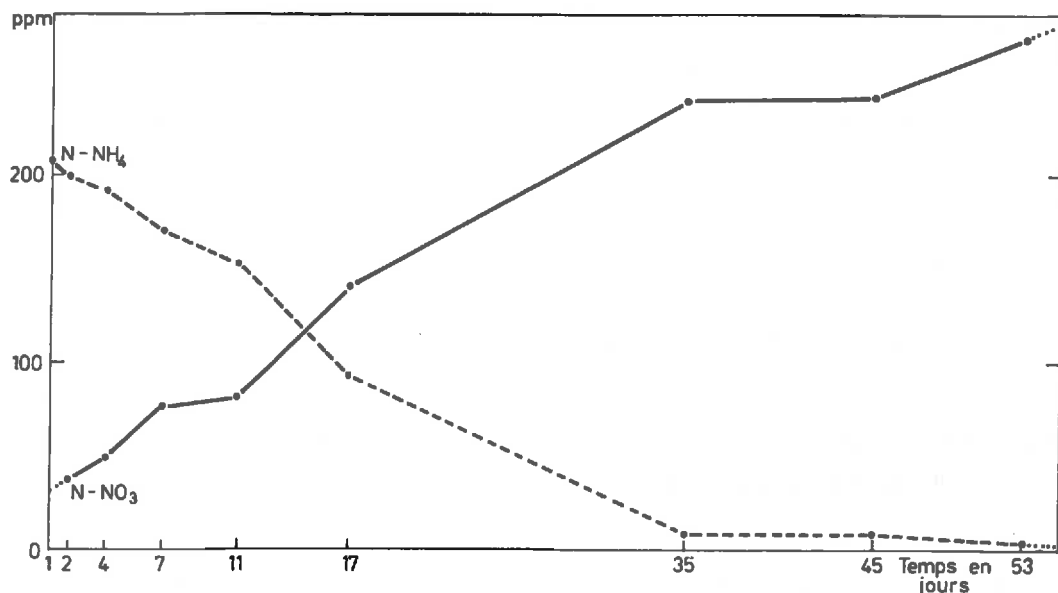
Ainsi qu'il est montré dans le paragraphe 2-6-2 traitant de la fixation de  $\text{NH}_4^+$  sur les colloïdes électro-négatifs du sol - étude menée sur ce même sol - près d'un tiers de l'ammonium apporté est fixé de façon non échangeable au bout de 24 heures. Au-delà de cette période, ce phénomène est négligeable (en fait, comme on peut le constater sur la figure 2-54, l'essentiel de la fixation est accompli une heure après l'apport de la solution ammoniacale).

Pour étudier l'effet isotopique associé au seul phénomène de nitrification, nous prendrons donc comme temps initial de l'expérimentation  $t = 24$  heures ; la quantité d'ammonium résiduel extractible est alors de 208 ppm. Bien évidemment entre  $t = 0$  et  $t = 24$ , une nitrification importante a pu se produire mais ce n'est qu'au-delà de 24 heures que l'on peut être certain que la disparition de l'ammonium n'est due qu'au seul processus d'oxydation, ce qui justifie notre choix.

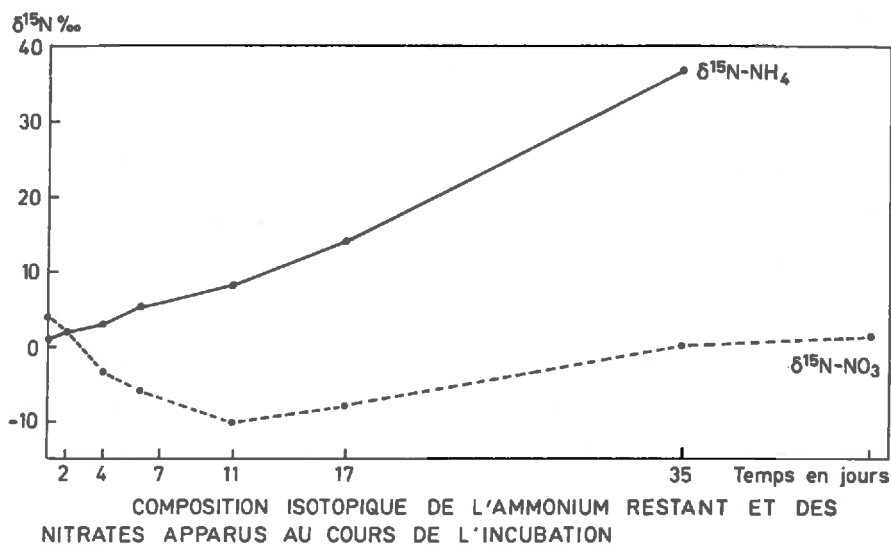
Les résultats bruts concernant l'évolution chimique et isotopique des deux espèces  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NH}_4^+$  dans cette incubation sont présentés sur le tableau 2-VIII et la figure 2-4. Il n'a pas été mis en évidence de nitrites en quantité dosable.

Temps écoulé entre l'apport de $\text{NH}_4^+$ et l'extraction au KCl (jours)	1 Ammonium		2 Nitrates de l'essai		3 Nitrate essai-témoin		4 Nitrate essai-témoin corrigé de la quantité initiale		5 Nitrate "théorique" apparu		6 $\Gamma(\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+)$ (1+4)	
	N- $\text{NH}_4^+$ (ppm)	$\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ (%)	N- $\text{NO}_3^-$ (ppm)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ (%)	N- $\text{NO}_3^-$ (ppm)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ (%)	N- $\text{NO}_3^-$ (ppm)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ (%)	N- $\text{NO}_3^-$ (ppm)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ (%)	N (ppm)	$\delta^{15}\text{N}$ (%)
0	300	1.3										
1 (t=0)	208	0.7	86	2.9	36	3.7	0	-	0	-	208	0.7
2	200	1.8	67	1.3	38	1.9	2	- 30.5	8.0	- 26.8	202	1.5
4	192	3.0	80	- 1.8	49	- 3.6	13	- 23.8	16.0	- 26.9	205	1.3
7	170	5.3	112	- 3.3	77	- 5.7	41	- 14.0	36.0	- 19.9	211	1.6
11	154	7.9	114	- 7.0	82	- 10.2	46	- 21.1	54.0	- 19.8	200	1.2
17	93	14.0	178	- 5.7	141	- 7.8	105	- 11.7	115.0	- 10.1	214	0.6
35	9.6	37.1	285	0.5	241	0.1	205	- 0.5	198.4	- 1.1	214.6	1.3
45	9	?	286	1.5	242	0.2	206	- 0.4	199.0	?	215	?
53	4.3	?	318	2.1	274	2.1	238	1.9	203.7	?	242.3	?
190	0	-	384	1.4	322	1.2	286	0.9	208	0.7	286	0.9

Tableau 2-VIII : Résultats de l'expérience d'incubation aérobie avec nitrification d'un sel ammoniacal apporté. Paramètres chimiques et isotopiques.



TENEURS EN N-NH<sub>4</sub> (restant) et N-NO<sub>3</sub> (apparu) AU COURS DE L'INCUBATION



COMPOSITION ISOTOPIQUE DE L'AMMONIUM RESTANT ET DES NITRATES APPARUS AU COURS DE L'INCUBATION

Figure 2-4 : Incubation. Evolution des paramètres chimiques et isotopiques au cours du temps.

Le fractionnement isotopique associé au processus de nitrification sera calculé à partir de l'évolution chimique et isotopique de l'ammonium résiduel. Le résultat est présenté sur la figure 2-5 : on peut constater que le facteur d'enrichissement isotopique semble décroître avec l'avancement de la réaction. On obtient comme facteur d'enrichissement isotopique :  
 - 23,1 ± 3,0 % pour les 5 premiers couples (de f = 1 à f = 0,74), - 16,1 ± 4,0 % pour les 6 premiers (de f = 1 à f = 0,45).

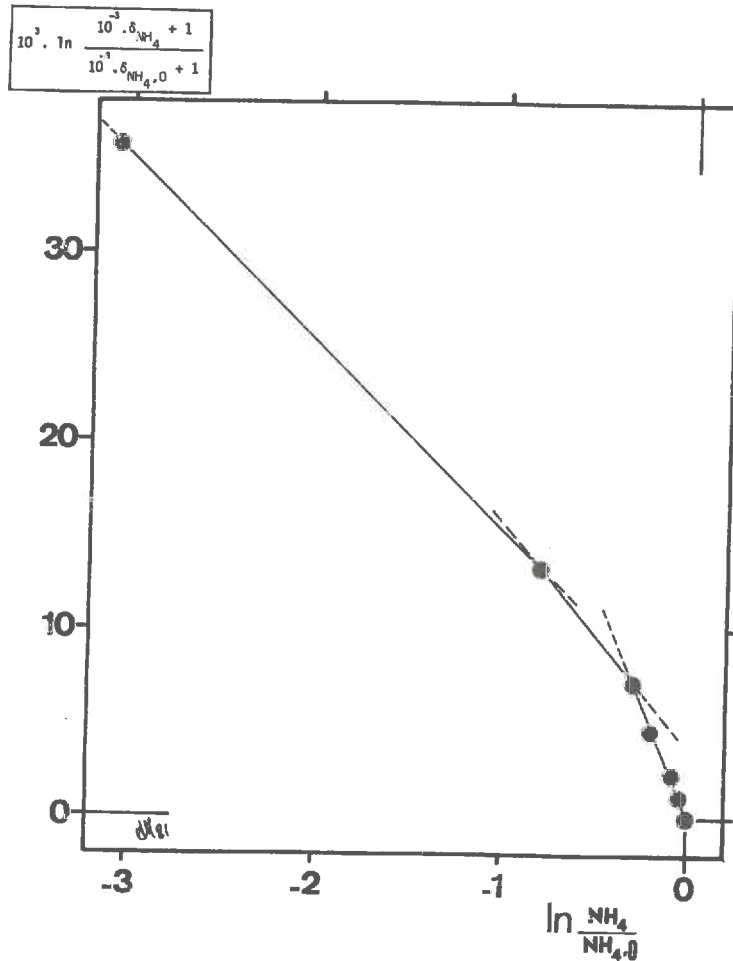


Figure 2-5 : Expérience de nitrification. Evolution de la composition isotopique de  $\text{NH}_4^+$  au cours de l'avancement de la réaction.

Ce facteur d'enrichissement isotopique s'abaisse encore si on prend en considération la dernière mesure, faite à  $f = 0,05$ . En fait cette mesure n'a pu faire l'objet d'une répétition ; d'autre part, cette analyse isotopique a été effectuée sur une très faible quantité d'azote, ce qui est susceptible d'introduire des erreurs importantes : pour toutes ces raisons, cette valeur est peut-être sujette à caution. Sur le tableau 2-IX, nous avons reporté les facteurs d'enrichissement isotopique élémentaires, calculés pour chacune des étapes de l'incubation. On y constate la nette décroissance de l'effet isotopique avec l'avancement de la réaction ( $f \rightarrow 0$ ).

Période	f	ε
de 1 à 2 jours	0.962	- 28.0
" 1 à 4 "	0.923	- 28.7
" 1 à 7 "	0.817	- 22.8
" 1 à 11 "	0.740	- 24.0
" 1 à 17 "	0.447	- 16.5
" 1 à 35 "	0.046	- 11.8

Tableau 2-IX : Valeurs du facteur d'enrichissement isotopique ε calculées étape par étape au cours de l'expérience de nitrification (cf. tableau 2-VIII et figure 2-5).

FREYER et ALY (1975) ont procédé à une mesure de l'effet isotopique associé à la nitrification sur un sol sur loess cultivé, en incubation aérobie à 20°C, avec une humidité de 20 %. Les résultats sont portés sur la figure 2-6, associés à ceux de notre expérimentation. Les résultats de FREYER et ALY montrent que le contenu en <sup>15</sup>N de l'ammonium résiduel extractible augmente linéairement selon un processus de Rayleigh : l'enrichissement isotopique est, ici, constant avec l'avancement de la réaction, de f = 1 à f = 0,11, sa valeur est de :

$$\epsilon_{p/s} = - 15,8 \pm 0,7 \%$$

semblable donc à celle que nous avons obtenue nous-mêmes (si l'on excepte la dernière mesure pour f = 0,05).

La composition isotopique des nitrates apparus au cours de l'expérimentation figure sur le tableau 2-VIII. Outre les résultats bruts, nous avons calculé, par différence avec les nitrates apparus dans l'expérimentation témoin (sans apport d'ammonium), la concentration et le δ<sup>15</sup>N des nitrates apparus aux dépens de l'oxydation de l'ammonium (colonne 3, tableau 2-VIII) ainsi que l'évolution chimique et isotopique des nitrates effectivement apparus à partir de t = 0 (en corrigeant les valeurs précédentes de la quantité et du δ<sup>15</sup>N des nitrates présents à 1 jour : colonne 4).

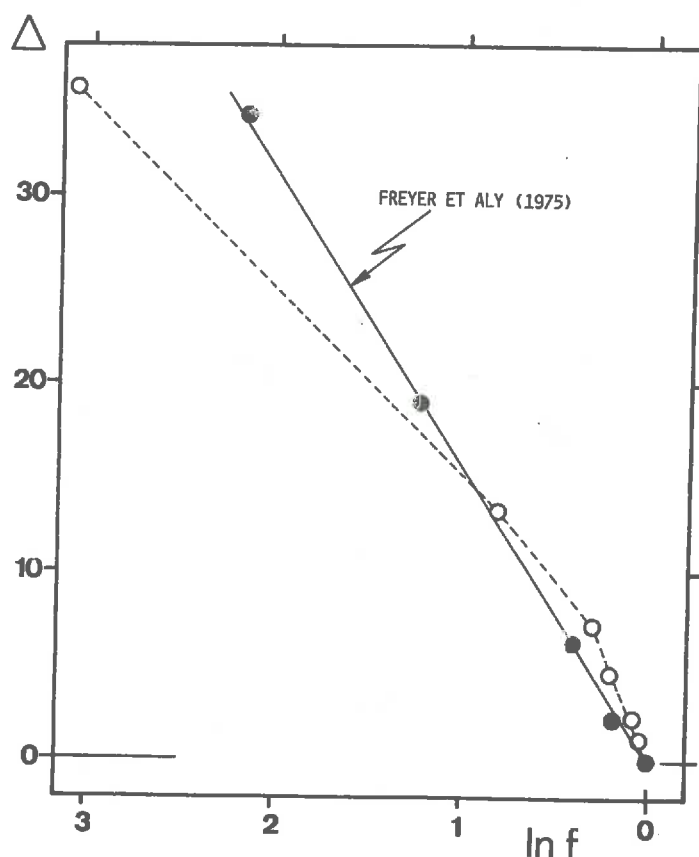


Figure 2-6 : Expérience de nitrification. Comparaison des résultats du tableau 2-VIII à ceux de FREYER et ALY (1975).

$$\Delta = 10^3 \ln \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,o} + 1}$$

Comme le prévoit la théorie, ces nitrates sont, en phase initiale de nitrification, très appauvris en  $^{15}\text{N}$  et leur  $\delta^{15}\text{N}$  tend, au cours de l'avancement de la réaction, vers celui de l'ammonium de départ. Sur le tableau 2-VIII nous avons reporté les valeurs calculées de la concentration et de la composition isotopique des nitrates qui auraient dû théoriquement apparaître compte tenu de la disparition de l'ammonium : nous l'avons appelé nitrate "théorique" apparu (colonne 5). Ces valeurs sont proches de celles obtenues par la mesure (cf. figure 2-7). On peut noter en particulier l'excellente correspondance entre nitrates "réels" et nitrates "théoriques" pour les stades les plus avancés de la réaction : ceci tend à prouver que la valeur de  $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$  obtenue à 35 jours est valide et confirmerait la tendance à la diminution de l'effet isotopique avec l'avancement de la réaction, dans cette expérimentation.

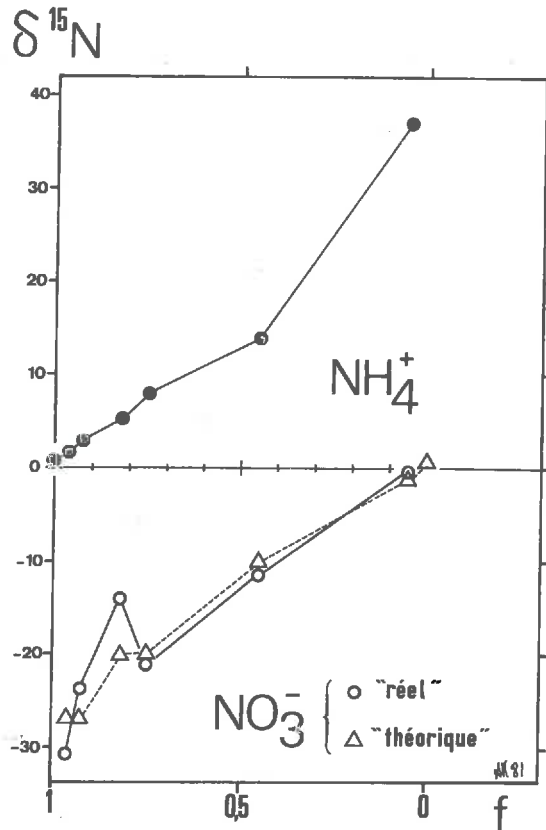


Figure 2-7 : Expérience de nitrification. Evolution, en fonction de f, de la composition isotopique de l'ammonium résiduel et du nitrate apparu (cf. tableau 2-VIII).

$NO_3^-$  réel : composition isotopique du nitrate réellement apparu au cours de l'essai.

$NO_3^-$  théorique : composition isotopique calculée du nitrate qui aurait dû théoriquement apparaître en fonction de la nitrification de l'ammonium apporté au sol.

Le bilan chimique  $[\Sigma(NO_3^- + NH_4^+)]$  : colonne 6] est à peu près constant de  $t = 0$  (1 jour) jusqu'au 45ème jour d'incubation : les variations de N (208 ppm à  $t = 0$ ) n'excèdent pas 7 % pendant cette période. Au-delà, la concentration de N minéral augmente très sensiblement : tout se passe comme si on avait une *surminéralisation* de l'azote organique du sol par rapport au témoin sans ajout d'ammonium\* ou qu'une partie de l'ammonium préalablement "fixé" sur les colloïdes électro-négatifs du sol dans les 24 heures ayant suivi l'application de  $NH_4^+$ , se minéralisait après 45 jours d'incubation.

\* N'oublions pas que dans l'expression  $\Sigma(NO_3^- + NH_4^+)$ , le terme  $NO_3^-$  est corrigé de la valeur du témoin.

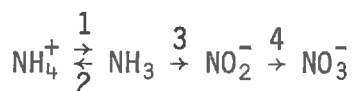
Le bilan isotopique montre que la composition isotopique de  $\Sigma(\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+)$  reste constante ( $\bar{a} \pm 0,5 \%$  près) pendant l'ensemble de l'incubation : on peut donc considérer que l'identité isotopique d'un engrais ammoniacal ajouté au sol ne variera pas, à condition de prendre en considération les deux espèces minérales  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_3^-$ . Ce résultat est confirmé par les observations de FREYER et ALY (1975).

Dès le 35ème jour d'incubation à 14°C, la composition isotopique du nitrate apparu est très proche (1,2 % d'écart) de celle de l'ammonium présent à  $t = 0$ .

### C) Conclusions.

Le fractionnement isotopique associé au processus de nitrification dans un sol placé dans des conditions d'incubation proches des conditions naturelles a été mesuré. L'absence du composé intermédiaire  $\text{NO}_2^-$  dans le processus global d'oxydation nous permet de conclure que l'étape limitante est la nitritation ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$ ). L'effet isotopique apparent associé à cette oxydation est d'intensité différente selon que l'on considère la réaction *in vitro*, effectuée par une souche pure de nitrificateurs (*N. europaea*) ou la réaction dans le sol placé au plus proche des conditions naturelles. Dans le premier cas, le fractionnement isotopique est très important ( $\alpha_{p/s} = 0,9653 \pm 0,0025$ ). Cet effet paraît beaucoup moins important dans le sol ; d'autre part, il semble, dans certains cas, variable au cours de l'avancement de la réaction, peut-être sous l'influence de la variation de concentration du substrat : dans l'expérimentation décrite ci-dessus, la valeur de l'enrichissement isotopique  $\epsilon_{p/s}$  est comprise entre - 28 et - 12 % ( $\alpha_{p/s}$  variant de 0,9720 à 0,9880). Cette gamme inclut la valeur déterminée par FREYER et ALY (1975) dans des conditions similaires.

Une étude plus détaillée où l'on ferait varier un certain nombre de paramètres du milieu devrait permettre, comme pour le processus de dénitrification, de mettre en évidence les causes qui induisent ces variations de fractionnement isotopique. KOHL et SHEARER (communication personnelle) pensent que l'équilibre  $\text{NH}_4^+ \rightleftharpoons \text{NH}_3 + \text{H}^+$  doit jouer une influence prépondérante. En effet, SUZUKI *et al.* (1974) ont montré, chez *N. europaea*, que  $\text{NH}_3$ , plutôt que  $\text{NH}_4^+$ , serait le substrat de l'enzyme dans le processus de nitrification. S'il en est ainsi, le fractionnement isotopique de ce processus devrait être fortement influencé par l'effet isotopique à l'équilibre entre ammonium et ammoniac. Le processus serait alors décrit par :





En fonction de la variation de la contribution relative ou de la variation de vitesse des étapes 1, 2 et 3, on peut expliquer, comme il sera fait plus en détail pour le processus de dénitrification, les variations de l'effet isotopique apparent observé.

En tout état de cause, la nitrification (étape nitrification) s'accompagne d'un effet isotopique apparent important, provoquant l'apparition de nitrates appauvris en  $^{15}\text{N}$  par rapport à l'ammonium servant de substrat à l'oxydation. Cette observation, tirée d'expériences de laboratoire peut également être effectuée au champ : on consultera à cet égard la figure 2-8, extraite de la publication de FEIGIN *et al.* (1974), montrant, au champ, ce phénomène consécutif à l'application d'un engrais ammoniacal anhydre.

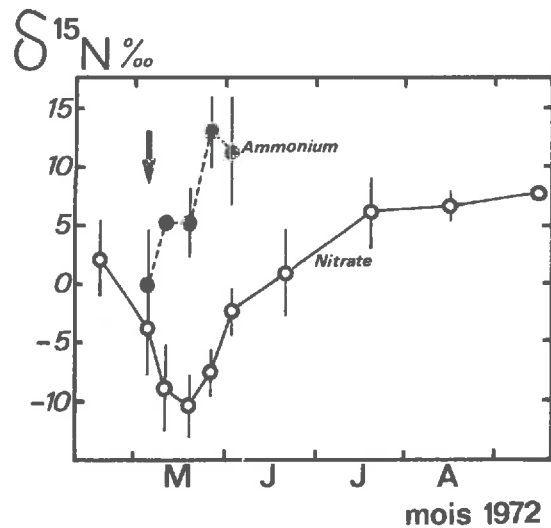


Figure 2-8 : Evolution au cours du temps de la composition isotopique (au champ) de  $\text{NH}_4$  et  $\text{NO}_3$  dans les 30 premiers cm d'un sol de l'Illinois ("Flanagan silt loam") après application d'ammoniac anhydre (la date d'application est repérée par la flèche). D'après FEIGIN *et al.* (1974).

Nous allons maintenant aborder l'étude du phénomène global de minéralisation-nitrification, sur l'exemple de sols placés en incubation ou maintenus en conditions naturelles. Pour cela nous étudierons les :

2.2.2. - VARIATIONS DE LA COMPOSITION ISOTOPIQUE NATURELLE EN AZOTE 15 DE L'AZOTE MINERAL APPARU DANS LES SOLS, EN INCUBATION ET AU CHAMP.

A) En sols carbonatés.

Cette première étude entreprise sur sol carbonaté (rendzine brune de Champagne) a pour objectif de préciser l'importance des variations de composition isotopique de l'azote minéralisé, au cours d'incubation de laboratoire et en conditions naturelles (cases lysimétriques). Elle doit apporter une contribution à l'établissement des relations entre composition isotopique des précurseurs (matériel organique) et des produits (azote minéral).

Les incubations de laboratoire ont été conduites au plus près possible des conditions naturelles (humidité 20 %, température 10°C) et la minéralisation *in situ* a été suivie sur lysimètres.

Toutefois, cette étude, menée sur un seul type de sol, ne peut permettre l'établissement de lois généralisables pour ce qui concerne les relations entre composition isotopique de l'azote de la matière organique du sol et azote minéralisé.

1) Matériel et méthodes.

a. - Analyse des composés azotés :

- Azote total des sols : la méthode utilisée est celle décrite par BREMNER (1965).
- Azote minéral : l'azote minéral ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  +  $\text{NO}_3^-$ ) extrait par KCl 2N est dosé périodiquement sur des prises de 25 g, entre 2 jours et 52 semaines d'incubation, par distillation, en présence de magnésie et d'alliage de Devarda, l'ammoniac étant recueilli dans une solution d'acide borique à 1 %. Les nitrites sont dosés par colorimétrie (méthode de GRIESS).

b. - Incubation au laboratoire.

Les conditions en sont décrites par MULLER (1977).

Immédiatement après le prélèvement, les échantillons de sol sont séchés à l'air, tamisés à 2 mm et homogénéisés. Le sol est ensuite humidifié par la quantité d'eau déminéralisée nécessaire pour porter son humidité au voisinage de l'humidité équivalente, soit les 2/3 de la capacité de rétention : la teneur en eau est alors de 25 % du poids sec. Cette condition assure une cohésion suffisante des agrégats, tout en permettant une aération satisfaisante.

Les incubations se déroulent dans des flacons de un litre dans lesquels on introduit successivement 200 g de terre sèche, puis 50 ml d'eau. La teneur en eau des essais est maintenue constante, en compensant les pertes dues à l'évaporation par des apports équivalents d'eau déminéralisée. L'expérimentation d'incubation a fait l'objet de deux types d'essai ; les uns en temps court (1 mois), les autres en temps long (1 année).

Premier essai : incubation en temps court.

La température a été maintenue à 10°C pendant 35 jours et l'évolution de l'azote minéral a été suivie, d'une part sur le sol seul, d'autre part sur le même sol sur lequel est effectué l'apport d'un déchet d'industrie agricole riche en protéines, *aisément minéralisable* : eau résiduaire de féculerie. Cet apport d'azote organique soluble est effectué par mélange dans l'eau d'humidification.

La quantité d'azote organique apportée par le déchet est de 316 µg par gramme de sol, dont la moitié environ est sous forme de protéines coagulables et d'acides-amino parmi lesquels l'acide aspartique est le plus important. L'azote minéral apporté, sous forme ammoniacale, est de 76 µg/g de sol.

Deuxième essai : incubations prolongées.

Elles ont été suivies pendant 364 jours à trois températures différentes : 0-2°C, 10°C et 28°C, soit sur un sol sans ajout, soit sur ce même sol, à 10°C, avec addition d'acide aspartique représentant un apport de 109 µg N.g<sup>-1</sup> sol. Le sol utilisé est du même type que celui du premier essai (rendzine sur craie).

### c. - Lysimètres.

Ce sont ceux de la Station de Science du Sol INRA de Châlons-sur-Marne. Ils sont constitués par des monolithes non perturbés de 8 m<sup>3</sup> (2 x 2 x 2 m), isolant dans leur état naturel le sol et le sous-sol crayeux. Les eaux de percolation sont recueillies à la base et des orifices placés sur une des faces du lysimètre permettent des prélèvements de l'atmosphère et des solutions de sol par bougies poreuses, entre 25 et 150 cm (BALLIF *et al.*, 1975).

Le lysimètre utilisé, étant réservé à des études géochimiques, est maintenu en permanence sans couverture végétale depuis 1973 et ne reçoit aucun apport minéral.

d. - Les sols.

Ils proviennent de la région de Châlons-sur-Marne. Il s'agit d'horizons Ap de rendzine brune, développée sur craie à poches de cryoturbation. Les caractéristiques physico-chimiques sont présentées sur le tableau 2-X. Le lysimètre est installé sur un sol de même type.

Horizon	Niveau en cm	Calcaire total en ‰	pH-eau	Carbone organique en ‰	Azote total en ‰	C/N	Capacité d'échange me/100g	Cations échangeables me/100g				P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Joret-Hébert en ‰
								Ca	Mg	K	Na	
Ap = couche arable	0-20	687	8,0	17,0	1,92	8,8	8,4	7,8	0,23	0,22	0,04	0,13
C <sub>11</sub> = poches de cryoturbation	20-90	693	8,6	0,9	0,21	4,3	3,0	-	0,20	0,06	0,03	0,01

Tableau 2-X : Composition chimique moyenne des sols étudiés.

Pour le premier essai ("incubation brève"), le prélèvement a eu lieu durant l'été 1976, dans une parcelle "rotation" dont la succession de cultures a été la suivante : Blé-Escourgeon-Avoine-Féverole-Betterave-Pomme de terre-Féverole. La teneur en azote total du sol est de 1,93 % et le  $\delta^{15}\text{N}$  total de 5,2 ‰.

Le sol du deuxième essai "incubation longue durée" a également été prélevé en été (1977) dans une parcelle dont la rotation a été la suivante : Betterave-Blé-Escourgeon-Maïs et Blé. La teneur en azote total est de 2,2 % et son  $\delta^{15}\text{N}$  de 3,8 ‰, significativement différent du sol précédent.

Pour ces deux sols, la fertilisation minérale est celle classiquement pratiquée pour ces cultures en Champagne crayeuse. En dehors des restitutions provenant des résidus de récolte, aucun apport organique n'est effectué sur ces parcelles.

Quant au sol du lysimètre, il est très proche de celui de l'essai "incubation brève" : sa teneur en azote total est de 1,88 %, son  $\delta^{15}\text{N}$  de 5,4 ‰.

2) Résultats.

a. - Incubations.

α. - Temps court.

On présentera ici à la fois les résultats obtenus dans le premier essai (incubation en temps court) et dans le second, conduit sur une période

plus longue mais comportant également des résultats analytiques durant le premier mois.

+ A température constante de 10°C.

Dans le premier essai, sans ajout, la quantité d'azote minéral apparu au bout de 35 jours est de 35,7  $\mu\text{g N.g}^{-1}$  sol, soit 1,85 % de l'azote organique insoluble présent au départ. La teneur en azote organique du sol est passée de 1,93 % à 1,86 %, ce qui devrait correspondre, en l'absence de pertes gazeuses, à une apparition de 70  $\mu\text{g N.g}^{-1}$  sol d'azote minéral, résultat non significativement différent du précédent car acquis avec une précision très faible.

La composition isotopique de l'azote de la matière organique, en raison de l'importance de ce réservoir, est restée invariante et égale à 5,2 %. Par contre, celles de l'ammonium et de l'ensemble nitrate + nitrite, dont les espèces ne peuvent être aisément séparées pour cette mesure, évoluent de manière significative (figure 2-9 et tableau 2-XI).

Temps (jours)	N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) μg/g	δ <sup>15</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) ‰ vs. N <sub>2</sub> atmosph.	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> μg/g	δ <sup>15</sup> N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ‰	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> μg/g	N minéral total*	δ <sup>15</sup> N minéral total*	N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) apparu	δ <sup>15</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) apparu
0	16.9	0.1	7.85	3.8	1.5	24.75 *	1.3 *	0 *	-
1	21.9	-3.5	8.35	13.1	5.5	30.25 *	1.1 *	5.0 *	-15.7 *
2	26.9	-3.4	8.55	17.8	7.5	35.45 *	1.7 *	10.0 *	-9.3 *
3	30.5	-2.8	7.35	15.8	7.5	37.85 *	0.8 *	13.6 *	-6.4 *
7	37.1	1.3	5.0	7.3	6.3	42.10 *	2.0 *	20.2 *	2.3 *
10	38.1	1.2	3.8	2.0	0.2	41.9 *	1.3 *	21.2 *	2.1 *
15	44.5	1.4	5.2	4.3	0.2	49.7 *	1.7 *	27.6 *	2.2 *
21	45.4	1.6	3.3	7.3	0.2	48.7 *	2.0 *	28.5 *	2.5 *
35	52.6	1.9	1.9	4.3	0.2	54.5 *	2.0 *	35.7 *	2.8 *

Tableau 2-XI : Teneurs et abondance isotopique des espèces minérales azotées présentes dans l'essai 1 (sol seul).

*L'astérisque indique que les résultats ont été obtenus par le calcul (azote minéral total et somme nitrate + nitrite apparus pendant l'incubation).*

La différence de composition isotopique entre azote organique et minéral (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) n'est pas constante avec le temps. Son évolution se fait selon deux phases (figure 2-9B). La composition isotopique de la somme nitrate + nitrite effectivement apparue pendant la période d'incubation ( $\delta^{15}\text{N}_a$ ) est obtenue par calcul de bilan en écrivant qu'au temps t la quantité d'isotope présente est égale à la quantité présente au temps t = 0 à laquelle s'ajoute la quantité apparue entre t = 0 et t (figure 2-9B).

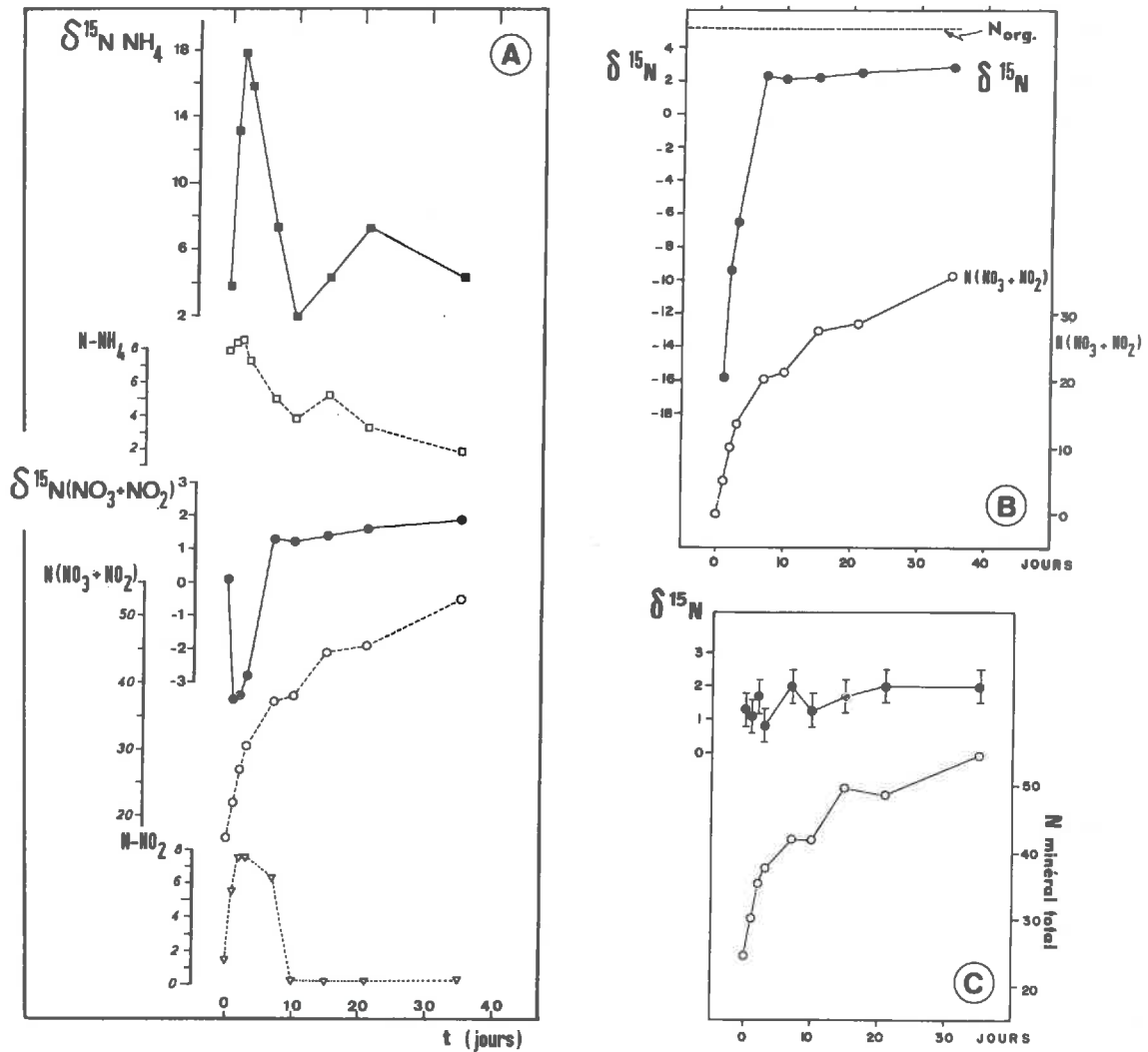


Figure 2-9 : A - Teneurs en  $\mu\text{g/g}$  des différentes formes minérales azotées présentes dans l'essai 1. Composition isotopique de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  et  $\text{NH}_4^+$ .  
 B - Concentration et composition isotopique de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  effectivement apparus durant l'essai 1.  
 C - Concentration et composition isotopique de l'azote minéral total. Ces valeurs sont calculées.

Extrait de MARIOTTI *et al.*, 1980.

En fait, ce calcul ne tient pas compte du fait que le nitrate présent à  $t = 0$  peut ne pas être considéré comme un stock inamovible : ce nitrate peut être en effet transformé au cours de cette incubation (immobilisé en particulier) ; ainsi la valeur  $\delta^{15}\text{N}_a$  est un résultat moyen qui ne peut rendre réellement compte des processus naturels.

Au début de l'incubation, la nitrification fait apparaître une quantité de nitrate + nitrite à  $\delta^{15}\text{N}$  très négatif : ainsi, du temps  $t = 0$  à  $t = 1$  jour, on voit apparaître  $5 \mu\text{gN}-(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-) \cdot \text{g}^{-1} \text{sol}$  avec un  $\delta^{15}\text{N}$  de - 15,7 %.

Puis très rapidement, au bout d'une semaine, les compositions isotopiques s'élèvent pour tendre vers un équilibre dont la valeur, pour la fraction minéralisée pendant l'expérience, se situe à 2,8 ‰ au bout de 35 jours. L'évolution de l'ammonium (figure 2-9A) se caractérise par une période d'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  important au début de l'incubation, enrichissement corrélatif de l'appauvrissement en  $^{15}\text{N}$  de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ .

On peut calculer, par bilan isotopique (cf. *supra*), la composition isotopique de l'azote minéral total, qui s'écrit :

$$\delta^{15}\text{N min. total} = \frac{\delta^{15}\text{N}(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-) \cdot \text{QN}(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-) + \delta^{15}\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{QN-NH}_4^+}{\text{QN min. total}}$$

où Q représente la quantité de chacune des espèces, QN min. total est la somme de l'azote minéral total présent à chaque instant dans le système

$[\text{QN min. total} = \text{QN}(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-) + \text{QN-NH}_4^+]$ ,  $\delta^{15}\text{N min. total}$  sa composition isotopique.

On constate que le  $\delta^{15}\text{N}$  de ce réservoir (azote minéral total) reste à peu près constant au cours de son évolution (figure 2-9C et tableau 2-XI). L'erreur qui affecte ces valeurs est de l'ordre de 0,5 ‰ (erreurs analytiques sur chaque mesure et erreur due au calcul du bilan). Donc, dans cette expérience d'incubation, nous sommes en droit d'admettre que le fractionnement isotopique entre l'azote organique et l'azote minéral total  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+)$  est constant ou presque au cours du temps, ce qui permet de penser que l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  de l'ammonium n'est en fait que la conséquence de l'appauvrissement en  $^{15}\text{N}$  des nitrates.

La période où ce phénomène se produit correspond à la phase où la vitesse de nitrification est importante, où on constate, dans ce type de sol, l'apparition de nitrites en début d'incubation et où l'évolution (production ou consommation) de l'ammonium n'est pas en équilibre dynamique ("steady state" = état stationnaire).

Les résultats expérimentaux obtenus lors de la deuxième série d'essai sont équivalents (figure 2-10).

Les apports d'azote organique exogène, aisément minéralisable, provoquent dans les deux sols, une accentuation des phénomènes observés en début d'incubation. Les résultats sont donnés sur la figure 2-11 pour l'apport d'eau de féculerie (essai 1), sur la figure 2-12 pour l'apport d'acide aspartique. Il ressort clairement que, dans les deux cas, la période de variation de composition isotopique de la somme nitrate + nitrite est encore contemporaine de la présence des nitrites et de la période où l'ammonium est hors de l'équilibre dynamique. Ces incubations se caractérisent par l'apparition

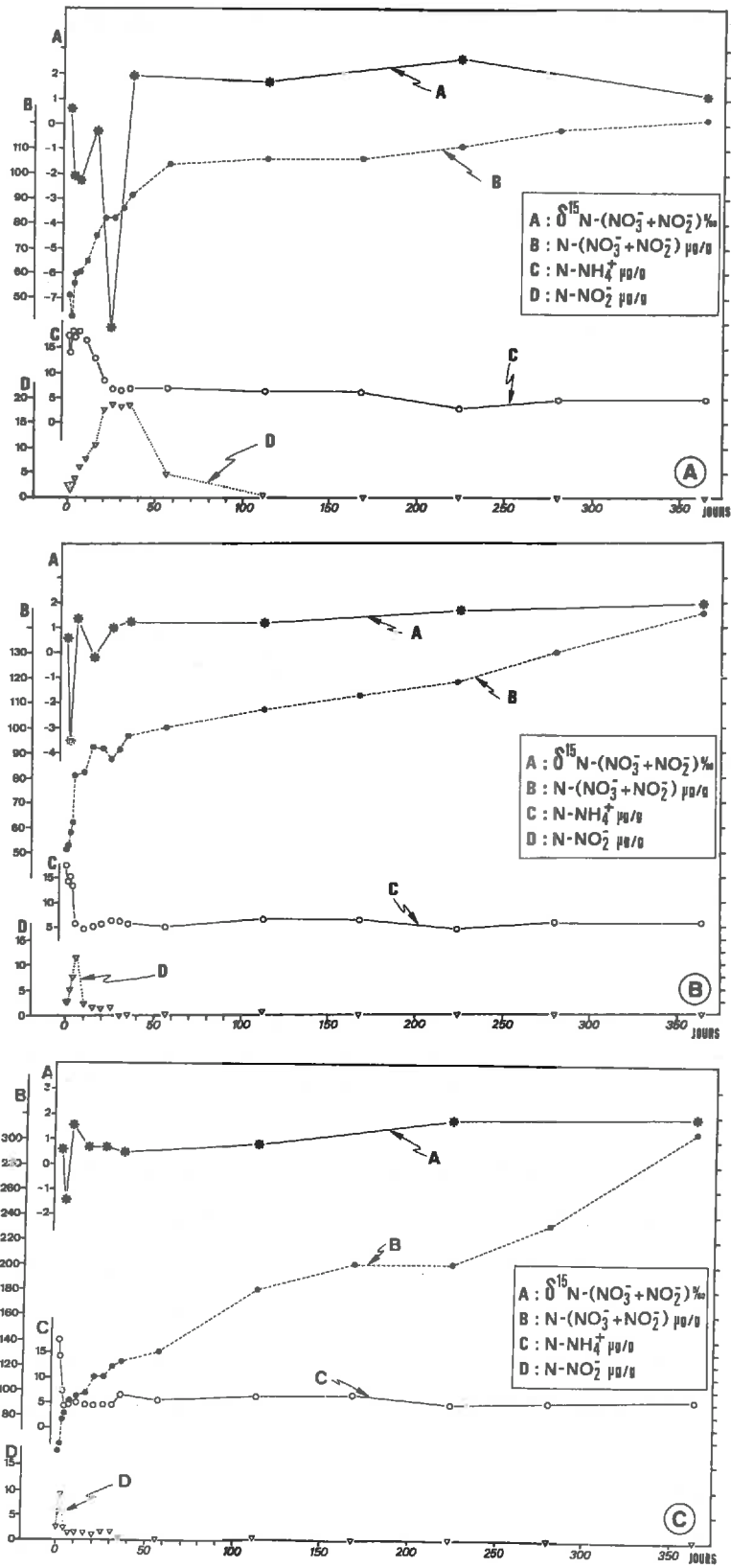


Figure 2-10 : Essai d'incubation n° 2 de longue durée : 2 A : 0-2°C ;  
2 B : 10°C ; 2 C : 28°C. Extrait de MARIOTTI *et al.*, 1980.



de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  à  $\delta^{15}\text{N}$  beaucoup plus bas que le témoin (sol seul) : les valeurs minimales de  $\delta^{15}\text{N}$  atteintes sont respectivement de - 9 % (- 3,5 % pour le témoin) dans l'essai 1 et de - 8,6 % (- 3,5 pour le témoin) dans l'essai 2, de longue durée.

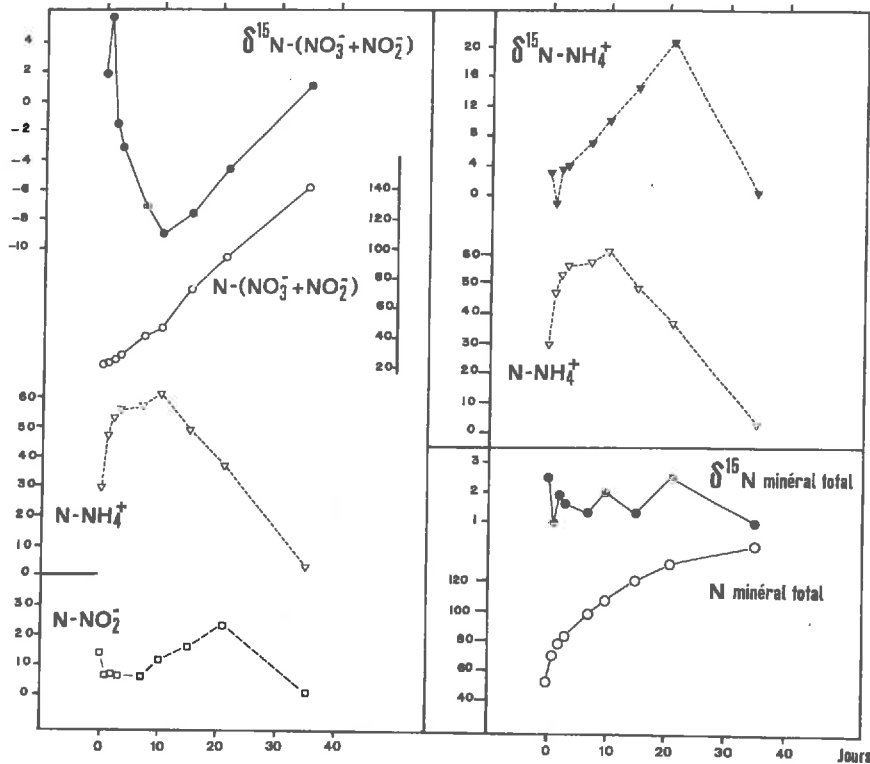


Figure 2-11 : Essai 1. Incubation brève. Minéralisation du sol ayant un apport d'azote organique aisément minéralisable (protéines et acides aminés): eau de féculerie. La température d'incubation est de 10°C. Extrait de MARIOTTI *et al.*, 1980.

Notons dès maintenant que ce résultat ne peut s'expliquer par les valeurs des  $\delta^{15}\text{N}$  des substances ajoutées : pour l'essai 1, le  $\delta^{15}\text{N}$  de l'azote total de l'apport est de 0,9 ‰, ce qui porte théoriquement la composition isotopique de l'azote total de cet essai à 4,5 ‰ (valeur mesurée : 4,8 ‰), pour le deuxième essai, le  $\delta^{15}\text{N}$  de l'acide aspartique est de - 1,4 ‰, la composition isotopique théorique de l'azote total de cette expérience est de 3,6 ‰.

La période de variation isotopique est plus longue dans l'expérience de minéralisation d'eau de féculerie que dans le témoin (figure 2-9A) : au bout de 35 jours, la stabilité isotopique n'est pas encore atteinte. On notera ici encore que le compartiment azote minéral a une composition isotopique constante pendant la durée de l'incubation : la période

d'appauvrissement en  $^{15}\text{N}$  de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  correspond à l'enrichissement corrélatif en  $^{15}\text{N}$  de l'ammonium (cf. figure 2-11).

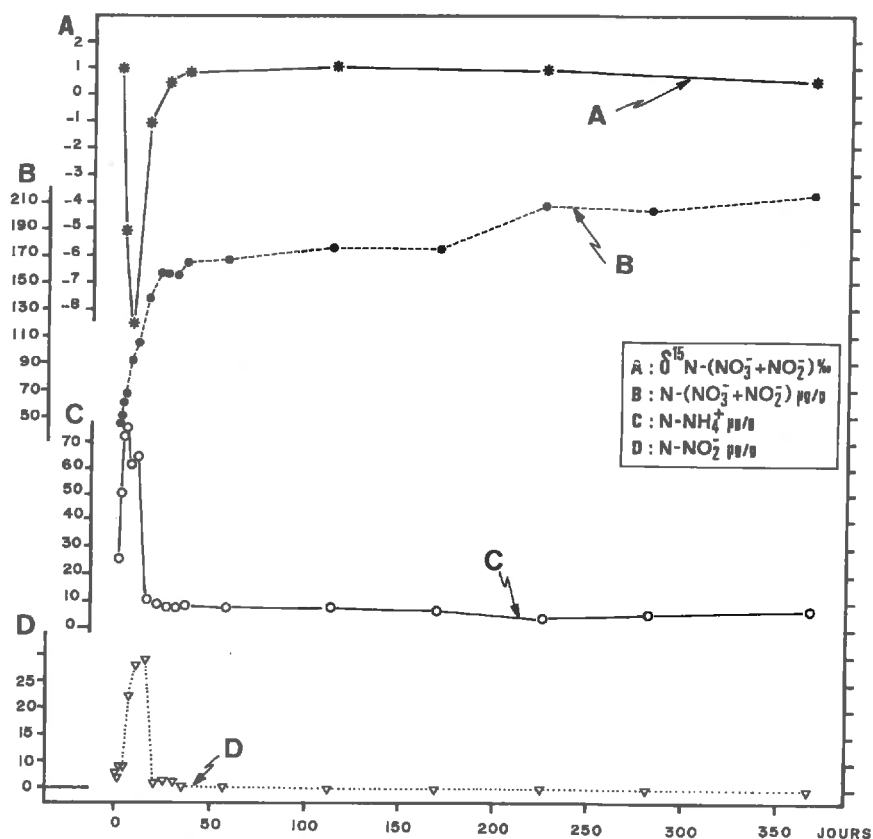


Figure 2-12 : Essai 2. Incubation de longue durée. Minéralisation du sol ayant subi un apport d'azote organique aisément minéralisable : acide aspartique. La température d'incubation est de 10°C. Extrait de MARIOTTI *et al.*, 1980.

+ Influence de la température.

Pendant les premières semaines du deuxième essai, on note (figure 2-10 A, B, C et tableau 2-XII) que la période de variation des  $\delta^{15}\text{N}(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  est de durée variable en fonction de la température : environ 30 jours à 0-2°C, 20 jours à 10°C et 15 jours à 28°C (respectivement figure 2-10A,B et C) : elle diminue quand la température d'incubation croît.

L'évolution de la composition isotopique dans cette expérience est complexe (figure 2-10). On peut distinguer deux phases d'appauvrissement en  $^{15}\text{N}$  de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ . Les  $\delta^{15}\text{N}$  les plus bas sont atteints pour 0-2°C et 10°C mais on ne peut exclure, en fonction du pas de temps choisi pour les analyses isotopiques (qui est le même pour toutes les températures), que d'importantes variations nous échappent à 28°C. On pourrait toutefois penser que les

Temps (jours)	Espèce	0-2°C		10°C		28°C	
		N(µg/g)	δ <sup>15</sup> N	N(µg/g)	δ <sup>15</sup> N	N(µg/g)	δ <sup>15</sup> N
0	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**			17.6 48.5 2.6 51.1 0.0**	5.5 - - 0.6 -		
2	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**	18.2 53.4 2.6 56.0 4.9**	- 2.1 -30.3**	15.2 52.8 5.0 57.8 6.7**	- 3.5 -34.8**	7.2 66.7 9.2 75.9 24.8**	- 1.4 - 5.5**
6	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**	18.3 54.5 5.9 60.4 9.3**	- 2.3 -18.2**	5.7 69.4 11.5 80.9 29.8**	1.4 2.8**	4.6 89.8 1.6 91.4 40.3**	1.6 2.9**
15	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**	12.9 64.4 10.4 74.8 23.7**	- 0.3 - 3.8**	5.2 90.3 1.6 91.9 40.8**	- 0.2 - 1.2**	4.6 95.0 1.6 96.5 45.4**	0.7 0.8**
25	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**	6.7 65.7 18.4 82.1 31.0**	-8.2 -22.7**	6.5 85.5 1.5 87.0 35.9**	1.0 1.6**	4.3 108.0 1.5 109.5 58.4**	0.7 0.8**
35	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**	6.8 72.2 18.5 90.7 39.6**	1.9 3.6**	6.4 96.1 0.3 96.4 45.3**	1.2 1.9**	6.4 122.0 0.3 122.3 71.2**	0.5 0.4**
112	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**	6.2 106.0 0.1 106.1 54.9**	1.7 2.7**	6.2 107.0 0.5 107.5 56.4**	1.2 1.7**	6.2 180.0 0.3 180.3 129.2**	0.8 0.9**
224	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**	2.9 111.0 0.0 111.0 59.9**	2.7 4.5**	4.8 118.0 0.0 118.0 66.9**	1.7 2.5**	4.5 201.0 0.0 201.0 149.9**	1.8 2.2**
364	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )**	4.9 122.0 0.0 122.0 70.9**	1.1 1.5**	6.0 146.0 0.0 146.0 94.9**	1.9 2.6**	5.5 306.0 0.0 306.0 254.9**	1.9 2.2**

Tableau 2-XII : Teneurs et abondances isotopiques des espèces minérales azotées présentes dans le deuxième essai d'incubation, en temps long, aux différentes températures.

L'astérisque désigne des résultats calculés : (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) effectivement apparus pendant l'expérience.

fractionnements isotopiques pendant cette période sont fonction de la cinétique des réactions considérées. Lorsque la vitesse de réaction augmente, par exemple sous l'action de la température, les fractionnements isotopiques diminuent. De semblables phénomènes ont été mis en évidence pour le processus de dénitrification (cf. chapitre 2-3).

β. - Incubations de longue durée.

Après cette période de variation de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ), dont la durée est fonction de la température, on a une stabilisation ou une très lente évolution dès que le système se trouve en équilibre dynamique dont la manifestation la plus claire est la constance des pools ammonium et nitrite, ce dernier n'étant plus mesurable.

En outre, les compositions isotopiques du nitrate paraissent, à partir du 35ème jour, plus élevées à basse température, c'est-à-dire plus proches de celle de l'azote de la matière organique. On peut ainsi considérer que le fractionnement isotopique apparent entre azote organique et azote minéral en incubation de longue durée est moins important à basse température. Cet effet est d'autant plus sensible que l'on ne considère que les quantités effectivement apparues dans l'expérience en soustrayant, par calcul de bilan, l'azote présent au départ, affecté de son contenu en  $^{15}\text{N}$  (tableau 2-XII et figure 2-13).

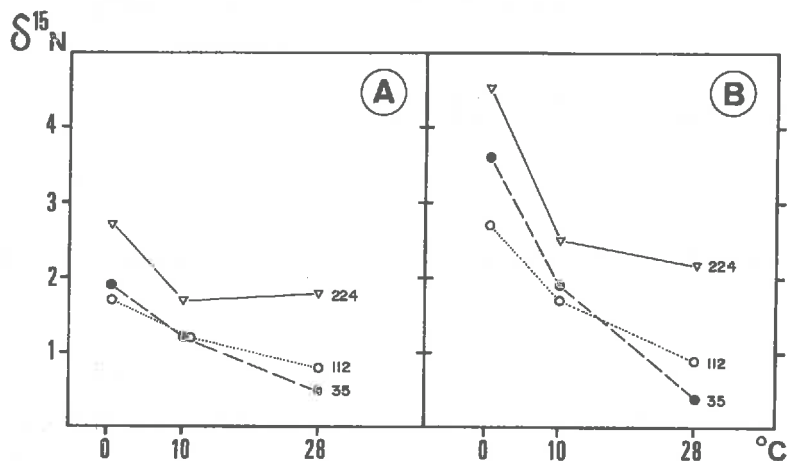


Figure 2-13 : Essai d'incubation de longue durée : évolution de  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  en fonction de la température (à 35, 112 et 224 jours).

A : valeurs brutes ; B : valeurs corrigées des  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  présents en début d'incubation.

Extrait de MARIOTTI et al., 1980.

b. - Cases lysimétriques.

Les mesures ont porté sur des ponctions réalisées au cours de plusieurs cycles hydrologiques à 25, 75 et 150 cm de profondeur (tableau 2-XIII et figure 2-14). On constate que, pour les niveaux qui ont pu être suivis régulièrement, le  $\delta^{15}\text{N}$  des nitrates (principale espèce minérale présente : on ne note jamais l'apparition de nitrites et l'ammonium n'excède jamais 0,8 mg/l) est stable : on n'observe pas de variations importantes de cette composition isotopique au printemps, au moment de la reprise de minéralisation. Elle reste voisine de 2 à 3 ‰.

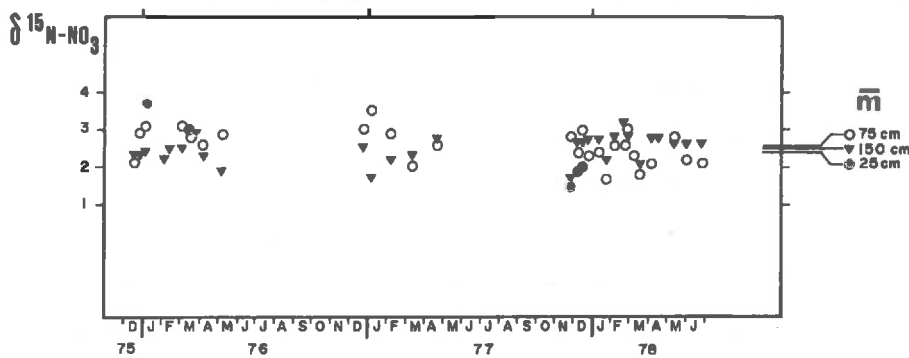


Figure 2-14 : Evolution de la composition isotopique des nitrates, suivie à différentes profondeurs (25, 75 et 150 cm) dans une case lysimétrique installée sur rendzine crayeuse maintenue sans végétation. Extrait de MARIOTTI *et al.*, 1980.

3) Discussion et interprétation.

a. - Incubations.

Des résultats analytiques, il ressort l'existence de deux périodes successives :

- Une période où la vitesse de nitrification est importante, où l'équilibre dynamique ("steady state") n'est pas atteint, avec production ou consommation d'espèces transitoires,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ . C'est cette phase qui s'accompagne de l'apparition de  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  appauvris en  $^{15}\text{N}$ , cependant que l'ammonium, lui, est enrichi en cet isotope (en fait, N minéral total a une composition isotopique stable : figure 2-9C et 2-11).

Date	Profondeur de la ponction					
	25cm		75cm		150cm	
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	δ <sup>15</sup> N	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	δ <sup>15</sup> N	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	δ <sup>15</sup> N
18/12/75			44.0	2.1	46.1	2.3
23/12			46.2	2.9	45.8	2.3
06/01/76	61.5	3.7	49.1	3.1	46.6	2.4
04/02					47.7	2.2
10/02					48.0	2.5
02/03			69.9	3.1	50.7	2.5
17/03	44.8	3.0	68.0	2.8	49.8	2.9
07/04			72.4	2.6	50.5	2.3
05/05			67.6	2.9	49.1	1.9
21/12			116.0	3.0	54.3	2.5
04/01/77			165.0	3.5	73.4	1.7
06/02			119.0	2.9	62.3	2.2
09/03			62.2	2.0	73.4	2.3
22/04			48.4	2.6	78.4	2.7
29/11	83.6	1.5	25.1	2.8	74.4	1.7
08/12	79.8	1.9	25.0	2.4	75.1	2.7
13/12	59.5	2.0	25.1	3.0	74.4	2.7
23/12			28.2	2.3	82.5	2.8
10/01/78			30.8	2.4	83.3	2.8
24/01			35.2	1.7	83.6	2.2
07/02			48.9	2.6	80.8	2.8
23/02			53.8	2.6	76.8	3.2
24/02			55.9	3.0	74.3	2.9
07/03			63.9	2.3		
17/03			59.7	1.8	86.8	2.1
06/04			37.4	2.1	79.5	2.8
18/04					72.1	2.8
10/05			29.3	2.8	75.5	2.7
01/06			22.0	2.2	72.7	2.6
27/06			17.0	2.1	60.4	2.6
Moyenne		2,42		2,57		2,49
Ecart-type		0,90		0,44		0,36

Tableau 2-XIII : Concentration en mg/l et abondance isotopique des nitrates de la solution de sol extraite par bougie poreuse à différentes profondeurs de la case lysimétrique.

- Puis une période où le système atteint l'équilibre dynamique, le compartiment nitrite est vide et l'ammonium constant, le  $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  est stable.

La première période pourrait correspondre au phénomène de "flush effect" de POWLSON et JENKINSON (1976) et MARY (1978) : période de minéralisation très rapide qui se poursuit pendant les premières semaines d'incubation qui résulte du prétraitement par séchage à l'air de l'échantillon, susceptible de provoquer une destruction importante de la biomasse microbienne du sol : ainsi, une importante quantité d'azote organique aisément minéralisable se trouve disponible au début de l'incubation. La minéralisation rapide de fractions de végétaux se trouvant dans le sol pourrait également être invoquée. MULLER (1977) a conclu, par la voie de l'analyse chimique et dans des systèmes non à l'état stationnaire, que la cinétique de minéralisation des substances azotées facilement minéralisables pouvait s'interpréter en considérant deux pools organiques : l'un labile, l'autre beaucoup plus stable.

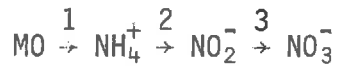
L'évolution isotopique peut donc s'expliquer par la succession de deux phases :

(i) La minéralisation d'un pool organique azoté très labile expliquant le "flush effect" et qui serait représenté essentiellement par la biomasse microbienne détruite par le séchage à l'air précédant l'incubation : à cette phase correspond l'apparition de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  appauvris en  $^{15}\text{N}$  ; ce phénomène est largement amplifié lorsque, au sol témoin, on apporte un substrat azoté aisément minéralisable (eau de féculerie ou acide aspartique).

Sur l'exemple de l'essai 2, nous avons essayé d'estimer le bilan de l'azote minéral apparu pendant cette phase où les nitrates ont une composition isotopique basse. Ce bilan exprime l'apparition de nitrates et nitrites et la disparition d'ammonium. Les analyses isotopiques, effectuées avec un pas de temps plus long que les analyses chimiques (cf. figure 2-10) ne peuvent pas toujours permettre de définir avec précision la fin de cette période caractérisée par l'appauvrissement en  $^{15}\text{N}$  du nitrate, en particulier à 0-2°C (entre 25 et 35 jours). Toutefois, on constate qu'aux trois températures d'incubation choisies, donc avec des cinétiques différentes, cette période correspond à l'apparition de quantités très voisines d'azote minéral, quelle que soit la température : de l'ordre de 26  $\mu\text{gN}$  par gramme de sol. Tout se passe comme si un même stock d'azote organique extrêmement labile se minéralisait à différentes vitesses selon la température. Ce stock pourrait correspondre à une partie de la biomasse détruite par le séchage à l'air précédant l'incubation.

(ii) Puis on assiste à la minéralisation, moins rapide et plus régulière, d'un pool organique moins facilement minéralisable, homogène et stable : il pourrait s'agir de la fraction minéralisable de la matière organique humifiée : à cette phase correspondrait l'apparition de nitrates (les nitrites ont alors disparu) de composition isotopique stable.

La première phase est caractérisée par le fait que l'étape limitante de la chaîne de réaction :



est l'étape 2 (voire même 3 puisque l'on a apparition d'une petite quantité de nitrite) : le taux de minéralisation (1) dépasse celui de nitrification et/ou nitrification. Dans ces conditions, l'effet isotopique important associé au processus de nitrification (2) peut s'exprimer. L'effet isotopique associé à la nitrification (3) n'est pas pris en compte puisque les résultats obtenus portent sur la somme ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ). On assiste donc à l'apparition de ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ) à basse composition isotopique, cependant que  $\text{NH}_4^+$  s'enrichit corrélativement en  $^{15}\text{N}$  (cf. figure 2-9).

Au contraire, la deuxième phase est caractérisée d'une part par le fait que l'étape limitante devient la minéralisation, d'autre part, on l'a vu, par l'instauration de l'état stationnaire pour l'ammonium et les nitrites. Dans ces conditions, le seul fractionnement isotopique qui puisse s'exprimer est celui associé à cette première étape. Ce fractionnement ne peut être calculé car on ne connaît pas la composition isotopique de la fraction de matière organique qui se minéralise à ce moment. On peut observer (cf. figure 2-9) que le  $\delta^{15}\text{N}$  des nitrates apparus dans cette période est approximativement le même que celui de la somme de l'azote minéral ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+$ ) apparu pendant la première période : on peut donc penser que, toutes choses égales par ailleurs, la composition isotopique des deux pools envisagés de matière organique est la même.

Nous avons précédemment émis l'hypothèse que l'azote minéralisé pendant la première phase était celui de la biomasse détruite par le séchage préalable à l'incubation.

Pour tester cette hypothèse, nous avons effectué un prélèvement de sols de même nature au mois de février. La teneur en N total est de 2,4 %, le  $\delta^{15}\text{N}$  de 5 ‰. Ces sols ont incubé pendant 35 jours à 10°C. Quatre séries d'incubation ont été prévues :



+ En faisant ou non subir le séchage préalable à l'incubation : une série subit le séchage, l'autre est placée directement en incubation, avec son humidité de prélèvement au champ (20 %).

+ Ces deux expérimentations sont répétées, avec ajout d'un substrat azoté aisément minéralisable : de l'acide aspartique (à raison de 3,63 mgN/200 g de sol).

Les résultats sont présentés sur la figure 2-15.

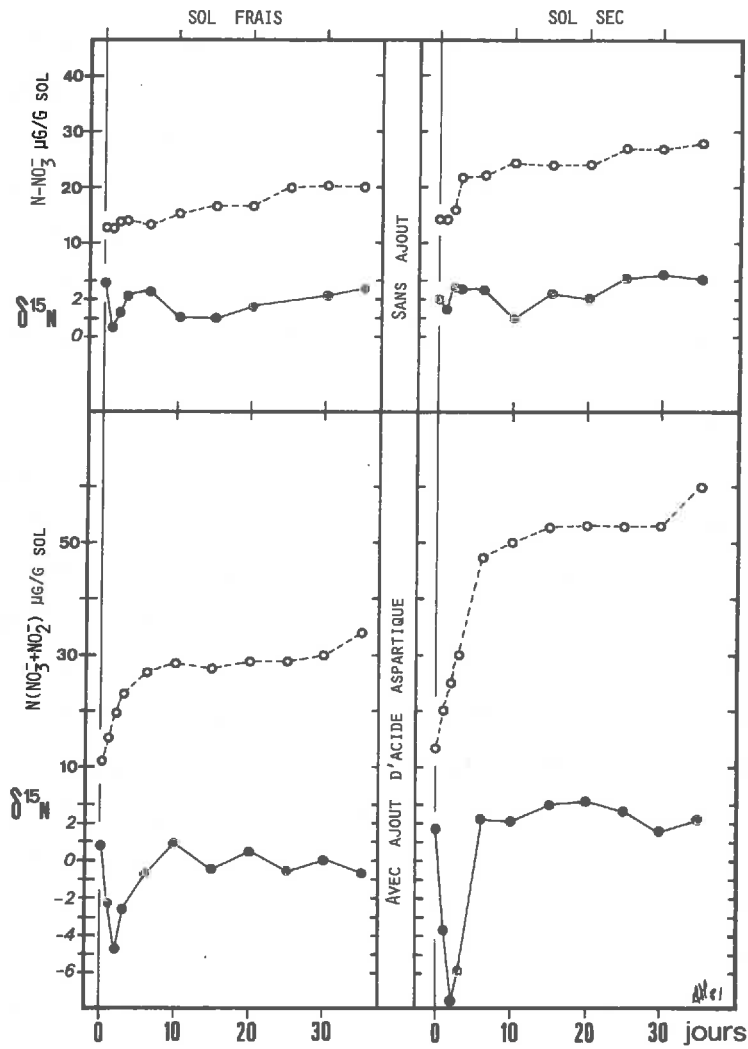


Figure 2-15 : Concentration et composition isotopique de  $N-(NO_3^-+NO_2^-)$  dans les essais d'incubation sur sol de craie prélevé en hiver. (sol séché avant incubation ou maintenu à l'état hydrique du champ, avec ou sans apport d'azote aisément minéralisable).

On peut y constater que, dans les deux séries d'expérimentations sans ajout de substrat azoté aisément minéralisable, la composition isotopique de l'azote nitrique apparue (il n'y a pas, dans ces expériences, d'apparition de nitrite et l'azote ammoniacal reste constant autour de 1 à 1,5 µg/g sol). Au contraire, dans les deux séries d'expériences avec ajout d'acide aspartique, on assiste à l'apparition de la phase initiale caractérisée par des  $\delta^{15}\text{N}-(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  bas. Dans ces dernières expérimentations, on note l'apparition d'ammonium dans le sol maintenu humide et d'ammonium et de nitrites dans le sol préalablement séché (tableau 2-XIV). Les variations négatives de  $\delta^{15}\text{N}$  sont contemporaines de la période où l'ammonium n'est pas en équilibre dynamique. On peut constater sur le tableau 2-XIV que le  $\delta^{15}\text{N}$ -minéral total reste à peu près constant comme nous l'avons déjà souvent constaté (cf. figure 2-9 et 2-11).

Jours	Sol maintenu frais				Sol séché préalablement à l'incubation					
	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	$\delta^{15}\text{N}(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$	$\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$	$\delta^{15}\text{N}$ minéral total *
0	4.1	tr	11.1	0.8	4.3	tr	13.4	1.7	-	-
1	8.0	-	15.2	- 2.3	14.1	0.9	19.6	- 3.7	8.1	1.1
2	4.5	-	19.9	- 4.6	13.8	4.7	20.2	- 7.5	12.4	- 0.4
3	4.1	-	23.0	- 2.6	12.2	7.2	23.1	- 5.9	21.1	1.9
6	3.8	-	26.8	- 0.7	4.3	14.9	32.5	2.3	-	-
10	2.1	-	28.2	1.2	2.4	tr	49.5	2.1	-	-
15	1.4	-	27.4	- 0.5	1.4	tr	52.6	3.0	-	-
20	1.0	-	28.9	0.5	1.0	tr	53.1	3.2	-	-
25	1.0	-	28.9	- 0.6	1.0	tr	52.8	2.7	-	-
30	1.0	-	29.6	0.0	1.2	tr	52.9	1.5	-	-
35	0.9	-	33.8	- 0.9	1.2	tr	60.9	2.2	-	-

tr = traces  
 Les concentrations sont exprimées en µg/g de sol  
 \* = valeur calculée

Tableau 2-XIV : Incubation avec prétraitements différents du sol (séchage ou non).

*Les sols ont été PRELEVES EN HIVER, et ont subi un apport d'acide aspartique, substrat azoté aisément minéralisable.*

L'interprétation de ces résultats n'est pas évidente, pour ce qui concerne l'évolution isotopique des nitrates apparus dans les sols sans ajout d'acide aspartique. Tout se passe comme si la phase initiale de minéralisation d'un pool organique très labile, s'accompagnant de nitrate à bas  $\delta^{15}\text{N}$ , ne se déroulait pas : ceci peut s'interpréter :

- Dans le cas du sol maintenu humide avant incubation, par l'absence de destruction par séchage d'une partie de la biomasse, destruction s'accompagnant de la mise à disponibilité d'azote aisément minéralisable : apparemment cette expérience conforte notre hypothèse initiale. Comment expliquer alors que le même phénomène se déroule pour le sol préalablement séché ?

- Nous nous rappellerons que le prélèvement du sol a eu lieu au mois de février, c'est-à-dire, dans la région de Châlons-sur-Marne dans la période la plus rigoureuse de l'hiver. On peut penser que *la biomasse active est très réduite à cette époque : l'effet biocidal du séchage sera donc limité et la mise à disponibilité d'azote très aisément minéralisable peu importante*. Le comportement serait ainsi fondamentalement différent de celui de sol prélevé en été où la biomasse et son activité sont très importantes.

Pour apporter une confirmation définitive à notre hypothèse, un prélèvement de sol maintenu frais jusqu'à incubation devra être effectué en période estivale ; d'autre part, d'autres traitements biocidaux devront être appliqués : fumigation au chloroforme, irradiation gamma, autoclavage.

Les résultats obtenus au champ (en cases lysimétriques) méritent d'être analysés.

#### *b. - Cases lysimétriques.*

La constance du  $\delta^{15}\text{N}$  dans la solution du sol de la case paraît surprenante. La minéralisation très rapide en début d'incubation après séchage du sol, qui s'accompagne de l'apparition de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  très appauvris en  $^{15}\text{N}$  devrait se produire naturellement en fin d'été lorsque le sol a été fortement séché et est réhumecté par la pluie. Nous n'avons pas pu le mettre en évidence sur les ponctions en case lysimétrique, même à 25 cm de profondeur où le phénomène aurait le plus de chance de se produire. Toutefois, ce résultat est cohérent avec l'absence, au niveau des bougies, d'ammonium et de nitrites puisque, en incubation, les fluctuations de composition isotopique de l'azote minéral sous forme oxydée, sont contemporaines de la présence d'ammonium\* et le plus souvent de nitrite.

#### *c. - Comparaison incubations-cases lysimétriques.*

Il nous faut remarquer que *les  $\delta^{15}\text{N}$  mesurés au champ, dont les moyennes aux différentes profondeurs figurent sur le tableau 2-XIII, sont tout à fait comparables à ceux obtenus dans tous les essais d'incubation, même avec des sols dont le  $\delta^{15}\text{N}$  total peut sensiblement varier : de 3,8 à 5,2 %. Les compositions isotopiques sont voisines de 2,5 %.*

---

*Plus exactement d'ammonium non en état stationnaire.*

#### 4) Conclusions.

Il reste comme constatation essentielle que, dans les expériences d'incubation où on assiste à d'importantes variations des teneurs en ammonium (c'est-à-dire lorsque cet élément n'est pas en état stationnaire) et à l'apparition de nitrites (cas non général, cf. tableau 2-XIV, sol maintenu frais), la composition isotopique de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  connaît d'importantes variations, avec appauvrissement en  $^{15}\text{N}$ . Au contraire, dès que l'ammonium est en état stationnaire, le  $\delta^{15}\text{N}$  du nitrate (il n'y a alors plus de nitrite) se stabilise. Si on envisage le modèle simple suivant (SHEARER *et al.*, 1974) : (figure 2-16) :

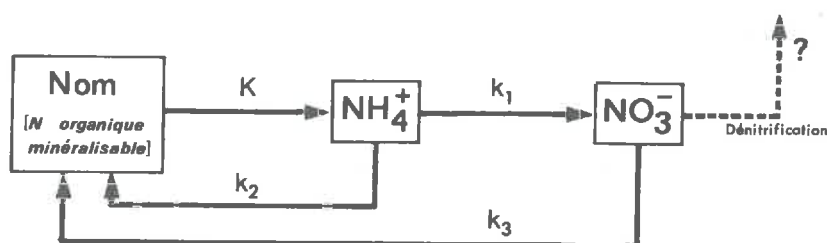


Figure 2-16 : Inspirée de SHEARER *et al.*, 1974.

à l'échelle d'une expérience d'incubation de courte durée, on peut considérer le réservoir d'azote organique minéralisable (Nom) comme très grand devant  $\text{NH}_4^+$  : les variations de Nom ne sont pas mesurables pendant l'expérience :  $\Delta\text{Nom}/\text{Nom} \approx 0$ . Ceci conduit logiquement à considérer la minéralisation comme une réaction d'ordre 0, dont la constante de vitesse est K. Toutes les autres réactions peuvent être, en première approximation assimilées à des réactions d'ordre 1 (ceci est valable si les concentrations des substrats restent faibles devant les valeurs des constantes de MICHAELIS). Dans les expériences d'incubation aérobies, la dénitrification est un phénomène improbable, il sera négligé.

Il vient :

$$\frac{d(\text{NH}_4^+)}{dt} = K - (k_1 + k_2) (\text{NH}_4^+) \quad (1)$$

$$\frac{d(\text{NO}_3^-)}{dt} = k_1 (\text{NH}_4^+) - k_3 (\text{NO}_3^-) \quad (2)$$

Ces équations peuvent être écrites pour les deux isotopes  $^{14}\text{N}$  et  $^{15}\text{N}$ .

Dans le cas où l'ammonium est en état stationnaire (2ème phase de nos incubations sur sols séchés prélevés en été), on a :

$$\frac{d(NH_4^+)}{dt} = 0$$

d'où :  $K = (k_1 + k_2) (NH_4^+)$

il vient :  $\frac{{}^{15}K}{{}^{14}K} = \frac{({}^{15}NH_4^+) ({}^{15}k_1 + {}^{15}k_2)}{({}^{14}NH_4^+) ({}^{14}k_1 + {}^{14}k_2)}$

soit :  $\frac{({}^{15}NH_4^+)}{({}^{14}NH_4^+)} = R_{(NH_4^+)} = \frac{{}^{15}K ({}^{14}k_1 + {}^{14}k_2)}{{}^{14}K ({}^{15}k_1 + {}^{15}k_2)}$  (3)

$R_{(NH_4^+)}$  désigne le rapport isotopique de l'ammonium.

La composition isotopique de l'ammonium est donc constante. Si l'on fait l'hypothèse que la réorganisation se fait essentiellement à partir de l'ammonium et non du nitrate :  $k_3 \sim 0$ , alors :

$$d(NO_3^-)/dt \approx k_1 (NH_4^+)$$

si  $(NO_3^-)_0 = 0$ ,  $(NO_3^-) \approx k_1 (NH_4^+) t$

Le taux de production du nitrate est constant, ce qui se vérifie fort bien à l'observation des courbes des figures 2-9A, 2-10 et 2-12 (aidé du tableau 2-XII), dès que  $(NH_4^+)$  atteint l'état stationnaire. On déduit que :

$$\frac{({}^{15}NO_3^-)}{({}^{14}NO_3^-)} = R_{(NO_3^-)} = \frac{{}^{15}k_1}{{}^{14}k_1} R_{(NH_4^+)} \quad (4)$$

Comme le rapport isotopique de l'ammonium  $R_{(NH_4^+)}$  est constant, il est démontré que, dès que la teneur en ammonium atteint l'état stationnaire, la composition isotopique du nitrate formé est constante.

Dans le cas où  $k_3$  n'est pas égal à zéro ( $k_3 > 0$ ) on a :

$$({}^{15}\text{NO}_3^-) = \frac{{}^{15}k_1 ({}^{15}\text{NH}_4^+)}{{}^{15}k_3} (1 - e^{-{}^{15}k_3 t})$$

et :

$$({}^{14}\text{NO}_3^-) = \frac{{}^{14}k_1 ({}^{14}\text{NH}_4^+)}{{}^{14}k_3} (1 - e^{-{}^{14}k_3 t})$$

ainsi  $\frac{({}^{15}\text{NO}_3^-)}{({}^{14}\text{NO}_3^-)} = R_{(\text{NO}_3^-)}$  devient fonction de  $t$ , ce qui est en désaccord avec nos résultats.

D'autre part, lorsque  $(\text{NH}_4^+)$  n'est pas en état stationnaire (1ère phase des incubations sur sols séchés prélevés en été), le rapport isotopique et donc la composition isotopique de  $\text{NH}_4^+$  est une fonction complexe de  $t$  (donc du degré d'avancement de la réaction) et il en va de même pour  $\text{NO}_3^-$ .

Ainsi, comme nous l'avons observé expérimentalement, le  $\delta^{15}\text{N}$  du nitrate (et de l'ammonium), dans une première période où  $(\text{NH}_4^+)$  n'est pas en équilibre dynamique, va connaître d'importantes variations avec l'état d'avancement de la réaction. Ces variations tendent à s'estomper, la composition isotopique du nitrate tend vers une valeur d'équilibre (le  $\delta^{15}\text{N}$  de  $\text{NH}_4^+$  n'est alors plus mesurable aisément), lorsque  $(\text{NH}_4^+)$  tend vers l'état stationnaire.

La phase où  $\text{NH}_4^+$  n'évolue pas en équilibre dynamique correspond à la minéralisation très rapide\* de composés azotés aisément minéralisables : nous avons observé que cette phase prend plus d'ampleur sous l'effet de l'apport d'acides aminés très facilement minéralisables. Lorsqu'un sol sans ajout est placé en incubation, on peut penser que cette phase est due à la minéralisation rapide de la partie de la biomasse du sol détruite par le séchage à l'air. Si cette hypothèse se vérifiait, il serait nécessaire d'admettre que la composition isotopique de cette biomasse soit très voisine de celle de la matière organique humifiée facilement minéralisable : ceci est imposé par le fait que le  $\delta^{15}\text{N}$  minéral total est constant dans les incubations du sol sans ajout (cf. figure 2-9C).

---

\* Le facteur limitant au phénomène global d'oxydation de la matière organique est, dans ce cas,  $k_1$ .

Enfin, dans les cases lysimétriques, c'est-à-dire dans des conditions qui cernent au plus près les conditions naturelles, les teneurs en ammonium restent toujours constantes, et extrêmement faibles : comme le prévoit le modèle, les compositions isotopiques du nitrate restent constantes. De plus, ces compositions isotopiques, comprises entre 2 et 3 % sont semblables à celles que nous obtenons en incubation de laboratoire, dans la phase d'équilibre. *On peut donc considérer qu'une incubation, effectuée dans des conditions de température et d'humidité proches de celles du champ est, au point de vue de la composition isotopique du nitrate minéralisé, un excellent reflet du phénomène naturel de minéralisation au champ, à la condition de poursuivre l'incubation suffisamment longtemps pour s'affranchir du "flush effect" initial évoqué ci-dessus (ou d'éviter tout "stress" important au sol préalablement à l'incubation).*

Nous présenterons maintenant les résultats sur un sol de limon installé dans les cases lysimétriques de l'INRA à Versailles.

B) Etude de la composition isotopique des nitrates au drainage d'un sol de limon en case lysimétrique.

Cette étude a pour but de suivre au cours du temps l'évolution de la composition isotopique de l'azote minéral d'un sol pendant une année hydrologique afin d'établir des relations éventuelles entre la composition isotopique de l'azote organique du sol et de l'azote minéralisé.

1) Matériel et méthodes

Le sol étudié est un sous-sol de limon, installé depuis 1956 dans certaines des cases lysimétriques de l'INRA à Versailles. Les caractéristiques physico-chimiques de ce sol figurent sur le tableau 2-XV.

Le sol est maintenu sans couvert végétal et, bien sûr, ne reçoit aucun apport d'éléments fertilisants depuis 26 ans. La composition isotopique de l'azote organique de ce sol est de  $7,4 \pm 0,4$  %.

Le suivi de la composition isotopique du nitrate apparu par oxydation de l'azote organique du sol a été effectué au drainage de la case, à 1,5 m de profondeur.

Les résultats sont présentés sur le tableau 2-XVI. La seule espèce chimique azotée présente au drainage est le nitrate. Le  $\delta^{15}\text{N}$  de ce nitrate paraît remarquablement stable autour d'une valeur moyenne pondérée par le flux en  $\text{N-NO}_3^-$ , de 6,73 %.

Granulométrie en % de terre fine	
Argiles < 2 $\mu$	285
Limons fin 2 - 20 $\mu$	240
Limons grossiers 20 - 50 $\mu$	443
Sables fins 50 - 200 $\mu$	15
Sables grossiers 200 - 2000 $\mu$	5
Capacité d'échange des cations	12,8 méq.
pH eau	6,4
N total	0,46 %
C organique	4,04 %
Matière organique	7 %
C/N	8,8

Tableau 2-XV : Analyse initiale du sol utilisé (horizon B textural d'un sol de limon de la région de Versailles : remplissage 1956), d'après MONNIER (1971).

Date de prélèvement	Volume drainé (litres)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	Quantité de nitrate (mg)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ (%)
27.10-16.11.79	111.04	10.25	1138.16	6.1
17.11-08.12	31.41	8.00	251.28	6.5
10.12-19.12	119.35	7.75	924.96	5.9
20.12-03.01.80	67.37	7.85	528.85	5.5
03.01-30.01	22.85	6.25	142.81	5.9
31.01-01.02	13.20	4.35	57.42	6.0
02.02-04.02	43.40	5.90	256.06	6.0
05.02-22.02	36.82	4.40	162.01	6.0
23.02-13.03	24.20	3.50	84.70	6.9
14.03	29.54	3.40	100.44	5.7
15.03-28.03	36.79	4.00	147.16	5.9
29.03-11.04	20.96	3.85	80.70	6.4
12.04-18.04	2.99	1.65	4.93	6.7
19.04-28.04	2.86	1.17	3.35	7.0
29.04-12.05	3.11	0.85	2.64	6.3
14.05-06.06	4.35	0.88	3.83	6.4
07.06-23.06	2.64	0.77	2.03	6.5
26.06-11.07	21.47	5.12	109.93	6.2
19.07-11.08	56.04	4.80	268.99	5.7
12.10-15.11	48.71	6.22	302.98	7.1
17.11-15.12	77.14	5.80	447.41	7.1
15.12-14.01.81	148.85	7.30	1086.61	7.4
15.01-18.03	240.97	5.25	1265.09	8.3
19.03-13.04	25.36	2.90	73.54	10.4
$\bar{m}$ :				6.58 %
$\sigma$ :				1.03
$\delta^{15}\text{N}$ moyen pondéré :				6.73 %

Tableau 2-XVI : Composition isotopique de l'azote nitrique au drainage d'une case lysimétrique sur sol de limon durant les années hydrologiques 1979-1980 et 1980-1981 (Station INRA Versailles, case n° 12).



Il n'y a donc pas de différence de composition isotopique entre l'azote organique et l'azote nitrique, terme ultime de l'oxydation : l'enrichissement isotopique apparent entre N. organique et  $N-NO_3^-$  est quasiment nul.

Dans le cas précédent (sol de type rendzine) on pouvait noter un enrichissement isotopique négatif, toutefois peu élevé : compris entre - 2,5 % et - 1,9 % ( $\epsilon$  apparent :  $\delta^{15}N$  nitrique -  $\delta^{15}N$  organique), en incubation comme sur l'exemple des cases lysimétriques.

Ainsi tout se passe comme si, sur les deux exemples étudiés, le fractionnement isotopique apparent entre azote organique et azote nitrique était égal à l'unité.

### C) Discussion.

Ce fait a déjà été observé par de nombreux auteurs : FEIGIN *et al.* (1974) étudient le comportement en incubation de différents sols de la Corn Belt de l'Illinois. Ils observent le plus souvent qu'après une période d'apparition de nitrates à bas  $\delta^{15}N$ , la composition isotopique du nitrate se stabilise et reste constante\* à partir de 5 semaines d'incubation environ autour de valeurs comprises entre 7 et 10 ‰, valeurs toujours très proches de celles de l'azote total du sol (figure 2-17).

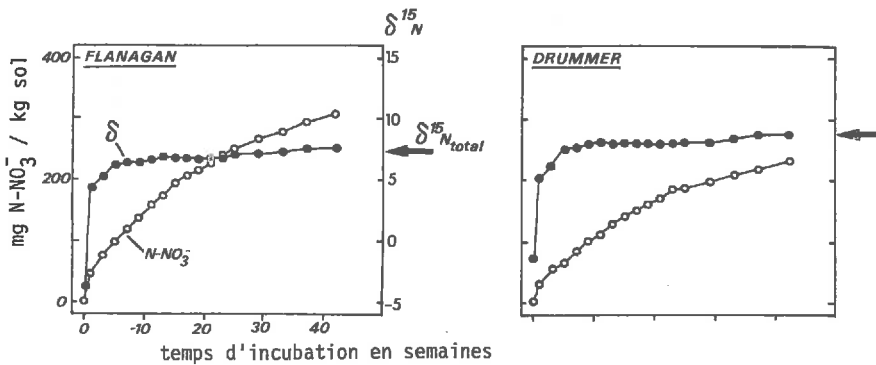


Figure 2-17 : Concentration et composition isotopique du nitrate apparu en incubation dans deux sols de l'Illinois ("Flanagan" et "Drummer"). Les unités sont les mêmes pour les deux figures.

D'après FEIGIN, KOHL, SHEARER et COMMONER (1974).

\* Comportement en tout point semblable à celui des sols en incubation dans le paragraphe précédent. Les auteurs n'ont malheureusement pas donné les concentrations en ammonium (ou nitrite) présent dans ces sols en cours d'incubation, notamment pendant la phase initiale à bas  $\delta^{15}N$ .

RENNIE *et al.* (1976) effectuent des prélèvements dans les horizons Ap de 9 sols chernozémiques et luvisoliques n'ayant jamais reçu d'engrais et prélevés pendant la période de jachère d'été où les auteurs pensent que les transformations biologiques de l'azote sont en quasi-équilibre. Ils obtiennent :  $\delta^{15}\text{N total} = 8,8 \pm 1,2 \%$  ;  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^- = 8,8 \pm 2,9 \%$ . Sur deux de ces sols placés en incubation, ils observent des différences très faibles entre la composition isotopique du nitrate mesuré au champ et celle du nitrate obtenu en incubation.

FREYER et ALY (1975) obtiennent, en incubation, des résultats similaires.

Ces résultats sont en parfaite contradiction avec ceux de CHENG *et al.* (1964) qui, en incubation, obtiennent toujours des  $\delta^{15}\text{N}$  de l'azote minéral très inférieurs à ceux de l'azote total ; en fait, ces incubations sont de courte durée (2 semaines) et cette différence peut s'expliquer par le phénomène de "flush effect" précédemment observé : à cet égard, une incubation de courte durée ne saurait refléter significativement la composition isotopique de l'azote minéralisable du sol.

BREMNER et TABATABAI (1973) étudient en incubation de longue durée (22 semaines) 10 sols différents. Ils obtiennent ( $\bar{m} \pm \sigma$ ) :  $\delta^{15}\text{N total} = 0,2 \pm 1,7 \%$  ;  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^- = -1,1 \pm 4,8 \%$ . Les compositions isotopiques de l'azote total de ces sols sont, de façon surprenante, très basses, voisines de 0 % même pour des sols cultivés (cf. chapitre 2-7, paragraphe 2-7-5).

Nous avons reporté sur la figure 2-18 l'ensemble de ces résultats, y compris les résultats que nous avons obtenus nous-mêmes :

- sur les sols sur craie,
- sur les sols de limons des cases lysimétriques de Versailles, de la parcelle expérimentale de Chaussy (incubation : cf. chapitre 3, paragraphe 3-2-3-I, tableau 3-XXX) et de celle de Boissy-le-Châtel (chapitre 3, paragraphe 3-2-2-I, tableau 3-XIV).

Il est clair que, à l'exception de certains des résultats obtenus par BREMNER et TABATABAI, la presque totalité des points obtenus soit par mesure au champ (RENNIE *et al.*, notamment, mesures en cases lysimétriques), soit en incubation de longue durée (supérieure à 3 semaines), se répartissent, dans un diagramme  $\delta^{15}\text{N total}$  versus  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ , le long de la bissectrice (cf. figure 2-18 bis où seuls ces points ont été reportés). Pour ce qui concerne les points obtenus en incubation de courte durée, le  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  est toujours nettement inférieur au  $\delta^{15}\text{N total}$  : les raisons en ont été données plus haut.

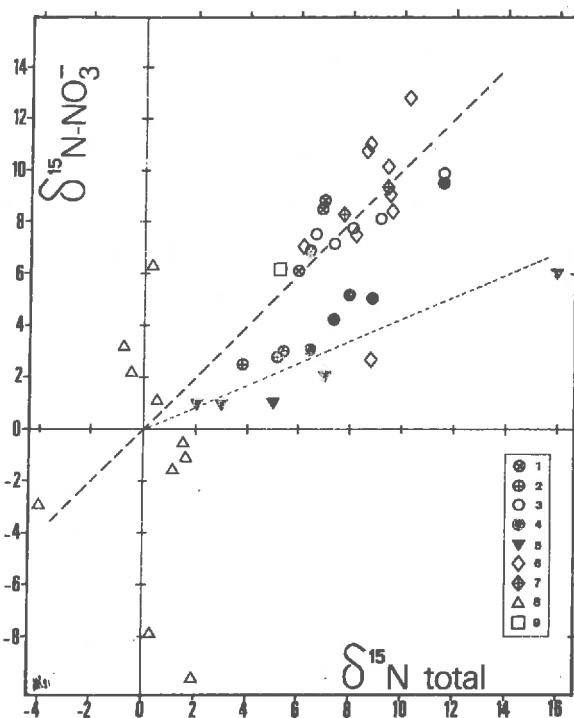


Figure 2-18 : Relation entre la composition isotopique de N-total et de N-nitrique en incubation ou au champ.

- 1 Nos résultats ; sols de limon (incubation + mesures au champ)
- 2 " ; rendzine (incubation + mesures au champ)
- 3 FEIGIN et al. ; incubation 29 semaines
- 4 " ; incubation 1 semaine
- 5 CHENG et al. ; incubation 2 semaines
- 6 RENNIE et al. ; mesures au champ
- 7 " ; incubation 3 semaines
- 8 BREMNER et TABATABAI ; incubation 22 semaines
- 9 FREYER et ALY ; incubation 3 semaines

Ainsi, il semblerait que pour un grand nombre de sols, d'origines très diverses (Illinois, Canada, Bassin parisien...) le fractionnement isotopique apparent entre N organique et nitrates soit proche de l'unité ( $\epsilon_{\text{apparent}} \approx 0$ ). Sur l'exemple des cases lysimétriques de Versailles, il est montré que les fluctuations de compositions isotopiques à 1,5 m de profondeur sont très faibles.

Ceci peut paraître en contradiction avec le fait qu'au moins une des étapes du processus complexe de minéralisation-nitrification, la nitrification, soit très fractionnante. En fait, il ne faut pas perdre de vue que dans un processus à plusieurs étapes c'est l'étape limitante de la vitesse globale du processus qui impose son fractionnement isotopique.

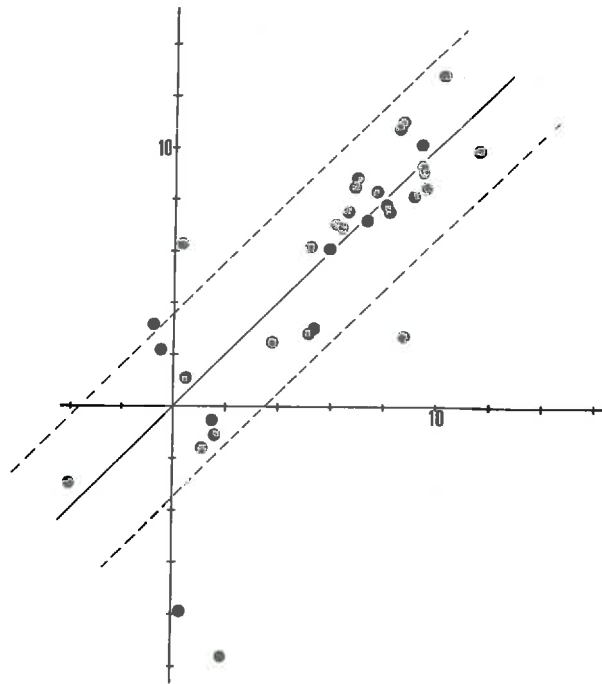


Figure 2-18 bis : Relation entre la composition isotopique de N-total et de N-nitrique.

Pour les coordonnées, voir figure 2-18. Seules les mesures au champ et celles obtenues en incubation d'une durée supérieure ou égale à trois semaines ont été retenues. A l'exception de certaines valeurs obtenues par BREMNER et TABATABAI, les points s'alignent selon la bissectrice :  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^- \approx \delta^{15}\text{N total}$ .

Si on reprend le modèle développé au paragraphe précédent, on appellera  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  les facteurs de fractionnement isotopique associés aux processus de nitrification *sensu lato* et réorganisation (à partir de  $\text{NH}_4^+$ ). Il vient :

$$\alpha_1 = \frac{{}^{15}k_1}{{}^{14}k_1} \quad \text{et} \quad \alpha_2 = \frac{{}^{15}k_2}{{}^{14}k_2}$$

L'équation (3) devient :

$$R_{(\text{NH}_4^+)} = \frac{{}^{15}\text{K} ({}^{15}k_1 \alpha_1^{-1} + {}^{15}k_2 \alpha_2^{-1})}{{}^{14}\text{K} ({}^{15}k_1 + {}^{15}k_2)}$$

Si on considère une phase où le processus de minéralisation-nitrification domine les autres, notamment la réorganisation (le taux de réorganisation,  $k_2$  ( $\text{NH}_4^+$ ) est faible devant  $K$ ), il vient en faisant  $^{15}k_2 \approx 0$  :

$$R_{(\text{NH}_4^+)} = \frac{^{15}K}{^{14}K} \frac{1}{\alpha_1}$$

Ce qui, combiné à (4), donne :

$$R_{(\text{NO}_3^-)} = \alpha_1 \frac{^{15}K}{^{14}K} \frac{1}{\alpha_1} = \frac{^{15}K}{^{14}K}$$

On peut écrire  $K = (\text{Nom})k$  où  $k$  sera la constante de pseudo-premier ordre pour la minéralisation de  $\text{Nom}$  en  $\text{NH}_4^+$  ;  $\alpha$  sera le facteur de fractionnement isotopique associé à ce processus :

$$\frac{^{15}K}{^{14}K} = \frac{(^{15}\text{Nom}) ^{15}k}{(^{14}\text{Nom}) ^{14}k} = R_{(\text{Nom})}^\alpha$$

d'où :

$$R_{(\text{NO}_3^-)} = \alpha R_{(\text{Nom})}$$

Ainsi, dans l'hypothèse où la réorganisation reste faible, pour obtenir un nitrate à même composition isotopique que l'azote organique minéralisable, il est nécessaire d'admettre que le facteur de fractionnement isotopique associé à la minéralisation,  $\alpha$ , soit égal à 1 ( $\epsilon = 0$ ). Rappelons que ceci n'est valable que lorsque  $\text{NH}_4^+$  est en état stationnaire. Bien évidemment, si l'étape de minéralisation est limitante de la vitesse, on aboutit au même résultat : c'est le fractionnement isotopique de cette étape, soit  $\alpha$ , qui est imposé à l'ensemble du processus.

Il est en fait évident que ce modèle ne peut décrire exactement les processus réels qui se déroulent dans le sol : nous avons en particulier négligé l'étape de réorganisation et ceci est une simplification outrancière. Les résultats obtenus ne peuvent garder leur signification, si on ne néglige pas le processus de réorganisation, que si l'on admet que celui-ci s'effectue sans fractionnement isotopique.

Est-il possible, en l'absence de mesures directes, de pouvoir considérer le fractionnement isotopique de la minéralisation comme égal à 1 ? On peut concevoir pour la minéralisation de composés tels qu'acides aminés ou l'azote aminé des protéines que ce fractionnement soit faible ou inexistant : ce processus n'implique pas de transformation chimique importante

(passage de  $R - CH \begin{matrix} \swarrow \text{COOH} \\ \searrow \text{NH}_2 \end{matrix}$  à  $NH_3$ ) et est susceptible de s'accomplir sans effet isotopique important.

D'une façon plus générale, on se rappellera que le processus de fractionnement isotopique obéissant par exemple à une loi de type Rayleigh, provoque un "effet réservoir" qui, le plus souvent, enrichit ce réservoir en  $^{15}N$  ; ceci n'est, en fait, valable que si on considère un réservoir homogène et bien mélangé (cf. 1-2-4). Si ces conditions peuvent être relativement aisément remplies pour des espèces minérales dans la solution du sol, on conçoit qu'elles soient plus difficiles à remplir pour la fraction organique de l'azote du sol : à la limite, on peut concevoir ce dernier comme une juxtaposition de petits réservoirs successivement accessibles à la minéralisation et minéralisés en totalité : on peut, par un tel mécanisme, expliquer l'absence d'enrichissement isotopique au cours du processus de minéralisation même si ce processus est accompagné d'un fractionnement.

Si on envisage les effets isotopiques sur l'azote organique du sol, il est évident que, au cours d'une expérience d'incubation, le pool d'azote organique est d'une taille telle que sa composition isotopique ne pourra varier sous l'effet du fractionnement isotopique associé à la minéralisation. Cependant, un certain nombre de données sont disponibles qui nous permettent de conclure que les enrichissements isotopiques obtenus sur l'azote organique au cours de sa minéralisation sont extrêmement faibles :

- dans le chapitre traitant de la composition isotopique de l'azote organique du sol (2-7), il est montré de façon certaine que la minéralisation de l'azote organique des végétaux constituant la litière des sols ne s'accompagne d'aucun enrichissement isotopique, et ce même après plusieurs années (jusqu'à 7 ans) de décomposition (cf. figure 2-64).

- MIYAKE et WADA (1971) ont étudié l'évolution du rapport isotopique au cours du processus de décomposition aérobie de l'azote organique d'une algue marine planctonique, *Scenedesmus sp.*. Sur la figure 2-19, reproduite de cet article, figurent les variations de C/N et du  $\delta^{15}N$  de l'azote organique résiduel. Les variations du contenu en  $^{15}N$  sont de l'ordre de  $\pm 1,5 \%$  et la composition isotopique en fin de processus de décomposition est à peine supérieure à celle des cellules fraîches de *Scenedesmus sp.*

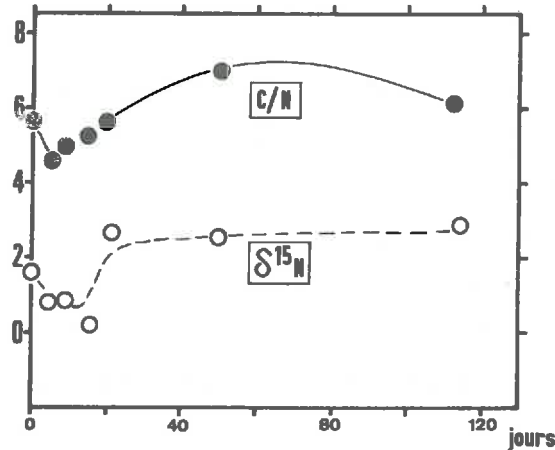


Figure 2-19 : Evolution du  $\delta^{15}N$ -organique et du rapport C/N au cours de la décomposition aérobie de *Scenedesmus* sp.

D'après MIYAKE et WADA (1971).

Sur ces deux exemples, on peut conclure que la minéralisation d'une matière organique fraîche (non humifiée) ne s'accompagne pas d'enrichissement isotopique. Bien évidemment ceci n'est pas directement extrapolable au sol, où plusieurs pools d'azote coexistent et peuvent simultanément ou successivement être atteints par le processus de minéralisation. Nous avons vu cependant sur un certain nombre d'exemples que le processus global de minéralisation-nitrification, une fois atteint le stade de l'équilibre dynamique, s'effectuait avec un enrichissement isotopique apparent voisin de zéro. Un modèle théorique très simplifié prévoit que ce phénomène n'est possible qu'à la condition que l'effet isotopique associé à la minéralisation  $\alpha$ , soit égal à l'unité, ce qui semble être vérifié expérimentalement dans le cas de la minéralisation d'un certain nombre de matières organiques fraîches.

Toutefois, sur l'exemple des sols, l'azote organique minéralisable représente seulement une fraction de l'azote organique total et la connaissance de la composition isotopique de cet azote minéralisable n'est pas accessible directement à l'analyse. En l'absence de données plus précises sur ce paramètre essentiel, on peut proposer *a priori* des modèles très différents permettant d'expliquer la similitude existant entre  $\delta^{15}N$  total et  $\delta^{15}N-NO_3^-$ .

Si on reprend l'exemple des sols de type rendzine sur craie où la composition isotopique du nitrate minéralisé est toujours légèrement inférieure (jusqu'à 2,5 ‰) à celle de l'azote organique total, on sait (MULLER et VEDY, 1978) que les matières organiques évoluées (humine entre autre) sont séquestrées dans une gangue de carbonate de calcium la préservant de l'attaque microbienne, alors que les matières organiques fraîches ou peu évoluées, provenant de la



végétation, sont peu ou pas recouvertes de cette gangue de carbonate de calcium : elle sera plus aisément la proie de l'attaque microbienne. Or, on sait (cf. chapitre 2-7) que dans les sols, l'azote organique peu évolué provenant de la végétation est caractérisé par des compositions isotopiques inférieures à celle de l'azote organique humifié : on peut comprendre que dans le cas de ces rendzines, la fraction peu évoluée étant préférentiellement la proie des actions microbiennes de minéralisation, la composition isotopique de l'azote minéralisé soit inférieure à celle de l'azote organique total du sol.

### 2.2.3. - CONCLUSIONS.

Le processus de nitrification est accompagné, au moins pour l'une de ses étapes, la nitritation, d'un fractionnement isotopique important, appauvrissant en  $^{15}\text{N}$  la forme oxydée par rapport à l'ammonium initial.

Au cours du processus global de minéralisation-nitrification dans le sol, on constate que la composition isotopique du nitrate reste constante lorsque la teneur en ammonium se trouve en équilibre dynamique.

Au contraire, si  $\text{NH}_4^+$  est hors état stationnaire, le fractionnement isotopique associé au processus de nitrification s'exprime et le nitrate apparu est temporairement appauvri en  $^{15}\text{N}$ . Ceci sera en particulier le cas lors d'apports d'engrais ammoniacaux en sol de culture ou lors d'expériences d'incubations de sols pré-séchés où la destruction d'une partie de la biomasse peut libérer de grandes quantités d'ammonium jouant le même rôle qu'un apport artificiel, par exemple de fertilisant. Cependant, nous avons pu mettre en évidence, en incubation, que, dans ces conditions, l'identité isotopique de l'engrais ammoniacal est conservée, à condition de prendre en considération les deux espèces minérales essentielles, ammonium et nitrates.

Enfin, il semble que dans la plupart des cas étudiés, le processus d'oxydation de la matière organique s'effectue sans enrichissement isotopique entre N organique et azote nitrique : ceci a été vérifié sur un certain nombre de sols de France, des Etats-Unis, du Canada en incubation et au champ et confirmé par l'étude de la décomposition *in vitro* ou dans des litières naturelles de matières organiques fraîches.

Ceci semble impliquer :

- que le processus de minéralisation (ammonification) soit limitant du taux global de réaction et non fractionnant sur le plan isotopique,
- ou que cet enrichissement isotopique nul soit lié à la minéralisation d'un réservoir de matière organique qui puisse être considéré comme non homogène



et surtout mal mélangé avec une succession de minéralisation totale de petits réservoirs élémentaires.

Dans le paragraphe suivant, nous présentons une application des résultats précédemment acquis, portant sur la mesure de la vitesse de transfert des nitrates dans le sol et le sous-sol.

2.2.4. - COMPOSITION ISOTOPIQUE DES NITRATES ISSUS DE LA MINÉRALISATION  
AU CHAMP DE COMPOSÉS ORGANIQUES AISEMENT MINÉRALISABLES :  
APPLICATION A LA MESURE DE LA VITESSE DE TRANSFERT DES NITRATES  
DANS LA ZONE NON SATURÉE EN MILIEU CRAYEUX.

Nous avons pu constater que l'évolution isotopique des nitrates apparus au cours de processus de nitrification rapide, hors équilibre dynamique, se caractérisait par un net appauvrissement en  $^{15}\text{N}$  en phase initiale de nitrification : ce type d'évolution se rencontre par exemple après application d'engrais ammoniacal au champ (figure 2-8) ou en incubation (figure 2-4) ou après ajout au sol d'azote organique très labile, facilement minéralisable comme il a été observé en incubation sur un sol de craie (cf. figure 2-12). Ces transformations isotopiques sont importantes et nous allons voir qu'elles peuvent, dans une certaine mesure, jouer le rôle de *marqueur géochimique et permettre de suivre le transfert des nitrates dans le sol et le sous-sol.*

Ces études sont effectuées en pays de craie : en effet, la nappe phréatique de la craie est l'aquifère le plus sollicité du Bassin parisien\*, d'autre part ce sont des zones de culture intensive, à haut niveau de productivité avec développement corrélatif d'industries agricoles, liées essentiellement au traitement de la betterave à sucre et de la pomme de terre à féculé ; le problème de l'épandage des eaux résiduelles de ces industries, très riches en azote organique, se pose en terme de risque de pollution de la nappe par les nitrates provenant de la minéralisation de cet azote organique. Un grand nombre de travaux, notamment de la Station INRA de Châlons (BALLIF *et al.*, 1975 ; MULLER, 1977 ; DUTIL et MULLER, 1979 ; MULLER et BALLIF, 1981) ont abordé ces problèmes, avec le souci entre autres de préciser les vitesses de transfert de ces nitrates vers la nappe.

---

\* 50 % des ouvrages de prélèvement d'eau de cette région sont implantés dans cette nappe.

A la lumière des résultats obtenus en incubation, nous allons suivre la minéralisation de l'azote d'eaux résiduaires de féculerie d'une part en case lysimétrique (2 m de profondeur), d'autre part jusqu'à 10 m de profondeur dans la zone non saturée située sous un champ cultivé ayant subi une succession d'applications de ces eaux résiduaires.

A) Matériel et méthodes.

Le lysimètre utilisé fait partie de ceux de la Station INRA de Châlons-sur-Marne : il est exactement semblable à celui décrit au paragraphe 2-2-2. Il reçoit uniquement des eaux résiduaires de féculerie à des doses voisines de 80 mm (qui apportent environ 640 kg d'azote organique). Les épandages ont lieu en novembre : ils ont été effectués en 1975 et 1977 pour ce qui concerne notre étude. Le lysimètre porte une culture alternée de blé, betterave, pomme de terre. Les prélèvements sont effectués à 25, 50, 75, 100 et 150 cm par bougie poreuse. Le drainage est également étudié.

L'étude des nitrates dans la zone non saturée a été effectuée sur un site retenu par J.C. MULLER (MULLER et BALLIF, 1981) dont les caractéristiques figurent sur le tableau 2-XVII.

Site	Haussimont	
Occupation du sol	Vieille culture	
Géologie	C 5 f	C 6 g Campanien inférieur
Niveau de la nappe	28 m	
Profondeur du forage	10 m	
Pratiques culturales	Cultures sous épandage d'eau résiduaire de féculerie à partir de 1973	
Rotation et fertilisation		
1970	Blé	+ fertilisation minérale
1971	Pomme de terre	
1972	Betterave	
1973	Blé..... ER (608)	
1974	Pomme de terre... ER (670)	
1975	Betterave	
1976	Blé..... ER (936)	
1977	Betterave	
1978	Blé..... ER (855)	
1979	Betterave	

Tableau 2-XVII : Caractéristiques du site étudié.

ER : épandage d'eaux résiduaires en novembre. Le chiffre entre parenthèses représente la quantité, en kg, de N appliqué.

Les forages ont été effectués par J.C. MULLER respectivement les 16.05.1979 et 12.06.1980, à l'aide d'une tarière hélicoïdale de 10 cm de diamètre. Un échantillon est prélevé, sur une tranche de 25 cm, tous les 25 cm jusqu'à 10 mètres de profondeur.

Les nitrates sont extraits par l'eau, par macération et agitation pendant une heure au rapport sol/eau : 125 g/500 cc.

La concentration en nitrates de l'eau interstitielle est calculée selon le principe décrit par MULLER et BALLIF (1981) : cette concentration "CAS"\* , exprimée en azote, est calculée à partir de la quantité extraite, soit QA en µg/g de terre à l'humidité du prélèvement, soit HI. Pour minimiser les effets de dilution dus aux variations d'humidité, le calcul est fait en ramenant la teneur en eau de tous les niveaux prélevés à la capacité au champ, soit HS (pour les sols de craie, cette grandeur correspond à une teneur en eau de 20 % du matériau humide).

Il vient donc :

$$\text{CAS mg.l}^{-1} = 100 \cdot \frac{\text{QA}}{\text{HS}} \cdot \frac{100 - \text{HS}}{100 - \text{HI}}$$

Les dates d'applications des eaux résiduares de féculerie figurent sur le tableau 2-XVII.

## B) Résultats.

### 1) Case lysimétrique.

Sur la figure 2-20, nous avons reporté les concentrations en azote nitrique des eaux prélevées par bougie poreuse à chaque profondeur, ainsi que les compositions isotopiques.

Nous retrouvons les mêmes phénomènes qu'en incubation : la période de début de minéralisation est marquée par l'apparition de nitrates appauvris en  $^{15}\text{N}$ , alors que l'on peut observer la présence d'ammonium (valeurs non reportées sur la figure 2-20) dans les prélèvements.

Les deux apports successifs d'eaux résiduares se caractérisent par l'apparition d'un pic de concentration en nitrate et par l'abaissement corrélatif des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$ , un peu antérieur au pic de concentration puisqu'il caractérise la phase initiale du phénomène de minéralisation.

---

\* CAS : pour Concentration Azote Standard.

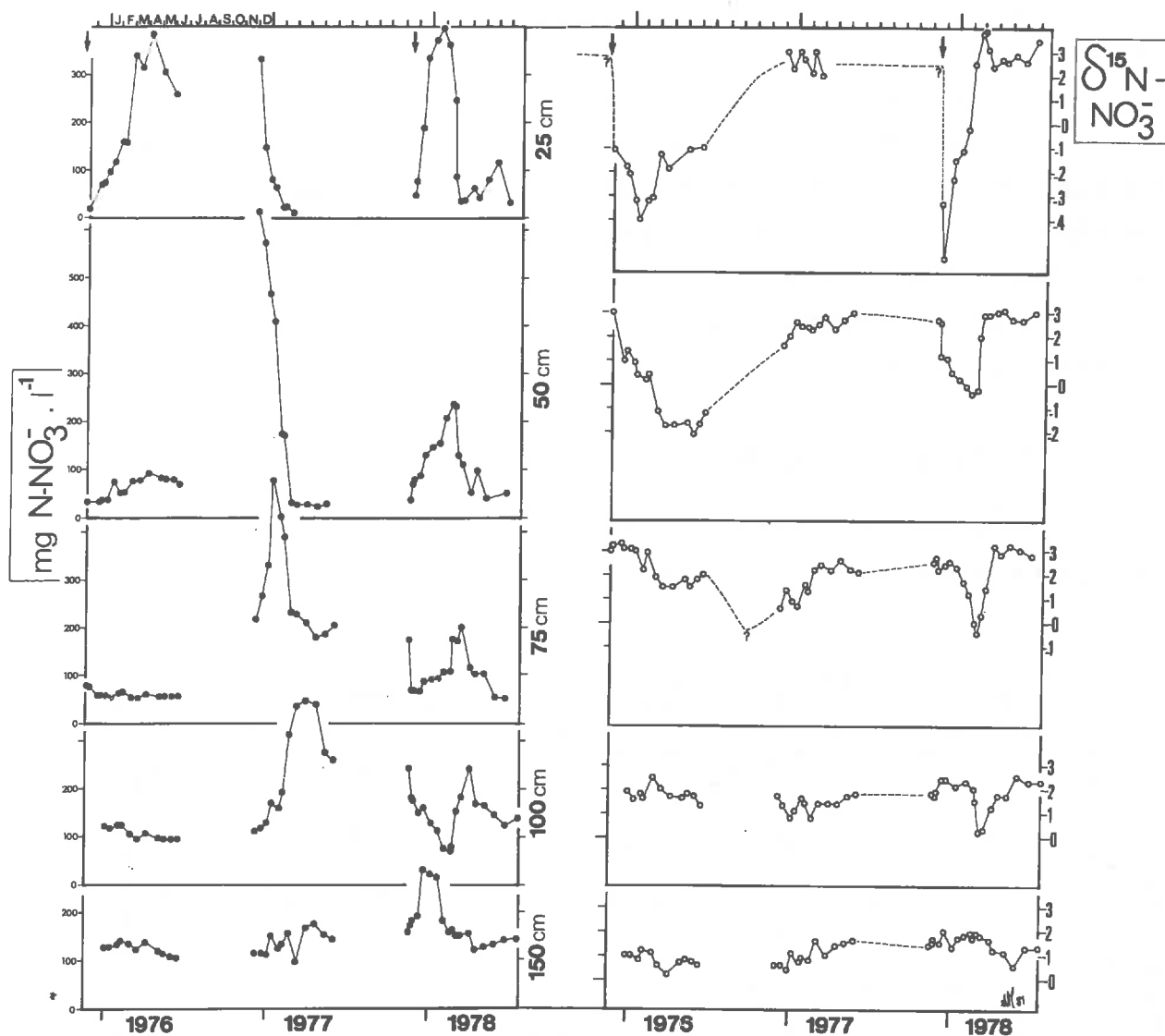


Figure 2-20 : Evolution en fonction du temps de la concentration et de la composition isotopique de l'azote nitrique prélevé par bougies poreuses à diverses profondeurs d'une case lysimétrique (INRA Châlons-sur-Marne) subissant des apports d'eaux résiduaires de féculerie (apports situés dans le temps par les flèches verticales).

On observe, avec la profondeur, le déplacement dans le temps de ces repères, déplacement quelque peu masqué, pour le premier apport, par la période estivale où les ponctions par bougies poreuses sont rendues impossibles. Par contre, les phénomènes sont beaucoup plus clairs pour le deuxième apport de novembre 1977.

Il est évident que, sur cet exemple, le suivi de la pénétration des nitrates en profondeur est meilleur en utilisant les concentrations en nitrates plutôt que les compositions isotopiques.

Cet exemple permet toutefois de montrer que les phénomènes mis en évidence en incubation (cf. figures 2-11 et 2-12) se retrouvent avec les mêmes caractéristiques dans les conditions naturelles.

En tout état de cause, la case lysimétrique se prête relativement mal à l'étude des vitesses de transfert des solutés, à cause du ralentissement des transferts de l'eau causé par la rupture de la continuité capillaire au niveau du plancher drainant de la case lysimétrique.

Pour cette raison, les études au champ seront les seules à apporter des réponses non biaisées.

2) Au champ. Zone non saturée en pays de craie.

La figure 2-21 présente l'ensemble des résultats obtenus pour les deux prélèvements successifs à treize mois d'intervalle.

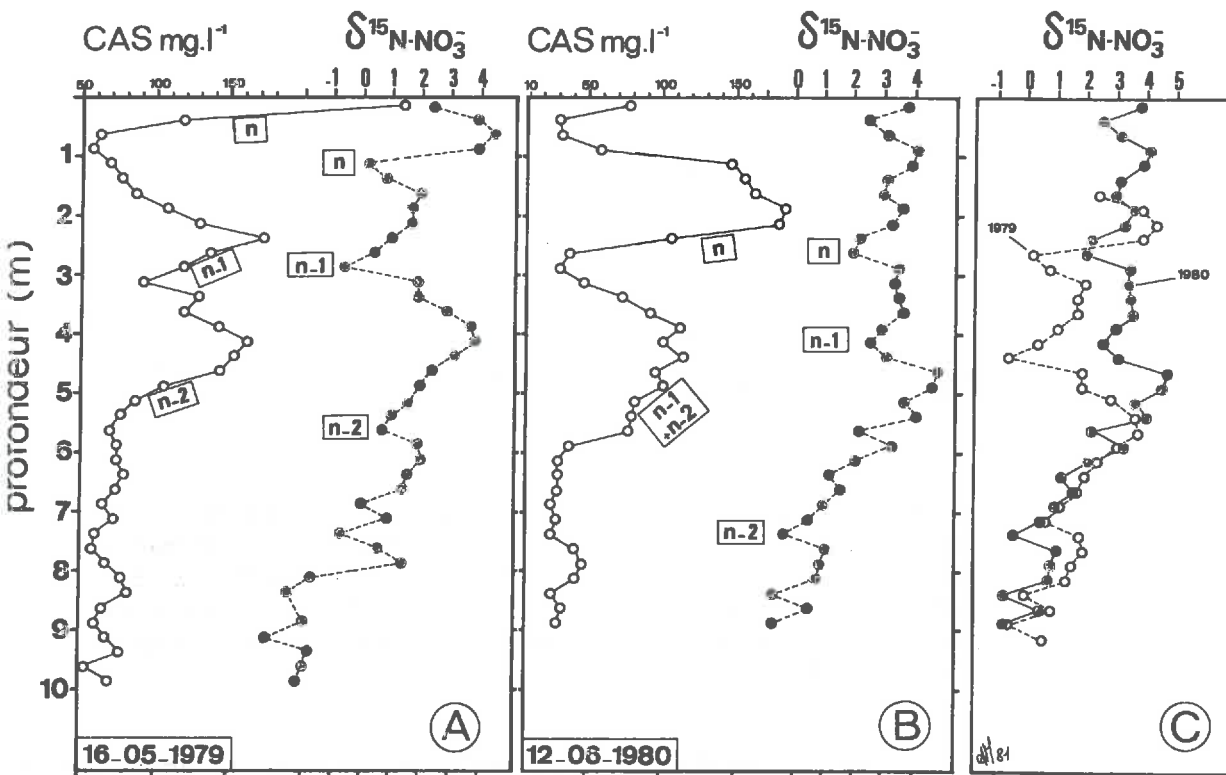


Figure 2-21 : Concentration et composition isotopique de l'azote nitrique dans la solution de la zone non saturée en pays de craie (Champagne) sous des sols cultivés ayant reçus plusieurs applications d'eau résiduaire de féculerie (cf. tableau 2-XVII).

A et B : situations à une année d'intervalle.

C : tentative de superposition des courbes d'évolution de  $\delta^{15}\text{N}$  permettant d'estimer les vitesses de transfert de  $\text{NO}_3^-$  dans la zone non saturée.

- Prélèvement du 16.05.1979. On observe :

. trois pics de concentration en nitrates : de haut en bas du profil n, n-1, n-2, correspondant aux apports de 1978, 1976 et 1974 (+ 1973 ?).

. A ces trois repères correspondent les phases de début de minéralisation, caractérisées par les appauvrissements en  $^{15}\text{N}$  : on peut également mettre en évidence ainsi les trois apports n, n-1, n-2.

- Prélèvement du 12.06.1980.

On note le déplacement vers la profondeur du pic de concentration n (1978) et le mélange plus ou moins réalisé, par dispersion, des pics n-1 et n-2. Cette dispersion a également comme conséquence d'atténuer les variations de composition isotopique des nitrates avec la profondeur. On peut toutefois distinguer les trois phases de minéralisation.

*La vitesse de transfert des nitrates sera estimée en recherchant la meilleure superposition des courbes d'évolution du  $\delta^{15}\text{N}$  avec la profondeur aux deux dates de prélèvement. La meilleure superposition est atteinte pour un décalage des courbes de 150 cm environ, ainsi qu'il est montré sur la partie C de la figure 2-21.*

*On peut donc estimer que la vitesse de transfert des nitrates est de l'ordre de  $140 \text{ cm.an}^{-1}$  dans la zone non saturée du site étudié, sur craie.*

Sur cet exemple, la précision apportée par l'évolution isotopique à la mesure des vitesses de transferts paraît meilleure que celle donnée par les pics de concentration.

Sur ce site d'expérimentation, on maîtrise mal la connaissance de la lame d'eau infiltrée par an : si la pluie efficace, elle, est bien connue (en moyenne 220 mm/an), la quantité d'eau apportée par l'épandage est difficile à préciser : on peut l'estimer à 80 mm en moyenne, mais elle peut varier de 50 à 150 mm : la vitesse de déplacement des nitrates dans la zone non saturée peut donc être estimée entre 3,8 et 5,2 cm/cm de pluie efficace sur ce site. Cette valeur est en parfait accord avec celles classiquement retenues.

L'évolution des compositions isotopiques en profondeur, sous le niveau de minéralisation n-2, compositions isotopiques qui s'abaissent et tendent vers des valeurs négatives, n'est pas interprétée.

### 3) Conclusions.

Le phénomène naturel de minéralisation d'un composé organique riche en azote minéralisable induit systématiquement la formation de nitrates fortement marqués en  $^{15}\text{N}$ . Ce marquage naturel permet de suivre le transfert de ces nitrates dans la zone non saturée, jusqu'à 10 m de profondeur, sans l'ajout de traceurs artificiels et de déterminer une vitesse moyenne de transfert, paramètre dont la connaissance est essentielle pour la définition d'une politique de protection des nappes en zone de culture et d'épandage.

## CHAPITRE 2

### 2.3. - LES EFFETS ISOTOPIQUES ASSOCIES AUX PROCESSUS DE DENITRIFICATION DANS LES SOLS.



## 2.3. - LES EFFETS ISOTOPIQUES ASSOCIES AUX PROCESSUS DE DENITRIFICATION DANS LES SOLS\*.

### 2.3.1. - INTRODUCTION.

Le travail de WELLMAN, COOK et KROUSE (1968) effectué sur des cultures pures de *Pseudomonas stutzeri* a montré qu'un effet isotopique était associé à la réaction de d nitri cation. Cet effet se traduit par un enrichissement en  $^{15}\text{N}$  du substrat (ici  $\text{NO}_3^-$ ) au cours de la réaction et, par effet de bilan, d'un appauvrissement en  $^{15}\text{N}$  du produit gazeux ( $\text{N}_2$ ). Cet appauvrissement en isotope lourd du produit est de l'ordre de 20 % par rapport au substrat. DELWICHE et STEYN (1970) sur des cultures pures de *Pseudomonas denitrificans* en "resting cells" mesurent un fractionnement isotopique du même ordre de grandeur. MIYAKE et WADA (1971) montrent que la d nitri cation obtenue par des bactéries marines d nitri fiantes s'accompagne d'un effet isotopique de même sens et de même valeur que celui obtenu par WELLMAN *et al.*.

BLACKMER et BREMNER (1977) mesurent le facteur de fractionnement isotopique sur des sols placés en conditions anaérobies, favorables à la d nitri cation (atmosphère d'hélium), à 30 C et en ajoutant du glucose comme donneur d'électron. Ils observent l'apparition de nitrites, étape intermédiaire de la réduction des nitrates en  $\text{N}_2\text{O}$ . La mesure de la composition isotopique de  $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  et de  $\text{NO}_3^-$  isolé a pu être faite, ce qui a permis aux auteurs de calculer la composition isotopique de  $\text{NO}_2^-$  et ainsi de déterminer le fractionnement isotopique au cours de l'étape élémentaire de réduction  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ . Le facteur d'enrichissement isotopique, lié à cette étape de la réaction est, dans les trois types de sol étudiés, voisin de - 14   - 15 %. Le fractionnement isotopique de la réaction totale de d nitri cation varie de - 14   - 23 % mais ces valeurs, comme le soulignent les auteurs, ne sont que des fractionnements isotopiques apparents car elles sont calculées à partir de l'hypothèse que la d nitri cation est une réaction unidirectionnelle à une étape ce qui n'est pas le cas ici puisqu'il y a au moins 2 étapes dans la réaction, sans que l'une soit limitante.

Enfin, CHIEN, SHEARER et KOHL (1977) montrent que les fractionnements isotopiques peuvent être différents pour deux sols à passé cultural diff rent. Les enrichissements isotopiques varient de - 19 à - 6,5 %.

---

\* MARIOTTI *et al.*, 1981.

Toutefois, ces sols ont des vitesses de dénitrification différentes et on peut noter que le fractionnement isotopique décroît avec l'augmentation de la vitesse de réaction notamment à la suite de l'addition du glucose. KOHL et SHEARER (1978) proposent un modèle théorique d'explication de ces comportements.

#### But du présent travail.

L'objet essentiel de ce travail était de mesurer les facteurs de fractionnement isotopique au cours de la dénitrification dans des expérimentations de laboratoire pour lesquelles les conditions soient telles que l'une des étapes du processus global soit limitante. Dans un premier temps, nous avons choisi la réduction de  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{N}_2\text{O}$  en postulant qu'il s'agit là d'une réaction simple, unidirectionnelle à une seule étape. En effet, bien que l'on admette classiquement que la dénitrification biologique se fasse selon la séquence de réactions :  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$  (PAYNE, 1976), dans la plupart des situations, comme c'est le cas ici, on ne peut observer d'accumulation intermédiaire d'oxyde nitrique : la réduction de ce dernier est plus rapide que sa production, ce qui nous permet de considérer la transformation  $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O}$  comme une réaction à une seule étape : il semble donc que l'on puisse lui affecter une valeur réelle de fractionnement isotopique.

Puis, à titre de comparaison, nous avons effectué des expériences de dénitrification en utilisant le nitrate comme substrat.

Cette étude a porté sur des échantillons de sol saturés en eau (poids de sol/poids d'eau = 1), incubant en atmosphère inerte.

Dans un premier stade, nous avons travaillé sur un même sol, en faisant varier les conditions expérimentales afin de pouvoir obtenir des cinétiques de dénitrification plus ou moins rapides :

1) variation de température (10°C, 20°C, 28°C).

2) Variation de l'état du sol avant l'incubation : nous avons utilisé soit le sol séché à l'air, technique qui facilite la mise en incubation, soit le sol gardé dans son état hydrique de prélèvement au champ, avec une humidité de 14 %.

3) Enfin, certains échantillons de sol ont été enrichis en glucose, entraînant ainsi une accélération de la vitesse de dénitrification.

Nous avons ensuite généralisé nos observations à différents types de sol et pris en considération des résultats figurant dans la bibliographie.

2.3.2. - DETERMINATION EXPERIMENTALE DES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES CINETIQUES SUR L'EXEMPLE D'UN SOL BRUN CALCAIRE.

A) Matériel et méthodes.

Le sol utilisé dans cette première série d'expérimentations a été prélevé dans l'horizon de surface d'un sol brun calcaire de la région de Dijon. Il sera désigné par la lettre A. Les principales caractéristiques chimiques de ce sol figurent sur le tableau 2-XVIII. Ce sol a été :

pH <sub>eau</sub>	CaCO <sub>3</sub> (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	Ca <sup>++</sup> échangeable (még/100 g)	Mg <sup>++</sup> échangeable (még/100 g)	K <sup>+</sup> échangeable (még/100 g)	Na <sup>+</sup> échangeable (még/100 g)	Carbone (Anne) (%)	Azote total (Kjeldahl) (%)	Matière organique (%)
7.9	595	0.36	32.0	0.37	0.56	0.03	12.1	1.28	20.8

Tableau 2-XVIII : Caractéristiques chimiques du sol utilisé (A) pour la mesure des fractionnements associés au processus de dénitrification.

- soit conservé dans son état naturel au champ et directement placé en incubation, son humidité est alors de 14 %.
- soit séché à l'air et tamisé à 2 mm. L'équivalent de 100 g de sol sec est placé dans des flacons de 600 ml. On ajoute alors une solution de N-serve (nitrapyrin = 2 chloro-6 pyridine) de façon à ajuster la quantité d'eau à 100 ml et la concentration de N-serve à 20 ppm de matière active. Ce produit inhibe l'activité des bactéries nitrifiantes et empêche la production de nitrites ou de nitrates provenant de la minéralisation de la matière organique du sol et susceptibles d'interférer avec la réaction étudiée.

Ces fioles fermées préincubent pendant 3 jours, pour éliminer les nitrates et/ou nitrites présents initialement dans le sol. Cette pré-incubation est effectuée à 20°C pour les sols pré-séchés avant incubation et à 40°C pour le sol maintenu humide (en effet ce dernier dénitrifie trop lentement à 20°C). On apporte alors dans chaque fiole 10 ml de solution contenant environ 20 mg de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> sous forme NaNO<sub>2</sub> (ou de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, sous forme NaNO<sub>3</sub>) et, pour les expériences avec ajout de glucose, 0,5 g de ce sucre.

Les fioles sont alors mises sous vide et remplies d'hélium à une atmosphère, cette dernière opération étant répétée afin d'éliminer totalement l'oxygène dans le milieu d'incubation et éviter ainsi l'oxydation du nitrite apporté en nitrate, en présence d'oxygène.

Aussitôt après, on enlève 50 ml d'hélium des fioles, que l'on remplace par 50 ml d'acétylène qui bloquera la dénitrification au stade  $N_2O$  (FEDEROVA *et al.*, 1973). La cinétique de la réaction sera suivie par dosage du  $N_2O$  en chromatographie en phase gazeuse, en utilisant pour les calculs le krypton comme étalon interne (GERMON, 1980). Le dosage de  $N_2O$  nous permettra d'établir le bilan en azote de ce système.

Au cours de l'incubation, la concentration et la composition isotopique du  $NO_2^-$  résiduel sont mesurés sur des fioles sacrifiées à intervalles réguliers. L'extraction de  $NO_2^-$  est faite selon la méthode classique de BREMNER (1965), son dosage est effectué par colorimétrie, après formation d'un complexe azoïque coloré, à l'aide d'un autoanalyseur à flux continu.

Le facteur de fractionnement isotopique a été estimé expérimentalement avec un minimum de 7 mesures de la composition isotopique du substrat résiduel au cours de l'avancement de la réaction. L'état d'avancement de la réaction est différent d'une expérience à l'autre. Nous avons donc choisi de limiter nos résultats à une valeur de  $f$ , fraction non réagie du substrat, non inférieure à 15 %, afin que cet état maximal d'avancement soit du même ordre de grandeur pour la plupart des réactions. De plus, au-delà, la composition isotopique du substrat résiduel peut devenir très élevée, rendant obligatoire, si on veut maintenir une bonne précision dans la mesure de la composition isotopique, l'utilisation d'un standard de mesure de composition isotopique plus proche de celle de l'échantillon, ce standard devant être calibré avec soin vis-à-vis du standard utilisé habituellement. En pratique, pour tous les résultats rapportés ici,  $f$  ne sera jamais inférieur à 0,17 et les facteurs de fractionnement isotopique seront donc calculés entre  $f = 1$  et  $f = 0,17$ . Pour quelques-unes des expériences réalisées, nous avons atteint un état d'avancement de la réaction plus grand ; les résultats seront présentés et discutés plus loin.

## B) Résultats.

Les résultats sont présentés sur le tableau 2-XIX et les figures 2-22, 2-23 et 2-24 (substrat  $NO_2^-$  seulement, les représentations des expérimentations avec  $NO_3^-$  comme substrat sont données sur les figures 1-7 et 1-8).

Expérimentation	Préparation du sol	Substrat	Température (°C)	$\epsilon_{p/s}$	$10^3 k_1$
1	S	$\text{NO}_2^-$	10	$-25.4 \pm 1.7$	$1.10 \pm 0.12$
2	S	"	20	$-19.0 \pm 1.4$	$6.93 \pm 0.90$
3	S	"	20	$-20.5 \pm 3.6$	$5.86 \pm 1.00$
4	S	"	30	$-13.0 \pm 3.4$	$19.40 \pm 3.37$
5	H	"	20	$-24.2 \pm 2.3$	$2.41 \pm 0.55$
6	H	"	20	$-33.2 \pm 3.9$	$1.03 \pm 2.03$
7	H	"	30	$-23.9 \pm 4.5$	$5.23 \pm 2.62$
8	H + G	"	20	$-11.1 \pm 1.8$	$41.65 \pm 20.80$
9	S	$\text{NO}_3^-$	10	$-31.2 \pm 3.5$	$0.53 \pm 1.00$
10	S	"	20	$-29.4 \pm 2.4$	$2.44 \pm 0.28$
11	S	"	30	$-24.6 \pm 0.9$	$5.48 \pm 0.41$

Tableau 2-XIX : Facteur d'enrichissement isotopique et constante de vitesse (1er ordre :  $k_1 = \ln f/t$ , t étant donné en heures). Sol A.

Préparation du sol : S : sol séché avant incubation  
 H : sol maintenu humide avant incubation  
 + G : ajout de glucose

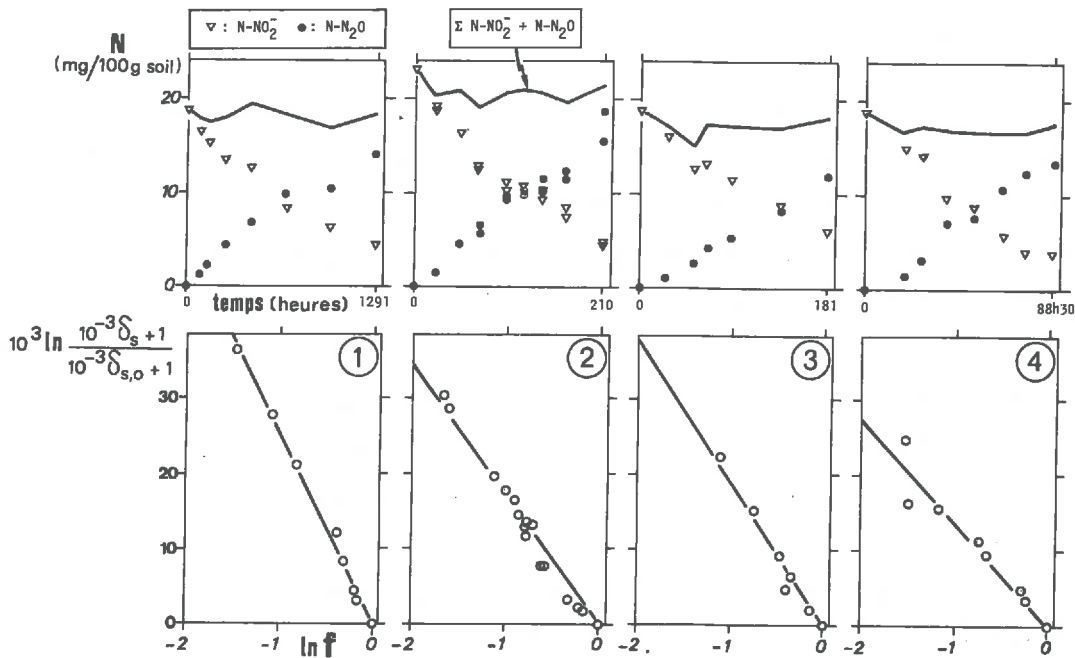


Figure 2-22 : Dénitrification sur substrat  $\text{NO}_2^-$ . Sol séché avant incubation  
 1 : 10°C ; 2 et 3 : 20°C ; 4 : 30°C.

Evolution des concentrations ( $\text{N-NO}_2^-$  et  $\text{N-N}_2\text{O}$ ) au cours du temps et de la composition isotopique de  $\text{NO}_2^-$  résiduel, en fonction de  $\ln f$ . Les numéros d'expérience renvoient au tableau 2-XIX.

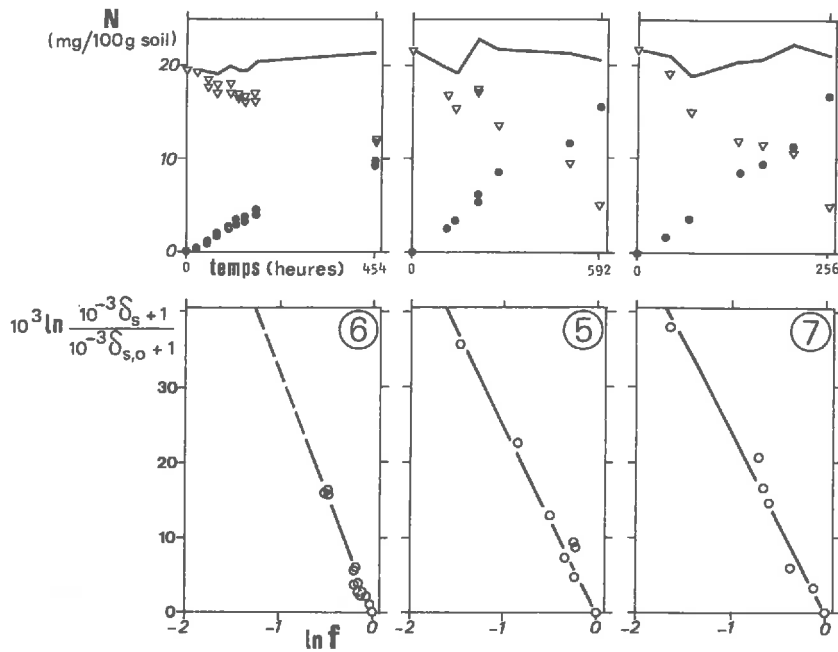


Figure 2-23 : Dénitrification sur substrat  $\text{NO}_2^-$ .

Sol maintenu humide avant incubation. 5 et 6 :  $20^\circ\text{C}$  ; 7 :  $30^\circ\text{C}$  (tableau 2-XIX).

Evolution des concentrations ( $\text{N-NO}_2^-$  et  $\text{N-N}_2\text{O}$ ) au cours du temps et de la composition isotopique de  $\text{NO}_2^-$  résiduel en fonction de  $\ln f$ .

On peut constater tout d'abord que les conditions d'incubation (variation de la température, séchage ou non du sol avant incubation, ajout de glucose) ont une influence considérable sur la vitesse de dénitrification. Si l'influence de la température (GARCIA, 1975) ou du glucose (BOWMAN et FOCHT, 1974) est bien connue, l'effet du séchage du sol avant incubation n'a été mis en évidence que récemment (LETEY et al., 1980 ; PATTEN et al., 1980 ; POCHET, 1980) et se trouve donc confirmé par nos travaux. L'augmentation de la vitesse de dénitrification, consécutive au séchage est probablement due à la libération des composés carbonés des corps microbiens tués lors de la dessiccation.

Pour ce qui concerne l'évolution de la composition isotopique, nous avons reporté sur nos diagrammes l'expression  $10^3 \ln \left( \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,0} + 1} \right)$  en fonction de  $\ln f$ . La théorie (cf. chapitre 1-2) prévoit que les points expérimentaux doivent s'aligner sur une droite, passant par l'origine et dont la pente sera le facteur de fractionnement isotopique  $\epsilon_{p/s}$ . Sur les figures 2-22, 2-23 et 2-24 nous constatons le bon accord des résultats expérimentaux à la théorie : nous obtenons dans un tel diagramme, aux erreurs analytiques près, un bon alignement des points expérimentaux à une exception

près (cf. figure 2-24B) sur laquelle nous reviendrons. Le calcul du coefficient de corrélation montre que ce coefficient est le plus souvent supérieur à - 0,985 et toujours significatif à la probabilité 0,01. Le facteur d'enrichissement isotopique ( $\epsilon_{p/s}$ ) sera donc donné par le calcul de la pente de la droite et on calculera son intervalle d'estimation : ces résultats figurent sur le tableau 2-XIX avec un niveau de probabilité de 0,05 pour le calcul de l'intervalle d'estimation de  $\epsilon_{p/s}$ .

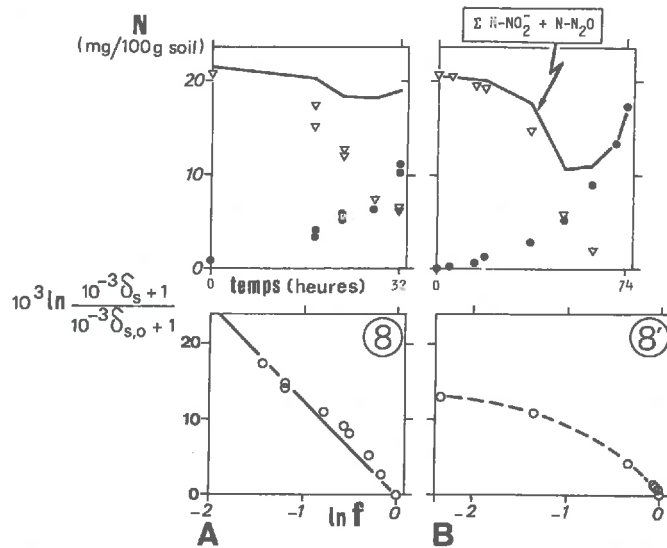


Figure 2-24 : Dénitrification sur substrat  $\text{NO}_2^-$ . Sol maintenu humide avant incubation, avec ajout de glucose. 20°C.

Evolution des concentrations ( $\text{N-NO}_2^-$  et  $\text{N-N}_2\text{O}$ ) au cours du temps et de la composition isotopique de  $\text{NO}_2^-$  résiduel en fonction de  $\ln f$ . Les deux séries de résultats (A) et (B) correspondent à des expériences effectuées, pour les paramètres que l'on peut contrôler, dans des conditions semblables (8 du tableau 2-XIX) mais qui montrent une évolution isotopique et chimique très dissemblable.

La calcul des paramètres de la droite montre que la valeur de l'ordonnée à l'origine n'est jamais statistiquement différente de 0 : toutes ces droites peuvent passer par l'origine.

L'examen du tableau 2-XIX montre que l'intervalle d'estimation sur  $\epsilon_{p/s}$  est en moyenne de 2,7 % : l'erreur relative sur la valeur mesurée de  $\epsilon_{p/s}$  est en moyenne de 13 %, elle peut dépasser 20 % et n'est jamais inférieure à 3,7 %.



On constate de même que les valeurs du facteur d'enrichissement isotopique sont très variables, couvrant, dans cette série d'expérience, une gamme de - 33 à - 11 %. L'augmentation de la température d'incubation entraîne une diminution du fractionnement isotopique, comme cela est classiquement observé. A température égale, le sol maintenu avant incubation à l'humidité du prélèvement au champ, présente un fractionnement isotopique plus élevé que le sol séché avant incubation. Par contre, le sol auquel a été ajouté du carbone organique sous forme de glucose présente le fractionnement isotopique le plus bas. Ces variations obéissent à une logique si on les rapporte aux variations de la vitesse de la réaction de dénitrification : *il existe une relation inverse entre la constante de vitesse de dénitrification et le fractionnement isotopique.*

Pour exprimer cette vitesse de réaction, nous avons calculé l'ajustement des points expérimentaux obtenus lors du suivi de la concentration en substrat résiduel, à des cinétiques d'ordre 0 ( $N = N_0 - k_0 t$ )\* ou d'ordre 1 ( $N = N_0 e^{-k_1 t}$ )\*. En effet, les premières cinétiques de dénitrification effectuées sur des échantillons de sols ont montré que la vitesse de réduction des nitrates était d'ordre zéro (NOMMICK, 1956 ; WIJLER et DELWICHE, 1954 ; BROADBENT, 1959 ; BREMNER et SHAW, 1958 ; COOPER et SMITH, 1963). FOCHT et CHANG (1975) font remarquer que cet ordre zéro est probablement dû à une limitation en carbone du milieu et aux trop fortes doses de nitrates apportées, par rapport au carbone organique (voir aussi STANFORD *et al.*, 1975 et KOHL *et al.*, 1976). Si on opère avec des concentrations plus faibles en substrat, on obtient une cinétique de premier ordre. En faisant varier les doses de carbone organique et de  $\text{NO}_3^-$  dans des suspensions de sols, BOWMAN et FOCHT (1974) confirment ces observations et montrent que la dénitrification peut être assimilée à une cinétique de MICHAELIS à deux substrats, du type :

$$V = V_m \frac{C}{C + K_C} \cdot \frac{N}{N + K_N} \quad \left( \begin{array}{l} C \text{ et } N : \text{ concentration en C et } \text{NO}_3^- \\ K_C \text{ et } K_N : \text{ constantes apparentes } \\ \text{de MICHAELIS pour C et N} \end{array} \right)$$

---

*N représentant la concentration en azote.*



Le suivi de la concentration en N-N<sub>2</sub>O nous permet de vérifier que, aux erreurs de mesure près, la quantité d'azote du système N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (ou NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) + N-N<sub>2</sub>O est bien constante, donc que ce système est clos : ceci est vérifié, à l'exception de l'une des expérimentations (sol humide + glucose, cf. figure 2-24B), sur laquelle nous reviendrons. Pour la plupart de ces expérimentations, l'ajustement des points expérimentaux à une cinétique d'ordre 1 est la meilleure, toutefois dans certains cas l'ajustement à une cinétique d'ordre 0 est plus étroit. On peut en fait mettre en évidence la tendance suivante : pour les vitesses les plus élevées, la cinétique obéit plutôt à une cinétique d'ordre 0, pour les vitesses les plus lentes, la cinétique est d'ordre 1.

En tout état de cause, il existe une corrélation hautement significative ( $r = + 0,99$ , significatif à la probabilité de 0,01) entre la constante de vitesse du premier ordre  $k_1$ , et la constante de vitesse d'ordre 0,  $k_0$ , selon la relation :

$$k_1 = 5,78 \cdot 10^{-4} + 8,78 \cdot 10^{-2} k_0$$

(quantité N de substrat exprimée en mg N/100 g sol et temps en heures). Nous considérerons donc, par convention, l'ensemble de toutes ces expérimentations comme obéissant à une cinétique d'ordre 1. La constante de vitesse  $k_1$  sera donnée par la pente de la droite  $\ln f = -k_1 t$ . Le calcul de l'intervalle d'estimation de  $k_1$  ( $p = 0,05$ ) a également été effectué et figure sur le tableau 2-XIX. Nous avons également montré que, dans tous les cas, la valeur de l'ordonnée à l'origine de la droite calculée d'après les points expérimentaux n'est jamais statistiquement différente de 0 ( $f = 1$  pour  $t = 0$ ).

Si on reporte le facteur d'enrichissement isotopique  $\epsilon_{p/s}$  en fonction de la constante de vitesse  $k_1$ , pour les 8 expérimentations utilisant le nitrite comme substrat, on constate (figure 2-25) qu'il existe une excellente corrélation entre ces deux paramètres. Le meilleur ajustement simple est un ajustement de type exponentiel :

$$\epsilon_{p/s} = 5,92 + 5,16 (\pm 1,82) \ln k_1 ; 8 \text{ couples} ; r = 0,94$$

( $r$  est significatif au niveau de probabilité de 0,01).

On peut noter ici que le coefficient de corrélation de la relation  $\epsilon_{p/s}$  fonction de  $\ln k_0$  est du même ordre de grandeur : 0,93.

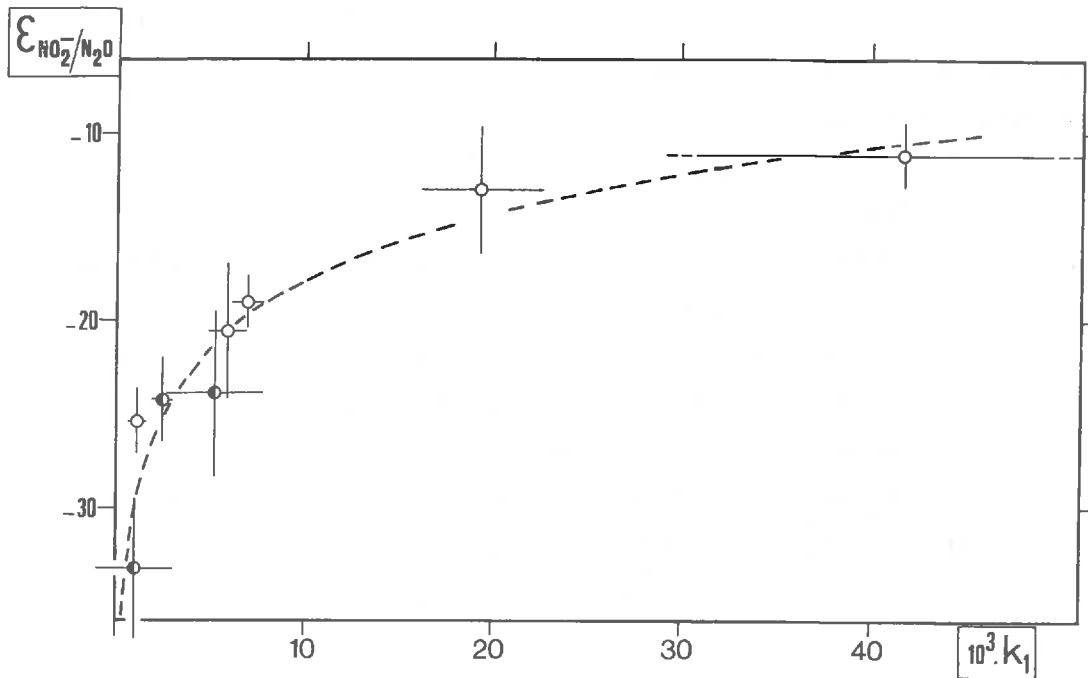


Figure 2-25 : Relation entre la constante  $k_1$  de vitesse (1er ordre) de dénitrification et le facteur d'enrichissement isotopique de la réaction,  $\epsilon$ .

Substrat :  $NO_2^-$  ; sol A.

Si on reporte sur ce même diagramme les points représentatifs des 3 expériences où  $NO_3^-$  est le substrat, on constate (cf. figure 2-26) que ces résultats ne diffèrent pas fondamentalement de ceux obtenus avec  $NO_2^-$  comme substrat. Dans ces 3 expériences, nous n'avons jamais pu mettre en évidence, par le dosage, la présence de nitrites, étape intermédiaire de la réduction : la réaction  $NO_3^- \rightarrow N_2O$  peut donc être considérée en première approximation, comme une réaction simple, unidirectionnelle.

Enfin, au cours de l'une des répétitions de l'expérience menée sur le sol auquel a été apporté du glucose, on a pu constater (cf. figure 2-24B) que le fractionnement isotopique n'était pas constant au cours du déroulement de la réaction. Les 5 premières mesures. (0 à 36 heures) permettent de calculer une valeur de  $\epsilon_{p/s}$  de  $-12,9 \pm 3,5 \%$  non significativement différente de la valeur obtenue sur le premier essai :  $-11,1 \pm 1,8 \%$  (cf. figure 2-24A et tableau 2-XIX).

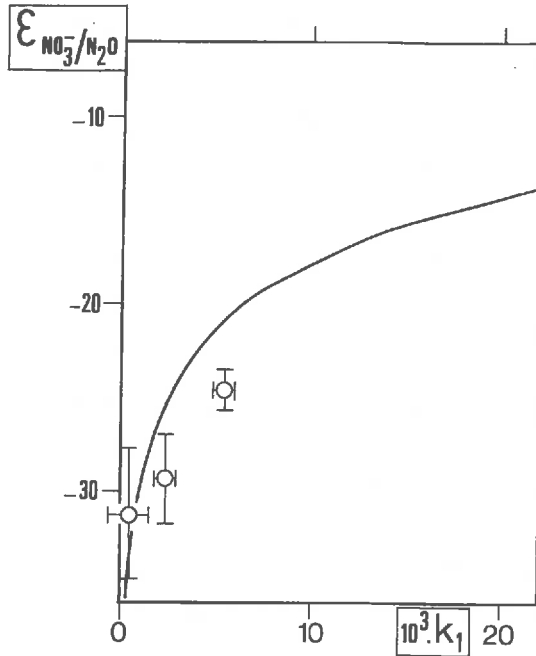


Figure 2-26 : Relation entre la constante  $k_1$  de vitesse de dénitrification et le facteur d'enrichissement isotopique.

Substrat  $\text{NO}_3^-$ . La courbe tracée est celle obtenue sur la figure 2-25 avec  $\text{NO}_2^-$  comme substrat.

Au-delà, on constate que le facteur d'enrichissement isotopique diminue avec le degré d'évolution de la réaction. Remarquons toutefois que la somme  $\text{N-NO}_2^- + \text{N-N}_2\text{O}$  n'est pas constante dans cette expérience : au-delà de la 36<sup>ème</sup> heure, cette valeur s'abaisse brutalement (cf. tableau 2-XX)

Temps (heures)	N-N <sub>2</sub> O mg/100g sol	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/100g sol	Σ (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + N-N <sub>2</sub> O)	$10^3 \ln \frac{10^{-3} \delta_E + 1}{10^{-3} \delta_{S,O} + 1}$
0	0.00	20.76	20.76	0.00
5	0.11	20.65	20.76	0.10
15	0.34	19.70	20.04	0.30
18 h 30	0.63	19.50	20.13	1.18
36 h 30	2.95	14.85	17.80	4.33
50	5.36	5.45	10.81	11.37
61	8.94	2.00	10.94	13.03
70	13.45	0.00	13.45	-
74	17.28	0.00	17.28	-

Tableau 2-XX : Evolution des paramètres chimiques et isotopiques dans une expérimentation sur le sol A, avec  $\text{NO}_2^-$  comme substrat en présence de glucose (expérience 8', cf. tableau 2-XIX et figure 2-24B).

pour remonter alors que les nitrites ont totalement disparu. On a donc ici la preuve que se superpose à la dénitrification un autre prénomène, immobilisant de l'azote sous une autre forme que  $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{N}_2\text{O}$  : pendant cette période, on ne peut pas considérer que le système est fermé. Cette réaction n'est donc pas une réaction simple unidirectionnelle en système clos et le facteur d'enrichissement isotopique n'a aucune raison a priori de rester constant au cours de l'avancement de la réaction.

### 2.3.3. - GENERALISATION A DIFFERENTS TYPES DE SOLS.

#### A) Matériel et méthodes.

- Nous avons procédé à une série d'expérimentations semblables sur 7 sols différents du précédent, répertoriés de B à H sur le tableau 2-XXI où figurent leurs caractéristiques chimiques.

SOLS	B	C	D	E	F	G	H
Argile en %	57.2	22.6	13.7	16.9	14.8	21.0	
Limon fin en %	26.2	37.2	14.8	14.5	25.7	18.8	
Limon grossier en %	9.0	17.4	5.1	6.7	20.1	12.5	
Sable fin en %	4.9	13.7	7.1	10.6	25.7	15.2	
Sable grossier en %	2.7	9.1	59.3	51.3	13.7		
Humidité équivalente à 1000 g en %	37.2	27.3	23.6	22.9	17.8		31.3
Carbone Anne en %	22.6	19.4	13.7	27.6	9.3	14.8	17.0
Matière organique en %	38.8	33.4	23.6	47.5	15.9	25.5	29.2
N Kjeldahl en %	2.59	2.36	1.63	2.33	0.96	1.70	1.79
C/N	8.71	8.22	8.42	11.85	9.64	8.71	9.50
pH eau	6.4	8.1	5.6	5.5	6.6	7.8	6.7
pH KCl N	5.4	7.6	5.0	4.6	5.9		5.6
Calcaire total en %	0.0	778	0.0	0.0	0.0		0.0
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Joret-Hébert en %	0.02	0.17	0.26	0.16	0.09	0.45	0.06
C.E.C. (Metson) méq/100g	29.0	9.3	10.4	11.3	7.5		25.3
Ca échangeable méq/100g	29.9	32.9	4.0	3.7	7.2	31.5	25.2
Mg échangeable méq/100g	1.98	0.16	0.37	0.31	0.62	0.65	1.13
K échangeable méq/100g	0.346	0.430	0.401	0.784	0.169	1.02	0.318
Na échangeable méq/100g	0.105	0.031	0.030	0.028	0.041	0.050	0.122

Tableau 2-XXI : Analyses physico-chimiques des sols utilisés dans l'étude du fractionnement isotopique associé au processus de dénitrification (pour le sol A, cf. tableau 2-XVIII).

Nous avons fait varier, pour cette étude, les températures d'incubation ainsi que la nature du substrat,  $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}_3^-$ . Tous ces sols ont subi un séchage préalable à l'incubation, menée dans des conditions strictement identiques aux précédentes.

- De plus nous avons effectué une analyse bibliographique détaillée de deux publications, issues de deux équipes de chercheurs des Etats-Unis, présentant des résultats concernant les mesures de fractionnement isotopique au cours de la dénitrification : il s'agit des travaux de CHIEN, SHEARER et KOHL (1977) qui ont gracieusement accepté de nous fournir leur dossier analytique complet concernant cette publication\* et de la publication de BLACKMER et BREMNER (1977), qui présente des tableaux et résultats que nous avons analysés.

L'expérimentation de CHIEN, SHEARER et KOHL a porté sur deux types de sol à passés culturels différents, l'un cultivé (rotation maïs-soja) l'autre maintenu en prairie à *Bromus arvensis* L. pendant 12 ans avant l'échantillonnage. Les caractéristiques de ces sols, publiées par les auteurs, sont reportées sur le tableau 2-XXII. Ces sols, désignés TC et TB, sont identifiés par les auteurs sous l'appellation "Catlin silt loam".

Sol	Végétation	Date de prélèvement	pH	Carbone organique (%)	Azote total (ppm)
TC	Rotation maïs-soja	Sept. 1973	6.5	2.2	2176
		Oct. 1974	6.4	2.5	1829
TB	Prairie à <i>Bromus arvensis</i>	Sept. 1973	6.3	2.4	2833
		Oct. 1974	6.2	3.1	2490

Tableau 2-XXII : Caractéristiques chimiques des sols utilisés par CHIEN, SHEARER et KOHL (1977) pour leurs mesures de fractionnement isotopique au cours de la dénitrification.

75 g de sol prélevés dans la tranche 0-30 cm, préalablement séchés à l'air, broyés, tamisés à 2 mm sont placés en incubation avec 125 ml d'une solution à 200 ppm de N-KNO<sub>3</sub> ou N-KNO<sub>2</sub>. Le sol est totalement saturé. Certaines expérimentations sont conduites avec ajout de 1 % de C organique sous forme de glucose. La température d'incubation est de 35°C.

BLACKMER et BREMNER ont utilisé trois types de sols de culture (maïs) de l'Iowa. L'analyse de ces sols figure sur le tableau 2-XXIII.

---

\* Il nous est agréable de leur présenter ici nos plus vifs remerciements.

Sol	pH	CaCO <sub>3</sub> (%)	Carbone organique (%)	Azote total (%)	Sable (%)	Argile (%)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> µg/g de sol
Nicollet	6.2	0	2.7	0.22	25	35	2
Webster	6.8	0	3.9	0.34	34	27	7
Harpster	7.8	4.1	4.4	0.38	19	36	19

Tableau 2-XXIII : Analyse des sols utilisés par BLACKMER et BREMNER (1977).

10 g de sol, prélevés en surface (0-15 cm), séchés à l'air, broyés, tamisés à 2 mm incubent avec 6 ml d'une solution contenant 10 mg N (KNO<sub>3</sub>), avec 7,5 mg de glucose, sous atmosphère d'Hélium, à 30°C.

B) Résultats.

Pour l'ensemble des expériences réalisées pour cette étude sur les sols répertoriés de B à H, nous avons pu mettre en évidence les faits suivants :

- les systèmes sont toujours clos : aux erreurs de mesure près,  $\Sigma(N-NO_2^- + N-N_2O)$  ou  $\Sigma(N-NO_3^- + N-N_2O) = \text{constante}$ ,
- le calcul des facteurs d'enrichissement isotopique, pente de la droite  $10^3 \ln \{(10^{-3} \delta_s + 1)/(10^{-3} \delta_{s,0} + 1)\}$  fonction de  $\ln f$  montre que les coefficients de corrélation sont toujours significatifs à la probabilité 0,01 et que l'ordonnée à l'origine de la droite n'est jamais statistiquement différente de 0,
- pour les expérimentations avec substrat NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, l'apparition de nitrites n'a jamais pu être observée au cours des cinétiques de dénitrification.

Pour ce qui concerne les expérimentations de BLACKMER et BREMNER, on peut considérer que les systèmes sont clos à 10 % près. Ces cinétiques de dénitrification sont effectuées avec un substrat de nitrate et ces auteurs observent l'apparition de nitrites. Nous retiendrons donc de ces résultats l'évolution de  $\Sigma(N-NO_3^- + N-NO_2^-)$  et  $\delta^{15}N-(NO_2^- + NO_3^-)$  : les fractionnements isotopiques apparents obtenus concerneront donc la disparition des nitrates + nitrites dans les sols.

Il en est de même pour les résultats obtenus par CHIEN *et al.* (1977) avec substrat nitrique. Ces auteurs constatent de plus que, avec le même substrat, en présence de glucose, une partie du nitrate peut être réorganisé,

échappant à la dénitrification. On constate que dans ces cinétiques l'enrichissement isotopique peut rester nul jusqu'à  $f = 0,5$ , c'est en particulier le cas de l'expérience : sol TC + glucose +  $\text{NO}_3^-$  (cf. tableau 2-XXIV) pour laquelle le calcul de  $\epsilon_{p/s}$  montre que l'ordonnée à l'origine de la droite est statistiquement différente de 0.

L'ensemble des résultats figure sur le tableau 2-XXIV où  $\epsilon_{p/s}$  et  $k_1$  (constante de vitesse du 1er ordre) sont affectés de leur intervalle d'estimation à la probabilité 0,05, ainsi que sur les figures 2-27 et 2-28.

Origine	Sol	Préparation du sol	Glucose	Substrat	Température (°C)	$\epsilon_{p/s}$	$k_1$
Cette étude	A	S	-	$\text{NO}_2^-$	10	- 25.4 ± 1.7	0.0011 ± 0.0001
	A	S	-	"	20	- 19.0 ± 1.4	0.0069 ± 0.0009
	A	S	-	"	20	- 20.5 ± 3.6	0.0059 ± 0.0010
	A	S	-	"	30	- 13.0 ± 3.4	0.0194 ± 0.0034
	A	H	-	"	20	- 24.2 ± 2.3	0.0024 ± 0.0006
	A	H	-	"	20	- 33.2 ± 3.9	0.0010 ± 0.0020
	A	H	-	"	30	- 23.9 ± 4.5	0.0052 ± 0.0026
	A	H	+	"	20	- 11.1 ± 1.8	0.0417 ± 0.0208
	A	S	-	$\text{NO}_3^-$	10	- 31.2 ± 3.5	0.0005 ± 0.0010
	A	S	-	"	20	- 29.4 ± 2.4	0.0024 ± 0.0003
	A	S	-	"	30	- 24.6 ± 0.9	0.0055 ± 0.0004
	B	S	-	$\text{NO}_2^-$	10	- 11.9 ± 1.8	0.0031 ± 0.0005
	B	S	-	"	20	- 10.9 ± 3.6	0.0060 ± 0.0019
	B	S	-	"	28	- 8.6 ± 2.6	0.0233 ± 0.0117
	C	S	-	"	10	- 20.9 ± 2.3	0.0018 ± 0.0005
	C	S	-	"	20	- 21.2 ± 3.5	0.0035 ± 0.0009
	C	S	-	"	28	- 18.8 ± 2.4	0.0070 ± 0.0023
	D	S	-	"	10	- 29.4 ± 5.9	0.0007 ± 0.0002
	D	S	-	"	20	- 23.0 ± 6.2	0.0017 ± 0.0007
	D	S	-	"	28	- 22.4 ± 5.9	0.0042 ± 0.0014
	E	S	-	"	10	- 20.6 ± 4.0	0.0008 ± 0.0002
	E	S	-	"	20	- 23.7 ± 2.4	0.0028 ± 0.0005
	E	S	-	"	28	- 22.0 ± 3.2	0.0086 ± 0.0032
	F	S	-	"	10	- 29.8 ± 2.5	0.0006 ± 0.0001
	F	S	-	"	20	- 26.7 ± 5.3	0.0020 ± 0.0002
	F	S	-	"	28	- 23.1 ± 2.0	0.0062 ± 0.0016
	G	S	-	"	20	- 14.6 ± 2.8	0.0198 ± 0.0030
	C	S	-	$\text{NO}_3^-$	20	- 20.8 ± 3.5	0.0055 ± 0.0007
	H	S	-	"	28	- 17.2 ± 1.2	0.0109 ± 0.0026
	H	S	-	"	20	- 15.0 ± 1.5	0.0105 ± 0.0009
CHIEN, SHEARER et KOHL (1977)	TC	S	-	$\text{NO}_2^-$	35	- 7.4 ± 2.6	0.0090 ± 0.0012
	TC	S	+	"	35	- 4.2 ± 1.1	0.0844 ± 0.0354
	TB	S	-	"	35	- 10.4 ± 2.0	0.0268 ± 0.0034
	TB	S	+	"	35	- 2.9 ± 1.7	0.0537 ± 0.0202
	TC	S	-	$\text{NO}_3^-$	35	- 18.5 ± 5.8	0.0031 ± 0.0007
	TC	S	-	"	35	- 18.6 ± 1.2	0.0015 ± 0.0002
	TC	S	+	"	35	- 4.4 ± 1.0	0.0738 ± 0.0200
	TB	S	-	"	35	- 8.2 ± 5.2	0.0121 ± 0.0038
	TB	S	-	"	35	- 6.0 ± 0.9	0.0093 ± 0.0012
	TB	S	+	"	35	- 3.9 ± 0.6	0.1554 ± 0.0509
BLACKMER et BREMNER (1977)	Nicollet	S	+	$\text{NO}_3^-$	30	- 22.6 ± 4.4	0.0081 ± 0.0040
	Webster	S	+	"	30	- 22.6 ± 5.6	0.0095 ± 0.0024
	Harpster	S	+	"	30	- 12.5 ± 3.4	0.0106 ± 0.0090

Tableau 2-XXIV : Dénitrification : valeurs des facteurs d'enrichissement isotopique et des constantes de vitesse de réaction (premier ordre) pour les expérimentations décrites dans cette étude et celles décrites par CHIEN, SHEARER et KOHL et BLACKMER et BREMNER.

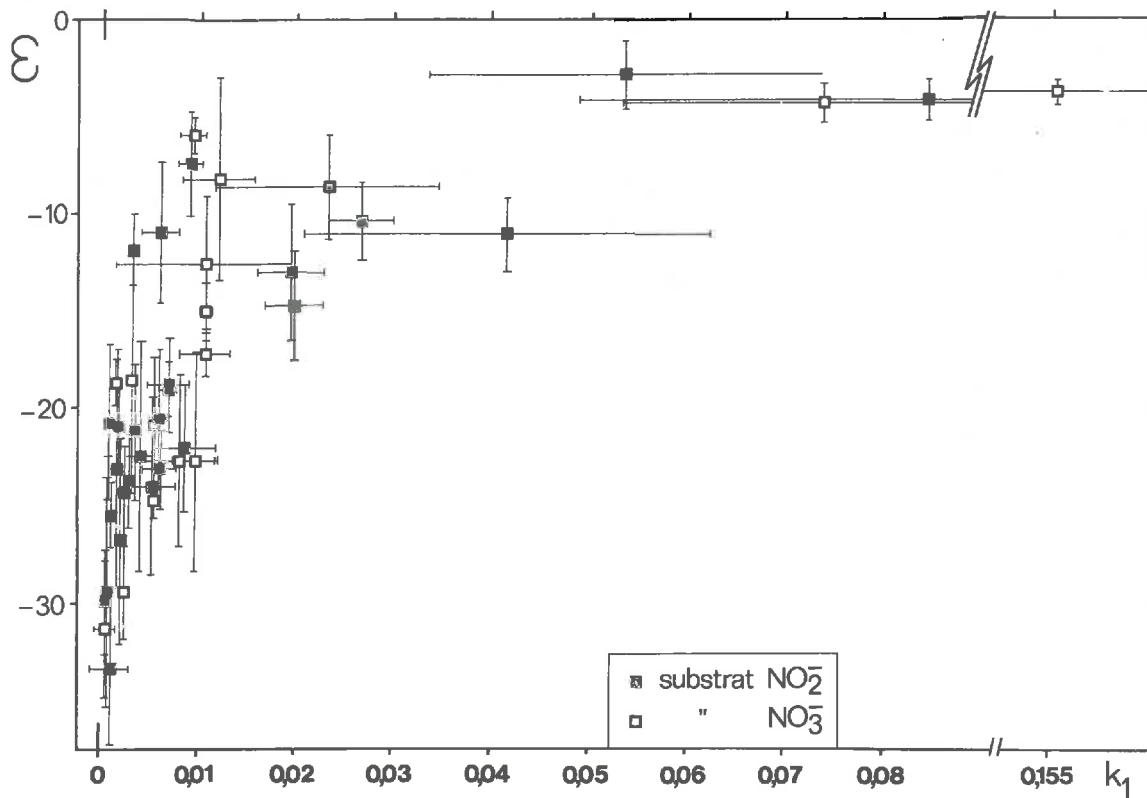


Figure 2-27 : Relation facteur d'enrichissement isotopique-constante de vitesse de dénitrification (1er ordre).

*L'erreur sur  $k_1$  augmente avec les valeurs de  $k_1$  : ceci est dû au fait que lorsque la vitesse globale de dénitrification augmente, cette réaction est plutôt d'ordre zéro.*

Ces résultats confirment la relation générale trouvée pour le sol référence A : *il existe une excellente relation de nature exponentielle entre la vitesse de dénitrification et le facteur d'enrichissement isotopique, les paramètres de ces relations sont donnés sur le tableau 2-XXV, (nous n'avons pas tenu compte de l'expérimentation sol TC + glucose +  $\text{NO}_3^-$  de CHIEN et al., pour les raisons ci-dessus évoquées).*

Les coefficients de corrélation sont tous hautement significatifs. Aucune de ces relations n'est statistiquement différente d'une autre.

Sur le diagramme semi logarithmique de la figure 2-28, nous avons tracé les droites correspondant à l'ensemble des mesures (trait plein) et à nos observations personnelles (trait pointillé).



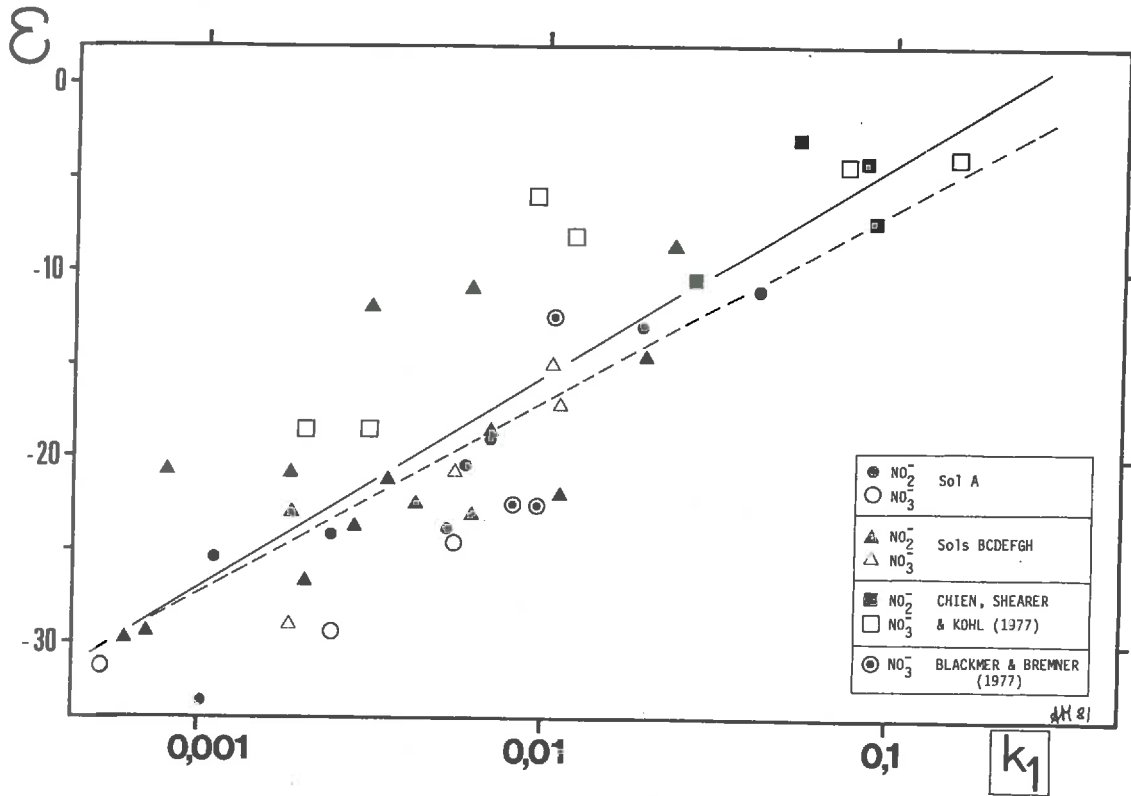


Figure 2-28 : Diagramme semi-logarithmique  $\epsilon-k_1$ .

La droite en trait plein est obtenue en considérant l'ensemble des mesures (cette étude plus les mesures relevées dans la bibliographie) ; la droite en traits discontinus est obtenue à partir de nos seuls résultats analytiques. Ces deux droites ne sont pas significativement différentes.

Nos mesures ( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ )	$\epsilon = 4,43 (\pm 1,33) \ln k_1 + 3,37$ , 30 couples, $r = 0,789$
Ensembles des mesures	$\epsilon = 4,91 (\pm 1,11) \ln k_1 + 7,00$ , 42 couples, $r = 0,817$
Substrat $\text{NO}_2^-$ seulement	$\epsilon = 4,98 (\pm 1,27) \ln k_1 + 7,46$ , 28 couples, $r = 0,845$
Substrat $\text{NO}_3^-$ seulement	$\epsilon = 4,81 (\pm 2,60) \ln k_1 + 6,22$ , 14 couples, $r = 0,758$

Tableau 2-XXV : Relation  $\epsilon - k_1$  pour différents groupes de mesures.

L'intervalle d'estimation sur la pente est donné à une probabilité de 0,05.

D'autre part on constate, sur la figure 2-27 que les intervalles d'estimation de  $k_1$  augmentent considérablement avec la valeur de  $k_1$  : ceci est dû au fait que, pour des vitesses de dénitrification élevées, la constante de vitesse devient d'ordre 0 : on comprend ainsi que l'erreur sur  $k_1$ , constante du 1er ordre, augmente.

C) Interprétation.

On constate donc que l'effet isotopique associé au phénomène de dénitrification en milieu anaérobie est très variable et très sensible aux variations de certains paramètres du milieu : le facteur de fractionnement varie en fonction de la température, de la quantité de carbone organique (donneur d'électron), et d'éventuels traumatismes hydriques du sol avant incubation.

Pour ce dernier facteur, nous avons déjà proposé l'hypothèse suivante : lors du séchage à l'air du sol, on détruit une fraction de la biomasse bactérienne ce qui se traduit par la libération dans le milieu, dès le début de l'incubation, de carbone organique provenant des corps bactériens détruits. Dans cette hypothèse, l'effet du séchage du sol est comparable à l'ajout d'un donneur d'électrons sous forme organique (glucose) : il s'accompagne d'une augmentation de la vitesse de réaction corrélative d'un abaissement de la valeur du facteur de fractionnement isotopique.

On peut ainsi considérer que dans les expérimentations réalisées, seuls deux paramètres varient, la température et la quantité de carbone organique disponible.

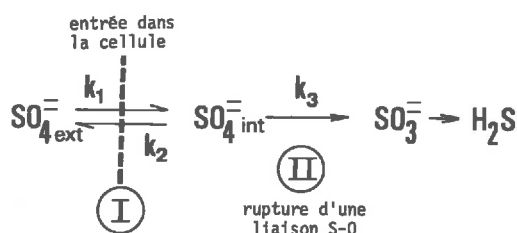
La vitesse de la dénitrification est donc modifiée par le choix de la température, de la quantité de donneur d'électron ainsi que par des facteurs non contrôlés dans des incubations effectuées dans des conditions apparemment strictement comparables : on peut ainsi remarquer que deux expérimentations apparemment semblables, (cf. tableau 2-XIX, sol A, expériences 5 et 6) menées à même température et avec le même traitement du sol avant incubation, on obtient des vitesses de dénitrification différentes et un fractionnement isotopique différent.

Le fait que tous les points expérimentaux se placent sur une même courbe  $\epsilon_{p/s}$  fonction de  $k_1$  semble indiquer que, dans la gamme de température et de concentration en carbone organique, ces deux paramètres n'agissent sur le fractionnement isotopique que par l'influence qu'ils ont sur la vitesse de réduction du nitrite, ou du nitrate.

Des résultats très voisins ont été reportés à propos de la géochimie isotopique du soufre.

HARRISON et THODE (1958) étudiant la réduction de  $\text{SO}_4^{=}$  par *Desulphovibrio desulphuricans* montrent qu'à travers une large gamme de variation de la concentration en donneur d'électron (lactate), de la température et des conditions de croissance de la population bactérienne, que le fractionnement isotopique varie de 0 à 25 ‰, en liaison inverse avec la vitesse de réaction. Les auteurs constatent que la relation entre fractionnement isotopique et vitesse de réaction est la même pour la réduction de  $\text{SO}_3^{=}$ .

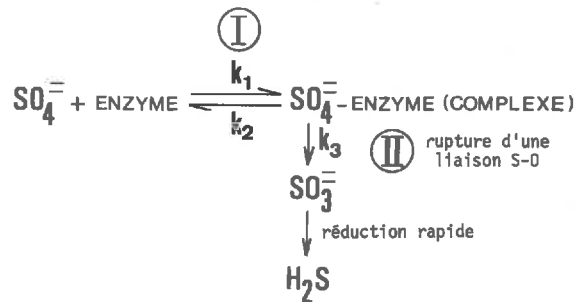
Ces résultats sont confirmés par NAKAI et JENSEN (1960), puis par KAPLAN et RITTENBERG, (1964). Ces derniers auteurs constatent que la liaison fractionnement isotopique-vitesse de réaction est inverse avec lactate ou éthanol comme donneur d'électron mais directe avec l'hydrogène, résultats confirmés par KEMP et THODE (1968). HARRISON et THODE (1958) proposent un modèle d'explication de leurs résultats en postulant un mécanisme faisant intervenir deux étapes consécutives, l'entrée du sulfate dans la cellule, accompagnée d'un faible effet isotopique (s'il s'agit de diffusion simple à travers la membrane cellulaire, ce fractionnement sera donné, selon les auteurs, par la racine carrée du rapport des masses des 2 espèces isotopiques (ici  $^{34}\text{SO}_4^{=}$  et  $^{32}\text{SO}_4^{=}$ )\*, puis la rupture, dans la cellule, d'une liaison S-O au cours de la réduction  $\text{SO}_4^{=} \rightarrow \text{SO}_3^{=}$  produisant un important effet isotopique. Ces deux étapes peuvent être en compétition pour le contrôle de la vitesse de la réaction totale. Le modèle proposé est donc du type :




---

\* En fait les auteurs ne tiennent pas compte des phénomènes d'hydratation des ions en solution qui augmentent de façon importante les masses moléculaires et donc tendent à amoindrir l'effet isotopique.

Si le transfert du  $\text{SO}_4^{=}$  dans la cellule au travers de la membrane n'est pas passif, par simple diffusion mais fait intervenir un transport actif impliquant la formation d'un complexe enzyme-substrat, le modèle devient :

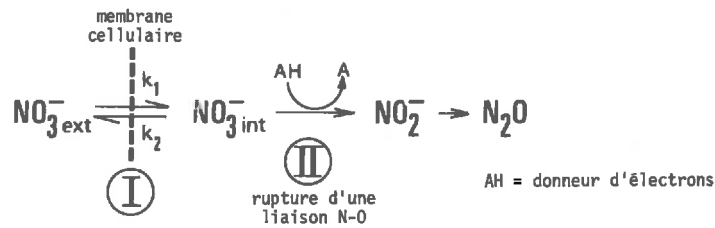


Si l'étape I est limitante de la vitesse, le fractionnement isotopique pour la réaction globale sera celui de l'étape I, en effet, le sulfate à l'intérieur de la cellule, ou le complexe  $\text{SO}_4^{=} - \text{enzyme}$  sera réduit aussi rapidement qu'il apparaîtra : dans ces conditions la réduction étant à chaque instant totale, le fractionnement isotopique au cours de cet étape ne peut se manifester.

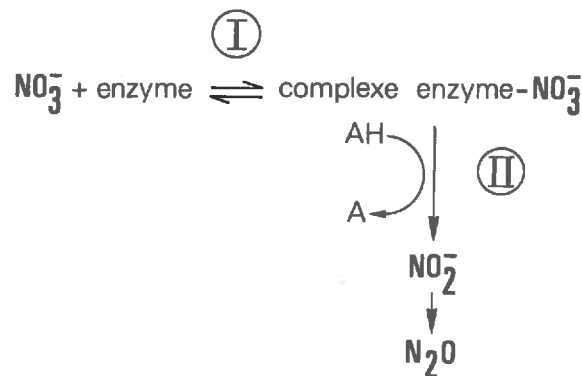
Dans le cas contraire, si l'étape II est limitante de la vitesse, on peut avoir accumulation du composé intermédiaire et l'équilibre de la phase I peut prendre place : dans l'hypothèse du premier type (étape I = franchissement de la membrane cellulaire : système "in/out"), il y aura sortie vers le milieu du substrat intracellulaire très enrichi en isotope lourd par le fractionnement isotopique accompagnant la réduction ; dans l'hypothèse du 2ème type il y a décomposition partielle du complexe enzyme-substrat en substrat libre : dans ces 2 cas, la composition isotopique du substrat libre, extra cellulaire ou non complexé, est affecté par le fractionnement isotopique important de l'étape II, fractionnement lié à la rupture de la liaison S-O. KEMP et THODE (1968) travaillant sur la réduction de  $\text{SO}_3^{=}$  par *D. desulphuricans*, constatent que le fractionnement isotopique obtenu avec une culture de cellules bactériennes entières, (- 1,9 ‰), est considérablement plus bas que celui obtenu au cours de la réduction par des extraits de cellules, (- 19 ‰) ; dans ce dernier cas, on comprend que le  $\text{SO}_3^{=}$  peut être réduit sans avoir à traverser la membrane cellulaire : il semble donc que l'étape d'entrée de  $\text{SO}_3^{=}$  dans la cellule ait été l'étape limitante dans la première expérimentation avec cellules entières. Dans cette transformation, il semble donc que l'on doive plutôt retenir le premier modèle (système "in/out").

KOHL et SHEARER (1978), ont repris un modèle de ce type pour expliquer les variations de fractionnement isotopique au cours de la dénitrification.

Ils proposent des modèles de même nature que les précédents :



ou, si le substrat ( $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}_3^-$ ) n'entre pas dans la cellule bactérienne mais se trouve réduit sur la partie externe de la membrane cellulaire :



Ces modèles sont strictement identiques si on prend  $\text{NO}_2^-$  comme substrat.

Si  $V_e$  est la vitesse d'entrée du substrat dans la cellule (ou sa vitesse de complexation),  $V_s$  sa vitesse de sortie (ou de décomplexation),  $V_r$  la vitesse de réduction (avec rupture d'une liaison N-O), on peut faire l'hypothèse que  $V_s$  est du 1er ordre, ( $V_s = k_2 \{ \text{NO}_3^- \}_{\text{int.}}$ ), la réduction se saturant approximativement hyperboliquement selon une familière équation de MICHAELIS-MENTEN :

$$V_r = \frac{V_{\text{max}} (\text{NO}_3^-)_{\text{int}}}{k_m + (\text{NO}_3^-)_{\text{int}}}$$

Dans ce modèle, la réaction considérée n'est pas simple, unidirectionnelle : le fractionnement isotopique mesuré est donc un fractionnement isotopique apparent.

L'étape I présenterait un fractionnement isotopique élémentaire faible : s'il s'agit de diffusion simple ce fractionnement dépend de la racine carrée du rapport des masses des deux espèces isotopiques : dans notre cas

$^{15}\text{NO}_2^-$  (+  $n\text{H}_2\text{O}$ ) et  $^{14}\text{NO}_2^-$  (+  $n\text{H}_2\text{O}$ ) : en tout état de cause, dans cette réaction il n'y a pas de modification dans les liaisons chimiques de l'azote : l'effet isotopique cinétique ne doit pas être très important ; au contraire, l'étape II, qui voit la rupture d'une liaison N-O, présente un fractionnement élémentaire beaucoup plus important : si on considère la rupture de la liaison diatomique N-O, la fonction de partition des isotopes pour  $^{14}\text{NO}-^{15}\text{NO}$  est, à 25°C, 1,0659 (UREY H.C., 1947). Les conséquences attendues du comportement du fractionnement isotopique dans ce modèle, sont les suivantes :

1) Le taux global de réduction et le fractionnement isotopique devraient augmenter avec la concentration initiale en substrat : en effet on peut anticiper le fait que, à basse concentration en substrat, le réducteur AH sera présent en quantité suffisante pour que la réduction soit favorisée par rapport au taux de sortie du substrat de la cellule vers le milieu (ou de décomplexation du complexe enzyme-substrat) : dans ce cas, le fractionnement isotopique sera faible. Quand la concentration du substrat augmente dans le milieu, on peut raisonnablement s'attendre à voir la concentration cellulaire (ou la quantité complexée) augmenter, atteindre la concentration de saturation : la capacité du réducteur n'est alors plus suffisante pour provoquer rapidement la réduction. Le nitrate à l'intérieur de la cellule (ou sous forme complexée) s'accumule, la vitesse de sortie ( $V_s$ ) entre, avec succès, en compétition avec la vitesse de réduction ( $V_r$ ) et le fractionnement isotopique augmente.

2) En augmentant la concentration du carbone organique (donc de AH), et avec une concentration de substrat suffisante pour atteindre la saturation dans le cas précédent, on doit constater, outre l'augmentation du taux global de disparition de  $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}_3^-$ , une diminution du fractionnement isotopique : à basse concentration en carbone, ce fractionnement doit être élevé car le taux de sortie est important devant le taux de réduction (cf. cas précédent). Quand la concentration en donneur d'électron augmente, la réduction se trouve relativement favorisée par rapport au taux de sortie, le fractionnement isotopique diminue donc.

Un tel modèle permet effectivement de comprendre la diminution du fractionnement isotopique avec l'augmentation de concentration en carbone réduit organique ; que cette augmentation de concentration soit liée dans nos expérimentations à l'apport de glucose ou au séchage du sol avant incubation, susceptible de libérer le carbone des corps bactériens détruits par le séchage. Par contre, la prévision concernant la variation du facteur de fractionnement isotopique avec la variation de la concentration du substrat dans le milieu (augmentation de l'effet isotopique avec la concentration) pose problème :

s'il en était ainsi, on devrait voir au cours d'une cinétique de réduction, le fractionnement isotopique diminuer avec l'avancement de la réaction qui voit la concentration en substrat diminuer.

Dans nos expérimentations, ce phénomène n'est pas observé jusqu'à  $f = 17 \%$ . Toutefois on doit remarquer :

- que les concentrations initiales en substrat utilisées sont toujours élevées (200 mg N/kg sol),

- que les résultats expérimentaux obtenus dans quelques expériences où l'état d'avancement de la réaction a dépassé  $f = 15 \%$ , et dont nous n'avons volontairement pas tenu compte pour le calcul des fractionnements isotopiques, montrent que la composition isotopique du substrat, mesurée à ces stades d'avancement de la réaction, présente quelquefois une valeur plus faible que celle prévue par le facteur d'enrichissement isotopique calculé jusqu'à  $f = 15 \%$ . Tout se passe comme si en-dessous d'une certaine concentration en substrat, le fractionnement diminuait légèrement : ce phénomène semble ressortir de l'examen de la figure 2-29. Il se produirait pour des valeurs de  $f$  inférieures à  $17 \%$ . Comme la quantité initiale de substrat est de l'ordre de 200 mg N/kg sol, la concentration en-dessous de laquelle le fractionnement isotopique diminuerait serait de l'ordre de 30 mg N/kg sol dans les conditions expérimentales que nous avons retenues. Cette concentration serait celle à partir de laquelle la deuxième étape du modèle (réduction) cesserait d'être saturée, permettant ainsi au phénomène de réduction de prendre le pas sur le phénomène de sortie du substrat depuis la cellule, ou de décomplexation de ce substrat.

Toutefois, les résultats obtenus pour  $f$  très petit sont trop peu nombreux et peut-être suffisamment imprécis pour en tirer des conclusions péremptoires : ils ne peuvent que permettre d'évoquer des tendances.

Cependant, BRYAN, SHEARER, KOHL et SKEETERS (communication personnelle) ont montré, sur l'exemple de cultures pures de *Pseudomonas stutzeri*, la diminution du facteur d'enrichissement isotopique avec la concentration en substrat. Ils utilisent 3 concentrations initiales de nitrite (substrat utilisé) : 0,857 ; 0,287 et 0,143 mM, les valeurs de  $\epsilon$  varient de  $\sim 16 \%$  environ à  $\sim 7 \%$  en diminuant les concentrations en substrat.

Nous avons constaté également que l'augmentation de température influence la variation de la constante de vitesse et du fractionnement isotopique de la même façon que l'augmentation de concentration en carbone organique, donneur d'électron : tous les points expérimentaux se groupent sur une même



courbe d'évolution de  $k_1$ , vitesse globale de réduction, en fonction de  $\epsilon_{p/s}$  : ces deux paramètres du milieu n'influencent le fractionnement isotopique que par l'action qu'ils ont sur la vitesse de réduction.

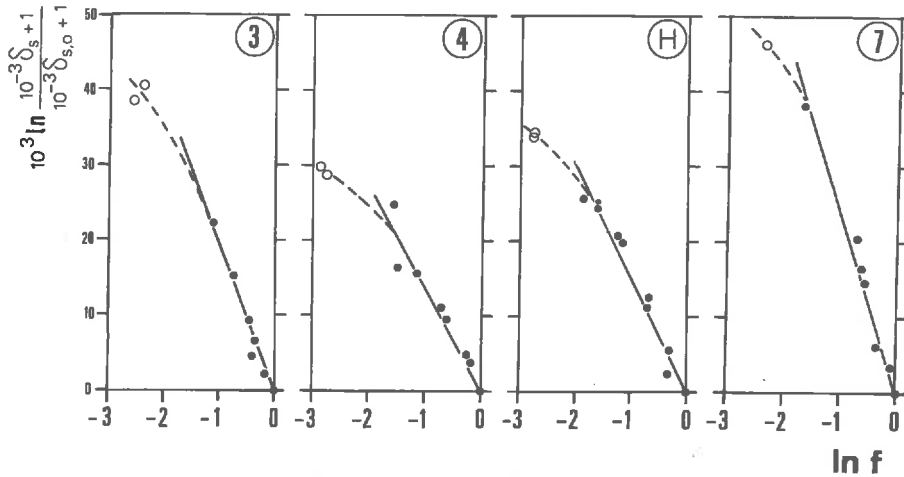


Figure 2-29 : Dénitrification sur substrat  $\text{NO}_2^-$ .

Mise en évidence d'une tendance à la variation de l'effet isotopique au cours de l'avancement de la réaction : au delà de  $f = 0,15$ , on constate une légère diminution de la pente de la courbe ( $\epsilon$ ) qui cesse d'être une droite.

Les numéros renvoient aux conditions expérimentales décrites dans le tableau 2-XIX, la lettre H, au sol H décrit dans le tableau 2-XXIV.

Ces variations du facteur d'enrichissement isotopique peuvent atteindre 6,7 à 7,0 % pour un accroissement de température de  $18^\circ\text{C}$  (sols D et F, tableau 2-XXIV). On a vu dans le premier chapitre que les fractionnements isotopiques des isotopes stables sont thermodépendants. Les variations que nous enregistrons sont parfois, on l'a vu, très importantes et on peut essayer de proposer une explication allant au-delà du simple effet direct de la température sur le fractionnement isotopique élémentaire d'une réaction simple.

Le modèle proposé est composé d'une suite de réactions, le fractionnement isotopique mesuré est donc un fractionnement apparent : pour expliquer cet important effet température, on peut émettre l'hypothèse que ces variations importantes de  $\epsilon_{p/s}$  peuvent être également l'effet de variations thermodépendantes des vitesses relatives des étapes successives d'une réaction complexe.

KAPLAN et RITTENBERG (1964) ont observé, dans la réduction bactérienne de  $\text{SO}_4^{2-}$  (*D. desulfuricans*) avec des composés organiques comme donneurs



d'électrons, que la vitesse de réduction augmente avec la température, pendant que l'effet isotopique décroît : cette observation est donc semblable à celle concernant la réduction de  $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}_3^-$ .

Au contraire, si l'hydrogène moléculaire joue le rôle de donneur d'électrons, l'effet isotopique croît avec la température et la vitesse de réaction. KEMP et THODE (1968) ont confirmé ces observations.

KAPLAN et RITTENBERG, en accord avec les résultats de FURASAKA (1961), soulignent le fait qu'à 37°C la vitesse d'entrée du sulfate dans la cellule est supérieure à sa vitesse de réduction par l'hydrogène ; à 0°C le phénomène inverse est observé. Quand la température augmente, la réduction devient l'étape limitante et le fractionnement isotopique augmente, puisque le fractionnement isotopique associé à l'entrée dans la cellule est inférieur à celui associé à la rupture de la liaison S-O au cours de la réduction. REES (1973) propose d'expliquer la relation inverse température-effet isotopique, dans le cas où le donneur d'électron est organique, en admettant que l'augmentation de température entraîne alors plutôt une augmentation relative de la vitesse de rupture de la première liaison S-O, relativement à la vitesse d'entrée dans la cellule.

Une telle hypothèse peut être retenue pour interpréter nos résultats concernant la réduction bactérienne de  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NO}_2^-$ .

Ainsi on peut s'attendre à ce que le fractionnement isotopique soit en relation directe avec le rapport  $V_e/V_r$ , vitesse d'entrée du substrat dans la cellule sur vitesse de réduction de ce substrat.

On peut penser que l'augmentation de température, qui s'accompagne d'une augmentation de vitesse des processus métaboliques va, entre autre, stimuler la fourniture de composés réduits au niveau de l'étape de réduction, augmentant ainsi la vitesse relative de cette étape par rapport à la vitesse d'entrée du substrat dans la cellule et/ou de la complexation de ce substrat :  $V_e/V_r$  diminue et entraîne la diminution du fractionnement isotopique apparent.

On peut ainsi comprendre que l'effet de l'augmentation de la température sur la variation du fractionnement isotopique présente les mêmes caractéristiques que l'effet de la variation de la concentration en carbone réduit (effet apport de glucose ou effet du séchage du sol).

Pour terminer sur cet effet température, on peut faire l'observation suivante. Le facteur de fractionnement isotopique  $\alpha$  est souvent corrélié (FRIEDMAN, O'NEIL, 1977 ; HOEFS, 1973 ; FRITZ et FONTES, 1980) à la température absolue par une relation de la forme :  $1000 \ln \alpha = a + b T^{-1} + c T^{-2}$  ; dans la gamme des basses températures,  $1000 \ln \alpha$  devient pratiquement proportionnel à  $T^{-1}$ . De plus,  $1000 \ln \alpha \approx \epsilon$  :

$$\text{soit : } \epsilon \approx a + b T^{-1}$$

D'autre part, la dépendance de la constante de vitesse d'une réaction vis-à-vis de la température peut être décrite dans un grand nombre de cas par l'équation d'Arrhénius :

$$k = k_0 \cdot e^{-\frac{E}{RT}}, \quad k_0 \text{ et } E \text{ étant des constantes.}$$

On peut donc en tirer :

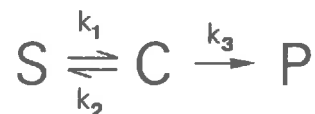
$$\varepsilon \approx a' + b' \ln k$$

relation du type de celle qui a été établie expérimentalement.

Bien évidemment la relation  $\varepsilon$  vs (T) écrite ci-dessus s'applique à des fractionnements isotopiques de réactions simples, unidirectionnelles et non à des réactions multiples où l'effet isotopique mesuré est apparent et l'action de la température sur ce fractionnement, complexe.

La similitude entre cette relation théorique et nos observations expérimentales peut n'être donc que fortuite.

Dans tout ce qui précède, nous raisonnons sur des fractionnements isotopiques apparents de réactions complexes du type de celle proposé pour notre modèle :



Or, nous avons constaté expérimentalement que le fractionnement isotopique apparent reste constant avec l'avancement de la réaction, comme il en est du fractionnement isotopique attaché à une réaction simple unidirectionnelle.

Nous allons montrer très rapidement qu'une réaction complexe de ce type peut présenter un facteur de fractionnement isotopique apparent constant, se comportant donc comme un fractionnement isotopique élémentaire.

Nous considérerons les réactions 1 et 2 comme d'ordre 1. Pour la réaction  $C \rightarrow P$ , nous avons retenu dans notre modèle qu'elle se saturait hyperboliquement selon l'équation de MICHAELIS-MENTEN.

$$V_r = \frac{V_{\max} \cdot C}{k_m + C}$$

Tant que cette réaction n'est pas saturée,  $C \ll k_m$

$$\text{et } V_r = \frac{V_{\max}}{k_m} \cdot C$$

$V_r$  est donc du premier ordre.

Nous considérerons donc, en première approximation la phase de non saturation de l'étape réductrice : la réaction 3 est du premier ordre.

L'alternative (saturation) est une réaction d'ordre 0.

Dans une telle réaction complexe on peut faire, en premier lieu, l'hypothèse du régime dynamique ("steady state") : la variation du pool C étant nulle il vient alors :

$$\frac{dC}{dt} = 0 ; \quad \frac{dP}{dt} = k_3 C$$

$$\frac{dC}{dt} = k_1 S - (k_2 + k_3) C = 0$$

$$\frac{dP}{dt} = - \frac{dS}{dt} = \frac{k_1 \cdot k_3}{k_2 + k_3} \cdot S$$

Ceci est valable pour l'isotope  $^{14}\text{N}$  comme pour le  $^{15}\text{N}$  :

On peut écrire, si on appelle  $S^*$  le contenu en  $^{15}\text{N}$  de S :

$$- \frac{dS}{dt} = \frac{k_1 \cdot k_3}{k_2 + k_3} \cdot S$$

$$\text{et } - \frac{dS^*}{dt} = \frac{k_1^* \cdot k_3^*}{k_2^* + k_3^*} \cdot S^*$$

Le facteur de fractionnement isotopique  $\alpha$  est :

$$\alpha = \frac{R_{pi}}{R_s}$$

soit 
$$\alpha = \frac{dP^*/dP}{S^*/S} = \frac{dS^*/dS}{S^*/S}$$

d'où 
$$\alpha = \frac{k_3^* \cdot k_1^* \cdot (k_2 + k_3)}{k_3 \cdot k_1 \cdot (k_2^* + k_3^*)}$$

$\alpha$  apparent est donc constant.

Si on réfute l'hypothèse du régime dynamique il vient :

$$\frac{dS}{dt} = -k_1 S + k_2 C$$

$$\frac{dC}{dt} = k_1 S - k_2 C - k_3 C$$

$$\frac{dP}{dt} = k_3 C$$

On peut traiter indépendamment le système constitué des deux premières équations il vient :

$$\begin{bmatrix} \frac{dS}{dt} \\ \frac{dC}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -k_1 & k_2 \\ k_1 & -(k_2 + k_3) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S \\ C \end{bmatrix}$$

Posant  $k = \sqrt{(k_1 + k_2 + k_3)^2 - 4 k_1 k_3}$  et  $C_0 = 0$ ,

Il vient :

$$S = \frac{S_0}{2k} \cdot e^{-\frac{(k_1 + k_2 + k_3)t}{2}} \left[ (k_1 - k_2 - k_3 + k) e^{-\frac{k}{2} t} - (k_1 - k_2 - k_3 - k) e^{\frac{k}{2} t} \right]$$

dès que t augmente, cette équation se simplifie :

$$S \approx \frac{S_0}{2k} (k_1 + k_2 + k_3 - k) e^{-\left(\frac{k_1 + k_2 + k_3 - k}{2}\right) t}$$

S est de la forme :  $S \approx \gamma S_0 e^{-rt}$  ,  $\gamma = \text{constante}$

pour  $^{15}\text{N}$  :  $S^* \approx \gamma^* S_0^* e^{-r^* t}$

Le rapport isotopique du substrat S est :

$$R = \frac{S^*}{S} = \frac{\gamma^*}{\gamma} \cdot R_0 e^{-(r^* - r)t}$$

d'où  $\frac{R}{R_0} = \frac{1 + \delta}{1 + \delta_0} = \frac{\gamma^*}{\gamma} e^{-(r^* - r)t}$

$$f = \frac{S}{S_0} = \gamma e^{-rt}$$

$$\ln f = \ln \gamma - rt$$

On tire :

$$\ln \frac{1 + \delta}{1 + \delta_0} = \ln \frac{\gamma^*}{\gamma} - \left(\frac{r^* - r}{r}\right) \ln \gamma + \left(\frac{r^* - r}{r}\right) \ln f$$

$$\ln \frac{1 + \delta}{1 + \delta_0} = \ln \left[ \frac{\gamma^*}{\gamma r^*/r} \right] + \left(\frac{r^*}{r} - 1\right) \ln f$$

Le terme  $\left[ \frac{\gamma^*}{\gamma r^*/r} \right]$  est peu différent de 1, son logarithme est peu différent de zéro. On en déduit donc la relation :

$$\delta - \delta_0 \approx \left(\frac{r^*}{r} - 1\right) \ln f$$

Le terme  $\left(\frac{r^*}{r} - 1\right)$ , équivalent de  $\epsilon_{p/s}$ , est constant : le fractionnement isotopique devient constant dans cette réaction à partir, rappelons-le, d'une valeur de t à déterminer, sûrement variable d'une expérimentation à l'autre. Il semble que nos résultats expérimentaux se situent au-delà de cette valeur.

Ainsi, la suite de réactions du modèle proposé peut-elle présenter un fractionnement isotopique apparent constant, comparable à celui caractérisant des réactions simples unidirectionnelles, ce qui est en accord avec l'ensemble de nos résultats expérimentaux.

Ce modèle qui donne cohérence à notre dossier analytique, nous permet d'interpréter certains résultats expérimentaux non immédiatement compréhensibles. Nous nous rappelons que dans la répétition de l'expérimentation sur sol A maintenu humide avant incubation, avec apport de glucose (cf. figure 2-24B et tableau 2-XX), le facteur d'enrichissement isotopique n'est pas constant (pour  $f > 0,17$ ) et que, corrélativement, la quantité d'azote présente sous forme  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\Sigma(\text{N-NO}_2^- + \text{N-N}_2\text{O})$ , n'est pas constante. Tout se passe comme si une fraction importante de l'azote se trouvait temporairement immobilisée sous une forme non accessible à l'analyse ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ), le bilan étant presque bouclé en fin d'expérimentation, au bout de 74 h (cf. tableau 2-XX).

Dans le cadre du modèle proposé, l'interprétation de ces résultats peut être faite en faisant intervenir un niveau de stockage du substrat  $\text{NO}_2^-$ , par exemple à l'intérieur des cellules bactériennes ; la vitesse de sortie  $V_s$  et le taux de réduction  $V_r$  étant suffisamment faibles pour que :

$\text{NO}_2^-$  s'accumule en quantité suffisante dans la cellule pour expliquer notre défaut de bilan,

- le fractionnement isotopique diminue sous l'influence d'une diminution de  $V_r$

Enfin, dans les expérimentations où nous avons utilisé du nitrate comme substrat, nous avons vu que la présence de nitrites, étape intermédiaire de la réduction, n'a jamais pu être mise en évidence : les nitrites sont donc réduits aussi rapidement qu'ils sont formés. Ceci n'est pas le cas, nous l'avons dit, des autres expériences tirées de la bibliographie (CHIEN *et al.*, BLACKMER et BREMNER, *op. cit.*).

Pour ce qui concerne nos résultats personnels, nous pouvons considérer que l'étape de réduction  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$  est donc l'étape limitante du processus de dénitrification : les facteurs de fractionnement isotopiques mesurés seront donc ceux qui caractérisent cette étape.

Nous constatons qu'ils sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus avec  $\text{NO}_2^-$  comme substrat, à vitesse de réduction égale.

Ce résultat est logique dans la mesure où, quelque soit le type de substrat utilisé dans nos expériences, l'étape limitante de la chaîne de

réaction considérée correspond à la rupture d'une liaison diatomique N-O :  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$  : c'est cette rupture qui est responsable du fractionnement isotopique : il doit donc être à priori le même quelle que soit la réaction considérée.

Il en est de même pour la réduction bactérienne de  $\text{SO}_3^-$  comparée à celle de  $\text{SO}_4^-$  (HARRISSON et THODE, 1958).

#### 2.3.4. - CONCLUSIONS.

*Il est clairement établi que le fractionnement isotopique apparent au cours des étapes  $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O}$  ou  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2\text{O}$  du processus de dénitrification est fondamentalement dépendant des variations de deux paramètres du milieu : la température et l'abondance du donneur d'électron dans l'étape de réduction ; les variations de l'effet isotopique liées au séchage du sol avant l'incubation n'apparaissent que comme un effet de la variation du second de ces paramètres. La température et la teneur en carbone réduit semblent agir sur les vitesses relatives de deux des étapes du modèle retenu : on comprend que leur action puisse se traduire par des effets tout à fait semblables.*

L'influence de la concentration en substrat n'est pas établie de façon certaine : sans effet jusqu'à une concentration en N de  $2 \cdot 10^{-3} \text{M}$ , on peut toutefois noter l'existence d'une légère tendance à l'abaissement de l'effet isotopique en-deçà de cette concentration. Les concentrations de substrat choisies au départ de nos expériences d'incubation, relativement élevées, ne permettent pas aisément l'étude de l'influence de ce paramètre, mis par ailleurs en évidence par l'équipe du professeur KOHL sur l'exemple de cultures pures de bactéries dénitrifiantes.

Dans la gamme étudiée des variations de ces paramètres du milieu, le facteur d'enrichissement isotopique,  $\epsilon_{p/s}$ , varie de - 33 à - 8 % environ si on excepte les expériences où le substrat est artificiellement enrichi en glucose. Nous avons reporté sur la figure 2-30, sous forme d'histogramme, l'ensemble des résultats évoqués dans ce chapitre. La moyenne de l'ensemble de nos résultats personnels (à l'exception de l'expérimentation avec glucose) est de - 21,6 %, et de - 22,6 % pour les résultats concernant les valeurs expérimentales obtenues à température inférieure à 28°C. On doit considérer que les valeurs obtenues à  $t > 30^\circ\text{C}$ , ou en présence de glucose, si elles ont une valeur théorique certaine, n'ont que peu de chance de donner une image valable du processus naturel de dénitrification au champ.

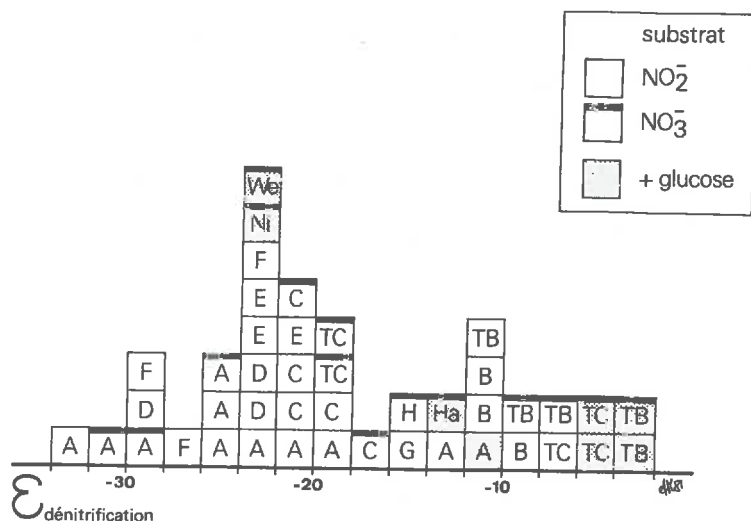


Figure 2-30 : Histogramme des valeurs de facteurs d'enrichissement isotopique obtenues au cours des essais de dénitrification.

La nature du substrat et l'ajout de glucose sont indiqués. Les résultats de CHIEN et al. (TB, TC) et ceux de BLACKMER et BREMNER (Ha, Ni, We) sont également répertoriés. ABCDEFG : cf. tableau 2-XXIV.

L'amplitude de variation de l'effet isotopique, à température constante, est de l'ordre de  $-20 \pm 10\%$  dans une large gamme de concentration de substrat et de donneur d'électrons ; ce n'est que lorsque la température augmente beaucoup et que l'on a de fortes concentrations en carbone organique disponible, que l'on obtient de fortes variations du fractionnement isotopique vers des valeurs faibles.

Ceci nous conduit à penser que ce phénomène, dans les conditions naturelles, doit s'accompagner d'un fractionnement isotopique élevé : à température moyenne, sans concentrations exceptionnelles en carbone organique disponible, dans des milieux humides, voire saturés (condition où ce processus de dénitrification a le plus de chance de prendre place), c'est-à-dire dans des conditions qui prévalent généralement dans les milieux naturels, tous ces paramètres concourent à ce que l'enrichissement isotopique associé à ce processus soit important, probablement inférieur à  $-20\%$ . CLINE et KAPLAN (1975) ont montré que cet enrichissement est de l'ordre de  $-30$  à  $-40\%$  en milieu océanique (Pacifique tropical).



Le modèle proposé, à deux étapes, l'une réversible peu fractionnante, l'autre univoque, saturable et fortement fractionnante (rupture d'une liaison N-O) explique bien qualitativement l'ensemble de notre dossier analytique. L'étude des figures 2-25 et 2-27 semble indiquer que l'on tend vers un fractionnement minimal limite qui correspond peut-être au fractionnement isotopique élémentaire théorique dans le cas de simple diffusion des deux types isotopiques d'ions hydratés\* à travers une membrane. Le modèle évoqué ci-dessus prévoit que le fractionnement le plus faible est celui de la première étape, alors limitante, étape qui pourrait être l'entrée de  $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}_3^-$  dans la cellule au travers de la membrane cellulaire et/ou la complexation de ce substrat avec l'enzyme catalysant la réduction ultérieure.

Il nous faut souligner la grande ressemblance des phénomènes rapportés ici avec ceux publiés à propos de la géochimie isotopique du Soufre, notamment à propos de la réduction du sulfate. Cette similitude ne s'arrête d'ailleurs pas à cette réaction : KAPLAN et RITTENBERG (1964) ont montré que le fractionnement isotopique associé à la transformation  $\text{S-SO}_4^{2-} \rightarrow \text{S}$  organique (assimilation du soufre minéral par le protoplasme bactérien) est très faible ( $\epsilon_{p/s}$  de 0,8 à - 2,8 ‰) : des résultats en tous points semblables à ceux que nous observerons plus loin pour l'assimilation de N- $\text{NO}_3^-$  par les plantes supérieures (voir aussi MARIOTTI *et al.*, 1980).

Cette étude montre enfin quelle peut être la contribution de la géochimie isotopique et particulièrement de l'étude des variations du fractionnement isotopique apparent, à la connaissance du fonctionnement intime de systèmes microbiologiques.

Il semble notamment possible de tirer de ces observations des indications utiles concernant la dépendance aux variations de température de mécanismes internes de fonctionnement de bactéries.

Cette étude illustre le fait que la variation des valeurs du fractionnement isotopique associée à des processus biologiques résulte de variations de la contribution relative, ou de variations de vitesse relatives des différentes réactions impliquées dans un processus général plus ou moins complexe.

---

\*  $^{14}\text{NO}_3^- + n \text{H}_2\text{O}$  et  $^{15}\text{NO}_3^- + n \text{H}_2\text{O}$  (*id.* pour  $\text{NO}_2^-$ ).

Enfin, ces résultats semblent ouvrir de nouvelles perspectives de recherche, outre celles précédemment évoquées. Nous en évoquerons une : nous avons pu constater que le sol B (tableaux 2-XXI et 2-XXIV, figures 2-27 et 2-28) présente toujours des vitesses de dénitrification élevées (voir également GERMON *et al.*, 1981) et des facteurs d'enrichissement isotopique faibles, inférieurs même à ce que prévoit la relation moyenne entre ces deux paramètres (figure 2-28), obtenue avec l'ensemble des sols étudiés. Ce sol B, très argileux, relativement riche en carbone organique est donc caractérisé par un faible fractionnement isotopique, à vitesse de dénitrification constante, par rapport à d'autres sols. Cette valeur de l'effet isotopique paraît refléter, pour ce sol, l'existence d'une différence dans un paramètre important, susceptible de gouverner la vitesse relative de l'une des étapes du processus : on peut en particulier penser au rôle du carbone organique réellement disponible comme donneur d'électrons, dont la teneur, dans ce sol, serait particulièrement élevée.

On peut donc envisager, à l'inverse, d'utiliser la mesure du fractionnement isotopique, pour un sol placé dans des conditions standard, comme indicateur de la quantité de carbone organique susceptible de contribuer efficacement à la fourniture d'électrons dans l'étape de réduction biologique des nitrates ou nitrites.

Il s'agit là peut-être d'une voie nouvelle, à défricher, pour la Science du Sol.

#### 2.3.5. - MESURE DU FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE AU COURS DU PROCESSUS DE DENITRIFICATION CHIMIQUE.

On sait que le terme dénitrification recouvre divers phénomènes de nature biologique, tels qu'on vient de les étudier, ou chimique. Nous avons voulu comparer les effets isotopiques obtenus sous contrôle biologique à ceux associés à un processus purement chimique.

De nombreux auteurs ont admis et démontré l'existence d'une dénitrification chimique dans les sols. NELSON et BREMNER (1969) ont étudié ce phénomène à l'aide de  $^{15}\text{N}$ .

Les mécanismes de réaction sont divers ; on peut citer :

- décomposition spontanée de l'acide nitreux en milieu acide,
- désamination nitreuse des amines aliphatiques en milieu acide,
- autodécomposition du nitrite d'ammonium,
- réduction des nitrites par des cations métalliques réduits.

C'est ce dernier processus qui sera examiné.

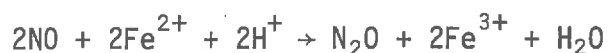
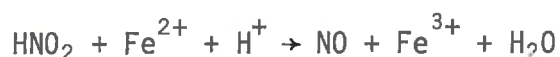
WULLSTEIN et GILMOUR (1964) soulignent le rôle de  $\text{Fe}^{2+}$  dans de tels processus. Dans des sols hydromorphes, réducteurs, ces ions  $\text{Fe}^{2+}$  se trouvent en quantités non négligeables et peuvent favoriser la réduction de  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{NO}_2^-$ . CHALAMET et BARDIN (1977) ont mis clairement en évidence, en laboratoire, la réduction des nitrites par les ions ferreux dans des sols hydromorphes d'étangs des Dombes, cette réduction pouvant se poursuivre à différents stades :  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2$ . Ces auteurs estiment toutefois que, dans les conditions naturelles, les formes dégagées doivent être l'hémioxyde d'azote et l'azote.

A) Matériel et méthode.

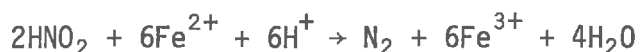
La mesure du fractionnement isotopique associé au processus de dénitrification chimique a été effectuée non pas sur des sols mais sur des solutions d'acide nitreux mises en présence d'ions ferreux.

CHALAMET (1973) a montré que la réduction de cet acide nitreux par les ions  $\text{Fe}^{2+}$ , sous atmosphère inerte à pH 5 aboutissait au dégagement d'un mélange de monoxyde d'azote,  $\text{NO}$ , d'hémioxyde,  $\text{N}_2\text{O}$  et d'azote. En fait deux processus sont simultanés :

(i) Production de  $\text{NO}$  réduit partiellement en  $\text{N}_2\text{O}$  :



(ii) Production de  $\text{N}_2$  par réduction directe de l'acide nitreux :



Cet auteur a également montré le rôle essentiel du pH dans cette réaction. A pH 5, il n'y a aucune décomposition spontanée de l'acide nitreux ( $2\text{HNO}_2 \rightarrow \text{NO} + \text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ ), alors que cette autodécomposition est déjà importante à pH 4.

Nous avons donc retenu les conditions expérimentales suivantes : à 25°C, sous atmosphère inerte, nous mettons en contact deux solutions préalablement soigneusement dégazées :

- une solution de nitrite de sodium,
- une solution de sulfate ferreux dissous dans un milieu tamponné de pH 5 (tampon acide acétique-acétate de sodium).

Ce mélange est effectué dans les proportions stoechiométriques : volumes égaux de solution de  $\text{NaNO}_2$  à 1,08 mg N/l et de solution de sulfate ferreux 0,07 M.

Le temps de réaction varie de 30 minutes à 5 heures, ce qui nous permet d'obtenir différentes valeurs de la fraction non réagie  $f$ .

Nous n'avons analysé que l'évolution chimique et isotopique du nitrite résiduel. Le calcul de l'effet isotopique porte donc uniquement sur l'évolution du réactif de la réaction.

B) Résultats.

Ils sont présentés sur la figure 2-31.

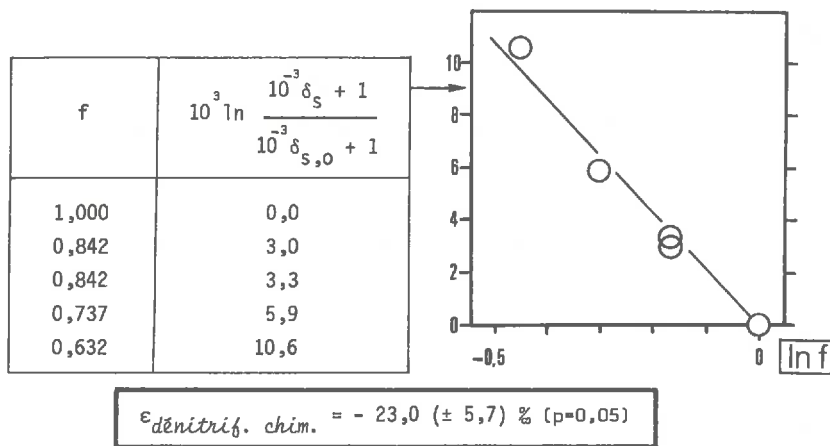


Figure 2-31 : Fractionnement isotopique associé au processus de dénitrification chimique ( $t = 25^\circ\text{C}$ ).

Le fractionnement isotopique associé au processus de dénitrification chimique produit donc un enrichissement isotopique de l'ordre de - 23 % à  $25^\circ\text{C}$ . Cette valeur est proche de la moyenne obtenue pour le processus de dénitrification biologique en milieu anaérobie, dans les sols.

Il est important de noter que le processus biologique peut, dans certaines conditions, s'accompagner d'un effet isotopique plus important que le processus chimique.

2.3.6. - EXEMPLE DE MISE EN EVIDENCE DE DENITRIFICATION *IN SITU* GRACE AU TRACAGE ISOTOPIQUE NATUREL.

A) Dénitrification au sein d'un puits.

Lors d'une étude (BEN HALIMA, 1977) sur l'origine des pollutions azotées dans un petit bassin versant expérimental de Brie, équipé par le C.T.G.R.E.F., nous avons effectué un suivi des teneurs en azote et des compositions isotopiques  $^{15}\text{N}$  d'un certain nombre de puits atteignant la nappe superficielle des limons de ce bassin. Les conditions hydrogéologiques seront détaillées dans le chapitre consacré à l'étude de ce bassin versant (chapitre 3, paragraphe 3-2-2-1).

Or, certains de ces puits ont présenté un comportement isotopique tout à fait particulier que nous allons évoquer.

Description du puits 57.

Sa position figure sur la planche 3-25. Il s'agit d'un puits à margelle en maçonnerie équipé d'une pompe à main. Le tube de prélèvement, qui plonge dans le puits, est en fer, fortement oxydé. Ce puits n'est que très irrégulièrement pompé car il ne sert pas à l'alimentation en eau potable.

Résultats.

L'ensemble des résultats figure sur le tableau 2-XXVI. Lors de deux prélèvements, il a été procédé à l'établissement d'un profil en oxygène dissous dans le puits (tableau 2-XXVII).

On constate donc sur ces tableaux, ainsi que sur la figure 2-32 que les variations de concentration en  $\text{N-NO}_3^-$  et de composition isotopique sont très importantes. On peut distinguer deux phases dans cette évolution :

- une phase où les concentrations en nitrates sont très faibles, comprises entre 0,2 et 4 mg N/l et le  $\delta^{15}\text{N}$  toujours supérieur à 9,3 ‰ ; pendant cette période, ainsi qu'on peut le constater sur la figure 2-32, la diminution des teneurs en  $\text{N-NO}_3^-$  est corrélative d'un très net enrichissement en  $^{15}\text{N}$  du nitrate,
- une phase (prélèvement du 15.03.1977) où la teneur en nitrate s'élève considérablement (20,1 mg N/l) et le  $\delta^{15}\text{N}$  s'abaisse à 6,3 ‰.

Or, entre le dernier prélèvement de la première phase (26 mai 1976) et le prélèvement du 15 mars 1977, le propriétaire du puits a retiré la pompe de prélèvement, rendue infonctionnelle par l'oxydation. Tout se passe donc comme si le retrait de cette pompe, d'une part s'accompagnait de l'augmentation des teneurs en nitrate, corrélative d'un abaissement du  $\delta^{15}\text{N}$ , d'autre part

entraînait une augmentation de la quantité d'oxygène dissous dans l'eau du puits ; entre le 26 mai 1976 et le 15 mars 1977, on constate (tableau 2-XXVII et figure 2-32) que la teneur en oxygène dissous a été multipliée par 10 à 150 cm de profondeur cependant que la valeur du  $\delta^{15}\text{N}$  passait de 31,3 à 6,3 ‰.

Date de prélèvement	Piézométrie (E m/sol)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	K <sup>+</sup> (mg/l)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ (‰)	Quantité de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> dans le puits (g)
21.11.75	0.68	1.8	2.1	14.7	4.7
15.12	0.90	3.4	1.7	9.2	8.3
23.01.76	0.85	1.7	2.1	12.8	4.3
25.02	0.90	3.7	2.0	9.3	9.0
17.03	1.05	2.5	2.1	12.2	5.9
21.04	1.28	1.0	2.1	20.7	2.1
26.05	1.63	0.2	1.6	31.3	0.4
15.03.77	1.40	20.1	-	6.3	41.0

Tableau 2-XXVI : Puits 57 (figure 3-25). Données piézométriques, chimiques et isotopiques au cours du temps.

Date d'analyse	Profondeur (cm)	Température (°C)	Oxygène dissous (mg/l)	Oxygène dissous (% de la saturation)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ (‰)
26.05.76	10	9.2	3.0	27.0	à 100 cm : 31,3
	50	9.0	2.0	17.8	
	60	9.0	0.95	8.5	
	70	9.0	0.95	8.5	
	150	9.0	0.7	6.3	
	200	8.7	0.3	2.7	
15.03.77	10	7.5	12.0	103	6.3
	50	7.2	8.8	75	6.3
	100	7.2	7.6	65	6.3
	150	7.2	7.6	65	6.4
	200	7.0	7.6	65	6.3

Tableau 2-XXVII : Profil d'oxygène dissous dans le puits 57.

### Discussion et interprétation.

Nous proposons à ces résultats l'interprétation suivante : durant la première phase on assiste à une dénitrification des nitrates liée à l'existence d'un milieu anaérobie, ou, au moins, très pauvre en oxygène : on peut penser que l'on est en présence :

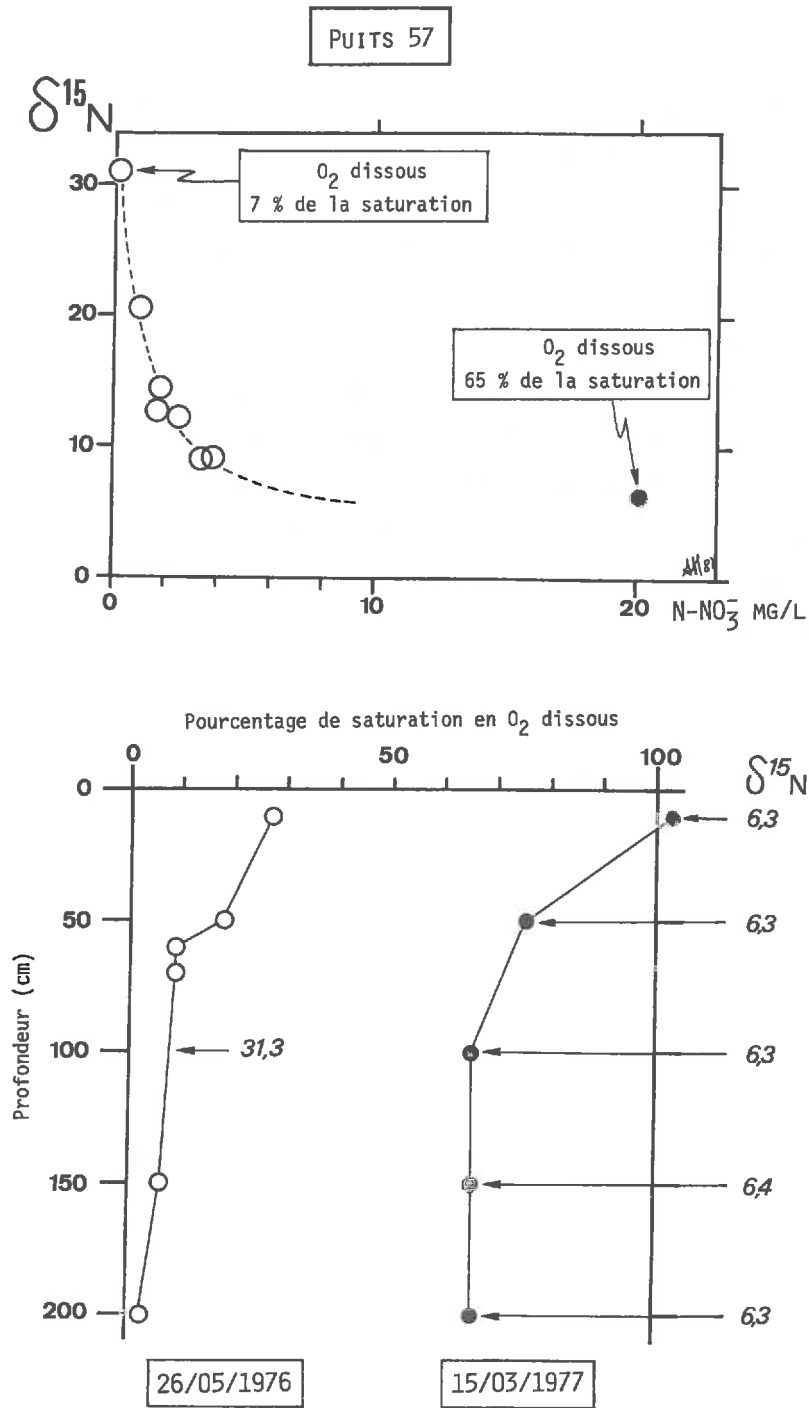


Figure 2-32 : + Evolution de la composition isotopique du nitrate dissous dans le puits 57 en fonction de sa concentration (en haut).  
 + Profil d'oxygène dissous dans le puits en mai 1976 et mars 1977.

(Les flèches situent les niveaux où des prélèvements ont été effectués en vue de l'analyse isotopique : les chiffres en italique donnent les valeurs de  $\delta^{15}N$  ‰ obtenues).

- soit d'une dénitrification chimique où l'ion  $Fe^{2+}$  jouerait le rôle de réducteur,
- soit d'une dénitrification biologique : l'activité des microorganismes dénitrificateurs pouvant débiter dans un milieu très pauvre en oxygène dissous. Dans cette alternative, la consommation de l'oxygène serait due à l'oxydation du fer de la pompe manuelle : elle pourrait être soit chimique (oxydation de  $H_2$  produit lors de la transformation  $Fe \rightarrow Fe(OH)_2$ ), soit biologique, notamment lors de la transformation  $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$  : les espèces bactériennes susceptibles de réaliser cette transformation sont abondantes : *Gallionella*, *Leptothrix*, *Sphaerotilus*, *Ferrobacillus* (MULDER, 1964). Il est même possible d'envisager une éventuelle réduction des nitrates par une bactérie capable d'oxyder en même temps le fer : POCHON et DE BARJAC (1954) ont isolé et décrit une bactérie oxydant le fer en anaérobiose, en réduisant parallèlement l'ion nitrate : ils l'ont appelé *Sporovibrio ferroxydans*.

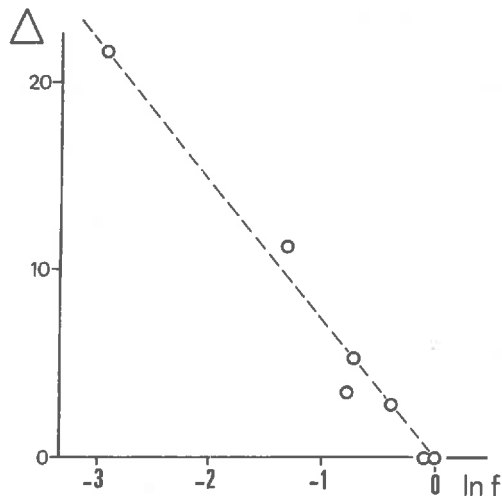


Figure 2-33 : Puits 57. Variation de  $10^3 \ln \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,O} + 1}$  ( $= \Delta$ ) en fonction de  $\ln f$  : la disparition du nitrate dans le puits s'accompagne d'un enrichissement isotopique suivant un processus de RAYLEIGH.



Si on porte  $\Delta^*$  en fonction de  $\ln f$  (figure 2-33) on constate que, pendant cette première phase, l'évolution isotopique du nitrate suit de façon très étroite un processus de Rayleigh il vient :

$$\Delta^* = - 0,43 - 7,64 (\pm 1,29) \ln f ; r = 0,989$$

$r$  est hautement significatif, l'ordonnée à l'origine non statistiquement différente de zéro. Ce résultat a été obtenu en prenant en compte l'évolution de la concentration en  $N\text{-NO}_3^-$  dans le puits. Si on prend, comme paramètre de l'évolution chimique, la quantité totale de  $N\text{-NO}_3^-$  dans le puits\*\*, le résultat obtenu n'est pas différent du précédent.

$$\Delta^* = - 0,22 - 7,11 (\pm 0,97) \ln f ; r = 0,993$$

Le coefficient de fractionnement isotopique du phénomène responsable de la disparition des nitrates paraît très nettement inférieur à ceux que nous avons déterminé soit pour la dénitrification chimique, soit pour la dénitrification biologique. *Toutefois il faut noter que ce fractionnement isotopique n'est qu'apparent* : si, dans le cadre de notre hypothèse, la dénitrification est due à un état d'anaérobiose lié à l'oxydation du fer de la partie immergée de la pompe, ce phénomène est strictement limité au volume du puits. Or ce volume n'est pas un volume fermé : il y a constamment réalimentation par l'eau de la nappe : ainsi, l'une des conditions nécessaires pour la détermination d'un fractionnement isotopique dans un processus de RAYLEIGH, à savoir que le réservoir doit être homogène et clos n'est pas remplie : dans le puits, au phénomène de dénitrification (disparition du nitrate) se superpose la "remise à l'équilibre" des teneurs en  $\text{NO}_3^-$  avec la nappe dans laquelle le puits est creusé : ceci s'accompagne de l'entrée de nitrate dans le système : ce nitrate doit présenter des caractéristiques proches de celles rencontrées le 15 mars 1977 en l'absence de la pompe en fer ( $\delta^{15}\text{N}$  : 6,3 ‰). Ainsi pendant la première phase, l'arrivée continue de nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  proche de 6 ‰ va-t-il provoquer

---

$$* \Delta = 10^3 \cdot \ln \frac{10^{-3} \delta + 1}{10^{-3} \delta_0 + 1}$$

\*\* Concentration  $N\text{-NO}_3^-$  x volume d'eau dans le puits.

l'abaissement de la composition isotopique du nitrate dans le puits et par voie de conséquence, induire l'abaissement de la valeur du fractionnement isotopique lié à la disparition, par dénitrification, des nitrates : l'effet isotopique mesuré est donc un effet apparent, associé à la superposition de deux processus antagonistes simultanés.

Un certain nombre de puits, sur le bassin de Mélarchez, présentent des évolutions semblables : ainsi deux puits voisins (référence unique : 69 ; figure 3-25) présentent-ils respectivement, le même jour de prélèvement, l'un, un  $\delta^{15}\text{N}$  de 9,3 ‰ avec un taux d'oxygène dissous de 40 % de la saturation, l'autre un  $\delta^{15}\text{N}$  de 31 ‰ avec un taux d' $\text{O}_2$  dissous de 7,1 % de la saturation. Ils sont équipés de pompes animées par éolienne.

Au contraire, les puits où des systèmes de prélèvement (pompes à main, éolienne) n'ont pas été installés ne présentent pas ces phénomènes (cf. puits 54, 65, 66, 78, tableau 3-XX, chapitre 3-2-2-I, figure 3-25).

Ces exemples semblent confirmer que ce phénomène de dénitrification puisse être lié à la présence d'un couple réducteur du fer.

#### B) Dénitrification au drainage de cases lysimétriques.

Lors d'un suivi régulier des compositions isotopiques des nitrates des eaux de drainage de certaines cases lysimétriques de la Station INRA de Châlons-sur-Marne, nous avons pu observer un phénomène susceptible d'être interprété en terme de dénitrification. Quatre cases ont été étudiées :

Case 1 : elle reçoit des eaux résiduelles de féculerie et porte des cultures (blé, betterave, pomme de terre : cf. chapitre 2-2, paragraphe 2-2-4).

Case 4 : cette case est engazonnée et non fertilisée.

Case 6 : elle est maintenue sans couvert végétal et sans fertilisation.

Case 8 : elle porte une rotation blé-betterave, avec un niveau moyen de fertilisation minérale azotée de  $130 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ .

Sur ces quatre exemples, on constate (cf. figure 2-34) que l'on assiste, à partir du mois d'avril, à un très net enrichissement en  $^{15}\text{N}$  des nitrates des eaux de drainage. Cet enrichissement paraît maximal au début juin. Or cette période correspond aux périodes de faibles écoulements précédant le tarissement du drainage. Sur la figure 2-35\*, nous avons reporté la

---

\* Représentant l'ensemble des résultats obtenus au cours des années hydrologiques 1975-1976 et 1976-1977.

composition isotopique des nitrates en fonction du débit liquide : dès que celui-ci devient inférieur à 100 ml/jour, on assiste à l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$ . Un certain nombre de points échappent à ce schéma : des nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$  sont transportés par de très faibles écoulements : en fait ceci ne correspond pas à des périodes d'arrêt de drainage mais au contraire à des périodes de reprise de drainage (en novembre ou décembre).

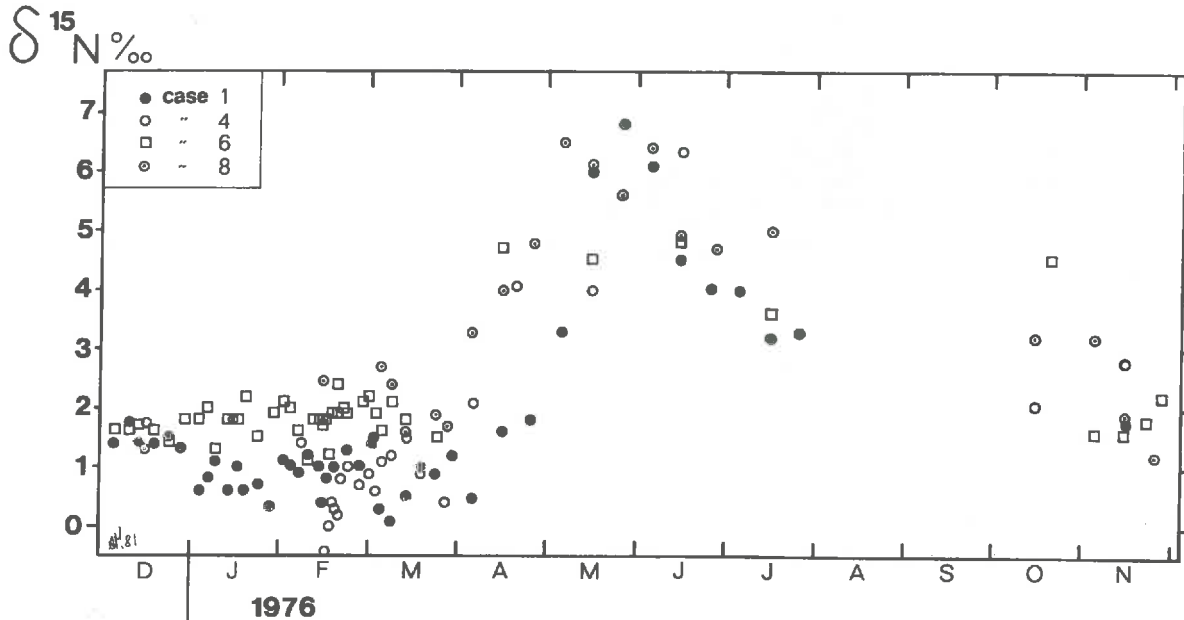


Figure 2-34 : Variation de la composition isotopique des nitrates au drainage de quatre cases lysimétriques de la station I.N.R.A. de Châlons-sur-Marne, lors d'une période de tarissement.

*La description des pratiques culturales des cases figure dans le texte.*

Ce comportement isotopique lié au comportement hydrodynamique n'est pas dépendant d'une pratique culturale ou d'un type de fertilisation : il prend place dans des cases cultivées ou non, fertilisées ou pas : il a donc une valeur générale.

Nous proposons l'interprétation suivante à ce phénomène : lors des périodes de très faibles écoulements précédant l'arrêt estival du drainage, le ralentissement des transferts de l'eau entraîne une *relative stagnation* favorable à l'installation d'une anaérobiose peut-être responsable de l'amorce d'un phénomène de dénitrification. Bien évidemment il ne peut s'agir ici que d'une hypothèse mais cette observation mérite un examen détaillé.

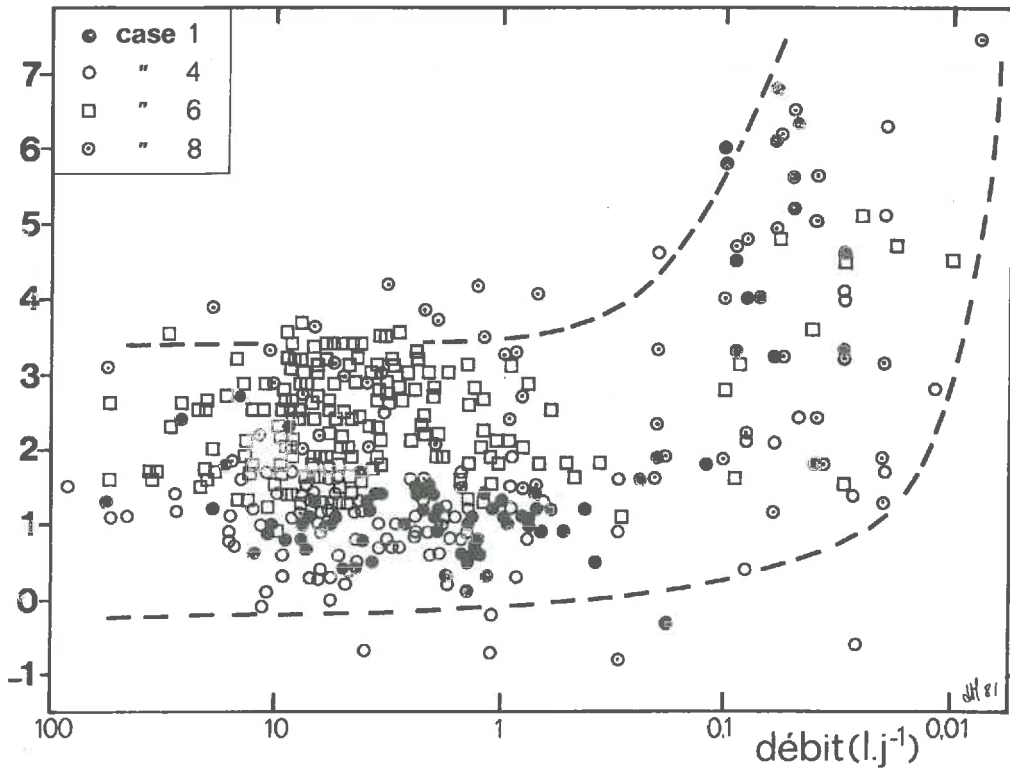


Figure 2-35 : Evolution de la composition isotopique de l'azote nitrique en solution en fonction du débit au drainage de quatre cases lysimétriques sur sol de type rendzine sur craie, station agronomique I.N.R.A. de Châlons-sur-Marne.

De tels enrichissements en  $^{15}\text{N}$  ont été observés par SHEARER *et al.* (1975) et M.C. DUTRIAUX (1980, cf. chapitre 3-2-3-I) dans les faibles écoulements estivaux d'un réseau de drainage (les  $\delta^{15}\text{N}$  s'élevant parfois au-delà de + 15 ‰ dans le travail de SHEARER *et al.*).

Ces deux exemples, dont le premier est convaincant, illustrent la potentialité du marquage isotopique naturel par  $^{15}\text{N}$  comme traçeur de sens d'évolution des systèmes.

## CHAPITRE 2

### 2.4. - FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE ASSOCIE A L'ABSORPTION DES NITRATES PAR LES VEGETAUX CHLOROPHYLLIENS.



## 2.4. - FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE ASSOCIE A L'ABSORPTION DES NITRATES PAR LES VEGETAUX CHLOROPHYLLIENS\*.

Nous avons abordé cette étude par deux voies différentes :

- l'une *statistique*, qui consiste à mesurer les facteurs de fractionnement isotopique sur un grand nombre de plantes de différentes familles (38 non Légumineuses, 4 Légumineuses non inoculées) avec une durée de culture suffisamment longue (minimum 2 mois) pour s'affranchir de l'apport d'azote des semences (effet graine). Une proportion importante de ces plantes a atteint le stade de floraison,
- l'autre *cinétique*, où nous avons étudié le comportement du fractionnement isotopique de la plante au cours de la première partie de sa croissance qui voit le passage de l'hétérotrophie à l'autotrophie. Pour cette étude nous avons retenu essentiellement le Mil, *Pennisetum americanum* 23 DB en raison de l'examen parallèle de l'activité nitrate-réductase des racines et des feuilles de cette espèce au cours de leur développement (NGAMBI, 1979). En corollaire, nous avons également envisagé l'influence de la concentration en nitrate de la solution nutritive sur le fractionnement isotopique.

### 2.4.1. - ETUDE A CARACTERE STATISTIQUE : MESURE DU FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE A L'ABSORPTION SUR DES PLANTES A MATURITE.

#### A) Matériel et méthodes.

Les conditions expérimentales de culture ont été les suivantes :

Les plantes ont été cultivées en serre dans des pots en matière plastique d'une contenance de 5 litres, remplis de perlite (Perlisol-La Perlite et la Vermiculite, Nanterre) reposant sur un lit de gravier. La solution nutritive a été la suivante :  $\text{KNO}_3$  :  $2 \cdot 10^{-3} \text{M}$  ;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  :  $3 \cdot 10^{-3} \text{M}$  ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  :  $0,6 \cdot 10^{-3} \text{M}$  ;  $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$  :  $1,2 \cdot 10^{-3} \text{M}$  ;  $\text{Fe}^{+++}$  : 10 mg/l (sous forme de Sequestrène 138 Fe, Geigy) ;  $\text{MnSO}_4, \text{H}_2\text{O}$  :  $10 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  :  $30 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$  :  $1 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$  :  $1 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$  :  $0,3 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2, 6\text{H}_2\text{O}$  : traces.

---

\* MARIOTTI *et al.* (1980) ; MARIOTTI *et al.* (1982).

Les plantes ont été cultivées au printemps et en été, sous conditions de lumière naturelle.

L'arrosage a été réalisé automatiquement en fonction des besoins des plantes, estimés par la mesure en continu de l'évapotranspiration. Les semis ont été effectués le 2.5.1978 à raison d'un seul pot par espèce. Le nombre de plantes par pot et la date de récolte sont donnés dans le tableau 2-XXVIII pour chaque espèce cultivée ; seules les parties aériennes ont été récoltées, à l'exception de *Raphanus sativus* et *Daucus carota* pour lesquels les systèmes racinaires ont également été prélevés. Les tissus ont été séchés, broyés et homogénéisés.

Quatre espèces de Légumineuses ont été cultivées du 27.7 au 25.9.77, à raison de trois répétitions par espèce, dans des conditions identiques, sauf le support, la perlite ayant été remplacée par du sable stérilisé.

Dans ces deux séries d'expériences, l'azote a donc été apporté uniquement sous forme nitrique. La culture a été faite en solution coulante, la fréquence d'apport de la solution étant fonction de la croissance des plantes et de la quantité d'eau évaporée. La fréquence a été suffisamment élevée pour que la quantité d'azote présente à chaque instant dans le milieu puisse être considérée comme très grande par rapport à la quantité absorbée par la plante, ceci afin de limiter les "effets de réservoir" qui altèrent les valeurs de l'enrichissement isotopique. Il est à noter que les milieux de culture ne sont pas stériles. Aussi l'éventuel développement de microorganismes dans le système est susceptible d'introduire un fractionnement isotopique que nos mesures prendront en compte, sans pouvoir le quantifier.

## B) Résultats.

Ils figurent :

- + pour les non Légumineuses sur le tableau 2-XXVIII et la figure 2-36 ;
- + pour les Légumineuses non inoculées sur le tableau 2-XXIX.

On constate que les valeurs trouvées pour la composition isotopique des plantes non Légumineuses sont groupées autour de la valeur de la composition isotopique de l'azote de la solution nutritive et que seulement quatre valeurs s'en écartent de plus d'une unité  $\delta$ . Le fractionnement à l'absorption du nitrate serait donc, pour la majorité des plantes étudiées, nul ou très faible. Il pourrait, pour quelques plantes seulement, être significatif.

On obtient pour le tableau 2-XXVIII la valeur moyenne :

$$\epsilon_{p/s} = - 0,25 \pm 0,65 \%$$



Famille	Plante	Nombre de pieds	Date de la récolte	Poids sec (g)	Floraison	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\epsilon$
Graminacées.....	<i>Zea mays</i> L.	3	23/06	114	F	3,4	-0,1
	<i>Avena sativa</i> L.	14	13/06	49	F	2,8	-0,7
	<i>Hordeum vulgare</i> L.	16	13/06	50	F	2,7	-0,8
	<i>Pennisetum americanum</i> K. Schum.	12	02/08	148	F	3,5	0,0
Liliacées.....	<i>Sorghum vulgare</i> Pers.		20/06			3,2	-0,3
	<i>Allium porrum</i> L.	11	02/08	22		3,1	-0,4
Urticacées.....	<i>Urtica urens</i> L.	5	13/06	20	F	3,4	-0,1
Polygonacées.....	<i>Rumex acetosa</i> L.	4	04/07	37		3,8	+0,3
Euphorbiacées....	<i>Ricinus communis</i> L.	1	23/06	43	F	3,3	-0,2
Caryophyllacées...	<i>Gypsophila</i> sp.	97	09/06	24	F	2,8	-0,7
Papavéracées.....	<i>Eschscholtzia californica</i> Scham.	33	20/06	31	F	3,3	-0,2
Crucifères.....	<i>Raphanus sativus</i> L.	18	19/05	10		2,8	-0,7
	<i>Brassica oleracea</i> L.	4	04/07	101		3,5	0,0
	<i>Brassica napus</i> L.	5	04/07	109		3,6	+0,1
Œnothéracées.....	<i>Clarkia elegans</i> Dougl.	9	20/06	78	F	3,7	+0,2
Linacées.....	<i>Linum usitatissimum</i> L.	15	13/06	29	F	1,3	-2,2
Tropaeolacées....	<i>Tropaeolum majus</i> L.	4	20/06	65	F	3,2	-0,3
Ombelliféracées...	<i>Petroselinum sativum</i> Hoffm	140	20/06	16		2,7	-0,8
	<i>Apium graveolens</i> L.	5	10/08	20		3,8	+0,3
	<i>Cerofolium sativum</i> Bess.	76	20/06	30	F	3,4	-0,1
	<i>Daucus carota</i> L.	2	20/06			2,4	-1,1
Polemoniacées....	<i>Cobaea scandens</i> Cav.	5	02/08	113	F	3,4	-0,1
Borraginacées.....	<i>Myosotis alpestris</i> Sch.	12	23/08	36		3,4	-0,1
Solanacées.....	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	4	13/06	48	F	4,0	+0,5
	<i>Capsicum annuum</i> L.	6	22/06			4,5	+1,0
Labiées.....	<i>Mentha piperata</i> L.	6	10/08	39		3,5	0,0
	<i>Salvia officinalis</i> L.	3	10/08	47	F	3,0	-0,5
Valérianacées.....	<i>Valeriana</i> sp.	33	22/06			3,8	+0,3
Cucurbitacées.....	<i>Citrullus vulgaris</i> Schrader	2	26/06	26	F	3,0	-0,5
	<i>Cucumis melo</i> L.	3	13/06	25	F	3,4	-0,1
	<i>Cucumis sativus</i> L. (Concombre)	2	13/06	51	F	3,6	+0,1
	<i>Cucumis sativus</i> L. (Cornichon)	6	13/06	47	F	3,9	+0,4
	<i>Cucurbita Pepo</i> L.	2	13/06	60	F	3,7	+0,2
Composées.....	<i>Lactuca sativa</i> L.	3	05/06	10		1,8	-1,7
	<i>Tagetes patula</i> L.	12	08/06	13	F	3,0	-0,5
	<i>Helianthus annuus</i> L.	2	23/06	94	F	3,8	+0,3
	<i>Dahlia</i> sp.	1	02/08	59		4,1	+0,6
	<i>Aster</i> sp.	2	02/08	7		1,8	-1,7

$\bar{m}$	-0,25
$\sigma$	0,65

Tableau 2-XXVIII : Composition isotopique et facteur d'enrichissement isotopique ( $\epsilon$ ) de non Légumineuses (organes aériens) cultivées sur solution nutritive azotée ( $\text{NO}_3^-$ ) de composition isotopique constante :  $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^- = 3,5 \text{ ‰}$ .

Lorsque le stade de floraison de la plante a été atteint, un "F" est porté dans la colonne Floraison. Les semis ont été effectués le 2.5.1979.

Reproduit de MARIOTTI et al., *Physiol. Vég.*, 1980).

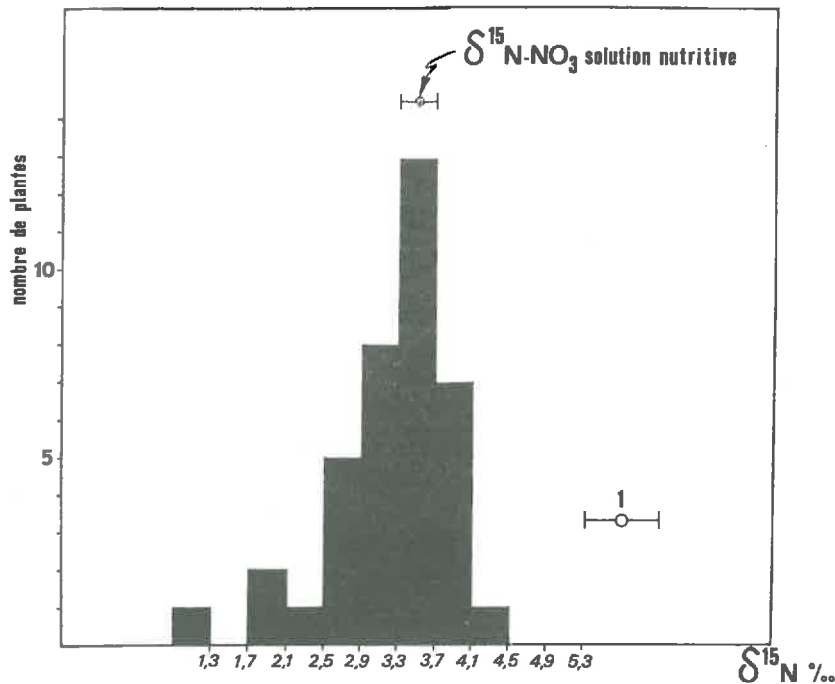


Figure 2-36 : Histogramme donnant la répartition des compositions isotopiques de 38 plantes non Légumineuses cultivées sur solution nutritive azotée ( $\text{NO}_3^-$ ) de composition isotopique constante : 3,5 ‰.

Seuls les organes aériens ont été analysés. 1, barre d'erreur analytique sur la mesure de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$  des végétaux. La composition isotopique de la solution nutritive est indiquée avec sa barre d'erreur. MARIOTTI et al., 1980.

Les valeurs trouvées pour le fractionnement isotopique réalisé par les Légumineuses non inoculées sont du même ordre de grandeur mais on peut remarquer, grâce aux répétitions effectuées, que la variation est importante (elle peut atteindre 1,4 ‰). Nous pensons que ceci peut provenir des conditions de culture sur substrat solide : malgré l'écoulement permanent de la solution nutritive, il est possible que se créent au sein du substrat des micromilieus à faible taux de renouvellement de l'azote : ce type de culture rend plus difficile le maintien d'une condition nécessaire à ces expériences : le caractère infini du réservoir d'azote\*. Toutefois ces variations pourraient être dues également à la variabilité naturelle des plantes.

\* Tel que nous l'avons par exemple pour l'étude du processus de fixation de l'azote atmosphérique.

Plante	Variété	I	II	III	IV
<i>Medicago sativa</i> L.....	Mireille	27,6	27,9	-0,3	-0,7
		27,1	27,9	-0,8	-0,5
		26,2	27,9	-1,7	-1,9
<i>Trifolium pratense</i> L.....	Alpilles	27,5	27,9	-0,4	-0,2
		27,7	27,9	-0,2	-0,4
		27,0	27,9	-0,9	-0,4
<i>Lupinus luteus</i> L.....	Sulfa	27,5	27,9	-0,4	-0,6
		27,2	27,9	-0,7	-0,8
		27,4	27,9	-0,5	-0,8
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.....	Hodgson	28,3	27,9	+0,4	+0,5
		28,2	27,9	+0,3	+0,3
		28,0	27,9	+0,1	+0,5

Tableau 2-XXIX : Composition isotopique et facteur d'enrichissement isotopique de Légumineuses non inoculées cultivées sur solution nutritive azotée ( $\text{NO}_3^-$ ) de composition isotopique contrôlée. Seuls les organes aériens ont été analysés. Pour chaque espèce les différentes valeurs correspondent à des lots différents.

I, composition isotopique de la plante exprimée en  $\delta^{15}\text{N}$  versus  $\text{N}_2$  atmosphérique ;

II, composition isotopique de l'azote du substrat :  $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  versus  $\text{N}_2$  atmosphérique ;

III, facteur d'enrichissement isotopique (I-II) ; IV, composition isotopique de la plante mesurée par rapport à celle de l'azote du substrat prise comme référence :

$$\text{IV} = \delta^{15}\text{N}_{\text{plante vs N}_{\text{substrat}}} = \left[ \frac{R_{\text{plante}}}{R_{\text{substrat}}} - 1 \right] \cdot 1000$$

Les mesures ainsi effectuées donnent directement le facteur d'enrichissement isotopique entre l'azote du substrat et celui de la plante : on constate le bon accord, aux erreurs de mesure près, entre ces valeurs et celles obtenues indirectement en III (le coefficient de corrélation entre III et IV est  $r = 0,931$ , significatif à  $P < 0,01$ ).

Extrait de MARIOTTI et al., 1980.

Seule la composition isotopique de la Luzerne diffère significativement ( $p < 0,05$ ) de celle de la solution nutritive ; cette plante réaliserait donc un fractionnement isotopique  $\epsilon_{p/s} = -1\%$  significatif.

De ces résultats on peut donc conclure que le fractionnement isotopique global entre  $\text{N}-\text{NO}_3^-$  et l'azote organique de végétaux supérieurs à un stade avancé de leur croissance est nul ou très faible ( $\epsilon \leq -2,3\%$ ).

KOHL et SHEARER (1980) publient des résultats en désaccord relatif avec les nôtres. Ils obtiennent sur trois exemples (soja non inoculé, *Lolium perenne* (L), *Tagetes erecta* (L)) des facteurs d'enrichissement isotopique  $\epsilon_{p/s}$  voisins de - 4,5 ‰.

Toutefois on peut remarquer que les résultats qu'ils obtiennent sont très variables selon l'époque de l'analyse, ainsi qu'on peut le noter sur le tableau suivant :

Jours après le semis	$\epsilon_{p/s}$ ‰	
	<i>L. perenne</i>	<i>T. erecta</i>
23	- 6.7	- 6.1
33	- 5.5	- 4.4
43	- 4.5	- 3.9
51	- 5.1	- 4.9
65	- 1.9	- 3.1
$\bar{m}$	- 4.7	- 4.5

On note en particulier une nette tendance à la diminution du fractionnement isotopique au cours du temps.

Enfin, il faut rappeler les résultats de MIYAKE et WADA (1967), qui observent sur les côtes du Japon que la composition isotopique du nitrate dissous (7 ‰) est très voisine de celle du phytoplancton et des végétaux supérieurs marins. De même, SWEENEY *et al.* (1976) observent que le plancton de la côte de Californie présente un  $\delta^{15}N$  moyen de 9 ‰, proche de la valeur du nitrate dissous (8 à 9 ‰). Dans ces deux cas, il apparaît que le fractionnement isotopique à l'assimilation par le phytoplancton est faible ou nul, ce qui va dans le sens de nos résultats.

#### 2.4.2. - ETUDE CINÉTIQUE : FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE D'UNE PLANTE AU COURS DE LA PREMIÈRE PARTIE DE SA CROISSANCE.

##### A) Matériel et méthode.

L'étude du suivi du fractionnement isotopique au cours des premières étapes de l'absorption a été effectuée sur un Mil (*P. americanum* 23 DB). Après

imbibition des semences sur gaze humidifiée par de l'eau distillée, les semences germées sont repiquées dans les perforations d'une plaque circulaire qui constitue le couvercle d'un pot contenant le milieu de culture liquide. Ce milieu ( $\text{KNO}_3 : 2,7 \cdot 10^{-3} \text{M}$  ;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 : 4,6 \cdot 10^{-3} \text{M}$  ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4 : 1 \cdot 10^{-3} \text{M}$  ;  $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O} : 1,1 \cdot 10^{-3} \text{M}$  ;  $\text{Fe}^{+++} : 0,1 \text{ m\acute{e}q/l}$  (sous la forme d'EDTA ferrique) ;  $\text{MnSO}_4, \text{H}_2\text{O} : 10 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{H}_3\text{BO}_3 : 50 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O} : 1 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}, 4\text{H}_2\text{O} : 12 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O} : 0,5 \cdot 10^{-6} \text{M}$  ;  $\text{KCl} : 40 \cdot 10^{-6} \text{M}$ ) contient donc 12 m\acute{e}q  $\text{NO}_3^-$  par litre dont la composition isotopique est de 30,6 %. Le volume de milieu par plante et la fréquence de son renouvellement sont tels que la concentration en nitrate et sa composition isotopique peuvent être considérées comme constantes. La culture est effectuée en jours longs (16 h/8 h) en chambre conditionnée à 27°C (jour)/22°C (nuit), sous 80 % d'humidité, avec un éclairage de 575 à 1000  $\mu\text{Einstein} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ . Un barbotage d'air continu, dans le bac de culture, évite les gradients de concentration des sels au niveau des racines et en permet l'aération.

Les plantes sont prélevées à 3,5,8,12,22 et 25 jours après imbibition et lyophilisées (à partir de 12 jours, les racines sont traitées indépendamment des organes aériens). La quantité d'azote nécessaire à la mesure isotopique implique de traiter environ 50 plantes à 3 jours. A 25 jours, deux plantes suffisent. En ce qui concerne les semences, la connaissance de leur contenu isotopique a nécessité le traitement de 80 grains. Sur ces échantillons, sont effectuées :

- les analyses de l'azote réduit (essentiellement protidique) par minéralisation avec  $\text{SO}_4\text{H}_2$  pur et catalyseur de DUMAZERT et MARCELET (ProLabo),
- les analyses d'azote total avec digestion pendant 24 h à la température ambiante en présence d'acide phénylsulfurique et de poudre de zinc, puis minéralisation avec catalyseur de DUMAZERT et MARCELET (BRUNEL, 1948). Les dosages de  $\text{NH}_4^+$  dans les minéralisats sont faits par la méthode de NESSLER (UMBREIT, BURRIS et STAUFFER, 1959).

## B) Résultats.

Nous montrons (tableau 2-XXX et figures 2-37 et 2-38) que la discrimination vis-à-vis de l'isotope  $^{15}\text{N}$  n'est pas constante au cours du temps. Sur le tableau 2-XXX figurent les résultats bruts et les valeurs obtenues par calcul, en corrigeant les teneurs en azote et les compositions isotopiques des plantes de l'apport des semences. Ces calculs ont été effectués en posant comme hypothèse que la totalité de l'azote du grain est passée dans la plante

(hypothèse non vérifiée, qui ne tient pas compte de phénomènes éventuels comme des exsudations d'azote par les grains par exemple). En tout état de cause, en ce qui concerne les compositions isotopiques, les valeurs de  $\delta$  obtenues sont des valeurs maximales : le calcul montre que dans l'hypothèse où tout l'azote de la semence ne passerait pas dans la plante, les valeurs corrigées de l'apport du grain devraient être plus basses et, partant, les fractionnements isotopiques encore plus importants.

	N total				N organique			
	N ( $\mu\text{g/plante}$ )	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N Corrigés de l'apport de la semence	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N ( $\mu\text{g/plante}$ )	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N Corrigés de l'apport de la semence	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Semence...	143	1,6						
3 jours								
F + R ..	273	6,7	130	12,3	226	4,9	83	10,6
5 jours								
F + R ..	449	14,9	306	21,1	324	11,1	181	18,6
8 jours								
F + R ..	472	18,2	329	25,4	329	14,4	186	24,2
12 jours...								
F.....	1 871	25,6			1 742	24,9		
R.....	356	21,9			377	22,3		
F + R ..	2 227	25,0	2 084	26,6	2 119	24,4	1 976	26,1
16 jours								
F.....	6 143	24,4			5 735	24,2		
R.....	1 055	21,0			1 092	20,6		
F + R ..	7 198	23,9	7 055	24,4	6 827	23,6	6 684	24,1
22 jours								
F.....	12 288	27,7						
R.....	2 348	25,4						
F + R ....	14 636	27,3	14 493	27,6				
25 jours								
F.....	19 830	27,9			15 110	28,7		
R.....	7 420	24,5			5 648	24,6		
F + R ..	27 250	27,0	27 107	27,1	20 758	27,6	20 615	27,8

Solution nutritive  $\text{KNO}_3$ .12 mM  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^- = 30,6$  ‰.

Tableau 2-XXX : Teneurs en azote total et organique (essentiellement protéique), composition isotopique de l'azote total et organique de *Pennisetum americanum* au cours des 25 premiers jours de sa croissance. On a fait figurer sur ce tableau les valeurs brutes et les valeurs corrigées de l'apport de la semence.

F + R, résultats obtenus sur organes aériens et racines mélangés ; F, résultats obtenus sur organes aériens ; R, résultats obtenus sur racines. Sur le tableau figurent la teneur en azote total et la composition isotopique de l'azote de la semence ainsi que la composition isotopique de l'azote ( $\text{NO}_3^-$ ) de la solution nutritive liquide, contrôlée pendant la durée de l'expérience.

Extrait de MARIOTTI et al., 1980.

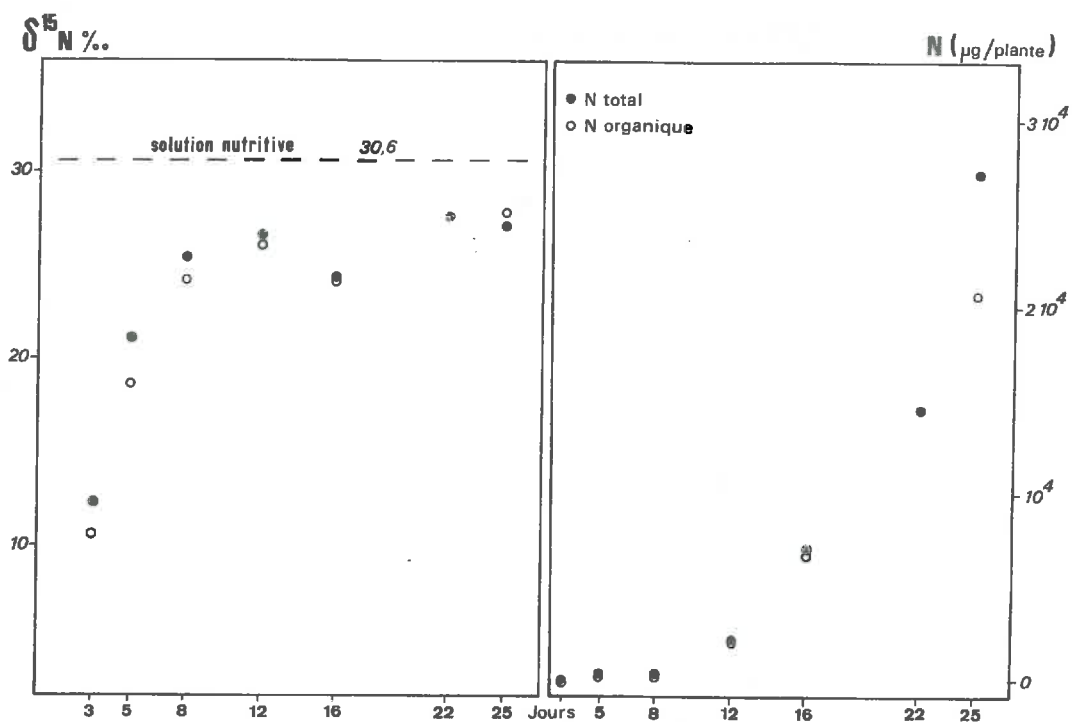


Figure 2-37 : Teneurs en azote total et organique, composition isotopique de l'azote total et organique (corrigée de l'apport de la semence) chez *Pennisetum americanum* cultivé sur solution nutritive azotée ( $\text{NO}_3^-$ ) de composition isotopique constante : 30,6 % pendant les 25 premiers jours de la croissance. Ces valeurs correspondent à la plante entière.

Pendant les 12 premiers jours, la croissance de la plante d'une part, l'absorption des nitrates et la synthèse protéique (assimilation) d'autre part, sont très lentes. Durant cette période, l'absorption des nitrates se fait avec un très fort fractionnement isotopique discriminant  $^{15}\text{N}$ . Il y a également fractionnement à l'assimilation puisque la composition isotopique de l'azote total (nitrique + protéique) est plus élevée que celle de l'azote organique (essentiellement protéique) (figure 2-37). Après 12 jours, la plante absorbe et assimile beaucoup plus vite les nitrates, il n'y a plus de fractionnement à l'assimilation (les compositions isotopiques de l'azote total et de l'azote organique sont les mêmes, aux erreurs de mesure près) et le fractionnement isotopique à l'absorption tend vers zéro, sans cependant l'atteindre à 25 jours. On sait toutefois qu'au bout de 92 jours (figure 2-38) tableau 2-XXVIII, ce fractionnement pour le Mil est nul en ce qui concerne les organes aériens.



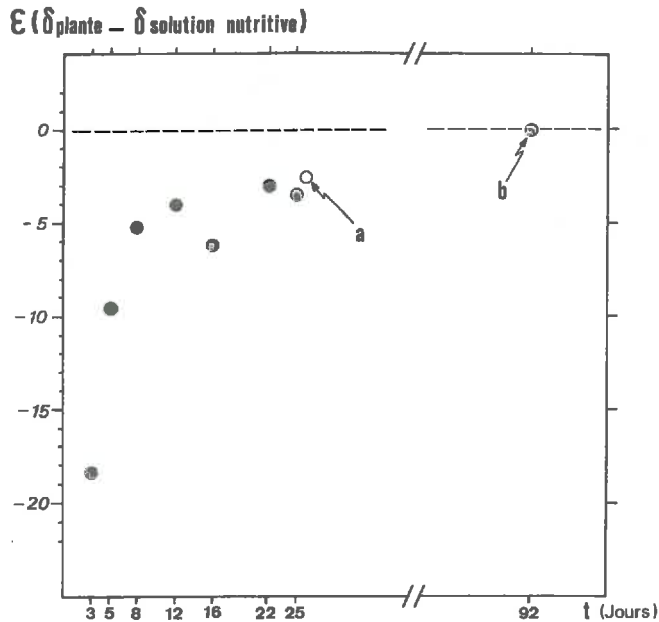


Figure 2-38 : Facteurs d'enrichissement isotopique ( $\epsilon$ ) à l'absorption des nitrates chez *Pennisetum americanum* au cours de sa croissance (pour les 25 premiers jours, les valeurs correspondent à la plante entière, organes aériens et racines. Pour le point à 92 jours (b), seuls les organes aériens sont pris en compte : ce point est discuté dans le texte).

a, valeur obtenue à 26 jours, sur *P. americanum* cultivé sur milieu à 12 m $\bar{e}$ q NO $\bar{3}$ /l (cf. tableau 2-XXXII, colonne  $\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$ , 9e ligne) ; b, valeur obtenue à 92 jours, sur *P. americanum* (cf. tableau 2-XXVIII).

On peut remarquer que, si l'on excepte le point représentatif de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$  à 16 jours dont la valeur paraît anormalement basse, les points représentatifs de la composition isotopique de l'azote total en fonction du temps exprimé en jours, s'ordonnent bien selon l'équation :

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{total}} = 51,5 t^{-1} + 30,5$$

qui tend asymptotiquement vers une valeur proche de celle de la solution nutritive (30,6 ‰). Le fractionnement isotopique  $\alpha_{p/s}$  tend vers 1 ( $\epsilon$  tend vers zéro), ce que l'on sait être vrai à 92 jours (figure 2-38). Enfin, nous pouvons remarquer la très nette différence de composition isotopique, pendant la phase de croissance initiale du Mil, entre organes : le fractionnement isotopique est alors plus important au niveau des racines que dans les feuilles, ce qui se traduit lors de cette expérience par des compositions isotopiques plus élevées de 2 à 4 ‰ dans les feuilles que dans les racines. Cette différence se maintient-elle au-delà des 25 premiers jours ? La mesure de la



composition isotopique des racines de Mil mené à 92 jours n'a pas été effectuée. Toutefois nous avons pu suivre, au champ, l'évolution de la composition isotopique des différents organes du Blé\*. Les résultats obtenus sur parcelle sans engrais (n° 1) et avec engrais NPK (n° 2) figurent dans le tableau 2-XXXI. On peut y constater le bon accord entre les valeurs de composition isotopique des racines et des tiges feuillées, au moins pour les stades de végétation précédant la maturité : cette dernière s'accompagne d'une redistribution isotopique entre tige feuillée et épi telle que la tige s'appauvrit très significativement en isotope lourd. Avec le Blé, on peut donc considérer que, sur des stades avancés de la croissance de la plante le fractionnement isotopique entre organes aériens et racines devient négligeable.

		Phase de végétation			
		Tallage 6/3/1977	10/5/1977	Épiaison 3/6/1977	Maturité 8/8/1977
Parcelle n° 1	Racine.....	- 1,6	1,9	1,1	1,4
	Tige feuillée.....	- 1,0	1,1	1,6	0,0
	Épi.....	-	-	1,0	1,0
Parcelle n° 2.	Racine.....	0,7	1,8	1,5	0,8
	Tige feuillée.....	1,3	1,9	1,8	- 0,5
	Épi.....	-	-	1,2	1,2

Tableau 2-XXXI : Composition isotopique des différents organes du blé cultivé au champ, au cours des diverses phases de la croissance de la plante.

En fait, dans l'expérience avec le Mil, on pourrait considérer que la différence de composition isotopique entre organes aériens et racines soit due à l'effet de la semence : le contenu en azote des racines est toujours plus faible et l'"effet réservoir" des grains dont la composition isotopique dans cette expérience est très basse par rapport à celle de la solution nutritive, peut jouer un rôle important dans ces organes. Cette objection tombe toutefois à 25 jours car on constate alors que le contenu en azote de la racine est tel que l'"effet réservoir" des grains est peu important, alors que la différence de composition isotopique entre organes aériens et racines est

\* Ces échantillons nous ont été confiés par M. le Professeur R. MOREL, de l'Institut National Agronomique. Nous l'en remercions vivement.

encore notable (3,4 %) : si on admettait alors que tout l'azote de la semence était passé dans la seule racine, celle-ci, corrigée de cet apport, aurait un  $\delta^{15}\text{N}$  de 24,9 %, les organes aériens étant alors à 27,9 %. Le fractionnement isotopique entre racines et organes aériens est donc un phénomène réel au début de la croissance, chez le Mil.

2.4.3. - INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN NITRATE DE LA SOLUTION NUTRITIVE SUR LE FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE.

Dans les conditions de culture décrites en A de 2-4-2, nous avons étudié l'effet de l'espèce et de la concentration en nitrate du milieu de culture sur le fractionnement isotopique. Pour cela, *P. americanum* 23 DB K. Schum. et *P. mollissimum* Hochst., sont cultivés dans les conditions précédemment définies pendant 26 jours sur milieux de concentrations croissantes en nitrate (0,5, 6,0 ou 12 méq/l). Les résultats figurent sur le tableau 2-XXXII et la figure 2-39.

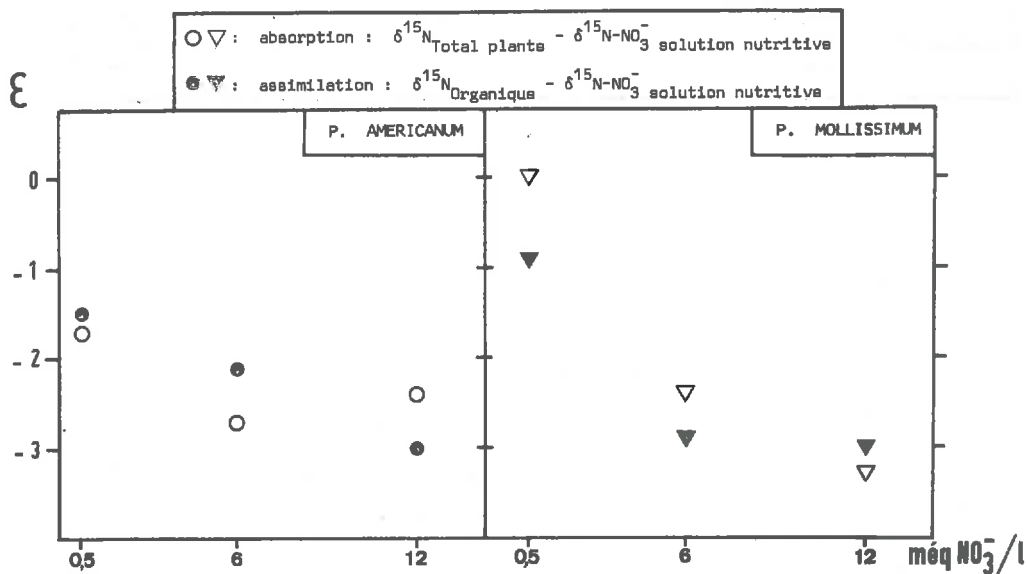


Figure 2-39 : Facteur d'enrichissement isotopique ( $\epsilon$ ) entre azote total ou azote organique de Mils (*Pennisetum americanum* et *P. mollissimum*) et azote nitrique de la solution nutritive versus concentration en nitrate de la solution nutritive. Les valeurs ne sont pas corrigées de l'effet du "grain". La récolte des plantes est effectuée à 26 jours. Les résultats portent sur la plante entière. MARIOTTI *et al.*, 1980.

méq NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l	Organe analysé	N total (µg/plante)	δ <sup>15</sup> N <sub>total</sub> (‰)	N organique (µg/plante)	δ <sup>15</sup> N <sub>organique</sub>
<i>P. americanum</i>					
0,5.....	F	1 730	28,9	1 630	29,0
	R	480	24,1	450	24,5
	F + R	2 210	27,9	2 080	28,0
6,0.....	F	2 250	27,6	2 090	27,6
	R	450	23,5	40	23,7
	F + R	2 700	26,9	2 130	27,5
12,0.....	F	2 890	27,7	2 470	27,0
	R	450	23,7	430	24,0
	F + R	3 340	27,2	2 900	26,6
<i>P. mollissimum</i>					
0,5.....	F	1 530	29,6	1 370	29,7
	R	377	29,8	300	24,1
	F + R	1 907	29,6	1 670	28,7
6,0.....	F	6 170	27,6	5 290	27,0
	R	500	22,8	490	23,1
	F + R	6 670	27,2	5 780	26,7
12,0.....	F	2 710	26,7	2 410	27,0
	R	470	23,8	470	24,3
	F + R	3 180	26,3	2 880	26,6

δ<sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> solution nutritive : 29,6 ‰.

Tableau 2-XXXII : Composition isotopique et teneur en azote total et organique de deux espèces de Mil (*P. americanum* et *P. mollissimum*) cultivées sur solution nutritive de concentrations différentes en azote (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) et de composition isotopique constante. Les plantes ont été cultivées pendant 26 jours.

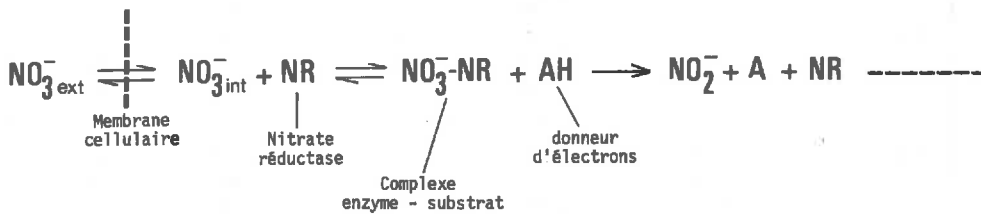
F, organes aériens ; R, racines ; F + R, plante entière (composition isotopique calculée par bilan).  
Reproduit de MARIOTTI et al., 1980.

Ces résultats n'ont pas de signification absolue car nous ne les avons pas corrigés ici de l'"effet réservoir" des grains : cependant des comparaisons entre essais à différentes teneurs en nitrate sont possibles. On remarque clairement que le fractionnement isotopique apparent (puisque non corrigé de l'apport de la semence) augmente nettement (figure 2-39) avec la teneur du milieu en nitrate et varie selon l'espèce considérée (*P. americanum* 23 DB ou *P. mollissimum*). Ici aussi l'"effet réservoir" des grains ne saurait être retenu pour expliquer ces variations de composition isotopique, car on constate que les fractionnements sont les plus faibles dans les plantes contenant le moins d'azote (donc avec les plantes où l'"effet réservoir" des grains est a priori le plus important) (tableau 2-XXXII).

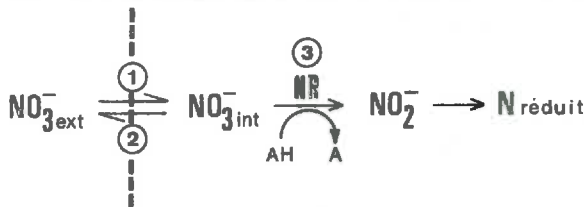
Dans cette expérience, il y a peu de nitrate résiduel dans les plantes et le fractionnement isotopique à l'assimilation est peu significatif.

2.4.4. - INTERPRETATION.

Nous proposons une interprétation de ces phénomènes de variation du fractionnement isotopique au début de la croissance du Mil basée sur l'activité de l'enzyme nitrate réductase (NR). En effet l'assimilation des nitrates peut être représentée par le schéma suivant :



que l'on peut simplifier en :



L'étape 1 est l'entrée du nitrate dans la cellule, 2 la sortie, 3 l'étape de réduction avec rupture d'une liaison N-O. Cette 3ème étape est susceptible d'être saturée lorsque tous les sites enzymatiques sont liés au substrat (cinétique de MICHAELIS-MENTEN).

Nous avons mesuré *in vitro* l'activité de la nitrate réductase (Laboratoire de Physiologie cellulaire végétale ORSAY) : un extrait enzymatique est préparé à partir des tissus frais broyés à basse température dans le tampon d'extraction, phosphate de potassium 5 m M, pH 8,5, + glutathion 1 m M, + caseine 0,1 %. L'activité N R. est mesurée par la quantité de nitrite formé dans le mélange réactionnel suivant : (32°C) phosphate 0,1 M, pH 7,5, NADH 0,5 m M, KNO<sub>3</sub> 0,1 m M et extrait. La capacité N R sera ici exprimée en μM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> réduit/h/plante. Ces mesures ont été effectuées sur *P. americanum* au cours de l'expérience décrite en 2-4-2. Elles ont été également effectuées sur un autre Mil *P. mollissimum*. Elles figurent sur les tableaux 2-XXXIII et les figures 2-40 et 2-41.

Age et organes analysés	Matière sèche mg/plante	$\epsilon_{\text{absorption}}$	$\epsilon_{\text{assimilation}}$	Activité N R
<i>P. americanum</i>				
• 3 jours F + R	5.7	- 18.3	- 20.0	59.4
• 5 jours F + R	6.3	- 9.5	- 12.0	325
• 8 jours F + R	6.9	- 5.2	- 6.4	543
• 12 jours F	30.0			1340
• 12 jours R	6.0			216
• 12 jours F + R	36.0	- 4.0	- 4.5	1556
• 16 jours F	108			3900
• 16 jours R	19			230
• 16 jours F + R	127	- 6.2	- 6.5	4130
<i>P. mollissimum</i>				
• 3 jours F + R	2.0		- 24.2	118
• 5 jours F + R	3.3	- 14.3	- 15.6	249
• 8 jours F + R	4.7	- 10.1	- 13.2	355
• 12 jours F + R	26.8	- 6.0	- 6.3	1910
• 16 jours F + R	64.0	- 5.8	- 7.5	5590

Tableau 2-XXXIII :  $\epsilon_{\text{absorption}} = \delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$  de la plante, corrigé de l'apport de la semence -  $\delta^{15}\text{N}$  de la solution nutritive.

$\epsilon_{\text{assimilation}} = \delta^{15}\text{N}_{\text{organique}}$  de la plante, corrigé de l'apport de la semence -  $\delta^{15}\text{N}$  de la solution nutritive.

L'activité de la nitrate réductase est exprimée en  $\mu\text{M NO}_3^-$  réduit/h/plante.

### Résultats.

L'activité N R est nulle dans le grain. La synthèse de l'enzyme augmente nettement dès le 3ème jour avec une inflexion entre le 8ème et le 12ème jour, l'activité N R augmentant de façon importante pendant cette période\*. On note corrélativement que la diminution du fractionnement isotopique suit l'augmentation de l'activité N R, l'inflexion de la courbe d'évolution du facteur d'enrichissement isotopique se situant également entre 8 et 12 jours.

\* Nous avons exprimé l'activité N R en nombre de moles de  $\text{NO}_3^-$  réduites/h/plante, on peut aisément calculer, d'après le tableau 2-XXXIII, cette activité en nombre de moles de  $\text{NO}_3^-$  réduites/h/gramme de tissu végétal. L'évolution de ces deux expressions au cours du temps est du même type.

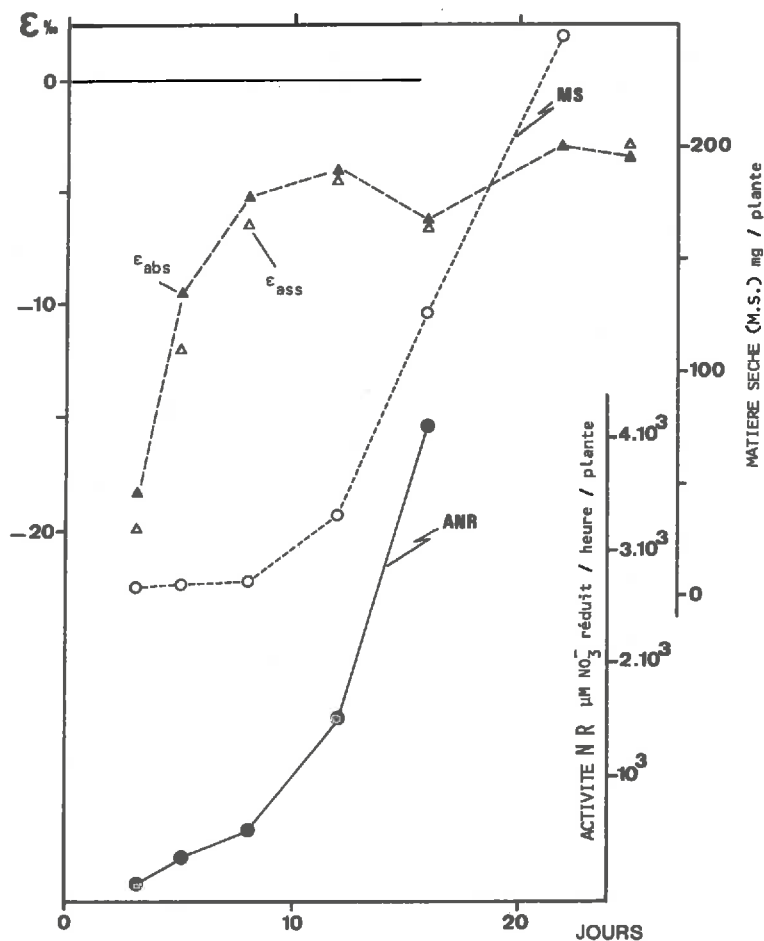
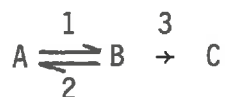


Figure 2-40 : ε<sub>absorption</sub>, ε<sub>assimilation</sub> (définis selon tableau 2-XXXIII), matière sèche et activité nitrate-réductase au cours des 16 premiers jours de la croissance de *P. americanum*.

Interprétation.

Le modèle proposé ci-dessus pour l'assimilation des nitrates, très semblable à celui de la dénitrification, peut être simplifié à :



Où A est le nitrate dans la solution nutritive, B le nitrate intracellulaire, l'azote organique de la plante. Si on fait l'hypothèse de l'équilibre dynamique :

$$\frac{dB}{dt} = 0 = k_1 A - (k_2 + k_3) B$$

$$B = \frac{k_1 A}{k_2 + k_3}$$

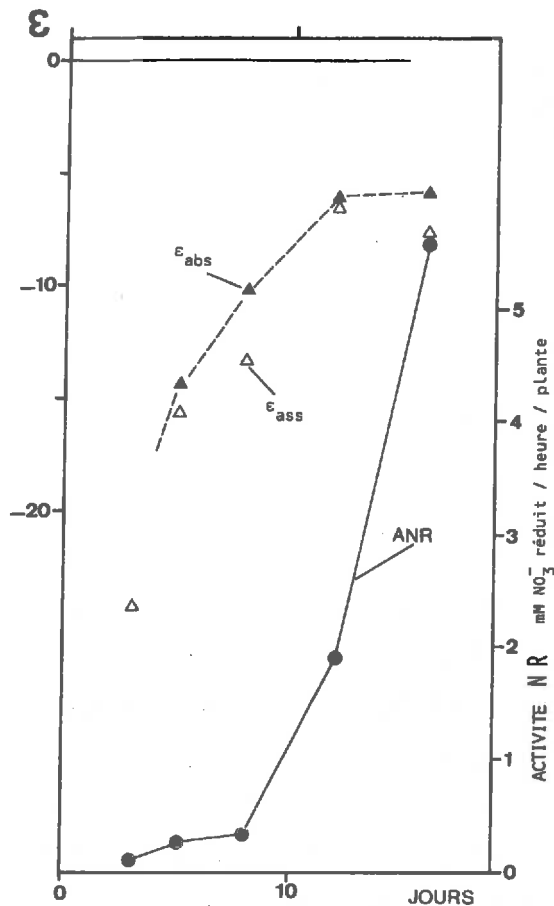


Figure 2-41 :  $\epsilon$  absorption,  $\epsilon$  assimilation et activité nitrate-réductase au cours des 16 premiers jours de la croissance de *P. mollissimum*.

Deux cas peuvent se présenter :

(i) l'étape 1 (entrée du nitrate dans la cellule) est limitante ; ceci se réalise quand  $k_3 \ll k_2$  ;

(ii) l'étape 3, de réduction, est limitante : dans ce cas  $k_2 \ll k_3$ .

- Quand l'étape 1 est limitante, le nitrate qui entre dans la cellule est immédiatement réduit : le taux de sortie du nitrate hors de la cellule sera très petit comparé à celui de la réduction : dans ce cas le seul fractionnement isotopique qui peut s'exprimer, c'est-à-dire se traduire par un enrichissement isotopique entre le produit et le substrat, sera celui associé à l'étape 1.

Ceci se déduit aisément des équations suivantes :

$$- \frac{dA}{dt} = \frac{dC}{dt} = k B = \frac{k_1 k_3 A}{k_2 + k_3}$$

Si l'astérisque\* se réfère à l'azote 15, le fractionnement isotopique observé entre produit et substrat est :

$$\alpha_{p/s} = \frac{d^*C}{dC} / \frac{*A}{A} = \frac{d^*A}{dA} / \frac{*A}{A} = \frac{d^*A}{A} / \frac{dA}{A}$$

Si l'étape 1 est limitante :  $k_2 \ll k_3$

$$- \frac{dA}{dt} = \frac{k_1 k_3 A}{k_3} = k_1 A$$

Le fractionnement isotopique observé (apparent) est :

$$\alpha_{p/s} = \frac{*k_1}{k_1}$$

Ce fractionnement isotopique est donc bien uniquement fonction des constantes de vitesse, pour les deux isotopes, de l'étape d'entrée dans la cellule. On peut *a priori* penser que ce fractionnement sera faible puisque cette étape ne s'accompagne pas de variations dans les liaisons chimiques de l'azote.

Lorsque, au contraire l'étape 3 est limitante, ce qui peut se produire par exemple lorsque tous les sites enzymatiques sont saturés, le taux de réduction devient petit devant celui du transport du nitrate hors de la cellule. Dans ce cas la réduction de l'étape 3 peut s'exercer sur le stock de nitrate intracellulaire et la conséquence du fractionnement isotopique sera un appauvrissement en  $^{15}\text{N}$  du produit : le fractionnement isotopique apparent sera donc très influencé par l'effet isotopique de l'étape 3, fractionnement important puisqu'associé à la rupture d'une liaison N-O.

Lorsque l'étape 3 est limitante,  $k_3 \ll k_2$

$$- \frac{dA}{dt} = \frac{k_1 k_3 A}{k_2}$$

$$\alpha_{p/s} \text{ apparent} = \frac{*k_1 *k_3 k_2}{*k_2 k_1 k_3}$$

Ce fractionnement isotopique est donc une fonction complexe des constantes de vitesse de réaction attachées aux 3 étapes possibles de la réaction globale.



Les données isotopiques présentées dans ce travail sur *Pennisetum* peuvent être analysées et interprêtées à la lumière de ce modèle.

Pendant les premiers jours de la vie de la plante, la croissance de la plante est lente, l'absorption de nitrate et la synthèse protéique sont lentes, l'activité NR faible. En dépit du faible taux d'absorption, l'étape 3 peut être limitante, par saturation de l'enzyme, par exemple. Dans ces circonstances, l'effet isotopique associé à l'étape de réduction peut s'exercer : le fractionnement isotopique apparent est élevé.

Puis une deuxième phase intervient, qui marque l'installation de l'autotrophie : l'activité Nitrate-réductase augmente considérablement. La réaction 3 cesse d'être saturée bien que le taux d'absorption augmente (probablement parce que l'activité nitrate-réductase augmente plus rapidement que l'absorption). La décroissance du facteur d'enrichissement isotopique (qui est nul à 92 jours pour *P. americanum*) indique que l'enrichissement isotopique associé à l'étape 1 peut être nul.

La variation du fractionnement isotopique avec la concentration en nitrate du substrat peut être également interprêtée selon ce modèle : si la concentration de  $\{NO_3\}_{ext.}$  est élevée, on peut raisonnablement penser que  $\{NO_3^-\}_{int.}$  est élevée, la totalité ou la majorité des sites enzymatiques est liée au substrat, le fractionnement isotopique de l'étape de réduction 3 s'exprime et le fractionnement global apparent est élevé. Lorsque la concentration de  $\{NO_3\}_{ext.}$  s'abaisse, on peut descendre en-dessous de la valeur de saturation de l'enzyme et le fractionnement apparent diminue avec la diminution de concentration du substrat.

On peut de même constater que la composition isotopique de l'azote des racines est toujours (cf. tableau 2-XXX) inférieur à celui des feuilles, ce qui pourrait indiquer l'existence d'un fractionnement isotopique dans les racines supérieur à celui réalisé dans la tige feuillée. On peut mettre ceci en corrélation avec le faible niveau d'activité NR au niveau des racines (tableau 2-XXXIII), faible niveau d'activité confirmé par le fait que la teneur en protéines des racines est plus faible que celle des feuilles ce qui semble traduire une assimilation de  $NO_3^-$  plus lente.

WADA et HATTORI (1978) proposent un modèle du même type pour l'interprétation des effets isotopiques lors de l'assimilation de nitrate par des diatomées marines. Ils étudient plus particulièrement *Phaeodactylum tricornutum*. Ils remarquent que lorsque la lumière est un facteur limitant de la croissance, le fractionnement isotopique au cours de l'assimilation des nitrates est inversement corrélé à la vitesse de croissance (cf. figure 2-42). Cette vitesse de croissance augmente avec l'éclairement jusqu'à une valeur de saturation de 10 000 lux.

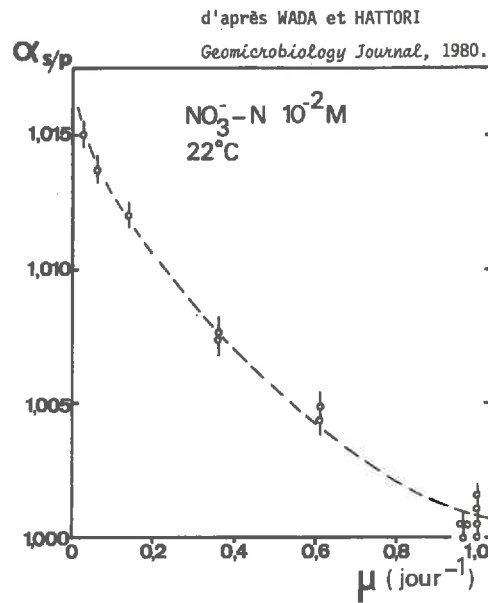


Figure 2-42 : Relation entre le facteur de fractionnement isotopique ( $\alpha_{s/p} = 1/\alpha_{p/s}$ ) associé à l'assimilation des nitrates et la constante de vitesse de croissance  $\mu$  (définie par  $N_t = N_0 e^{\mu t}$  où  $N$  est la concentration en cellules) chez *Phaeodactylum tricornutum*.

D'après WADA et HATTORI (1978).

De même ils observent une augmentation du fractionnement isotopique avec la concentration en nitrate du substrat. L'ensemble de ces phénomènes s'explique dans le cadre du modèle décrit ci-dessus.

Le niveau d'activité NR dans l'algue varie avec la lumière (cette activité est d'après WADA et HATTORI 5 fois supérieure dans la journée à sa valeur nocturne). A forte intensité lumineuse, le grand flux en électrons produit par la photosynthèse sert à élever le taux de donneur d'électrons (AH), immédiatement disponibles pour la réduction de  $\text{NO}_3^-$ . Les cellules qui se développent sous fort éclairement ont une vitesse de croissance élevée, disposent d'une grande quantité de donneur d'électrons (AH), ont donc un taux de réduction (étape 3) élevé, l'étape 1 a toutes les chances d'être limitante et le fractionnement isotopique sera faible, uniquement lié à celui de l'étape 1, l'entrée de  $\text{NO}_3^-$  dans la cellule : WADA et HATTORI l'estiment à 0,5 %. Ces auteurs observent également une augmentation de l'effet isotopique lorsque la concentration en nitrate du milieu nutritif augmente.

2.4.5. - CONCLUSIONS.

En supposant que notre hypothèse de travail est correcte, nous proposons la conclusion suivante.

L'assimilation des nitrates par les plantes requiert la réduction de l'ion  $\text{NO}_3^-$  et s'accompagne donc de la rupture d'une liaison N-O : le fractionnement isotopique associé devrait donc être important, tout à fait semblable à celui associé au processus de dénitrification.

Cependant, cet effet isotopique intrinsèque ne peut s'observer que sous des circonstances particulières, par exemple lors du passage de l'hétérotrophie à l'autotrophie, étudié chez le Mil. *Cet effet isotopique ne peut s'observer que dans les conditions où le rapport du substrat ( $\text{NO}_3^-$ ) à l'enzyme (nitrate-réductase) permet la saturation de la réduction enzymatique* : ceci peut se produire chez de très jeunes plantules lorsque leur activité Nitrate-réductase est faible ou éventuellement sur des plantules se développant sur un milieu nutritif riche en nitrate.

En fait, en accord avec notre hypothèse de travail, la variation de l'effet isotopique est due à une variation du taux relatif des étapes 2 et 3. Quand la vitesse de la réaction de l'étape 2 augmente relativement à celle de l'étape 3, on peut s'attendre à l'élévation de l'effet isotopique. La vitesse de la réaction de l'étape 3 est déterminée par la concentration du substrat azoté, de l'enzyme et de AH. La vitesse de l'étape 2 est, elle, uniquement contrôlée par la concentration du substrat à l'intérieur de la cellule. On doit donc s'attendre à ce que la vitesse de la réaction 3 s'abaisse relativement à celle de la réaction 2 lorsque la concentration en enzyme ou en AH limite l'étape 3. L'effet de saturation enzymatique peut être mis en avant uniquement si on est certain que tous les autres substrats (AH entre autre) sont présents en excès. Le fait que la concentration en enzyme augmente corrélativement à la décroissance de l'effet isotopique pendant la croissance, suggère, mais ne prouve pas, que la nitrate-réductase est saturée chez les plantes jeunes. Par exemple, il est possible que, même en présence d'un excès de la  $\text{NO}_3^-$ -réductase, l'étape 3 soit limitante par le fait que la plante ne puisse produire suffisamment de photosynthétats et donc fournir AH à un taux suffisant.

Tous les résultats sont cohérents avec l'hypothèse proposée dans l'expression mathématique développée ci-dessus. Si cette hypothèse est correcte, alors l'effet isotopique associé à l'entrée du nitrate dans la cellule ( $*k_1/k_1$ ) est quasi nul.

Ce résultat semble ne pas se limiter à l'exemple de plantes supérieures mais apparaît également généralisable aux algues phytoplanctoniques.

Ce modèle est tout à fait similaire à celui proposé pour la dénitrification (KOHL et SHEARER, 1978 ; MARIOTTI *et al.*, 1981).

Dans les conditions naturelles, les concentrations de nitrate sont usuellement basses et la valeur élevée de l'éclairement naturel diurne tend à rendre maximal la concentration en réducteur dans la cellule *via* le flot d'électrons fourni par la photosynthèse. Ainsi, dans les conditions naturelles on doit raisonnablement s'attendre à ce que l'entrée du nitrate dans la plante soit l'étape limitante : ces conditions tendront donc à minimiser l'effet isotopique associé à l'assimilation des nitrates par les plantes.

Ceci doit nous conduire à être très attentif à l'interprétation de mesures de fractionnement isotopique effectuées sur des plantes cultivées en serre : si l'intensité lumineuse délivrée par la lumière artificielle est insuffisante, on pourra se trouver en conditions limitantes de fourniture de donneur d'électrons lors de l'une des étapes de la réduction des nitrates et ainsi augmenter artificiellement la valeur du fractionnement isotopique par rapport à ce qu'elle eut été dans la nature. Peut-être peut-on expliquer ainsi les résultats contradictoires de KOHL et SHEARER (1980) cités au paragraphe 2-4-1-B : les cultures décrites dans ce travail sont réalisées en hiver, en serre sous une intensité lumineuse dont la valeur publiée, si elle est correcte, paraît faible.

## CHAPITRE 2

### 2.5. - FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE ASSOCIE AU PROCESSUS DE REORGANISATION.



## 2.5. - FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE ASSOCIE AU PROCESSUS DE REORGANISATION.

La réorganisation (ou immobilisation), transformation de l'azote minéral en azote organique, est le fait, dans le sol, des champignons et des bactéries. On estime que ce sont les champignons et les actinomycètes qui assurent la contribution majeure à la réorganisation de l'azote (ALEXANDER, 1961). D'autre part la forme préférentiellement assimilée est la forme ammoniacale, mais l'ion nitrate peut également l'être.

Nous étudierons tout d'abord l'effet isotopique associé à l'assimilation de  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NO}_3^-$  par des cultures pures de micro-organismes hétérotrophes. Puis nous étudierons le phénomène dans des sols placés dans des conditions où la réorganisation représente le maillon essentiel du cycle de l'azote.

### 2.5.1. - REORGANISATION PAR CULTURES PURES DE MICRO-ORGANISMES.

#### A) Introduction : données bibliographiques.

On dispose de très peu de données concernant le fractionnement isotopique associé à la réorganisation de l'azote minéral par les micro-organismes. Les seules disponibles figurent dans la publication de DELWICHE et STEYN (1970). Une bactérie (*Azotobacter vinelandii*) et trois champignons rencontrés dans les sols (*Hansenula californica*, *Pichia terricola*, *Schwanniomyces alluvius*) ont été cultivés sur milieu nutritif contenant de l'azote uniquement sous forme ammoniacale ( $\text{Cl NH}_4$ ).

Les cultures ont été poursuivies sur des temps très courts : ainsi la fraction assimilée du substrat est très faible et le fractionnement isotopique peut être calculé par le quotient du rapport isotopique de l'azote des micro-organismes à celui de l'azote du milieu nutritif. Les résultats figurent sur le tableau 2-XXXIV.

Espèce	Concentration en $\text{N-NH}_4^+$ dans le milieu de culture (mg/l)	f (fraction restante du substrat)	$\epsilon_{p/s}$ ‰
<i>A. vinelandii</i>	262	0.9750	- 14.5
<i>H. californica</i>	1308	0.9893	- 3.1
<i>P. terricola</i>	"	0.9942	- 1.8
<i>Sch. alluvius</i>	"	0.9884	- 1.1

Tableau 2-XXXIV : Réorganisation de l'azote par cultures pures de micro-organismes, conditions analytiques et facteurs d'enrichissement isotopique (d'après DELWICHE et STEYN, 1970).

Ainsi il apparaît que ces organismes assimilent préférentiellement  $^{14}\text{NH}_4^+$ , l'effet isotopique apparaissant important chez la bactérie, faible chez les champignons.

Ce sont là les seuls résultats connus à ce jour concernant ce phénomène. Nous allons présenter maintenant quelques résultats, préliminaires, obtenus au laboratoire : ils seront développés dans la thèse de 3ème cycle en préparation de Melle A. LECLERC (I.N.R.A. Dijon, Université Pierre et Marie Curie, Paris).

#### B) Micro-organismes utilisés.

Nous avons retenu des organismes hétérotrophes, champignons et bactéries n'exigeant pas de facteur de croissance spécifique, pouvant croître sur un milieu de culture simple, avec une seule source de carbone, dans le cas présent du glucose. Ce sont :

- champignons :
- . *Trichoderma viride*, souche n° 263 de la mycothèque du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, champignon imparfait.
  - . *Verticillium alboatrum*, champignon imparfait de la famille des Moniliacées, souche de la collection de la Station de Flore pathogène, I.N.R.A. Dijon.
  - . *Mucor sp.* Souche 427 de la mycothèque du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris.
- bactéries :
- . *Pseudomonas reptilivora*. Souche ATCC 13626 Institut Pasteur.
  - . *Bacillus megatherium*. Isolée du sol par KARKI et KAISER (I.N.A., Paris).

#### C) Mise en incubation.

Après fabrication d'un inoculum sur tube de milieu nutritif gélosé à partir des tubes de collection, les souches sont mises en culture en fioles de 250 ml, contenant 200 ml de milieu de culture liquide, dont la composition figure sur le tableau 2-XXXV.

Les incubations ont été réalisées à 24 ou 28°C.

Pour ce qui concerne les bactéries, la cinétique de l'assimilation a été suivie par le contrôle de la croissance de la culture grâce à la mesure de la turbidité.

On a procédé soit à un suivi cinétique de l'assimilation soit à un grand nombre de répétitions au bout d'un même temps de culture.

Dans les essais, la concentration initiale en azote varie de 310 à 380 mg/l, la valeur la plus fréquente est 340 mg N/l ( $2,4 \cdot 10^{-2}\text{M}$ ).



Composition des milieux de culture			
BACTERIES (KARKI et KAISER, 1979)		CHAMPIGNONS (milieu proposé par : MM. CHAUSSOD et NICOLARDOT Lab. Microb. Sols, INRA, DIJON)	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.2 g/l	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.5 g/l
NaHPO <sub>4</sub>	8.6 g/l	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.2 g/l
MgSO <sub>4</sub>	0.2 g/l	Solution saline *	5 ml/l
CaCl <sub>2</sub>	0.01 g/l	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (quelques ml pour abaisser le pH à 5,5)	
Glucose	10 g/l	N (nitrique ou ammoniacal)	= 0.34 g/l
Oligo-éléments	2 ml/l	* solution saline : MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	20.0 g/l
N (KNO <sub>3</sub> ou SO <sub>4</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> )	= 0.34 g/l	MnSO <sub>4</sub> , 4H <sub>2</sub> O	1.5 g/l
		FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0.7 g/l
		H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2000 ppm
		ZnSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	200 ppm
		CuSO <sub>4</sub>	80 ppm
		Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> , 2H <sub>2</sub> O	2500 ppm
		Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , 6H <sub>2</sub> O	1 ppm
		HCl pur (d = 1.16)	1 ml

Tableau 2-XXXV : Composition chimique des milieux de culture.

D) Résultats.

On en prendra connaissance sur les figures 2-43 et 2-44.

Les effets isotopiques sont calculés en prenant en compte l'évolution isotopique du substrat (sur les figures 2-43 et 2-44) :

$$\Delta = 10^3 \ln \left\{ \frac{(10^{-3} \delta_{S,0} + 1)}{(10^3 \delta_{S,0} + 1)} \right\}$$

En première approximation, on constate l'existence d'une *assimilation préférentielle de <sup>14</sup>N* et donc d'un enrichissement corrélatif en <sup>15</sup>N du substrat non assimilé. Toutefois il est évident que dans bon nombre d'expérimentations l'enrichissement isotopique du substrat ne varie pas linéairement avec ln f, ce qui signifie que le *fractionnement isotopique apparent varie (diminue) avec l'avancement de la réaction.*

a. - NH<sub>4</sub><sup>+</sup> comme substrat (figure 2-43).

Dans toutes les cultures réalisées sur ce substrat, le fractionnement isotopique diminue au cours de la réaction, ce phénomène semblant plus sensible chez les champignons que chez la bactérie (*P. reptilivora*) étudiée.

Chez cette dernière, l'effet isotopique est constant jusqu'à une concentration de  $1,6 \cdot 10^{-2} M$  et cet effet est très important ( $- 41,1 \pm 15,8 \%$ ). En deçà de cette concentration, le fractionnement isotopique décroît très nettement ( $- 11,6 \%$  de valeur moyenne entre  $1,6$  et  $0,4 \cdot 10^{-2} M$ ) sans que l'on puisse préciser, faute d'un nombre de points de mesure suffisant, l'allure

de cette décroissance avec l'avancement de la réaction : sur la figure 2-43, nous avons représenté deux cas extrêmes, théoriques, de cette variation.

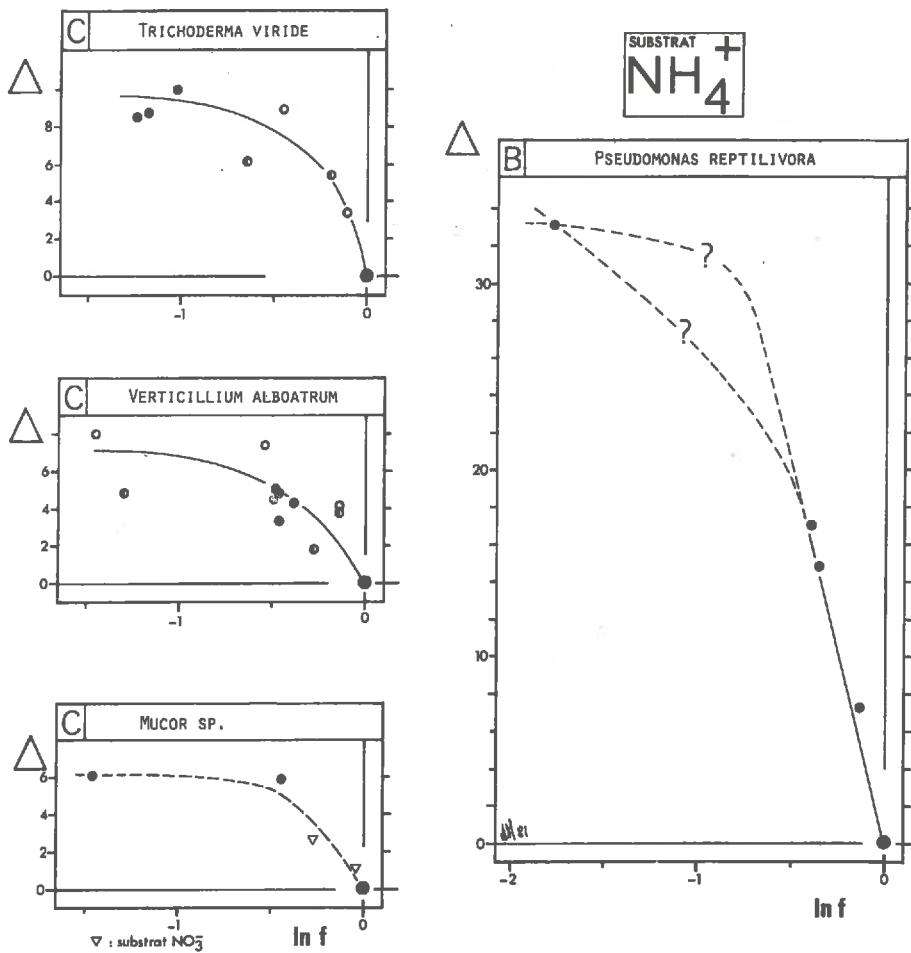


Figure 2-43 : Evolution de la composition isotopique du substrat ammoniacal en fonction de  $\ln f$  au cours de la réorganisation par des micro-organismes, bactéries (B) et champignons (C).

$$\Delta = 10^3 \ln \left\{ \frac{(10^{-3} \delta_{\delta} + 1)}{(10^{-3} \delta_{\delta,0} + 1)} \right\}.$$

Dans le cas de *Mucor sp.*, nous avons superposé sur la même figure les résultats obtenus avec  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$  comme substrat.

Pour les trois genres de champignon étudiés, le comportement est le même : le facteur d'enrichissement isotopique, pente de la courbe  $\Delta$  fonction de  $\ln f$ , est important au début de la réaction, puis diminue rapidement et tend vers zéro. Tout se passe comme si les points expérimentaux obtenus, placés sur les diagrammes  $\Delta - \ln f$ , s'alignaient grossièrement selon des fonctions de type hyperbolique :

$$\Delta = a + b/\ln f$$

Dans cette hypothèse, les valeurs de concentration en azote du substrat pour lesquelles cet enrichissement isotopique devient quasi nul se situent entre  $0,8$  et  $1,6 \cdot 10^{-2} M$ .

b. -  $NO_3^-$  comme substrat (figure 2-44).

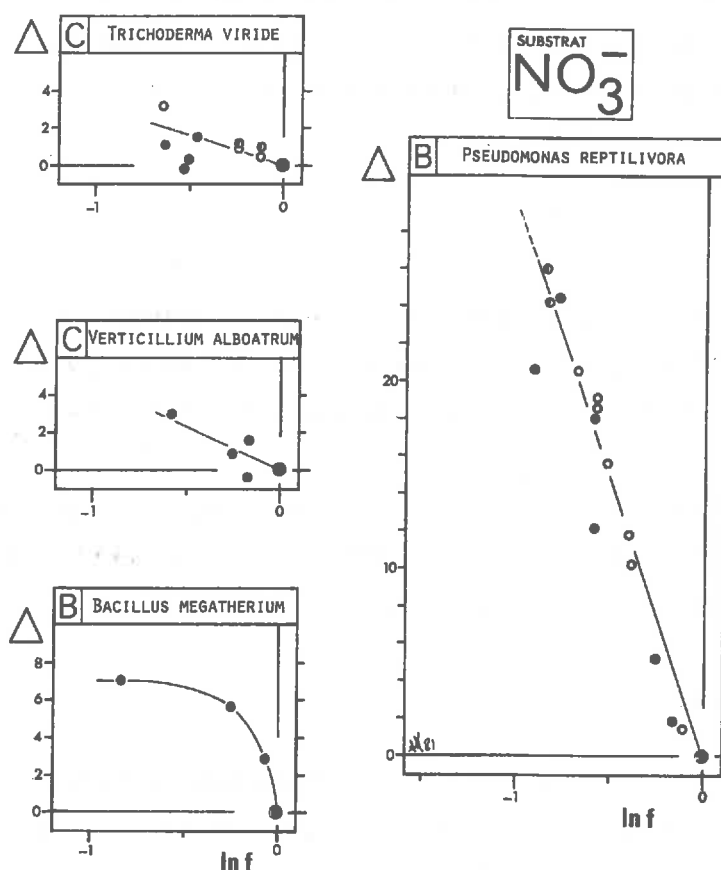


Figure 2-44 : Evolution de la composition isotopique du substrat nitrique en fonction de  $\ln f$ , au cours de la réorganisation par des micro-organismes, bactéries (B) et champignons (C).

$$\Delta = 10^3 \ln \left\{ \frac{(10^{-3} \delta_{\delta} + 1)}{(10^{-3} \delta_{\delta,0} + 1)} \right\}.$$

Les deux bactéries étudiées s'opposent totalement par leur comportement :

- l'assimilation des nitrates chez *P. reptilivora* s'accompagne d'un effet isotopique important ( $- 29,9 \pm 5,0 \%$ ) et constant avec l'avancement de la réaction, dans la gamme de concentration en N de  $2,4$  à  $0,9 \cdot 10^{-2} M$ .

- Au contraire, chez *B. megatherium* on observe que le fractionnement isotopique à l'assimilation décroît très rapidement avec l'avancement de la réaction : les points expérimentaux s'alignent sur une courbe d'allure hyperbolique. Le facteur d'enrichissement isotopique devient très faible ou nul pour des concentrations de N-substrat de l'ordre de  $1,4 \cdot 10^{-2} M$ .

Les résultats concernant les champignons ne permettent pas de tirer des conclusions semblables, l'état d'avancement de la réaction dans les deux cas étant insuffisant (jusqu'à une concentration en azote du substrat de l'ordre de  $1,2 \cdot 10^{-2} M$ ). Tout au plus peut-on dire que les effets isotopiques globaux apparents semblent peu importants :

*T. viride* :  $- 1,9 \pm 3,1 \%$

*V. alboatrum* :  $- 5,3 \pm 6,4 \%$

La faible précision obtenue est due à la grande variabilité des répétitions, variabilité qui, en outre, empêche de mettre en évidence un éventuel affaiblissement de l'effet isotopique au cours du déroulement de la réaction.

A la lumière de ces résultats préliminaires, il semblerait que le fractionnement isotopique associé à la réorganisation par les champignons soit plus faible que celui provoqué par les bactéries.

#### E) Interprétation.

Les résultats obtenus dans les paragraphes précédents, concernant la dénitrification et l'assimilation des nitrates par les plantes supérieures nous permettent de proposer des interprétations concernant les variations du fractionnement isotopique au cours de la réorganisation. Sur substrat nitrique, on peut penser que la variation de l'effet, observée chez *B. megatherium* puisse être due, entre autre, à la diminution de la concentration en substrat au cours de l'avancement de la réaction. Dans cette hypothèse, on peut penser qu'à forte concentration en ce substrat, ce qui est réalisé en début de croissance ( $N = 2,4 \cdot 10^{-2} M$ ), la concentration de saturation de l'enzyme catalysant l'étape de réduction est atteinte ou dépassée : la capacité de réduction n'est pas suffisante pour provoquer rapidement la réduction, cette étape du processus global d'assimilation devient saturante et le fractionnement isotopique associé à la rupture de la liaison N-O s'exprime (cf. paragraphes 2-3-3-C et 2-4-4). Toujours dans cette hypothèse simple, et toutes choses égales par ailleurs, la concentration du substrat diminue ; en-dessous de la concentration de saturation, le taux de réduction peut devenir plus important que le taux de sortie

du substrat de la cellule vers le milieu (ou le taux de décomplexation du complexe enzyme-substrat), l'étape limitante cesse d'être l'étape de réduction, et devient celle de l'entrée dans la cellule (ou de la complexation avec l'enzyme nitrate-réductase) : cette étape qui n'est marquée d'aucune variation dans les liaisons chimiques de l'azote ne doit pas présenter d'effet isotopique important et on observe alors la diminution, dans ce cas très rapide, de l'effet isotopique observé.

Il semble que cette concentration de saturation puisse être différente selon les espèces étudiées ce qui peut expliquer les résultats obtenus pour les autres micro-organismes, notamment *P. reptilivora*.

Ce modèle est cohérent mais trop simplifié : on ne peut en effet préjuger, pour expliquer la saturation de l'étape de réduction, du rôle respectif : de la concentration en substrat, précédemment envisagée, de la concentration de l'agent réducteur AH et, enfin, de la concentration et de l'activité de l'enzyme.

Pour ce qui concerne les expériences sur substrat ammoniacal, on peut proposer une interprétation semblable faisant intervenir une suite de réactions où un processus peu fractionnant (par exemple entrée dans la cellule) précède un processus à fort effet isotopique (variation dans les liaisons chimiques de l'azote) et saturable.

D'autre part, il faut tenir compte de la potentialité que des micro-organismes différents puissent utiliser le substrat ammoniacal sous des formes différentes :  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NH}_3$  : dans ce cas l'important effet isotopique à l'équilibre entre ces deux espèces chimiques (cf. chapitre 2-6-1) pourrait expliquer des différences de "comportement isotopique" entre micro-organismes (par exemple entre bactéries et champignons).

#### F) Conclusions.

Ces résultats encore trop peu nombreux, ne sont pas parfaitement concluants. Toutefois ils montrent l'existence d'une nette tendance à la diminution de la valeur du fractionnement isotopique corrélative, en première approximation, d'une diminution de la concentration en azote du substrat assimilé : ceci semble surtout valable si ce substrat est ammoniacal, (forme de substrat préférée de la réorganisation) mais est observé également sur milieu nitrique. Dans les incubations, la concentration initiale en azote est élevée : 340 ppm en moyenne ; toutefois dès que cette concentration est réduite de moitié approximativement on observe dans de nombreux cas que le facteur d'enrichissement isotopique tend vers zéro : dans le milieu naturel il est possible que les conditions de concentration en azote soient telles que la réorganisation puisse s'effectuer sans enrichissement isotopique important.

L'interprétation que nous avons proposée à ce phénomène fait, en autres possibilités, appel au rôle de la concentration de saturation de l'un des enzymes catalysant l'assimilation : une suite logique à ce travail consistera à déterminer, sur quelques organismes, la courbe concentration en substrat - vitesse de croissance, obéissant à une cinétique de MICHAELIS et de mesurer le fractionnement isotopique d'abord sur la partie linéaire du graphe, assimilable à une cinétique d'ordre un, puis sur la portion "saturée" de cette courbe. Notre hypothèse se confirmerait si la partie linéaire était caractérisée par un effet isotopique très faible, voire nul, et la partie "saturée" présentait un fort effet isotopique, aussi élevé que celui que nous avons obtenu en début d'incubation, à forte concentration en substrat\*.

Nous nous rappelons que nous avons observé, pour le processus de dénitrification, une légère diminution du facteur d'enrichissement isotopique pour des stades très avancés du déroulement de la réaction. Toutefois, sur milieu nitrique, l'effet isotopique reste constant au moins jusqu'à une concentration en N du substrat de  $0,2 \cdot 10^{-2} M$ , c'est-à-dire considérablement plus basse que la concentration en azote à partir de laquelle le fractionnement isotopique s'abaisse lors du processus de réorganisation.

Nous rappellerons que DELWICHE et STEYN (1970) obtiennent un effet isotopique très faible lors de l'assimilation de  $NH_4^+$  par les champignons, avec des concentrations très élevées en azote du milieu de culture ( $9,3 \cdot 10^{-2} M$ ) dans des expériences où le degré d'avancement de la réaction est très faible (en moyenne 1 % du  $N-NH_4^+$  assimilé). Il y a là une distorsion avec nos résultats qui ne peut s'expliquer que par un degré de complexité élevé du phénomène.

Une étude plus exhaustive devra permettre de mettre en évidence une éventuelle différence de comportement entre bactéries et champignons dans ce processus de réorganisation.

#### 2.5.2. - REORGANISATION DANS LE SOL.

Nous n'avons retenu pour cette étude préliminaire qu'un petit nombre de sols placés dans des conditions telles que l'on puisse penser à priori que la réorganisation soit le processus dominant.

---

\* Un problème majeur subsistera cependant : au cours de la réorganisation la quantité de micro-organisme est croissante, et cette étude ne pourra pas s'effectuer à concentration constante en enzyme.

A) Matériel et méthodes.

Deux types de sol ont été retenus :

- le premier est le sol désigné A, décrit dans le chapitre concernant la dénitrification (cf. tableau 2-XVIII) : il s'agit d'un sol brun calcaire de la région de Dijon,
- le deuxième est un horizon Ap d'une rendzine sur craie à poches du type de ceux décrits dans le chapitre 2-2 : minéralisation - nitrification. Les caractéristiques de ce sol ne diffèrent pas significativement de celles décrites sur le tableau 2-X.

Les conditions analytiques retenues sont les suivantes :

- pour le sol A (Dijon) : il est placé à une humidité égale à 80 % de sa capacité de rétention. Après addition de 200 ppm d'azote (nitrique ou ammoniacal), de 100 ppm de N-serve destiné à bloquer la nitrification et de 2000 ppm de glucose, le sol est placé à incuber à 28°C dans des conditions aérobies pendant des périodes variables (de 65 à 150 heures). Certaines fioles d'incubation sont bouchées 2 heures avant le moment prévu de l'extraction, de l'acétylène y est injecté et on tente de doser par chromatographie en phase gazeuse, l'éventuel dégagement de N<sub>2</sub>O, révélateur d'une dénitrification indésirable.
- Pour la rendzine sur craie, l'expérience d'incubation, réalisée à la station INRA de Châlons-sur-Marne par Jean MULLER a été conduite de la façon suivante : le sol, porté à une humidité de 20 % (du sol sec) est placé à incuber à 10°C pendant une quinzaine de jours. Trois traitements sont effectués : deux témoins, respectivement sol sans ajout et sol avec ajout de 200 ppm d'azote nitrique et l'essai proprement dit : sol + 200 ppm de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + 1 % de glucose : dans ces dernières conditions, la réorganisation doit se trouver stimulée ; les deux témoins mettront en évidence une éventuelle minéralisation de la matière organique. Ces trois traitements sont placés en conditions d'incubation strictement aérobies.

B) Résultats.

Les observations suivantes ont pu être faites :

- sur le sol A, l'absence de dégagement de N<sub>2</sub>O en présence d'acétylène laisse à penser que la dénitrification est inactive dans cette incubation : la disparition des nitrates apportés est donc due au processus d'assimilation par les micro-organismes,



sur le sol de type rendzine, en absence de glucose on n'observe pas de nitrification, susceptible de perturber le phénomène étudié : ceci s'observe sur la figure 2-45.

Les résultats des analyses isotopiques sont donnés, pour la rendzine sur craie sur les figures 2-45 et 2-46, pour le sol A, sur la figure 2-46.

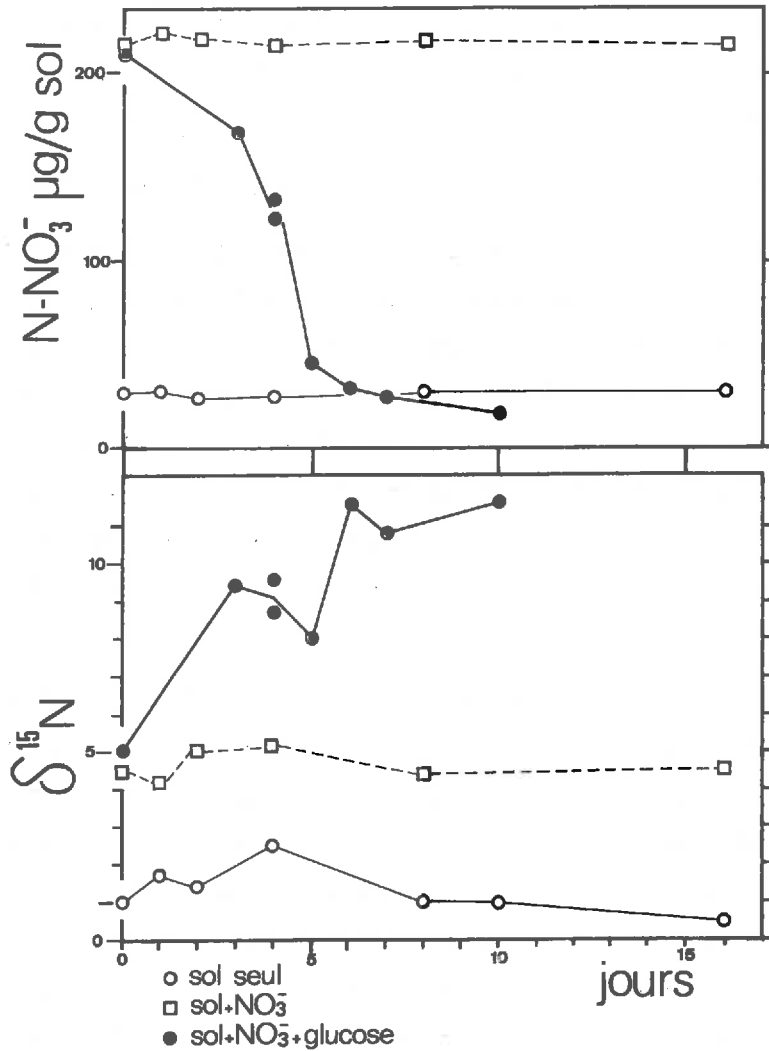


Figure 2-45 : Rendzine sur craie. Evolution chimique et isotopique du nitrate au cours d'une incubation aérobie. Deux témoins : sol seul et sol avec ajout de nitrate. Un essai : avec ajout de nitrate et de glucose, essai au cours duquel se produit une importante réorganisation de l'azote nitrique.



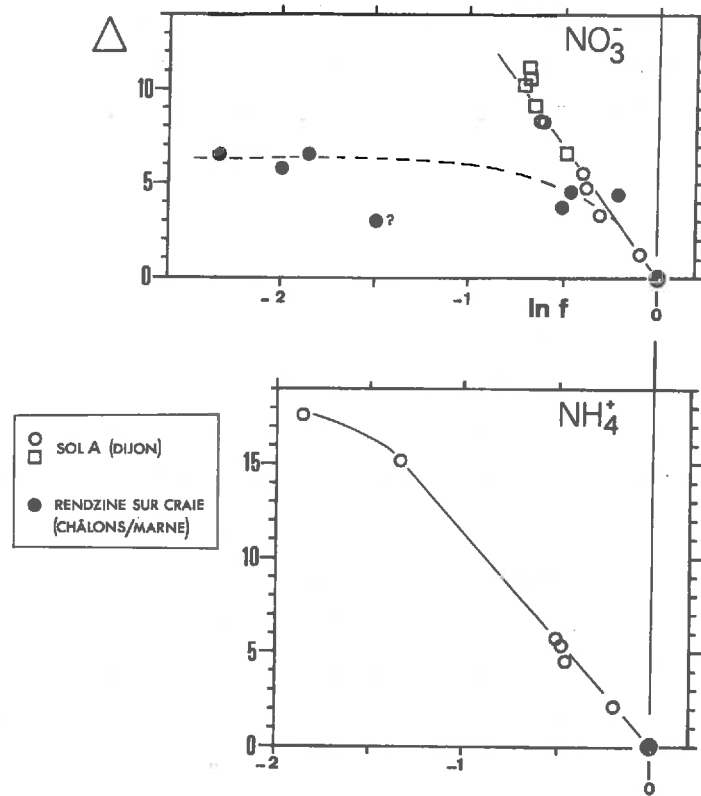


Figure 2-46 : Evolution de la composition isotopique d'un substrat azoté (ammoniacal ou nitrique) en fonction de  $\ln f$  au cours de la réorganisation dans deux types de sols, avec des doses différentes de glucose : 1 % pour la rendzine, 0,2 % pour le sol A.

Pour la signification de  $\Delta$ , voir figure 2-44.

On retrouve dans ces résultats la même ambiguïté observée dans le précédent paragraphe concernant les souches pures :

- sur le sol brun A, les enrichissements isotopiques associés à la réorganisation paraissent constants dans la gamme de concentration explorée et relativement élevés : sur substrat nitrique (2 répétitions) :  $-13,4 \pm 2,1 \%$  et  $-15,3 \pm 3,1 \%$ , résultats semblables ; sur substrat ammoniacal,  $-9,8 \pm 1,5 \%$ , avec une tendance à peine sensible et peut-être non significative à l'abaissement de la valeur de l'effet isotopique pour le stade le plus élevé d'avancement de la réaction (figure 2-46).
- Au contraire, sur la rendzine cultivée de Châlons, cet effet isotopique, élevé dans les tous premiers stades de la transformation, avec des valeurs très proches de celles du sol A (cf. figure 2-46), devient très rapidement extrêmement faible, quasi inexistant : la valeur de l'enrichissement isotopique décroît, en valeur absolue, avec l'avancement de la réaction :

jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour d'incubation on peut estimer grossièrement l'enrichissement moyen à - 7 % environ, entre le 4<sup>ème</sup> et le 10<sup>ème</sup> jour d'incubation, sa valeur peut être estimée proche de - 1,5 % ! Pour la réaction considérée jusqu'au stade d'avancement atteint, l'enrichissement global apparent est de l'ordre de - 3 %.

### C) Interprétation.

Pour ce qui concerne le cas du sol sur craie nous pouvons interpréter les résultats à la lumière de ceux acquis dans les paragraphes précédents, notamment celui concernant la réorganisation par souches pures. L'affaiblissement du fractionnement isotopique avec l'avancement de la réaction pourrait être dû à la "désaturation" de la réaction fortement fractionnante marquant la réduction du nitrate. Ce phénomène peut accompagner la diminution de la concentration en substrat mais peut également être fonction de la concentration de l'agent réducteur, ici le carbone organique : si celle-ci augmente, toutes choses égales par ailleurs on peut penser que l'effet de saturation de l'étape réductrice se trouvera décalé vers une valeur plus élevée de la concentration en azote nitrique : dès que l'on atteint cette concentration en cours de réaction, on peut émettre l'hypothèse que l'étape de réduction puisse cesser d'être saturée et l'effet isotopique se rapproche de celui associé à l'entrée du nitrate dans les cellules microbiennes et/ou de la complexation enzymatique, l'effet isotopique qui paraît donc ici également peu important.

On se rappellera à ce propos que dans l'expérience sur sol de craie, la concentration en glucose est 5 fois supérieure à celle appliquée au sol Brun A. *Le rôle de la concentration en agent réducteur peut être ainsi fortement soupçonné.*

### 2.5.3. - CONCLUSIONS.

En l'état actuel du dossier analytique, il est prématuré de tirer des conclusions, mêmes partielles, sur le fractionnement isotopique associé au processus de réorganisation par souches pures ou dans le sol.

Seules ressortent quelques indications susceptibles de guider les travaux futurs. Le rôle de la concentration en substrat, ainsi que celui de la concentration en carbone organique réduit peut être, grâce aux connaissances acquises lors de l'étude de la dénitrification et de l'assimilation des nitrates par les plantes supérieures, soupçonné.

L'effet isotopique peut varier des très fortes valeurs que laisse soupçonner, dans le processus de réorganisation à partir de  $\text{NO}_3^-$ , la rupture d'une liaison N-O, à des valeurs quasi nulles soulignant l'existence dans le processus global d'une étape susceptible d'être limitante de la vitesse et non accompagnée de fractionnement isotopique.



## CHAPITRE 2

### 2.6. - FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES ASSOCIES A QUELQUES PROCESSUS PHYSICO-CHIMIQUES DU CYCLE DE L'AZOTE.



## 2.6. - FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES ASSOCIES A QUELQUES PROCESSUS PHYSICO-CHIMIQUES DU CYCLE DE L'AZOTE.

Nous étudierons successivement :

- la volatilisation de l'ammoniac,
- la fixation de l'ammonium sur les colloïdes électronégatifs du sol.

Nous présenterons ensuite les résultats essentiels d'une analyse bibliographique sur :

- la diffusion,
- la dissolution de l'azote moléculaire.

### 2.6.1. - EFFET ISOTOPIQUE ASSOCIE A LA VOLATILISATION DE L'AMMONIAC.

La volatilisation de l'ammoniac se produit dans des sols de pH supérieurs à 7,5 (sols calcaires par exemple) auxquels on apporte de l'azote ammoniacal ou des composés azotés organiques aisément minéralisables (tel l'urée).

Les paramètres régissant cette volatilisation dans le sol sont nombreux (FAURIE, 1980) : pH, teneur en eau, en  $\text{CaCO}_3$ , importance de la phase colloïdale, teneurs en argile (montmorillonite notamment) et matière organique.

Nous avons donc volontairement limité notre étude à un système simple et étudié l'effet isotopique associé à la volatilisation de  $\text{NH}_3$  depuis une solution aqueuse ammoniacale.

Cet effet isotopique doit être, pour l'essentiel, dominé par le fractionnement isotopique à l'équilibre entre l'ammoniac en solution et sa fraction gazeuse. Nous avons donc mesuré :

- d'une part l'effet isotopique à l'équilibre dans un système clos,
- d'autre part l'effet isotopique cinétique au cours de la volatilisation.

#### A) Matériel et méthodes.

Dans les deux types d'expérimentations, nous avons travaillé sur la volatilisation à partir d'une solution ammoniacale portée à un pH voisin du pK de l'équilibre entre  $\text{NH}_4^+_{\text{sol}}$  et  $\text{NH}_3_{\text{sol}}$ . (9,7).

### 1) A l'équilibre.

L'expérimentation a été menée dans un appareil décrit par la figure 2-47 qui permet, après une période nécessaire à l'acquisition de l'état d'équilibre chimique et isotopique, de prélever au même instant la solution et la vapeur ammoniacale.

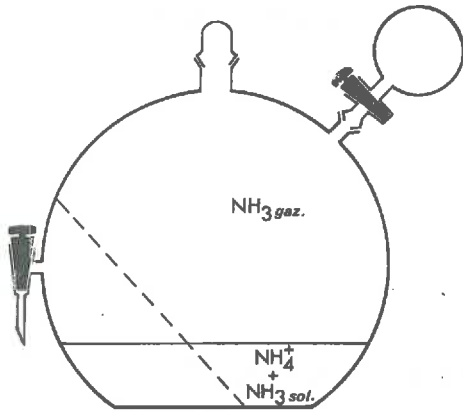


Figure 2-47 : Schéma de l'installation permettant la mesure du fractionnement isotopique à l'équilibre entre solution et vapeur ammoniacale.

La concentration en azote ammoniacal dans la solution est de 60 g/l.

L'ammoniac prélevé est piégé sur de l'acide sulfurique N/20.

Les mesures ont été faites à 5 températures différentes : 7,5 ; 10,7, 25, 35°C.

### 2) Volatilisation. Effet cinétique.

Une solution ammoniacale, à pH voisin de 9,7 est placée :

soit dans l'atmosphère calme d'une pièce, déterminant une volatilisation lente,

soit sous fort courant d'air, réalisé par un ventilateur à flux laminaire dans un volume ouvert sur l'extérieur, promouvant une volatilisation beaucoup plus rapide. Ces expériences ont été réalisées à température ambiante du laboratoire ( $\approx 20^\circ\text{C}$ ), à volume constant, et répétées avec des concentrations initiales de la solution ammoniacale différentes (gamme : 370 à 1600 mg N/l).



B) Résultats.

1) A l'équilibre.

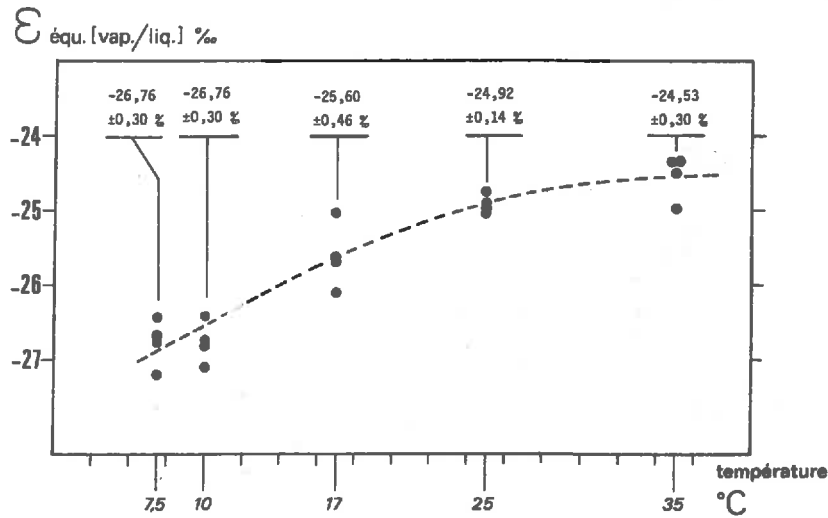


Figure 2-48 : Variation du facteur d'enrichissement à l'équilibre (vapeur/liquide) pour l'ammoniac, en fonction de la température. Les valeurs moyennes, affectées de leur écart-type sont indiquées.

On prendra connaissance des résultats sur la figure 2-48. Le fractionnement isotopique à l'équilibre est thermodépendant. L'ajustement que nous proposons est de la forme classique :

$$1000 \ln \alpha \approx \epsilon = a + b T^{-1} + c T^{-2} \quad (T \text{ en } ^\circ\text{K})$$

soit :  $\epsilon = -194,05 + 106670 T^{-1} - 16772000 T^{-2}$

On peut retenir qu'à 25°C, la valeur ammoniacale est, à l'équilibre, appauvrie de  $-24,92 \pm 0,14$  % relativement à la solution (soit  $\alpha_{p/s} = 0,9751$  et  $\alpha_{s/p} = 1,0256$ ).

2) Effet isotopique cinétique.

L'évolution de la concentration de l'ammonium dans la solution a été suivie et nous avons tenté d'ajuster cette évolution à une loi : parmi les ajustements simples testés, le meilleur accord est obtenu avec une cinétique

du premier ordre :  $C/C_0 = e^{-k_1 t}$  où  $C$  est la concentration en azote ammoniacal dans la solution ( $C_0$  = concentration à  $t = 0$ ).

Les résultats obtenus sont portés sur la figure 2-49, associés à ceux concernant le facteur d'enrichissement isotopique (assortis des intervalles d'estimation pour  $p = 0,05$ ).

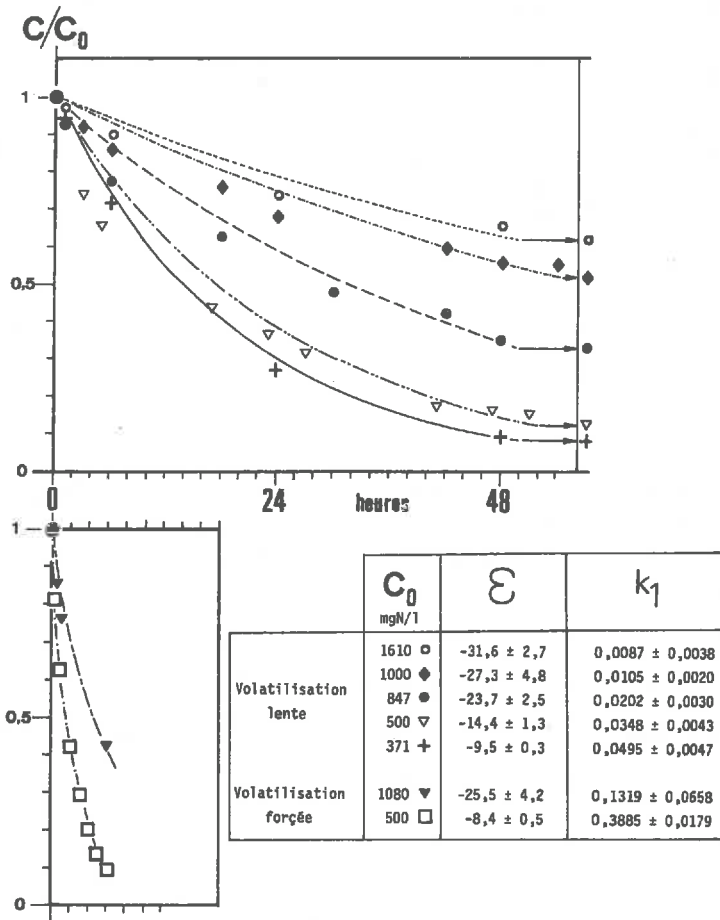


Figure 2-49 : Volatilisation de l'ammoniac. Evolution chimique, constantes de vitesse (premier ordre), facteurs d'enrichissement isotopique (cinétique), en fonction de la concentration initiale en azote de la solution et des conditions de volatilisation.

Quelles que soient les conditions de volatilisation, lente ou forcée, on constate que l'augmentation de la concentration initiale de la solution, s'accompagne d'une diminution de la constante de vitesse  $k_1$  de volatilisation.

En conditions de volatilisation calme, il semble (figure 2-50) qu'il existe une relation entre cette constante de vitesse et le facteur d'enrichissement isotopique, telle que l'effet isotopique diminue lorsque la constante de vitesse augmente. Cependant, les résultats acquis en conditions de volatilisation très rapide, n'adhèrent pas du tout à ce modèle ainsi que le montre la lecture des résultats sur la figure 2-49 : les constantes  $k_1$  sont très élevées et on n'obtient pas pour autant de valeurs très faibles pour le fractionnement isotopique. On ne peut ainsi proposer de loi générale pour corrélérer la valeur du fractionnement isotopique à la constante de vitesse : la corrélation apparente de la figure 2-50 semble n'être qu'une covariation.

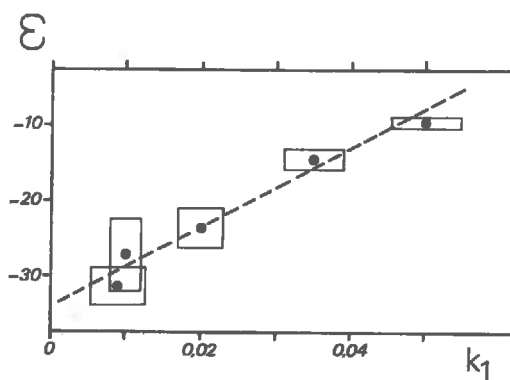


Figure 2-50 : Volatilisation de l'ammoniac. Conditions de volatilisation lente. Relation entre le facteur d'enrichissement isotopique et la constante de vitesse de volatilisation (premier ordre).

Par contre, on peut remarquer, sur les résultats de la figure 2-49 que, quelle que soit la constante de vitesse  $k_1$  et quelles que soient les conditions de la volatilisation, lente ou forcée, les expériences effectuées avec des concentrations initiales en substrat semblables, présentent des facteurs d'enrichissement isotopique relativement comparables : pour une concentration initiale de 500 mg N/l, on obtient, pour  $\epsilon$ , les valeurs de - 14,4 % en volatilisation lente, - 8,4 % en volatilisation forcée ; avec une concentration initiale de 1000 mg N/l, - 27,3 % en volatilisation lente, - 25,5 % en volatilisation forcée (cf. figure 2-51).

D'autre part, on observe également, sur la figure 2-51, que l'expérience où le stade d'avancement de la réaction est le plus élevé (volatilisation forcée,  $C_0 = 500$  mg N/l) présente un fractionnement isotopique variable : les six premiers couples de valeurs ( $\Delta - \ln f$ ) sont alignés, conformément à ce que l'on peut attendre d'un processus de RAYLEIGH [ $\Delta = 0,32 - 8,38 (\pm 0,52) \ln f$  ;  $r = 0,999$ ], mais les deux dernières valeurs, au-delà de  $f = 0,2$ , montrent clairement la diminution du facteur de

*fractionnement isotopique* : entre  $f = 0,2$  et  $f = 0,1$ , l'enrichissement isotopique tombe à - 4,6 ‰ environ.

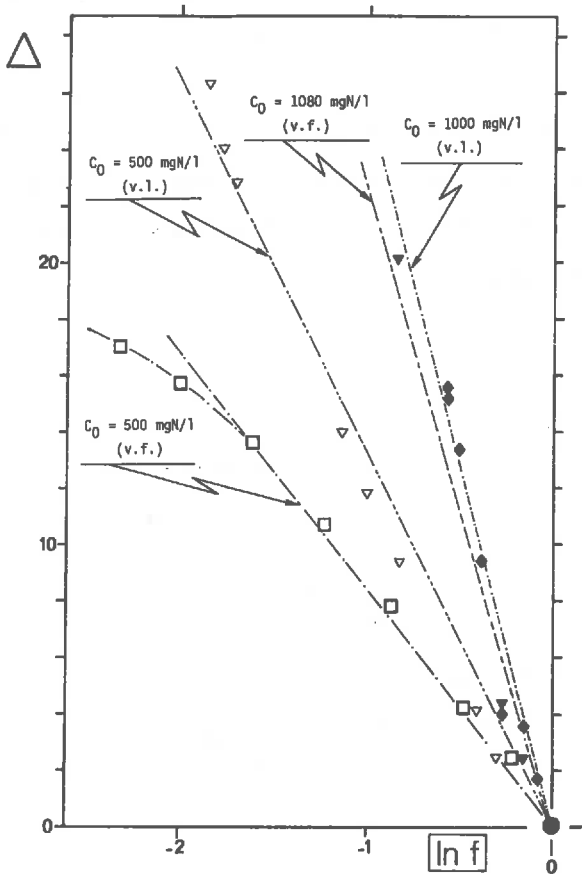


Figure 2-51 : Volatilisation de l'ammoniac. Evolution de la composition isotopique en fonction de  $\ln f$ , pour différentes valeurs de la concentration initiale du substrat ( $C_0$ ), en volatilisation lente (v.l.) ou forcée (v.f.).

$$\Delta = 10^3 \ln \left[ \frac{(10^{-3} \delta_{\Delta} + 1)}{(10^{-3} \delta_{\Delta,0} + 1)} \right]$$

Enfin, pour l'ensemble des expériences réalisées, nous avons reporté, sur le diagramme  $\epsilon$  - concentration  $\text{N-NH}_4^+$  de la figure 2-52 : en abscisse, la variation de concentration en azote du substrat au cours de l'expérience ; en ordonnée, le facteur d'enrichissement isotopique, affecté de son intervalle d'estimation. Pour l'expérience évoquée dans le précédent paragraphe, nous avons traduit la variation du fractionnement isotopique avec l'avancement de la réaction.

Il ressort très clairement de ce dossier analytique l'influence de la concentration en azote du substrat sur le facteur d'enrichissement isotopique : lorsque cette concentration diminue, le fractionnement isotopique diminue également. Toutefois, les conditions de la volatilisation, en particulier la vitesse du phénomène, semblent avoir également une action, du second ordre : au moins pour les plus basses concentrations initiales ( $C_0 = 500 \text{ mg N/l}$ ), les valeurs de  $\epsilon$  ne sont pas tout à fait semblables en volatilisation lente ou forcée (figures 2-51 et 2-52).

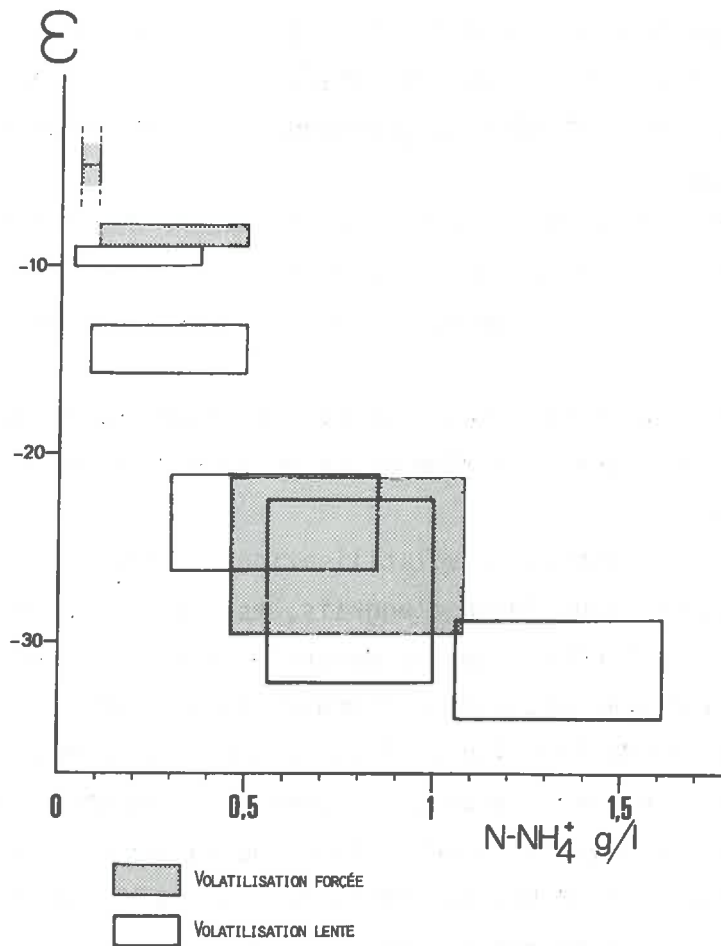


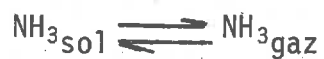
Figure 2-52 : Relation entre la concentration en azote ammoniacal résiduel dans la solution et le facteur d'enrichissement isotopique.

Les variations expriment : en abscisse, la gamme de concentration parcourue au cours de l'expérience ; en ordonnée,  $\epsilon \pm$  intervalle d'estimation ( $p = 0,05$ ).

C) Conclusions.

La réaction de volatilisation n'est pas une réaction :

- simple : elle voit la succession de :



- unidirectionnelle.

On peut donc s'attendre à ce que le fractionnement isotopique qui lui est attaché soit sensible à un nombre élevé de paramètres ayant une action sur la contribution relative de chacune des étapes élémentaires de la réaction globale, paramètres qui devront être soigneusement définis et dont les influences devront être mesurées.

*La volatilisation de l'ammoniac s'accompagne donc d'un effet isotopique enrichissant en  $^{15}\text{N}$  l'ammonium résiduel en solution : l'intensité de cet effet semble d'autant plus marqué que la concentration en ammoniac dissous est plus élevée.*

Cet effet a été mesuré ici seulement au cours de la volatilisation à partir d'une solution libre : la même étude devra être menée sur divers types de sols par exemple.

Le processus physique de volatilisation affectant l'ammonium apporté sur le sol, par exemple sous forme d'engrais, est rapide en regard des processus microbiens : on peut penser que la mesure de l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$ , immédiatement après application, puisse fournir une idée de la perte par volatilisation (le phénomène de fixation de l'ammonium sur le complexe absorbant, peu fractionnant sur le plan isotopique, comme on le verra au paragraphe 2-6-2, ne pourra pas venir troubler l'interprétation de la mesure basée sur les compositions isotopiques ; il rend, au contraire, impossible un bilan chimique basé sur le suivi des concentrations dans le sol).

Enfin, tous les amendements organiques agricoles ayant subi une longue maturation (fumier, lisier...) voient une fraction importante de leur azote perdu par voie de volatilisation\* (jusqu'à 30 % pour le fumier) ; la maturation de ces produits s'accompagnera donc d'un important enrichissement en  $^{15}\text{N}$  (d'autant plus important que la concentration en azote ammoniacal est, généralement, très élevée) dans l'ammonium résiduel : la nitrification totale de cet ammonium donnera naissance à des nitrates très fortement marqués en  $^{15}\text{N}$  : ce marquage naturel peut être utilisé à des fins de détermination d'origine, comme il sera montré dans le chapitre 3-2.

#### 2.6.2. - FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE ASSOCIE A LA FIXATION DE L'AMMONIUM SUR LES COLLOIDES ELECTRONEGATIFS DU SOL.

Les diverses situations de l'ammonium dans les sols et plus particulièrement au contact des colloïdes électro-négatifs (argiles notamment) : libre en

---

*Il en va de même pour des rejets domestiques.*

solution, adsorbé, fixé ou rétrogradé ont été décrites au paragraphe 1-1-2-D et sont rappelées sur la figure 2-53.

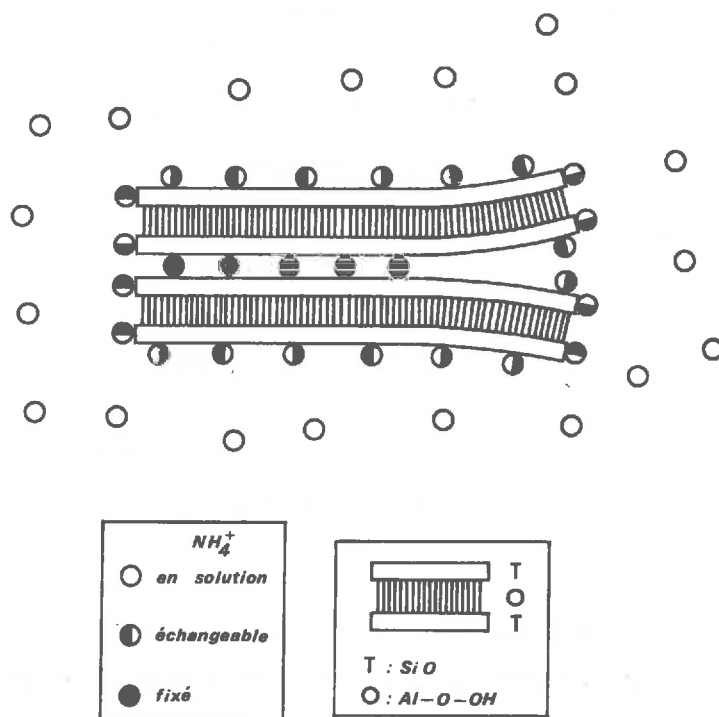


Figure 2-53 : Schéma théorique, d'après FAURIE (1980) situant les diverses positions de l'ammonium en présence d'une argile de type T.O.T.

L'étude exhaustive du fractionnement isotopique associé à ces processus nécessiterait l'étude du phénomène sur divers types d'argile, de faire varier les conditions d'extraction etc...

Notre ambition, plus modeste, a été d'effectuer une mesure globale sur un sol de culture représentatif (dans le cas présent : sol de limon du Bassin parisien), n'ayant subi aucun traitement autre qu'un séchage à l'air et un tamisage à 2 mm. Ce sol est stérilisé, on lui apporte une solution ammoniacale de concentration et  $\delta^{15}N$  connus. On analyse au cours du temps la composition isotopique de l'ammonium échangeable et libre.

#### A) Matériel et méthodes.

Le sol étudié provient de la parcelle expérimentale de Chaussy (cf. chapitre 3-2, profil 5, horizon Ap). Ses caractéristiques chimiques et minéralogiques figurent sur le tableau 2-XXXVI.

Analyse chimique		Analyse minéralogique (analyse F. MELIERES)	
C %	11.7	Quartz %	62
N total	1.0	F. plagioclases %	11
C/N	11.7	F. potassiques %	5
pH (eau)	6.8	Calcite %	-
pH (KCl)	6.2	Argiles :	
K <sub>2</sub> O échangeable %	0.17	- Smectites %	5.0
CaO échangeable %	4.9	- Illites %	1.5
MgO échangeable %	0.14	- Kaolinite %	0.5
Capacité totale d'échange		- Chlorite %	1.0
en méq % :	25.2	- Amorphes %	14.0
K <sup>+</sup> méq %	0.36		
Ca <sup>++</sup> méq %	17.5		
Mg <sup>++</sup> méq %	0.69		

Tableau 2-XXXVI : Caractéristiques chimiques et minéralogiques du sol utilisé pour cette étude.

Il s'agit de l'horizon Ap d'un sol brun lessivé légèrement hydromorphe sur limon des plateaux. Ce sol est cultivé et reçoit annuellement une fertilisation azotée de l'ordre de 150 kg N/ha dont plus de la moitié est sous forme ammoniacale.

Des échantillons de 100 g de ce sol séché à l'air et tamisé à 2 mm ont été traités au chloroforme, ce qui permet d'obtenir une stérilisation presque totale. Les sols sont portés à une humidité égale aux 2/3 de la capacité de rétention (26 %) puis reçoivent une solution contenant 300 ppm de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sous forme (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>, de composition isotopique 1,3 ‰, le traitement biocidal au chloroforme étant alors renouvelé.

L'extraction de l'ammonium se fait à divers intervalles de temps par une solution de KCl 1 M, avec un apport sol-solution de 1/4, l'agitation étant poursuivie pendant une heure.

#### B) Résultats.

Les résultats obtenus figurent sur le tableau 2-XXXVII et sont reportés sur la figure 2-54. L'expérience s'est prolongée pendant 72 heures durant lesquelles on ne voit pas apparaître de nitrates : on peut donc estimer que le chloroforme a eu une action biocidale importante. Au bout de 5 minutes, 25 % de l'azote apporté n'est plus échangeable. La fixation de cet azote ammoniacal poursuit ensuite plus lentement et se stabilise après 24 heures. Au total 100 ppm sont fixés sous forme non échangeable, soit le tiers de l'ammonium



apporté, au bout de 72 heures. La composition isotopique de l'ammonium extractible (échangeable + libre) ne varie pas significativement au cours de l'expérience bien que la quantité fixée, correspondant à la fraction du substrat ayant réagi, soit importante. On peut donc considérer que sur ce sol la fixation sur les colloïdes électronégatifs se fait sans enrichissement isotopique significatif. Ces résultats concordent avec ceux de CHIEN, MEYERS et SHEARER (communication personnelle).

Temps écoulé entre l'apport de $\text{NH}_4^+$ et l'extraction	N- $\text{NH}_4^{+*}$ (ppm)	$\delta^{15}\text{N-NH}_4^{+*}$
t = 0 (apport)	300	1.3
5 mm	224	1.0
1 heure	210	1.6
5 heures	208	1.1
24 heures	200	1.3
72 heures	194	1.7

Tableau 2-XXXVII : Evolution chimique et isotopique de l'ammonium échangeable.

\* Ces valeurs prennent en compte la faible quantité d'ammonium présent dans le sol avant l'apport de  $\text{NH}_4^+$ .

DELWICHE et STEYN (1970) étudiant l'adsorption de l'ammonium ( $\text{Cl NH}_4$ ) sur une argile de type kaolinite observent que ce phénomène s'effectue avec un très faible fractionnement isotopique favorisant la rétention de  $^{15}\text{N}$  dans la fraction retenue (adsorbée) de  $\text{NH}_4^+$ . L'enrichissement isotopique obtenu est de l'ordre de + 0,8 %. Ils obtiennent un résultat semblable sur des résines échangeuses de cations ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) sur Dowex 50 : l'enrichissement isotopique est de même sens et de même valeur que sur la kaolinite (tableau 2-XXXVIII : sur ce tableau, on a également reporté un résultat concernant l'adsorption de  $\text{NO}_3^-$  sur une résine échangeuse d'anion). Ces fractionnements isotopiques semblent donc également, dans ces exemples, extrêmement faibles.

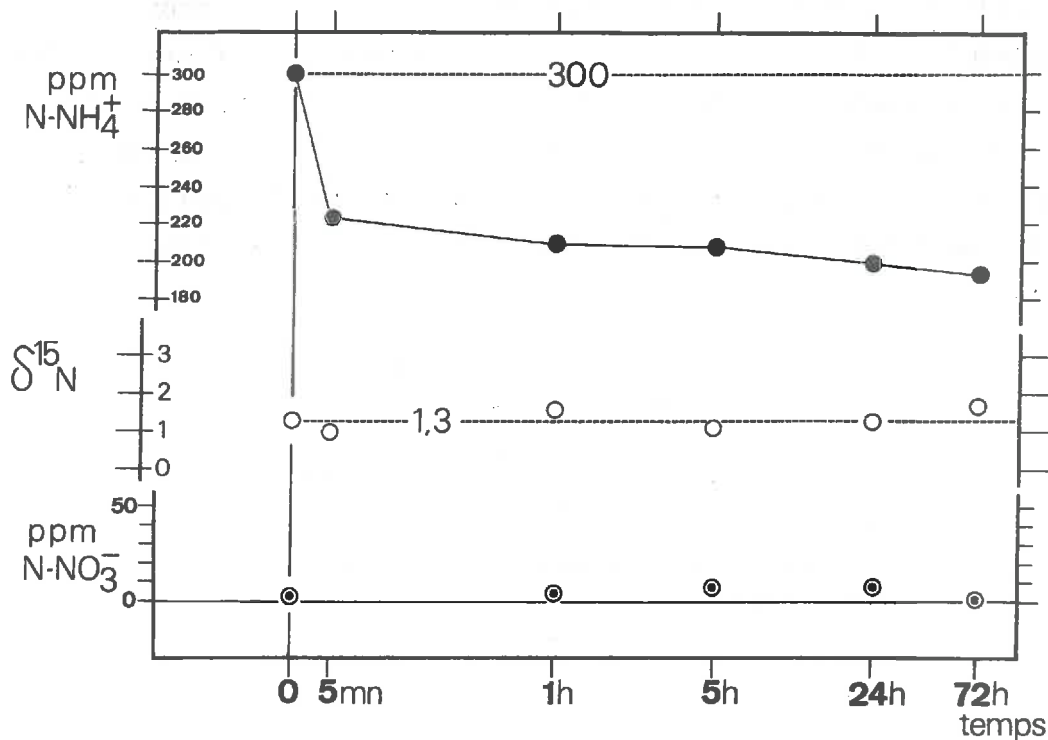


Figure 2-54 : Diagramme pseudo-logarithmique (l'échelle des temps est logarithmique à partir de 5 minutes mais présente un temps  $t = 0$ , début de la manipulation) exprimant, en fonction du temps, la quantité d'azote ammoniacal échangeable et libre en ppm, la composition isotopique de cet azote et la quantité de nitrate présent dans le sol en ppm.

Système	Nombre de répétition	Fraction adsorbée	$\epsilon_{p/s} \%$
NH <sub>4</sub> Cl sur Dowex 50	6	0,459 à 0,490	+ 0,8 ± 0,2
NH <sub>4</sub> Cl sur argile de type kaolinite	7	0,19 à 0,20	+ 0,8 ± 0,3
NO <sub>3</sub> K sur Dowex 1	5	0,493 à 0,557	- 2,0 ± 0,5

Tableau 2-XXXVIII : D'après DELWICHE et STEYN (1970). Enrichissement isotopique au cours de l'adsorption sur résines et argile.

KARAMANOS et RENNIE (1978) étudient eux aussi l'enrichissement isotopique qui se produit entre l'ammonium en solution et l'ammonium adsorbé (et/ou fixé) sur des suspensions argileuses ( $< 2 \mu\text{m}$ ) préparées à partir de l'horizon B d'un sol de type Oxbow Orthic Black : l'adsorption se produit en deux phases, voyant tout d'abord une adsorption préférentielle de  $^{14}\text{N}$ , puis le contraire au bout de 4 heures : après une période d'équilibre de 8 à 10 heures, la composition isotopique de l'ammonium en solution est de l'ordre de 1,3 % appauvrie en  $^{15}\text{N}$  par rapport à la solution initiale. Ce résultat est identique pour des argiles respectivement saturées en  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{NH}_4^+$  et il est très proche des résultats obtenus par DELWICHE et STEYN (1970).

Alors que l'expérimentation que nous avons décrite montre que la fixation sur les colloïdes électro-négatifs du sol semble ne pas s'accompagner d'un effet isotopique notable, l'adsorption (en fait, dans le cas de l'expérimentation de KARAMANOS et RENNIE, l'adsorption plus la fixation) semble s'accompagner d'un effet tel que l'ammonium adsorbé soit enrichi en  $^{15}\text{N}$  : en tout état de cause cet effet est très faible, de l'ordre du pour mille, sans commune mesure avec les valeurs atteintes pour la plupart des processus précédemment décrits.

Ces résultats ne sont bien sûr que très préliminaires : les phénomènes de fixation et d'adsorption méritent un examen plus sérieux, toutefois dans l'état actuel de nos connaissances nous pouvons soupçonner qu'ils ne s'accompagnent que de très faibles enrichissements isotopiques.

Une objection majeure pourrait être opposée à cette conclusion : toutes les expériences décrites correspondent à des systèmes *statiques* dans lesquels  $\text{NH}_4^+$  s'équilibre avec le sol. Or, si on envisage une expérience où l'ammonium est, par exemple, apporté au sommet d'une colonne de sol qu'il parcourt, l'enrichissement isotopique entre le sommet et la base de la colonne pourra être très important du fait de l'existence du phénomène de *cascade isotopique* : la sommation des effets introduits par la succession à chaque niveau du sol, de fractionnements isotopiques, même peu importants, pourrait entraîner une séparation importante de  $^{14}\text{NH}_4^+$  et  $^{15}\text{NH}_4^+$  : ainsi SPEDDING *et al.* (1955) obtiennent-ils une séparation presque complète de  $^{14}\text{N}$  et  $^{15}\text{N}$  en faisant parcourir à l'ion ammonium une succession de colonnes de résines échangeuses d'ion.

En fait ce deuxième type d'expérience est un mauvais reflet des conditions naturelles : en pratique, dans les sols cultivés, subissant des fertilisations agronomiques normales, les transferts verticaux de  $\text{NH}_4^+$  sont négligeables : l'équilibre favorise plutôt l'adsorption que la désorption, en particulier par le constant prélèvement de  $\text{NH}_4^+$  dans la solution du sol par les processus biologiques.

Les expériences statiques décrites ici sont donc en fait plus proches des conditions naturelles ; leurs conclusions, mêmes préliminaires méritent d'être retenues.

### 2.6.3. - DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES RELATIVES A LA DIFFUSION ET LA DISSOLUTION DE L'AZOTE MOLECULAIRE.

Les précédents paragraphes de ce chapitre présentent les résultats que nous avons obtenus lors de l'étude des principaux processus biochimiques et physico-chimiques du cycle de l'azote.

Un certain nombre de ces processus, de moindre importance, ont été omis dans cette étude et nous présenterons, de façon très succincte, certains résultats disponibles dans la littérature ou certaines réflexions concernant ces processus : ils concernent tous des effets isotopiques de transformations physico-chimiques cinétiques ou à l'équilibre.

#### 1) Diffusion dans des milieux poreux ou aqueux.

+ Diffusion de gaz en milieu poreux.

Nous avons évoqué dans le chapitre 1 (1-2-3-B) le fait que *la migration des gaz naturels s'accompagne d'une diminution du contenu en  $^{15}\text{N}$  avec la distance de migration.* Cet enrichissement isotopique est la conséquence de l'effet isotopique dû à la diffusion, *effet strictement dépendant du rapport de masse des deux variétés isotopiques.* En effet, le facteur de fractionnement isotopique est donné par le rapport des constantes de diffusion :

$$\alpha = \frac{D^*}{D} \quad * \text{ se réfère à l'espèce isotopiquement lourde.}$$

Il vient :  $\alpha = \left(\frac{M}{M^*}\right)^{1/2}$  où M est la masse des espèces isotopiques.

La diffusion de  $\text{N}_2$  dans des milieux poreux a été étudié par CRAIG (1968) qui démontre l'existence d'un effet isotopique important en injectant latéralement  $\text{N}_2$  dans un courant d'un autre gaz. Un certain nombre de conséquences de cet effet ont été présentées dans le paragraphe 1-2-3-B.

+ Diffusion de solution en milieu aqueux.

On peut se poser la question de l'existence d'un effet isotopique affectant le contenu en  $^{15}\text{N}$  d'ions diffusant en milieu liquide, par exemple des ions nitrate ou ammonium. Il n'a pas été procédé à des mesures de cet effet. On peut toutefois proposer quelques réflexions le concernant :

- d'une part ces ions en solution sont *hydratés*, ce qui augmente de façon notable leur masse effective et, *corrélativement*, diminue la valeur du rapport de la masse isotopiquement légère à la lourde.
- D'autre part, ces ions présentent de nombreuses interactions avec le milieu, dues à l'effet de charges électrostatiques.

Ces deux propriétés des ions en solution *tendent à augmenter leur masse effective et devraient contribuer à l'atténuation très importante du facteur de fractionnement isotopique*, directement proportionnel au rapport des masses des espèces isotopiques. On peut raisonnablement penser que l'effet isotopique associé à la diffusion en milieu aqueux est négligeable. Ceci devra être vérifié par l'expérience.

## 2) Dissolution de l'azote moléculaire dans l'eau.

Un certain nombre de travaux ont été effectués qui proposent des valeurs de ce fractionnement isotopique à l'équilibre :

- BENSON et PARKER (1961) observent un enrichissement en  $^{15}\text{N}$  de 0,13 % dans l'azote dissous en mer ouverte.
- KLOTS et BENSON (1963) mesurent l'effet isotopique à l'équilibre au cours du passage en solution de l'azote dans l'eau distillée, à différentes températures entre 2 et 27°C. Les résultats obtenus sont portés sur la figure 2-55, extraite de leur publication. L'enrichissement isotopique de l'azote en solution, extrapolé à 0°C est de  $0,85 \pm 0,10$  % versus  $\text{N}_2$  gazeux à l'équilibre et décroît faiblement avec l'augmentation de température.

Une valeur semblable a été obtenue par W.G. MOOK (communication personnelle à R. LETOLLE).

- MIYAKE et WADA (1967) mesurent la composition isotopique de l'azote dissous en mer, à différentes profondeurs. Celle-ci varie de - 0,9 à + 2,3 % ; la valeur moyenne obtenue est 0,99 % *versus*  $\text{N}_2$  atmosphérique. Ils n'observent aucune corrélation entre le  $\delta^{15}\text{N}-\text{N}_2$  dissous et la profondeur.

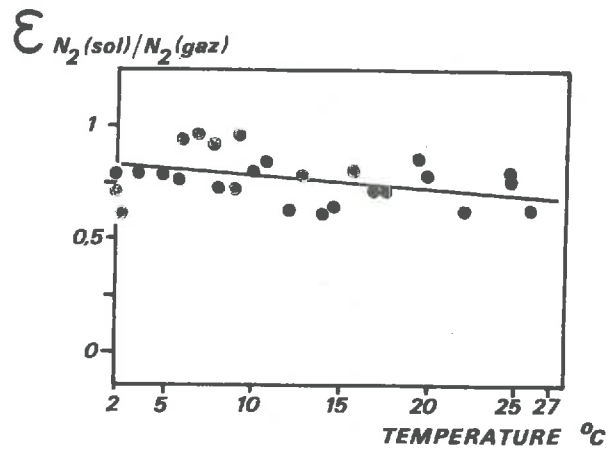


Figure 2-55 : Données expérimentales sur le facteur d'enrichissement isotopique au cours du passage de l'azote en solution à différentes températures.

$N_2$  dissous est enrichi en  $^{15}N$  versus  $N_2$  gazeux.

En ordonnée,  $\epsilon_{N_2(sol)/N_2(gaz)}$  est en fait :

$(\frac{k'}{k} - 1) \cdot 1000$  où  $k'$  et  $k$  sont les constantes de la loi de HENRY pour les deux espèces isotopiques  $^{15}N^{14}N$  et  $^{14}N^{14}N$ .

Reproduite de KLOTS et BENSON, *J. Chem. Phys.*, 1963.

En conclusion, il ressort que la variété isotopiquement lourde ( $^{14}N^{15}N$ ) de l'azote moléculaire est plus soluble que la variété légère.

Cet effet est faible même à température ordinaire, il devra toutefois être pris en compte par exemple dans des recherches portant sur la caractérisation isotopique d'azote dissous provenant de la dénitrification.

## CHAPITRE 2

2.7. - ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE DE L'AZOTE DE LA MATIERE ORGANIQUE  
DES SOLS, AU COURS DE SON EVOLUTION.





## 2.7. - ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE DE L'AZOTE DE LA MATIERE ORGANIQUE DES SOLS, AU COURS DE SON EVOLUTION\*.

L'essentiel des étapes précédemment étudiées du cycle de l'azote concerne l'évolution de la fraction minérale de cet élément. Or, dans les sols, la majeure partie de l'azote, le plus souvent plus de 95 %, se trouve sous forme organique.

Lorsque la matière organique fraîche, sous forme de végétaux, retourne au sol, elle se trouve décomposée plus ou moins rapidement par l'activité microbienne et constitue la litière, végétaux peu transformés recouvrant le sol. Cette litière évolue selon deux voies :

- une partie subit une *minéralisation* (production de  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_4^{=}$ ...).
- Une autre partie subit *l'humification* : cette matière organique se transforme en composés humiques pouvant contracter avec la fraction minérale et notamment les argiles, des liaisons physiques et chimiques (complexe argilo-humique). Dans de nombreux sols, cet humus est plus résistant à la biodégradation que la matière organique fraîche. On va ainsi globalement vers une stabilisation, bien que certaines fractions organiques associées au minéral restent encore très labiles.

La première phase de la transformation de la matière organique dans le sol est donc la décomposition des litières qui contribue à la réorganisation biologique et à l'humification proprement dite.

Dans ce chapitre, nous nous proposons d'étudier les variations de composition isotopique subies par l'azote organique au cours des transformations de cet élément dans ces processus, ainsi que les modifications de compositions isotopiques entraînées par la mise en oeuvre de pratiques culturales sur des sols, pratiques qui entraînent de profondes transformations de leur matière organique, et qui peuvent provoquer des variations quasi-expérimentales de la composition isotopique de l'azote des sols.

On ne peut en aucun cas parler ici de mesures de fractionnement isotopique car les substrats et les produits des transformations ne sont jamais chimiquement parfaitement définis, malgré les tentatives d'amélioration des procédés de fractionnement de la matière organique des sols. Nous mesurerons donc des enrichissements isotopiques d'un compartiment par rapport à un autre,

---

\* MARIOTTI *et al.*, 1980.

ces enrichissements seront des marqueurs d'origine mais surtout de sens d'évolution des systèmes. Les exemples étudiés seront pour l'essentiel choisis dans des sites naturels, sur des sols bien connus. Nous étudierons successivement : une séquence altitudinale de sols de montagne entre Morzine et Avoriaz dans le Chablais, séquence dont l'intérêt majeur est d'offrir sur un matériel acide homogène, (flysch de la Nappe des Gets), grâce à une différence d'altitude de 800 m, une grande diversité de sols, allant du sol brun modal au sol podzolique à mor (EL ALLAM, 1975) ; puis nous étendrons nos observations à l'étude de quelques sols types : podzol, rendzine, andosol et chernozem ; enfin nous tenterons d'appliquer les conclusions tirées de cette étude aux résultats obtenus sur un dispositif expérimental cultivé constituant les parcelles Dehérain à Grignon. La première partie de ce travail fait appel aux résultats de la thèse de 3ème cycle de D. PIERRE soutenue en 1979 au Laboratoire de Géologie Dynamique.

#### 2.7.1. - ETUDE DE LA SEQUENCE DE SOLS MORZINE-AVORIAZ.

##### A) Description de la séquence.

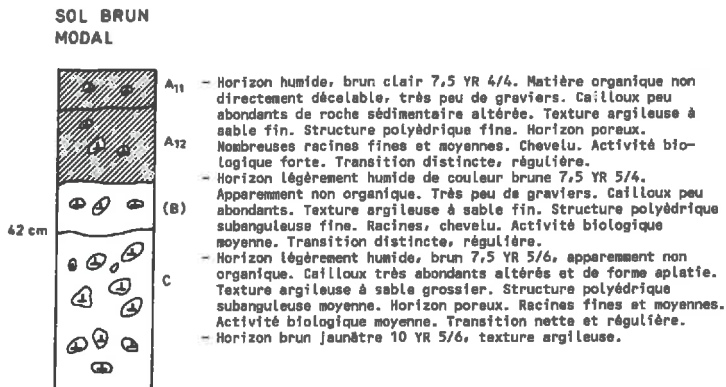
Quatre profils ont été choisis sur une coupe WNW-ESE, le long de la route de Morzine (alt. 960 m) à Avoriaz (1800 m) sur le flanc Sud de la montagne d'Avoriaz. En moins de 4 km, on trouve successivement : un sol brun modal à humus de type mull, un sol brun acide à humus de type mull acide, un sol brun ocreux à humus de type moder et un sol ocre podzolique à humus de type mor. Sur le tableau 2-XXXIX, on trouvera les types de végétation et les particularités climatiques des écosystèmes étudiés, alors que les caractéristiques pédologiques détaillées de ces quatre profils sont données sur la figure 2-56 (a,b,c,d). Cette séquence pédologique possède comme avantage essentiel de présenter, sur quelques kilomètres, des sols à évolution "brunifiante" et des sols à évolution "podzolisante" développés sur un substrat géologique homogène.

Les sols de cette séquence ont été prélevés horizon par horizon, et les analyses suivantes ont été effectuées sur échantillons séchés à l'air, homogénéisés et tamisés à 2 mm : pH, dosage de l'azote et du carbone organique (CHN-analyseur),  $\delta^{15}\text{N}$ . Des analyses plus complètes sont répertoriées sur la figure 2-56 (a,b,c,d).

SOL BRUN MODAL

Localisation : route de Morzine à Avoriaz.  
 Topographie : versant de montagne - pente : 25 % - exposition : S-E.  
 Matériau parental : flysch/brèche.  
 Végétation : prairie à graminées et légumineuses avec peu d'espèces alpines.  
 Hydrologie : régime de sécheresse relative.

(CL ALLAM, 1975)



Profondeur (cm)	Horizon	Granulométrie (%)					M.O.	pH		C	N	C/N	Complexe absorbant (mg/100 g)							Elém. libres (%)		Elém. totaux (%)		Fe	Al
		S.G.	S.F.	L.G.	L.F.	A		H <sub>2</sub> O	KCl				Ca	Mg	K	Na	S	T	100 S/T	Fe	Al	Fe	Al		
0-10	A <sub>11</sub>	7,30	11,90	14,10	34,60	32,10	11,10	7,00	6,30	6,45	4,73	13,60	20,00	3,53	0,95	0,04	24,50	27,20	90	3,41	1,28	3,65	6,04	0,91	0,21
10-30	A <sub>12</sub>	11,70	11,90	15,00	30,30	31,10	5,60	6,90	5,80	2,33	3,09	10,50	14,30	1,54	0,25	0,04	16,10	26,70	60	3,04	1,36	3,70	6,61	0,82	0,21
30-42	(B)	12,80	12,40	14,40	29,60	30,10	2,40	6,50	5,10	1,39	-	-	9,50	1,21	0,17	0,04	10,90	22,00	49	2,59	1,06	3,95	7,08	0,66	0,15
42	C	10,70	12,20	18,00	27,30	31,90	2,00	6,50	5,10	1,19	-	-	9,90	1,12	0,16	0,04	11,20	18,00	62	2,31	0,96	4,00	7,00	0,56	0,14

Les teneurs en argile sont pratiquement constantes dans l'ensemble du profil (31 % environ). Les limons fins diminuent du sommet à la base du profil, corrélativement les limons grossiers augmentent. Il n'y a pas de variations significatives pour les argiles.

Le pH neutre en surface devient légèrement acide (6,5) à partir de l'horizon (B). Corrélativement on constate une diminution de la somme des bases du haut en bas du profil et une diminution de S/T.

Le complexe absorbant est fortement saturé en surface (surtout en Ca et Mg) à cause de la réserve en bases et des remontées biologiques.

La capacité d'échange est moyenne car les argiles sont surtout du type illite-chlorite (27 à 18 meq. pour 100 g de sol).

Les horizons A bien développés (30 cm d'épaisseur), riches en matière organique (11,1 % en A<sub>11</sub> et 5,6 % en A<sub>12</sub> avec des C/N respectivement de 13,6 et 10,5) ont une structure polyédrique très fine.

La matière organique se décompose très bien et s'incorpore à la matière minérale (muil) grâce à une activité biologique forte. Elle diminue progressivement du sommet à la base du profil pour atteindre la valeur de 2 % en C.

L'horizon (B) structural est peu épais.

Le profil est de type A (B) C.

Tous ces caractères nous amènent à classer ce sol dans :

- la classe des sols brunifiés.
- la sous-classe des sols brunifiés des climats tempérés humides.
- le groupe des sols bruns.
- le sous-groupe des sols bruns modaux.

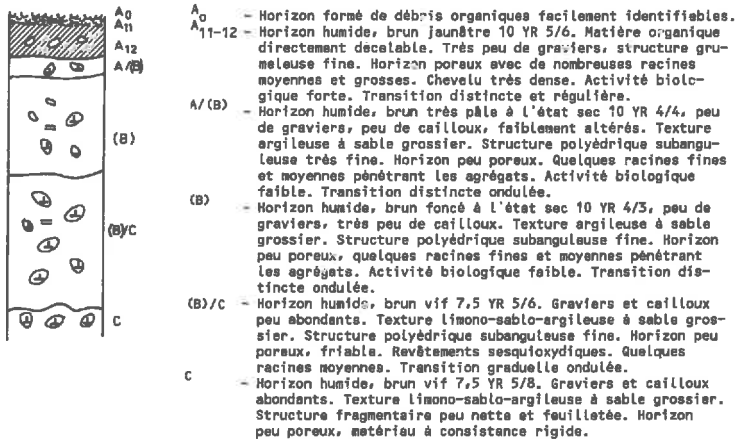
Figure 2-56(a) : Séquence Morzine-Avoriaz.

SOL BRUN ACIDE

Localisation : route de Morzine à Avoriaz.  
 Topographie : versant de montagne - exposition : S-E.  
 Matériau parental : flysch.  
 Végétation : prairie subalpine à ombelifères et épilobes avec *Gemista sagittata* et *Trollius europaeus*.  
 Hydrologie : régime de sécheresse relative.

(EL ALLAM, 1975)

SOL BRUN ACIDE



Profondeur (cm)	Horizon	Granulométrie (%)					M.O.	pH		C	N	C/N	Complexe absorbant (meq/100 g)							Elém. libres (%)		Elém. totaux (%)		Fe	Al	L	L
		S.G.	S.F.	L.G.	L.F.	A		H <sub>2</sub> O	KCl				Ca	Mg	K	Na	S	T	100 S/T	Fe	Al	Fe	Al				
0-4	A <sub>11</sub>	-	-	-	-	-	17,40	6,10	5,40	10,10	6,30	16,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,55	1,28	4,20	7,36	0,85	0,17
4-18	A <sub>12</sub>	17,90	8,80	12,70	27,40	33,30	10,60	6,60	5,50	6,20	4,90	12,50	13,10	2,74	0,87	0,04	16,70	35,00	47,70	2,83	0,97	4,45	6,80	0,64	0,14		
18-29	A/B	16,80	8,90	15,80	27,20	31,30	3,60	5,70	5,00	2,08	3,70	5,60	9,20	1,90	0,37	0,04	11,50	28,40	40,40	3,30	1,06	4,70	7,27	0,71	0,15		
29-89	(B)	27,50	9,40	13,60	23,60	25,90	2,90	6,20	4,30	1,68	-	-	5,30	0,70	0,16	0,03	6,10	20,20	30,40	3,41	1,21	5,25	8,59	0,65	0,14		
89	B/C	38,30	11,00	11,60	19,60	19,40	1,40	6,20	4,40	0,83	-	-	3,80	0,99	0,12	0,03	4,90	16,60	29,50	3,68	1,32	6,05	11,04	0,61	0,12		

La teneur en argile diminue du sommet à la base du profil, elle passe de 33 % en A<sub>12</sub> à 19,4 % en B/C, corrélativement la teneur en sable grossier augmente, elle passe de 17,9 % en A<sub>12</sub> à 38,3 % en B/C. Cela paraît tout à fait normal car l'argilogenèse est minimale au niveau des horizons d'altération de la roche-mère.

Le pH devient inférieur à celui du sol brun modal. Il est voisin de 6 pour l'ensemble du profil. La valeur la plus faible est 5,7 en A/B (manifestation du début de l'acidification).

La somme des bases de 16,7 meq. en A<sub>12</sub>, tombe à 6,1 meq. pour 100 g de sol en (B), corrélativement le taux de saturation passe de 48 à 30 % environ, il est inférieur à 50 % pour l'ensemble des horizons ; il y a un début de désaturation du complexe absorbant.

La capacité d'échange est de 35 meq. pour 100 g de sol en A<sub>12</sub>, de 20 meq. en (B) et de 16 meq. en C. Elle est en relation avec la teneur en matière organique et la variation du taux d'argile.

A signaler :

- 1) L'apparition d'un horizon A<sub>0</sub> limité aux couches L et F peu épais (2 cm).
- 2) De fortes teneurs en surface (17 à 10 %) et de faibles teneurs en profondeur. Mais malgré tout, on constate qu'il y a une pénétration de la matière organique jusqu'à un mètre de profondeur (1,4 %).
- 3) Une augmentation du rapport C/N, si on le compare à celui du sol brun modal (le C/N passe de 13,6 à 16,1 pour les horizons A<sub>11</sub>).
- 4) Nous pouvons ajouter, en considérant le taux de saturation et le pH peu acide, qu'il s'agit d'un intergrade entre le null et le moder. La minéralisation est moyenne grâce à une activité biologique encore assez forte.

Ajoutons à cela :

- Le profil est du type A (B) C avec un (B) non creux.
- L'apparition de l'aluminium échangeable en (B).

Tous ces caractères morphologiques et physico-chimiques nous amènent à classer ce sol dans :

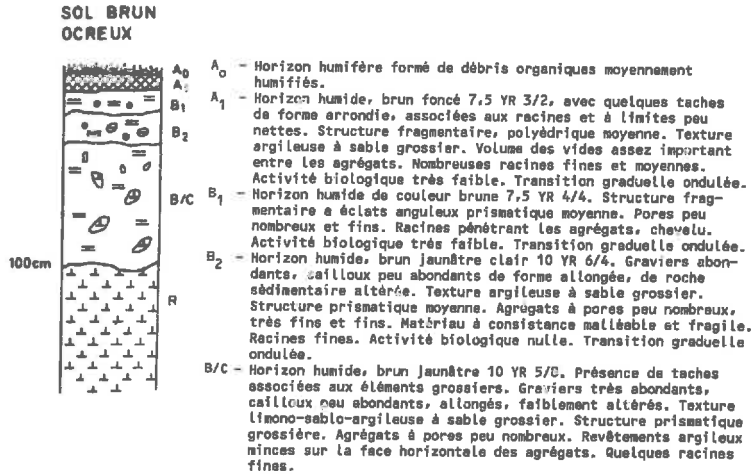
- La classe des sols brunifiés.
- La sous-classe des sols brunifiés des climats tempérés humides.
- Le groupe des sols bruns.
- Le sous-groupe des sols bruns acides (légèrement).

Figure 2-56 (b) : Séquence Morzine-Avoriaz.

SOL BRUN OCREUX

Localisation : route de Morzine à Avoriaz.  
 Topographie : versant de montagne - pente : 25 % - exposition : S-E.  
 Matériau parental : flysch.  
 Végétation : pelouse acidiphile à *Nardus stricta* avec *Gemata sagittata*, *Campanula barbata*, un peu de *Calluna vulgaris* et de *Vaccinium myrtillus*.  
 Hydrologie : régime de submersion temporaire par fonte des neiges.

(EL ALLAN, 1975)



Profondeur (cm)	Horizon	Granulométrie (%)					M.O.	pH		C	N	C/N	Complexe absorbant (meq/100 g)							Elém. libres (%)		Elém. totaux (%)		Fe T	Al T
		S.G.	S.F.	L.G.	L.F.	A		H <sub>2</sub> O	KCl				Ca	Mg	K	Na	S	T	100 S/T	Fe	Al	Fe	Al		
0-4	A <sub>0</sub>	-	-	-	-	-	29,50	5,20	4,40	17,10	8,73	19,60	15,60	3,98	1,38	0,06	21,00	45,40	46,30	3,96	1,36	4,10	7,36	0,97	0,19
4-8	A <sub>1</sub>	9,60	7,40	9,20	30,50	43,30	16,20	4,90	3,80	9,40	5,93	15,80	6,30	1,59	0,88	0,03	8,80	36,80	23,90	4,61	1,59	5,00	8,40	0,92	0,19
8-20	B <sub>1</sub>	16,20	7,10	7,90	26,30	42,50	8,70	4,90	3,80	5,10	-	-	3,80	0,99	0,39	0,03	5,20	32,20	16,00	4,06	1,36	5,40	9,82	0,75	0,14
20-35	B <sub>2</sub>	21,90	8,40	10,90	24,80	34,00	4,80	5,10	3,80	2,80	-	-	1,50	0,87	0,21	0,03	2,60	30,80	8,50	4,83	1,68	5,70	10,20	0,85	0,16
35-100	B/C	30,80	8,70	12,50	22,60	25,50	1,20	5,40	4,30	0,70	-	-	0,54	0,18	0,14	0,02	0,90	10,20	8,60	2,86	1,32	6,20	10,38	0,46	0,13

Les teneurs en argile dans les 30 premiers centimètres sont beaucoup plus fortes que dans les deux profils précédents. Elles passent de 43,3 % en A<sub>1</sub> à 25,5 % en B/C. Il n'y a pas de ventre d'accumulation.

Notons :

- 1) Une augmentation importante des teneurs en matière organique, près de 30 % en A<sub>0</sub>, 16 % en A<sub>1</sub> et 1,2 % à 100 cm de profondeur, on remarque qu'il y a une pénétration de la matière organique dans les horizons profonds.
- 2) L'horizon A<sub>0</sub> de 4 cm d'épaisseur et l'interface aux couches L et F traduit une décomposition lente (à C/N élevé : 20) à cause de l'acidification du milieu (pH = 5,2) et des conditions climatiques rigoureuses.
- 3) L'horizon A<sub>1</sub> lui aussi est riche en matière organique (16,2 %). Son C/N est de 20 environ.
- 4) La diminution des pH par rapport aux deux profils précédents. Les pH sont de l'ordre de 5.
- 5) La diminution de S<sub>2</sub> de T et de S/T du sommet à la base du profil. En B<sub>2</sub> la somme des bases n'est que de 2,6 meq. pour 100 g, le taux de saturation n'est que de 8,5 %, il y a une désaturation très importante de cet horizon.

L'apparition de la végétation acidiphile avec des espèces comme la callune nous fait prévoir un début d'acidification et d'altération. Effectivement les horizons suivants portent les caractères ci-après :

- La richesse en acides fulviques.
- L'apparition d'une structure prismatique dans l'horizon B.
- La richesse de l'horizon B en sesquioxydes libres, avec un ventre pour fer et l'aluminium. Le rapport  $\frac{C + Fe + Al}{\% \text{ argile}}$  est de 0,27 ; supérieur à 0,15 (7e approximation).

Ces données nous permettent de classer ce sol dans :

- La classe des sols podzolisés.
- La sous-classe des sols podzolisés de climat tempéré.
- Le groupe des sols crypto-podzoliques.
- Le sous-groupe des sols bruns ocreux.

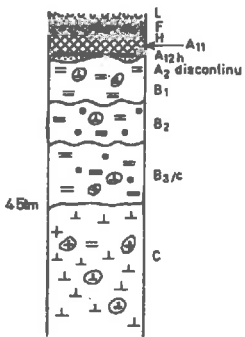
Figure 2-56(c) : Séquence Morzine-Avoriaz.



SOL OCRE PODZOLIQUE

Localisation : route de Morzine à Avoriaz.  
 Topographie : versant de montagne - pente : nulle - exposition : S-E.  
 Matériau parental : flysch.  
 Végétation : sommet de la forêt d'épicéas, *Rhododendron ferrugineus*, *Calluna vulgaris*  
 et *Vaccinium myrtillus*.  
 Hydrologie : submersion temporaire par fonte des neiges.  
 (EL ALLAM, 1975)

SOL OCRE  
 PODZOLIQUE



- L<sub>2</sub>F<sub>2</sub>H - Litière de feuilles mortes et de restes végétaux en voie de décomposition. Nombreuses racines grosses, moyennes et fines, chevelu, activité biologique faible.
- A<sub>11</sub> - Horizon humifère, humide, brun grisâtre très foncé 10 YR 3/2. Structure particulière peu nette, horizon meuble. Racines fines et moyennes, chevelu, activité biologique faible. Transition très nette ondulée.
- A<sub>12h</sub> - Horizon mince formant un liséré très noir très riche en matière organique.
- A<sub>2</sub> - Horizon humide, mince, discontinu, de couleur blanchâtre 10 YR 8/2 à l'état sec. Graviers peu abondants de roche sédimentaire altérée. Texture argilo-limoneuse. Structure particulière nette et généralisée. Quelques racines fines et moyennes. Activité biologique très faible.
- B<sub>1</sub> - Horizon humide, brun jaunâtre 10 YR 5/6. Graviers peu abondants. Texture argileuse à sable grossier. Structure polyédrique subanguleuse fine. Quelques racines fines et moyennes. Activité biologique très faible. Transition nette ondulée.
- B<sub>2</sub> - Horizon humide, brun vif 7,5 YR 5/6 à l'état sec, ocreux à l'état humide. Graviers peu abondants, cailloux peu abondants. Texture argileuse à sable grossier. Structure fragmentaire peu nette. Activité biologique très faible. Transition distincte ondulée.
- B<sub>3/C</sub> - Horizon humide brun vif 7,5 YR 5/8 à l'état sec. Graviers, cailloux très abondants. Structure fragmentaire peu nette, à tendance massive. Pas de racine. Activité biologique nulle. Transition nette, régulière.
- C - Niveau d'altération du flysch. Matériau de texture limono-sablo-argileux de couleur brun jaunâtre.

\* Un profil adiacent de quelques mètres, présentant un A<sub>2</sub> plus sableux et un B<sub>1</sub> nettement différencié a été échantillonné pour les analyses de fractionnement de matière organique.

Profondeur (cm)	Horizon	Granulométrie (%)					M.O.	pH		C	N	C/N	Complexe absorbant (meq/100 g)						Elém. libres (%)		Elém. totaux (%)		Fe	Al	L	T
		S.G.	S.F.	L.G.	L.F.	A		H <sub>2</sub> O	KCl				Ca	Mg	K	Na	S	T	100	Fe	Al	Fe				
0-6	A <sub>0</sub>	-	-	-	-	-	78,10	5,20	4,40	45,31	19,20	23,60	36,90	3,57	1,16	0,12	41,75	167,80	24,90	1,66	0,87	1,75	1,34	0,94	0,65	
6-11	A <sub>11</sub>	-	-	-	-	-	26,60	4,00	3,20	15,43	10,20	15,10	0,54	0,78	0,28	0,06	1,66	56,00	3,00	2,95	1,25	3,10	5,66	0,95	0,22	
11-12	A <sub>12h</sub>	5,20	5,70	14,60	37,40	37,00	35,20	4,40	3,40	20,43	6,80	30,00	1,20	0,22	0,25	0,03	1,70	56,40	1,04	2,44	1,74	2,65	6,27	0,99	0,28	
12-14	A <sub>2</sub>	13,70	6,20	14,90	34,80	30,50	7,64	4,50	3,00	4,44	2,11	36,20	0,45	0,06	0,10	0,04	0,65	22,80	2,85	3,56	1,59	4,09	8,31	0,89	0,19	
14-17	B <sub>1</sub>	11,80	5,80	14,10	33,90	34,40	7,88	4,30	3,20	4,58	2,19	20,90	1,65	0,18	0,08	0,02	1,93	31,60	6,10	4,14	1,36	4,80	9,91	0,86	0,14	
17-33	B <sub>2</sub>	10,50	5,50	12,70	33,60	37,70	5,64	4,40	3,10	3,28	2,24	14,60	0,08	0,08	0,06	0,03	0,25	29,80	0,84	6,38	1,80	8,72	11,71	0,73	0,15	
33-45	B <sub>3/C</sub>	14,80	6,70	12,70	33,30	32,50	4,82	4,80	3,90	2,80	1,71	16,40	0,08	0,08	0,05	0,04	0,25	19,40	1,30	5,30	2,38	7,03	11,99	0,75	0,20	
45	C	45,50	15,50	10,40	18,50	17,90	2,01	4,80	4,10	1,17	-	-	0,15	0,10	0,04	0,03	0,32	13,00	2,46	3,47	1,85	6,95	13,80	0,50	0,13	

On remarque qu'il y a une diminution du taux d'argile en A<sub>2</sub> et formation d'un petit "ventre" d'argile au niveau de l'horizon B<sub>2</sub>. Le taux d'argile est supérieur à 30 % pour l'ensemble des horizons sauf C.  
 Les pH sont très acides, ils sont généralement inférieurs à 5. La somme des bases est inférieure à 2 meq. dans l'ensemble du profil sauf en A<sub>0</sub> où elle atteint 42 meq. grâce aux réserves biologiques. Le complexe absorbant est complètement désaturé. Le rapport S/T est inférieur à 6 % dans l'ensemble du profil sauf en A<sub>0</sub> où il est de 25 %.

Le profil, on observe :

- 1) Un horizon A<sub>0</sub> complet, très riche en matière organique (78 %).  
 couche L : litière de l'année composée de feuilles et d'aiguilles.  
 couche F : litière non décomposée des années précédentes.  
 couche M : matière organique humifiée, mal minéralisée, sont C/N est de 23,6.
- 2) Un horizon A, avec deux couches bien distinctes : un horizon A<sub>11</sub> moins riche en matière organique (26,6 % mais beaucoup plus minéralisée, le C/N est de 15,1) et un liséré noir d'accumulation de la matière organique à la base du A<sub>11</sub> (35,2 %, C/N de 30) et que nous avons appelé A<sub>12h</sub>, la lettre h indique l'accumulation de la matière organique. L'observation sur le terrain a été confirmée par les analyses.
- 3) Un horizon A<sub>2</sub> mince, discontinu, cailleux, blanchâtre et désaturé.
- 4) Un horizon B<sub>2</sub> de couleur ocre (accumulation de fer).
- 5) Notons aussi :

La pénétration de la matière organique dans les horizons sous-jacents bien que invisible sur le terrain (5 % à 45 cm de profondeur).  
 une structure moins nette dans l'ensemble du profil.  
 Une végétation de résineux et d'espèces acidifiantes.

Toutes ces données, écologiques, morphologiques et analytiques permettent de classer ce sol dans :

- La classe des sols podzolisés.
- La sous-classe des sols podzolisés de climat tempéré.
- Le groupe des sols ocre podzolisés.
- Le sous-groupe des sols ocre podzolisés modaux.

Figure 2-56(d) : Séquence Morzine-Avoriaz (PIERRE, 1979).

Localisation Type de sol	Altitude (m)	Température moyenne annuelle (°C)	Enneigement moyen annuel (mois)	Pluviométrie moyenne annuelle (mm)	Végétation
Station 1 Sol brun modal	1100	6.17	4	1700	Prairie à graminées et légumineuses avec peu d'espèces alpines
Station 2 Sol brun acide	1440	4.05	5	1800	Prairie à ombellifères et épilobes avec <i>Genista sagittata</i> et <i>Trollius europæus</i>
Station 3 Sol brun ocreux	1600	3.20	6	1900	Palouse acidiphile à <i>Nardus stricta</i> avec <i>Genista sagittata</i> , <i>Companila barbata</i> , <i>Calluna vulgaris</i> , <i>Vaccinium myrtillus</i> .
Station 4 Sol ocre podzolique	1800	2.05	7 ± 8	2000	Sommet de la forêt d'Épicéa avec <i>Pododendrum ferrugineum</i> , <i>Calluna vulgaris</i> , <i>Vaccinium myrtillus</i> .

Tableau 2-XXXIX : Séquence Morzine-Avoriaz. Types de végétation et caractéristiques climatiques des écosystèmes étudiés.

B) Résultats.

Ils sont présentés sur le tableau 2-XL et la figure 2-57.

Sol	Horizon	Profondeur (cm)	N (%)	C (%)	C/N	pH	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Sol brun modal	Ao	0-2	0.49	6.4	13.1	7.0	1.4
	A <sub>11</sub>	2-5	0.40	4.8	12.1		2.6
	A <sub>12</sub>	5-10	0.28	2.9	10.3		3.6
	A/B	10-20	0.26	2.6	10.0	6.9	5.2
	(B)	20-30	0.20	1.8	9.1		5.7
	C	30-42	0.17	1.7	10.0		6.4
		±50	0.10	0.85	8.5	6.5	5.9
Sol brun acide	Ao	0-1	0.67	10.4	15.6	6.1	1.1
	A <sub>11</sub>	2-5	0.52	6.1	11.8		2.9
	A <sub>12</sub>	5-10	0.43	4.8	11.1		3.8
	A/B	10-20	0.37	3.6	9.6	6.6	5.0
	(B)	20-35	0.24	2.4	10.0		5.8
	C	35-50	0.16	1.5	9.6		6.2
		80-100	0.10	0.78	7.8	6.2	4.4
Sol brun ocreux	Ao	0-1	0.99	19.8	20.0	5.2	-2.3
	A <sub>1</sub>	1-4	0.68	10.7	15.7		0.1
	A <sub>2</sub>	4-8	0.53	7.1	13.4		4.9
	A/B	8-18	0.40	5.5	13.8	5.1	3.1
	B	18-29	0.32	4.0	12.4		4.3
	B/C	29-55	0.19	2.2	11.8		5.1
		55-89	0.10	0.82	8.2	5.4	4.5
C	±89	0.11	0.68	6.2	4.9		
Sol ocre podzolique	L <sub>1</sub>	0-1	1.57	48.8	31.1	5.2	-4.0
	L <sub>2</sub>	2-6	1.39	34.1	24.5		-2.8
	A <sub>11</sub>	6-11	1.21	25.2	20.9		4.0
	A <sub>12</sub>	11-12	0.84	16.0	19.1	4.4	2.8
	A <sub>2</sub>	12-14	0.20	3.5	17.5		4.5
	B	14-33	0.17	3.1	18.1		4.3
	B/C	±80	0.21	1.7	8.2	-	5.0

Tableau 2-XL : Séquence Morzine-Avoriaz. Résultats analytiques.

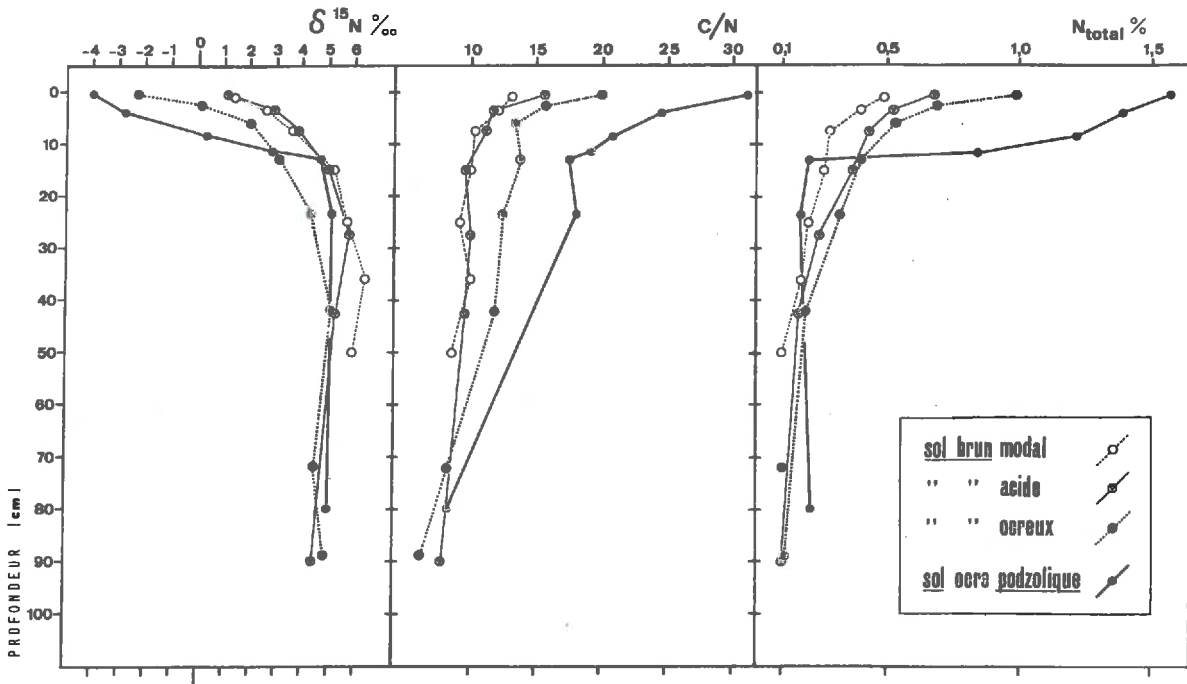


Figure 2-57 :  $\delta^{15}\text{N}$ , C/N,  $N_{\text{total}}$  versus profondeur pour les quatre profils types de la séquence Morzine-Avoriaz.

(i) On peut noter, pour chaque profil, un enrichissement en isotope lourd de l'azote organique avec la profondeur. Cette évolution du  $\delta^{15}\text{N}$  est inverse de celle des teneurs en C organique et N total. On peut constater sur les figures 2-58 et 2-59 que la composition isotopique de l'azote va dans le sens d'un enrichissement en  $^{15}\text{N}$  et se trouve bien corrélée linéairement avec ces deux paramètres chimiques. Le  $\delta^{15}\text{N}$  est corrélé avec le rapport C/N pour les horizons de surface mais pas pour les horizons profonds surtout pour les sols les plus acides : sols brun ocreux et ocre podzologique (figure 2-60). Sur le diagramme  $\delta^{15}\text{N}$ -C on peut constater que le sol brun modal s'oppose très nettement au sol podzologique : forte pente avec faible dispersion des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  pour le premier, pente faible et grande variation des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  pour le second. Les deux autres types de sol occupent des positions intermédiaires. Ces résultats sont semblables pour  $\delta^{15}\text{N}$  versus N organique.

(ii) D'autre part, on constate que chaque type d'humus de surface présente des valeurs différentes du  $\delta^{15}\text{N}$  : les humus de type mull (sols bruns) ont des  $\delta^{15}\text{N}$  positifs, compris entre 0,1 ‰ (sol brun ocreux) et 3 à 4 ‰ (sol brun modal et acide). Au contraire, l'humus de type moder-mor (sol ocre podzologique) a un  $\delta^{15}\text{N}$  négatif.



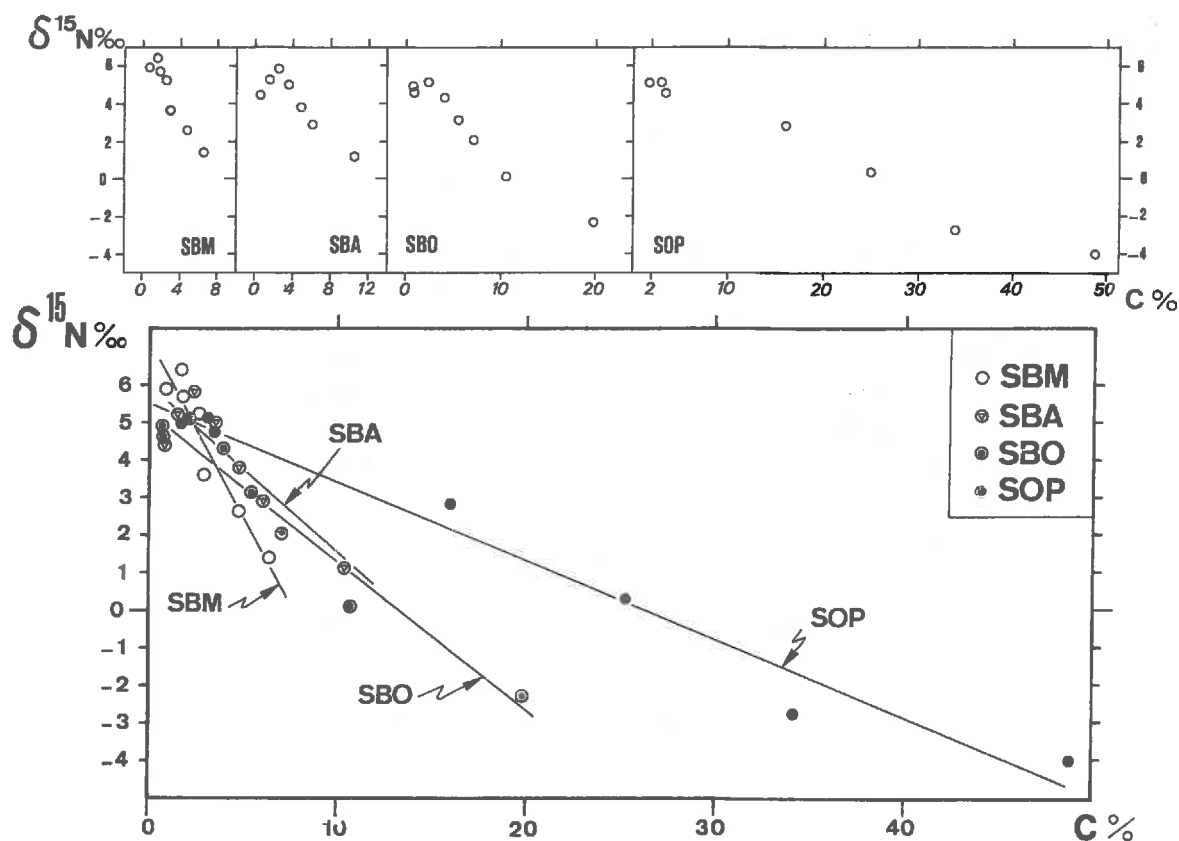


Figure 2-58 : Séquence Morzine-Avoriaz. Relation  $\delta^{15}\text{N}$ -C organique.

(iii) Enfin, on peut mettre en évidence, pour chaque type de pédogénèse (brunifiante, podzolisante) des variations de composition isotopique très différentes avec la profondeur. En effet on peut se rendre compte sur la figure 2-57 que le  $\delta^{15}\text{N}$  des horizons minéraux profonds, pour les 4 profils étudiés, est remarquablement similaire. Si on prend en considération les observations faites en surface, dans les humus, on peut constater que les variations de  $\delta^{15}\text{N}$  du sommet à la base des profils apparaissent très différentes pour les sols bruns et les sols podzoliques. Dans les sols bruns, les variations du  $\delta^{15}\text{N}$  mesurées du sommet à la base des profils sont faibles : 3,8 ‰ pour les 20 premiers centimètres dans le sol brun modal et 3,9 ‰ pour le même intervalle dans le sol brun acide. Au contraire le sol ocre podzolique se caractérise par une très importante variation du  $\delta^{15}\text{N}$  : 8,7 ‰ unités delta pour les premiers 15 cm. Cette variation est intermédiaire pour le sol brun ocreux.

Avant de proposer une interprétation à ces observations, la connaissance de la composition isotopique de l'azote qui entre dans le système, soit l'azote de la végétation, est nécessaire.

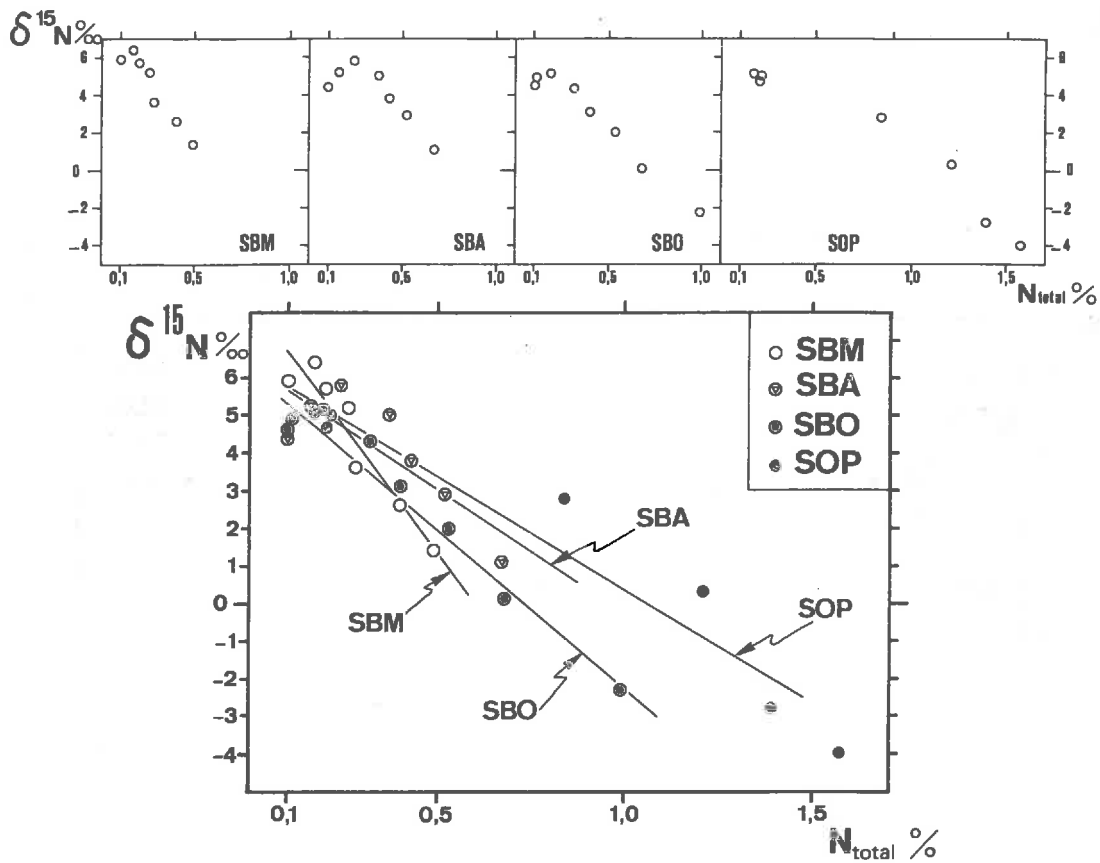


Figure 2-59 : Séquence Morzine-Avoriaz. Relation  $\delta^{15}\text{N}-\text{N}_{\text{total}}$ .

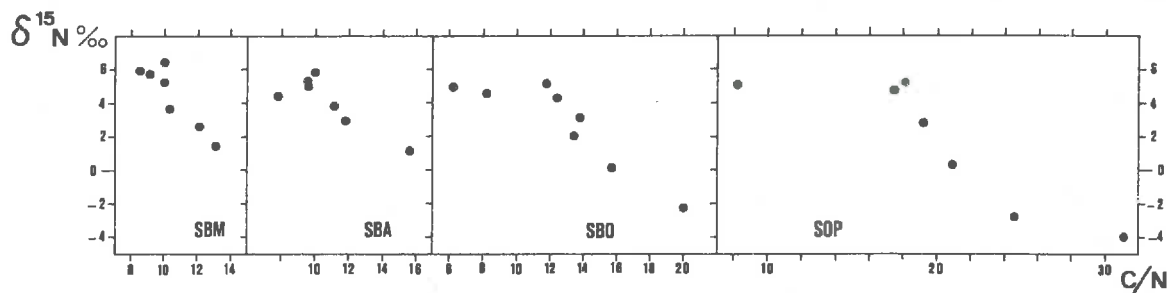


Figure 2-60 : Séquence Morzine-Avoriaz. Relation  $\delta^{15}\text{N}-\text{C}/\text{N}$ .

C) Composition isotopique de la végétation et des litières.

Les végétaux ont été prélevés sur chacun des profils en quantité importante (200 g environ pour les feuilles, 1/2 m<sup>2</sup> fauché pour la prairie) et ont subi un broyage et une homogénéisation rigoureuse. Les mesures de composition isotopique sont ainsi représentatives du végétal ou du mélange de végétaux étudiés. En fait, cette affirmation doit être tempérée par le fait que l'uniformité des compositions isotopiques de l'azote d'une partie d'un végétal n'est pas démontrée quelle que soit sa position sur le végétal : ceci pourrait être particulièrement sensible pour les arbres (*Epicea* notamment) ; d'autre part on ne peut assurer le maintien des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$ , au cours d'un cycle de végétation, dans une partie du végétal. On sait en particulier que les végétaux à feuilles caduques présentent des variations saisonnières de teneur en azote, notamment en automne (brunissement) (LEROY, 1968 ; LE TACON et TOUTAIN, 1973).

Les résultats figurent sur le tableau 2-XLI (prélèvements effectués en septembre 1977). On constate que le  $\delta^{15}\text{N}$  des plantes analysées est négatif, conformément aux observations de HOERING (1955), MEINTS *et al.* (1975), BARDIN *et al.* (1977). Il semblerait que les espèces les plus acidifiantes aient les compositions isotopiques les plus basses. Il faut également noter que l'écart de  $\delta^{15}\text{N}$  entre la végétation et la litière correspondante est faible et semble d'autant moins marqué que le matériel est acide et plus lentement transformé.

$\delta^{15}\text{N}$ \ Sol	brun modal	brun acide	brun ocreux	ocra podsolique
Végétation	prairie : échantillon moyen : - 1.9 ‰	prairie : échantillon moyen : - 1.8 ‰	.prairie acidiphile : échantillon moyen - 5.0 ‰ .feuilles de <i>Calluna vulgaris</i> : - 5.6 ‰	.feuilles de <i>Calluna vulgaris</i> - 5.6 ‰ .feuilles de <i>Rhododendron ferrugineum</i> : - 1.8 ‰ .aiguilles de <i>Picea excelsa</i> : - 3.5 ‰ .feuilles de <i>Vaccinium myrtillus</i> : - 3.1 ‰
Litière	A <sub>0</sub> : 1.4 ‰	A <sub>0</sub> : 1.1 ‰	A <sub>0</sub> : - 2.3 ‰	L : - 5.6 ‰ F : - 4.3 ‰ R : - 2.2 ‰

Tableau 2-XLI : Composition isotopique de quelques espèces végétales et des litières des sols de la séquence d'Avoriaz.

Nous avons complété ces observations par l'étude du  $\delta^{15}\text{N}$  des racines dans les horizons A des trois sols bruns sous prairie (tableau 2-XLII).

$\delta^{15}\text{N} \%$	Sol		
	Brun modal	Brun acide	Brun ocreux
Echantillon moyen de racines	- 0.8	- 1.5	- 3.5
Sol : horizons (A) de prélèvement des racines	2.6	3.0	0.1

Tableau 2-XLII : Composition isotopique des racines et de la matière organique de l'horizon de prélèvement de ces racines.

La composition isotopique des racines est, comme celle des parties aériennes, négative et toujours nettement inférieure à celle de l'azote total des horizons dans lesquels elles ont été prélevées.

En conclusion, on peut établir que l'apport de matière organique fraîche au sol par les plantes, dans des écosystèmes naturels, se caractérise par une composition isotopique ( $^{15}\text{N}$ ) proche ou inférieure à celle de l'atmosphère.

#### 2.7.2. - GENERALISATION A L'ETUDE DE QUELQUES SOLS TYPES.

##### A) Présentation des sols.

Nous avons étendu nos observations à des sols naturels, représentatifs des types de pédogenèses tempérées, le plus souvent correspondant à des profils-références parfaitement décrits, analysés et étudiés par le Centre de Pédologie Biologique de Nancy, ou, dans le cas des podzols du Bassin Parisien, par A.M. ROBIN (1979). Le tableau 2-XLIII résume la situation générale des écosystèmes étudiés. D'autre part, nous avons étudié à titre de comparaison, quelques échantillons provenant de sols particuliers : Andosol et Chernozem. La description détaillée des profils est donnée dans les travaux de D. PIERRE (1979) et A.M. ROBIN (1979).

##### B) Résultats.

##### 1) Distribution verticale des compositions isotopiques.

Sur la figure 2-61, nous avons reporté les compositions isotopiques de  $\text{N}_{\text{total}}$  versus profondeur pour les profils étudiés.

Station	Type de sol	Roche mère	Végétation	Localisation géographique	Altitude (m)
Bellefontaine	Rendzine	Calcaire Bajocien	Hêtraie à Charmes	Lorraine	260
Housseras	Brun acide	Grès intermédiaire	Sapinière-Hêtraie à Fétuque	Vosges	500
Haut Jacques	Brun acide	Grès intermédiaire	Sapinière-Hêtraie à Fétuque	Vosges	600
Séquence du Robinot	Brun modal colluvial	γ des Crêtes	Sapinière-Hêtraie	Vosges	930
	Brun acide colluvial				860
	Brun ocreux		Sapinière pessière		970
Séquence du Rudlin	Brun acide	γ des Crêtes	Sapinière-Hêtraie à Fétuque	Vosges	960
	Ocre podzolique		Sapinière à flore acidiphile		950
Biffontaine	Podzol	Grès vosgien	Pineraie à Callune et Myrtilliers	Vosges	520
Villers - Cotteret	Podzol VC 12 à Bh meuble	Sables de Beauchamp	Chênaie-Hêtraie	Bassin parisien	
	Podzol VC 1 à alios humique		Pineraie à Callune et Fougère aigle		

Tableau 2-XLIII : Caractéristiques des profils étudiés.

On observe que :

(i) Les horizons de surface : litière,  $A_{00}$ ,  $A_0$  parfois même  $A_1$  présentent des  $\delta^{15}N$  négatifs.

(ii) Avec la profondeur les  $\delta^{15}N$  augmentent, en particulier très rapidement à l'interface litière/sol "minéral", prenant des valeurs positives qui se stabilisent de façon à peu près uniforme vers 5 à 7 ‰. Toutefois les horizons C présentent, dans quelques cas, une tendance à l'abaissement des valeurs de  $\delta^{15}N$ .

Les podzols montrent une très grande variation des  $\delta^{15}N$  mais l'augmentation de ces valeurs avec la profondeur est variable : plus rapide pour le podzol VC1 (à alios sous couverture végétale acidifiante de résineux et callunes) que pour le podzol VC12 sous feuillus.

2) Relation entre le  $\delta^{15}N$  et les paramètres pédologiques : teneur en  $N_{total}$ ,  $C_{organique}$ , rapport C/N.

Sur la figure 2-62 sont reportés respectivement  $\delta^{15}N$  versus  $C_{organique}$  et  $\delta^{15}N$  versus  $N_{total}$  pour l'ensemble des sols étudiés. Dans les deux cas, on constate que l'augmentation de la composition suit, de façon grossièrement exponentielle, la baisse des taux de carbone et d'azote. Sur cette figure, on peut clairement distinguer deux domaines :

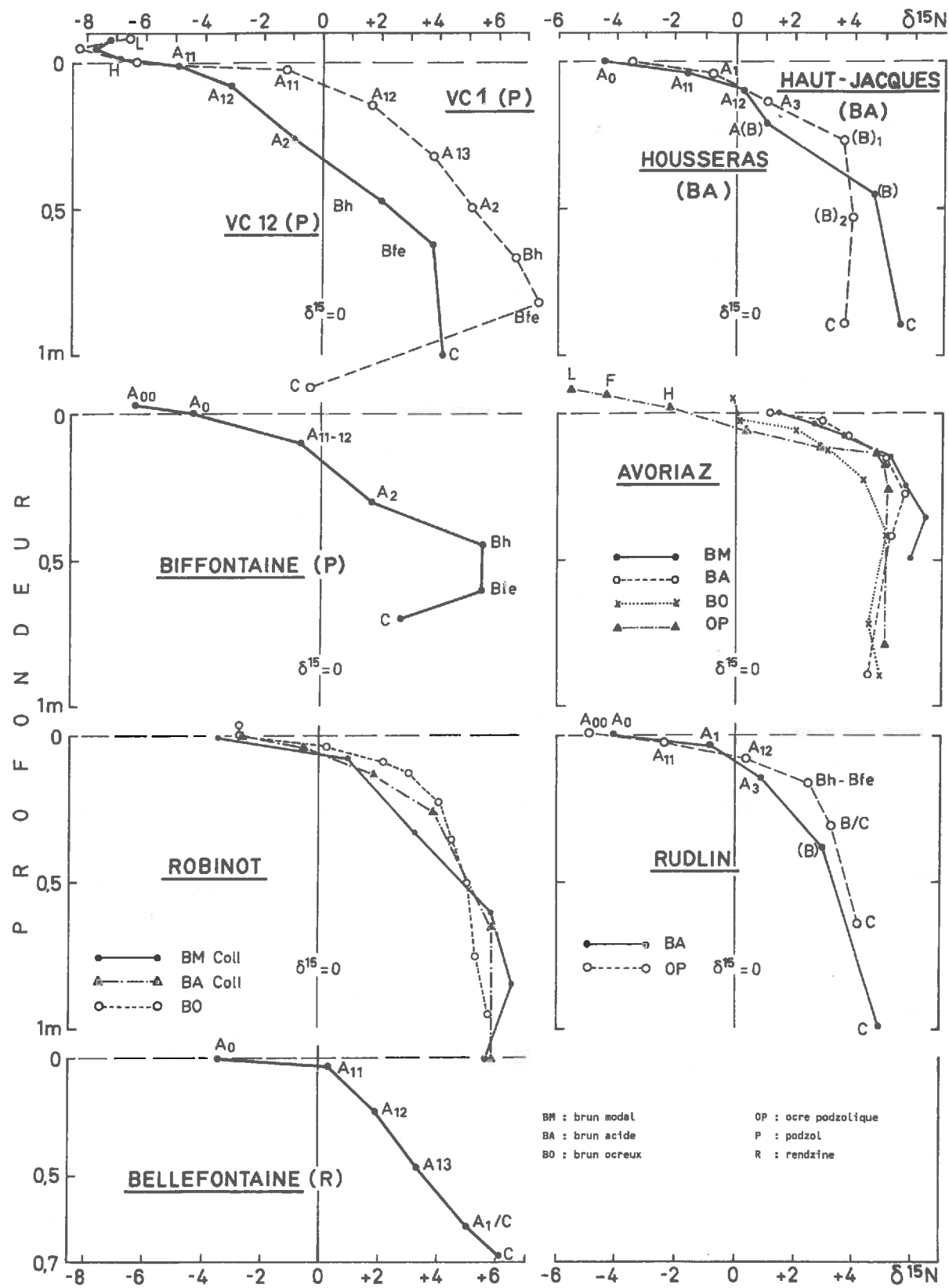


Figure 2-61 : Distribution verticale des compositions isotopiques de l'azote sur les profils de sols étudiés (PIERRE, 1979)

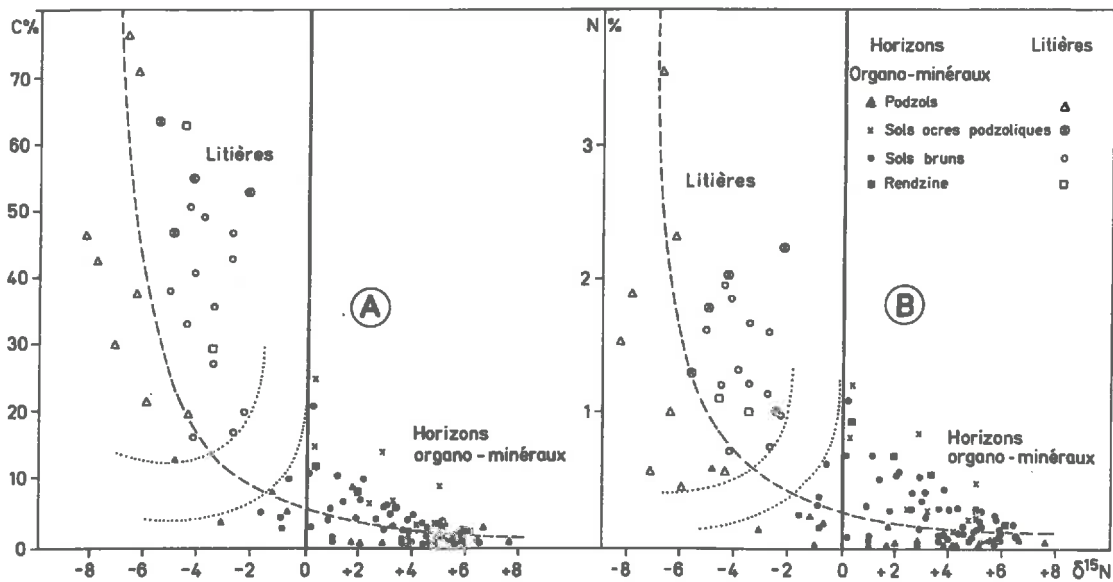


Figure 2-62 : Relation entre les  $\delta^{15}\text{N}$  et les concentrations en carbone organique (A) et azote total (B) - (PIERRE, 1979).

- les litières, dont le  $\delta^{15}\text{N}$  est toujours négatif (inférieur à - 2 ‰).
- Les horizons organo-minéraux dont le  $\delta^{15}\text{N}$  est le plus souvent positif (à l'exception de certains horizons de surface  $A_{11}$  de sols acides).

On peut également noter l'existence d'un très net hiatus entre les deux domaines.

Ainsi les litières présentent de relativement faibles variations de leurs  $\delta^{15}\text{N}$  (de - 8 à - 2 ‰) par rapport aux importantes fluctuations de leurs teneurs en carbone et azote. Au contraire les horizons organo-minéraux présentent de fortes variations de  $\delta^{15}\text{N}$  (de - 4 à + 8 ‰) relativement aux faibles variations des taux de C et N (figure 2-62).

Les valeurs du  $\delta^{15}\text{N}$  des litières, des horizons organiques et organo-minéraux des différents types de sols étudiés, comparées à leur rapport C/N (figure 2-63) mettent en évidence :

- que les litières, dont le  $\delta^{15}\text{N}$  est négatif (< 2 ‰), présentent des C/N compris entre 70 (litières acidifiantes) et 20 (litières améliorantes).
- Qu'une distinction supplémentaire apparaît pour les horizons organiques et organo-minéraux quand on prend en compte les rapports C/N, avec une nette opposition entre sols bruns et podzols - sols podzoliques (cf. figure 2-63).

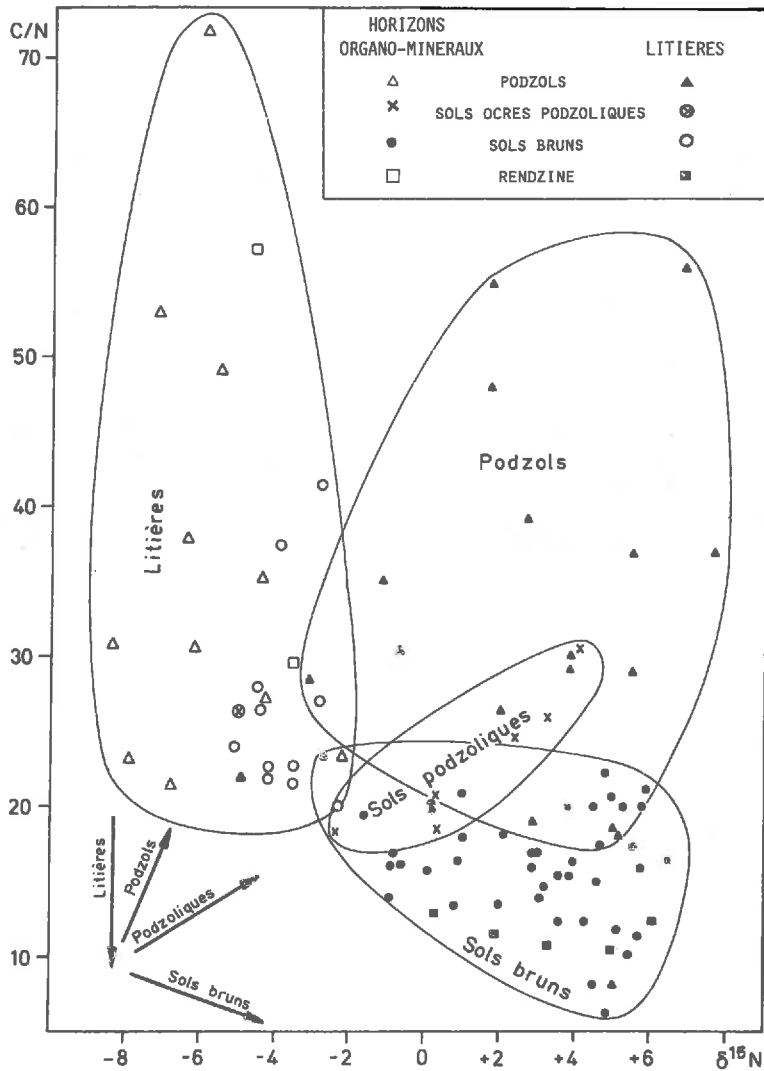


Figure 2-63 : Relation  $\delta^{15}N$  - C/N (PIERRE, 1979).

### 3) Conclusions sur ces observations.

Ces résultats montrent que  $\delta^{15}N$  n'est pas un paramètre discriminant des litières où la matière organique n'est pas liée au minéral et se trouve rajeunie à chaque cycle annuel. Par contre, il n'en est pas de même dans les horizons organiques ou organo-minéraux. Tout se passe en effet comme si les variations de  $\delta^{15}N$ , très faibles au niveau des litières, où règne toutefois une intense activité microbienne, notamment de minéralisation, puis devenant importantes au niveau des horizons organo-minéraux, où la matière organique se lie physiquement et chimiquement à la fraction minérale, étaient associées au processus d'humification : les humus de type mull ont des valeurs de  $\delta^{15}N$  très rapidement positives et élevées dès les horizons de surface, alors que



dans les sols bruns ocreux et surtout podzoliques, où l'activité biologique est très ralentie, le  $\delta^{15}\text{N}$  reste à des valeurs négatives ou proches de zéro dans ces horizons de surface et évolue moins rapidement en profondeur (avec une variation relative plus importante).

En fait, l'acquisition des liens de la matière organique avec la fraction minérale, ne fait que traduire *l'acquisition de propriétés physico-chimiques nouvelles par cette matière organique, au cours des transformations biologiques.*

Réciproquement, on pourrait également penser que le  $\delta^{15}\text{N}$  puisse permettre de différencier, dans une certaine mesure, les processus d'humification.

Pour apporter la preuve que c'est bien le phénomène d'humification qui s'accompagne de fractionnements isotopiques tels que l'on puisse expliquer cet enrichissement isotopique en  $^{15}\text{N}$  avec la profondeur nous étudierons :

(i) dans un premier temps, de façon plus détaillée, les transformations isotopiques de l'azote dans des litières d'écosystèmes naturels.

(ii) Puis nous étudierons l'apport des techniques de fractionnement de la matière organique des sols à l'étude des transformations isotopiques associées à l'humification.

### 2.7.3. - TRANSFORMATIONS ISOTOPIQUES DE L'AZOTE DANS LES LITIÈRES : EXEMPLE DES LITIÈRES DE HÊTRE.

Dans les paragraphes précédents, nous avons montré que les fractionnements isotopiques régissant les enrichissements isotopiques dans la matière organique des sols pouvaient, pour l'essentiel, s'exprimer au cours du phénomène d'humification proprement dit : ces enrichissements isotopiques semblent se produire lorsque la matière organique acquiert des liens avec la fraction minérale et qu'elle subit l'impact des processus biologiques de biodégradation, réorganisation, humification dans les horizons organo-minéraux (où disparaît l'héritage végétal).

Au contraire, dans les horizons holorganiques, les litières, où règne pourtant une intense activité de biodégradation, notamment de minéralisation de la matière organique, ces enrichissements isotopiques apparaissent négligeables\*.

---

\* Ceci ne saurait en aucun cas signifier qu'il n'y a pas de fractionnement isotopique au cours de la biodégradation des litières : si les étapes successives de la minéralisation s'accompagnent de la transformation totale de compartiments organiques donnés, il n'y a pas d'enrichissement isotopique.

Afin de démontrer clairement cette dernière proposition, nous étudierons l'évolution de la composition isotopique de l'azote des litières de Hêtre, au cours des premières années de leur décomposition, sur l'exemple de sols de Lorraine.

Cette étude porte sur des stations de référence étudiées par F. TOUTAIN (1974), aux environs de Nancy.

A) Présentation des stations étudiées.

La première est située sur le plateau calcaire (La Crédence), les deux autres dans la plaine lorraine, sur sable Rhétien acide (Bezange : podzol ; Sainte-Marie : sol brun acide).

Les caractéristiques de ces stations et des sols qui s'y sont développés sont rappelées sur le tableau 2-XLIV. Les profils de sols étudiés sont décrits dans la thèse de F. TOUTAIN (1974).

Station (altitude)	Type de sol	Roche mère	Pluviométrie moyenne (mm)	Température moyenne (°C)	Végétation
LA CREDENCE (350 m)	Rendzine forestière mull calcaire	Graine colluvionnée sur calcaire Bajocien	800	9.6	Hêtraie-Chênaie à Charms. <i>Ligustrum vulgare</i> , <i>Cornus sanguinea</i> , <i>Viburnum lantana</i> , <i>Carex glauca</i> , <i>Braehypodáium pinnatum</i> .
SAINTE MARIE (250 m)	Sol brun acide à mull	Grès Rhétien (Lias inférieur)	720	10.2	Hêtraie. <i>Melica uniflora</i> , <i>Lamium galabdolon</i> , <i>Milium effusum</i> , <i>Festuca silvatica</i> , <i>Luzula albida</i>
BEZANGE (295 m)	Podzol humo-ferrugineux à moder	Grès Rhétien (Lias inférieur)	750	9.9	Hêtraie-Chênaie à prédominance de Hêtres. <i>Pteridium aquilinum</i> , <i>Lonicera periclymenum</i> , <i>Luzula albida</i> .

Station	Caractérisation de l'horizon A <sub>1</sub>		
	M.O. ‰	C/N	pH
LA CREDENCE	15.0	11.5	7.4
SAINTE MARIE	3.9	11.0	4.7
BEZANGE	6.0	16.0	3.5

Tableau 2-XLIV : Caractérisation des stations et des sols sur lesquels sont effectuées les études de la litière de Hêtre (d'après les données de TOUTAIN).

B) Méthode d'analyse des litières de Hêtre.

Dans la litière de Hêtre, TOUTAIN (1974) puis MIN SRENG (1977) distinguent plusieurs couches :

- 1 : feuilles tombées depuis moins d'un an ;
- 2 : feuilles tombées depuis plus d'un an mais moins de deux ans ;
- 3 : feuilles tombées depuis plus de deux ans, certaines encore entières, d'autres très fragmentées et mélangées éventuellement avec des boulettes fécales d'animaux (L<sub>3</sub>F).

Ces trois strates sont distinguables par le fait qu'elles sont séparées entre elles par une couche plus ou moins continue d'écaïlles de bourgeons de Hêtre peu biodégradables, constituant des niveaux repères, stables au cours du temps. Ces bourgeons tombent sur le sol au début du mois de mai, alors que les feuilles tombent en novembre. On peut séparer, par ce procédé, dans les litières de Hêtre, des "varves" annuelles de litière et ainsi dater des litières ayant subi une plus ou moins longue décomposition.

Dans les humus de type mull (Sainte-Marie par exemple) les litières se décomposent en 3 ans, alors que le processus met jusqu'à 7 ans dans le moder (Bezange).

TOUTAIN (1974) observe que dans le mull, L<sub>3</sub> repose directement, avec discontinuité sur A<sub>1</sub>, alors que dans le moder il y a passage progressif de L<sub>3</sub>F à A<sub>1</sub>, premier horizon organo-minéral.

Enfin, les feuilles des strates L<sub>2</sub> ou L<sub>3</sub> peuvent être blanchies sous l'action de champignons (pourriture blanche) qui transforment les pigments bruns initiaux des feuilles (complexes polyphénols protéines : RAFIDISON *et al.*, 1981).

Ce dispositif naturel va nous permettre d'étudier l'influence de la décomposition, par minéralisation, et/ou réorganisation fongique des feuilles de Hêtre sur la composition isotopique de l'azote de cette litière ; ceci sur l'exemple de sols très différents (sols bruns ou podzol).

Les prélèvements ont été effectués à deux dates différentes :

- début avril, lorsque la biomasse fongique est très élevée, au moins dans les couches L<sub>2</sub> L<sub>3</sub> (MIN SRENG, 1977).
- Fin mai, qui correspond à une période où la biomasse fongique est très faible.

### C) Résultats.

Ces litières, dont on peut suivre l'évolution sur plusieurs années (3 à 7 ans), sont le siège d'une activité biologique dont témoignent les variations du rapport C/N (cf. tableau 2-XLV). Par contre, cette litière, au cours des 3 ans (mull acide) à 7 ans (moder) qu'elle met à se décomposer n'est le siège d'aucun enrichissement isotopique : les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  des couches successives de litière ne montrent aucune variation significative (cf. figure 2-64). Comme nous l'avons noté ci-dessus, ceci ne signifie pas obligatoirement qu'il n'y a pas de fractionnement isotopique au cours de la transformation par minéralisation et réorganisation fongique de cet azote organique.

Station Type de sol Nature de l'humus	Couche prélevée	Date de prélèvement	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N organique (%)	C organique (%)	C/N
LA CREDENCE Rendzine Mull calcaire	L <sub>1</sub>	06.04.1978	- 4.8	1.11	44.71	40.3
	L <sub>2</sub> L <sub>3</sub> nb	"	- 4.7	1.59	45.28	28.5
	L <sub>1</sub>	31.05.1978	- 4.5	1.32	45.11	34.2
	L <sub>2</sub>	"	- 4.3	1.49	45.53	30.6
	L <sub>3</sub>	"	- 4.5	1.52	45.63	30.0
	L <sub>3</sub> F	"	- 4.3	1.51	44.82	29.7
			- 4.51 ± 0.20 <sup>⊖</sup>			
SAINTE MARIE Sol brun acide Mull	L <sub>1</sub>	06.04.1978	- 6.0	1.36	44.61	32.8
	L <sub>2</sub> L <sub>3</sub> nb	"	- 6.4	1.53	45.60	29.8
	L <sub>2</sub> L <sub>3</sub> b	"	- 5.9	1.97	36.24	18.4
	L <sub>1</sub>	30.05.1978	- 5.6	1.29	44.65	34.6
	L <sub>2</sub>	"	- 6.1	1.51	43.86	29.0
	L <sub>3</sub>	"	- 5.7	1.60	42.58	26.6
			- 5.95 ± 0.29 <sup>⊖</sup>			
BEZANGE Podzol Moder	L <sub>1</sub>	06.04.1978	- 5.9	1.00	43.44	43.4
	L <sub>2</sub> L <sub>3</sub> nb	"	- 6.6	1.52	41.64	27.4
	L <sub>2</sub> L <sub>3</sub> b	"	- 5.7	1.96	40.94	20.9
	L <sub>1</sub>	30.05.1978	- 5.5	1.36	43.61	32.1
	L <sub>2</sub>	"	- 5.4	1.38	41.01	29.7
	L <sub>3</sub>	"	- 5.8	1.55	42.09	27.2
L <sub>3</sub> F	"	- 5.2	1.55	41.88	27.0	
			- 5.73 ± 0.45 <sup>⊖</sup>			

⊖ = moyenne ± écart-type  
nb = non blanchi  
b = blanchi sous l'action des champignons

Tableau 2-XLV : Litières de Hêtre. Résultats.

⊖ : moyenne ± écart-type  
nb : non blanchi  
b : blanchi sous l'action des champignons

Par contre, dans les horizons organo-minéraux immédiatement sous-jacents, l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  est déjà très important : il est, par rapport à la litière, de 4,5 ‰ pour la rendzine, 4,8 ‰ pour le sol brun acide, 4,1 ‰ pour le podzol (figure 2-64).

A contrario, l'absence de variation de composition isotopique dans ces litières permet de penser qu'il n'y a pas de variation de  $\delta^{15}\text{N}$  dans la végétation à l'origine de ces litières, d'une année sur l'autre : ceci souligne le fait que le cycle de l'azote dans ces écosystèmes naturels est en équilibre dynamique.

#### D) Conclusions.

Cette étude montre clairement que les enrichissements isotopiques dans l'azote organique des sols ne sont pas liés à l'activité de biodégradation dans les litières, mais bien aux processus liés à l'humification, dans les horizons organo-minéraux.

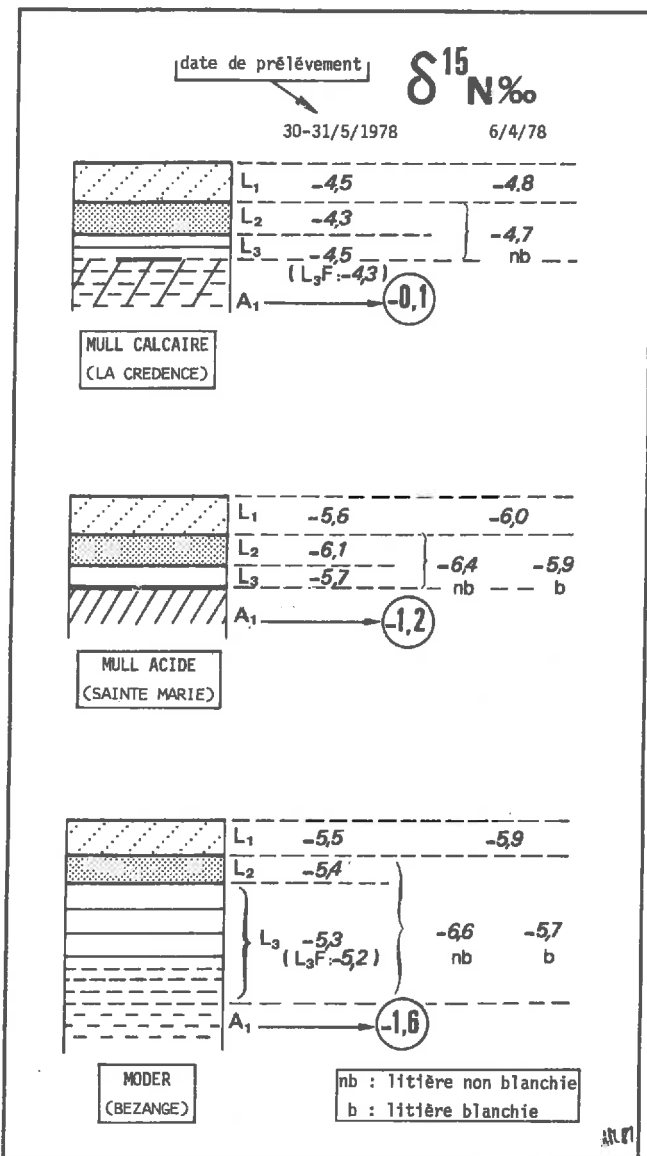


Figure 2-64 : Litières de Hêtre. Compositions isotopiques.

On notera que ces compositions isotopiques sont stables dans la litière. Elles augmentent brutalement dès que l'on a franchi l'interface litière/sol "minéral" (composition isotopique de l'horizon A<sub>1</sub> dans un cercle).

#### 2.7.4. - VARIATIONS DE L'ABONDANCE NATURELLE EN $^{15}\text{N}$ DANS DIFFERENTES FRACTIONS ORGANIQUES DU SOL.

##### A) Fractionnement granulométrique.

##### 1) Matériel et méthodes.

La méthode de fractionnement de la matière organique du sol utilisée ici a été mise au point au Centre de Pédologie Biologique de Nancy (BRUCKERT *et al.*, 1979 ; BRUCKERT, 1979 ; ANDREUX *et al.*, 1980).

Les complexes organo-minéraux des sols forment des agrégats qui conservent la possibilité de fragmentation en microagrégats (incluant la matière organique humifiée) et en particules élémentaires, sous l'action de traitements

mécaniques (HENIN *et al.*, 1969). Ceci peut être utilisé pour la séparation de matières organiques peu ou pas humifiées. Si on veut isoler des complexes argilo-humiques purifiés, on peut procéder à un fractionnement granulométrique du sol préalablement dispersé dans l'eau. La méthode mise au point par les chercheurs du C.P.B. est fondée sur ces principes.

La différence de taille des débris végétaux (matière organique fraîche) et des complexes organo-minéraux intégrés dans la fraction fine argilo-humique va être mise à profit par cette technique qui consiste donc à fragmenter les unités structurales des échantillons par un effet mécanique léger et contrôlé (BRUCKERT, 1979 ; PIERRE, 1979). On réalise ensuite la séparation par tamisage sous eau pour obtenir :

- i) une fraction grossière (2000-100  $\mu\text{m}$ ) composée de débris végétaux peu ou pas humifiés, de mycéliums fongiques, de sables...
- ii) une fraction fine (< 50  $\mu\text{m}$ ) qui renferme la fraction organique fortement associée à la phase minérale (complexes organo-argilliques, cellules bactériennes etc...).
- iii) une fraction intermédiaire (100-50  $\mu\text{m}$ ) de nature hétérogène renfermant, à la fois, des complexes et des débris, dans des proportions variables selon les humus.

En simplifiant, on peut donc estimer que cette technique permet la concentration, dans les deux fractions granulométriques extrêmes, de matières organiques fraîches, héritées et de matières organiques ayant subi l'humification\*.

Ce fractionnement a été pratiqué de façon détaillée sur les sols de la séquence d'Avoriaz et sur des échantillons représentatifs et caractéristiques des autres sols précédemment décrits.

## 2) Résultats obtenus sur la séquence Morzine-Avoriaz.

### a. - Répartition de la matière organique dans les fractions isolées.

Les quatre profils de la séquence, après fractionnement et dosage du carbone organique sur chaque fraction, peuvent être représentés sur la

- 
- i - Le taux de matière organique humifiée (fraction < 50  $\mu\text{m}$ ) décroît, dans les horizons A, des sols à humus de type mull (sol brun modal) structuré en agrégat, aux humus de type moder ou mor (sol ocre podzolique) à structure particulière.
  - ii - La fraction < 50  $\mu\text{m}$  devient majoritaire dans les horizons profonds quel que soit le type de sol de la séquence.

figure 2-65, donnant le taux de carbone et, partant, de matière organique dans les 3 classes granulométriques distinguées. On peut mettre en évidence les faits essentiels suivants :

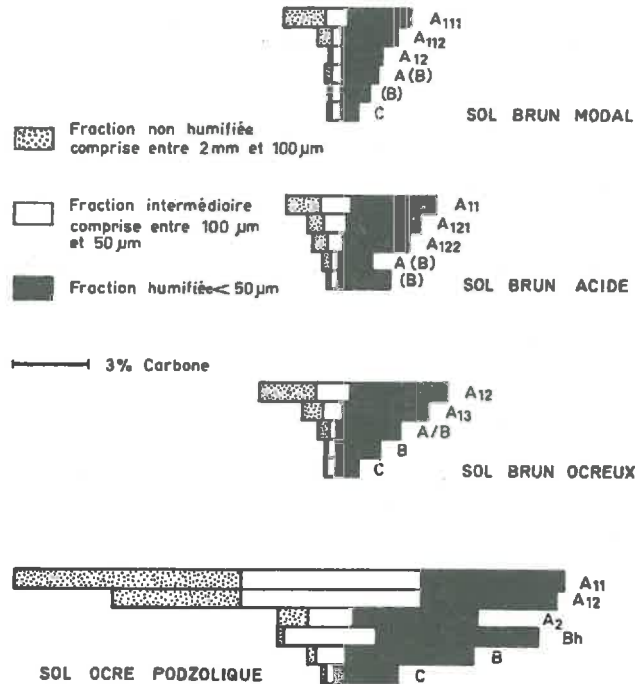


Figure 2-65 : Distribution verticale de la matière organique contenue dans chacune des fractions isolées par tamisage, sur la séquence Morzine-Avoriaz (PIERRE, 1979).

(i) dans les horizons A des sols bruns à humus de type mulé structuré en agrégats (forte activité biologique), la matière organique se trouve de façon prépondérante dans la fraction < 50 µm.

(ii) Au contraire, dans les horizons A à structure particulaire sans complexe argilo-humique (humus de type mor ou moder) la matière organique de la fraction inférieure à 50 µm devient minoritaire par rapport aux deux autres.

(iii) La fraction < 50 µm, dans les horizons profonds, quelque soit le type de sol, devient majoritaire.

Ces résultats prouvent à l'évidence la validité de cette méthode de fractionnement de la matière organique : la matière organique se trouve préférentiellement dans la fraction fine des horizons superficiels des sols à turnover intense, comme le sol brun modal, où les débris organiques fragmentés subissent rapidement l'humification. Au contraire, dans les horizons superficiels des sols où l'humification est lente, l'essentiel de la matière organique se



trouve dans les fractions granulométriques grossières. Enfin, la fraction fine augmente en valeur relative avec la profondeur dans tous les types de sols, en relation avec un taux d'humification croissant.

b. - Compositions isotopiques de ces fractions.

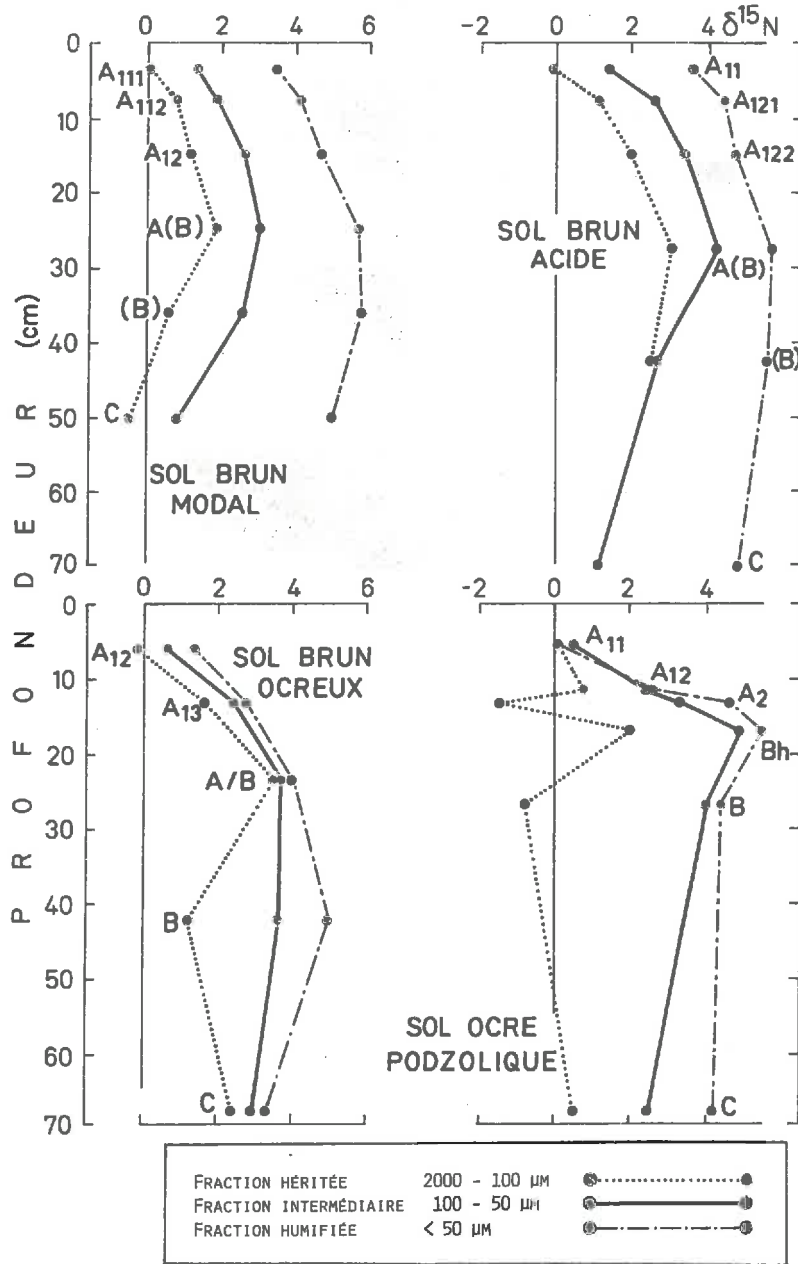


Figure 2-66 : Séquence Morzine-Avoriaz. Distribution verticale de la composition isotopique de l'azote des différentes fractions séparées par tamisage (PIERRE, 1979).



Représentées sur la figure 2-66, elles opposent clairement la fraction fine (< 50  $\mu\text{m}$ ) qui a toujours la composition isotopique la plus élevée, à la fraction la plus grossière (2000-100  $\mu\text{m}$ ) caractérisée par des compositions isotopiques basses. La fraction granulométrique intermédiaire (100-50  $\mu\text{m}$ ) présente des  $\delta^{15}\text{N}$  compris entre ces deux extrêmes.

c. - Rapports C/N de ces fractions.

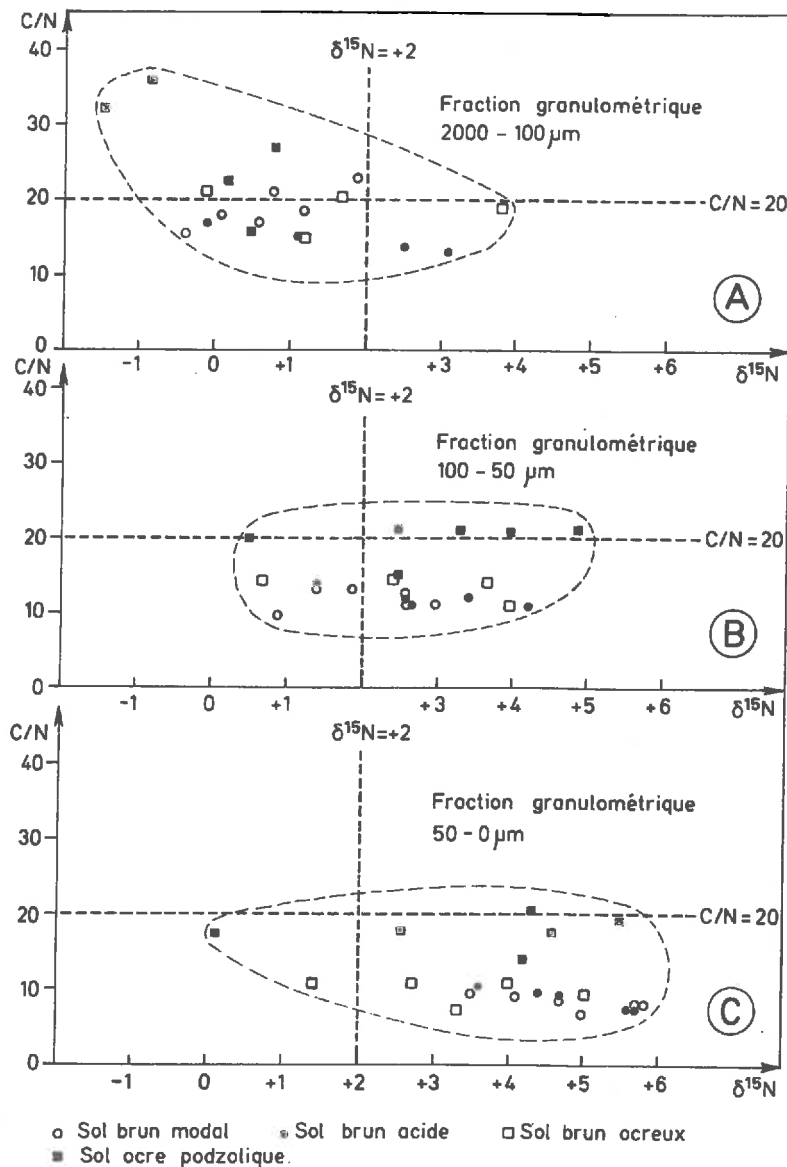


Figure 2-67 : Séquence Morzine-Avoriaz. Relation  $\delta^{15}\text{N}$ -C/N pour les différentes fractions granulométriques (PIERRE, 1979).

La figure 2-67 exprime les variations de ce rapport C/N dans les différentes fractions, en fonction du  $\delta^{15}\text{N}$  :

- la matière organique de la fraction grossière (A, figure 2-67 se répartit autour d'un C/N moyen de 20, les  $\delta^{15}\text{N}$  étant inférieurs à 2 ‰ ( $\delta^{15}\text{N}$  moyen 1 ‰).
- La fraction fine (figure 2-67 C) présente un C/N moyen de 10,8 et toujours inférieur à 20, les  $\delta^{15}\text{N}$  étant, à deux exceptions près, supérieurs à 2 ‰\* (valeur moyenne 4,5 ‰).
- La fraction 50-100  $\mu\text{m}$  (figure 2-67 B) présente des valeurs intermédiaires (C/N moyen : 14,3 ,  $\delta^{15}\text{N}$  moyen : 2,6 ‰).

d. - Conclusions.

Une partie importante de la matière organique de la fraction granulométrique la plus fine (< 50  $\mu\text{m}$ ) est constituée de composés humiques, alcalino-solubles et acido-solubles ou alcalino-solubles et précipités par les acides minéraux. On peut donc admettre en première approximation que les composés humiques et plus généralement *la matière organique humifiée présente des  $\delta^{15}\text{N}$  positifs, en tous cas toujours plus élevés que ceux qui caractérisent la fraction granulométrique grossière (2000-100  $\mu\text{m}$ ) où se trouvent concentrées les matières organiques fraîches. Tout se passe donc comme si, au cours de l'humification, une série de fractionnements isotopiques successifs déterminait un enrichissement isotopique en  $^{15}\text{N}$  dans les produits humifiés.*

Comme on peut le constater sur la figure 2-65, la fraction intermédiaire 100-50  $\mu\text{m}$  introduit une incertitude dans le bilan de la répartition des principales formes organiques : débris végétaux frais (fraction 2000-100  $\mu\text{m}$ ) et matière organique humifiée (fraction la plus fine). Le résultat précédemment acquis semble permettre de pouvoir lever cette incertitude. En considérant cette fraction intermédiaire comme un mélange non résolu des deux extrêmes, on peut pondérer par bilan isotopique la répartition des constituants organiques de cette fraction dans les deux autres. On peut ainsi proposer les profils organiques "corrigés", pour la séquence d'Avoriaz, sur la figure 2-68.

---

\* Les deux exceptions correspondent aux horizons de surface des sols ocre podzolique et brun ocreux dont on sait que la fraction fine contient une partie non négligeable de débris non humifiés finement divisés (PIERRE, 1979).

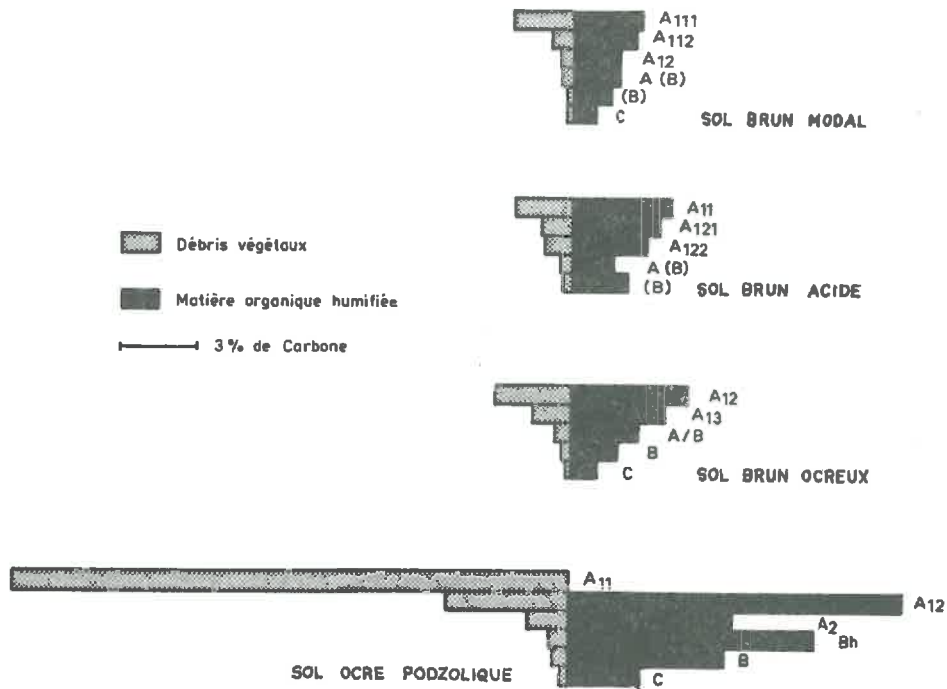


Figure 2-68 : Répartition "corrigée" à l'aide du  $\delta^{15}\text{N}$  de la matière organique humifiée et de la matière organique héritée, dans les sols de la séquence Morzine-Avoriaz (PIERRE, 1979).

Dans les profils organiques des sols podzolisés, on constate, à l'évidence, qu'il y a dissociation entre une matière organique à  $\delta^{15}\text{N}$  proche ou, le plus souvent, inférieur à zéro, située dans les horizons de surface ( $A_0$ ,  $A_1$ ), riche en débris végétaux et une matière organique humifiée à  $\delta^{15}\text{N}$  élevé, positif, située dans les horizons d'accumulation (Bh, Bs). Ce schéma devient caricatural, comme on le sait, dans les podzols.

D'autre part, si on considère les différences de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $\Delta\delta^{15}\text{N}$ ) entre fractions granulométriques de l'horizon  $A_1$  (cf. tableau 2-XLVI), on constate que la différence  $\Delta(\delta^{15}\text{N} \text{ fraction } 50-0 \mu\text{m} - \delta^{15}\text{N} \text{ fraction } 2000-100 \mu\text{m})$  est nettement plus élevée dans les mulls (toujours supérieure à 3) que dans les mor-moder (voisine de 1). Ceci a été observé sur les sols de la séquence d'Avoriaz ainsi que sur les sols de la séquence du Robinot.

Tout ceci souligne encore l'opposition entre deux types d'évolution pédogénétiques : podzolisation et brunification.

Sol	Horizon	$\delta^{15}\text{N}$ des fractions			$\Delta\delta^{15}\text{N}$		
		(1) 2000-100 $\mu$	(2) 100-50 $\mu$	(3) 50-0 $\mu$	(2)-(1)	(3)-(2)	(3)-(1)
Brun modal Avoriaz	A <sub>111</sub>	0.1	1.4	3.5	1.3	2.1	3.4
	A <sub>112</sub>	0.8	1.9	4.1	1.1	2.2	2.3
	A <sub>12</sub>	1.2	2.6	4.7	1.4	2.1	3.5
Brun acide Avoriaz	A <sub>11</sub>	- 0.1	1.4	3.6	1.5	2.2	3.7
	A <sub>121</sub>	1.1	2.6	4.4	1.5	1.8	3.3
	A <sub>122</sub>	2.0	3.4	4.7	1.4	1.3	2.7
Brun modal Robinot	A <sub>11</sub>	- 1.8	- 0.2	1.6	1.6	1.8	3.4
	A <sub>12</sub>	- 1.9	- 0.3	1.7	1.6	2.0	3.6
Brun acide Robinot	A <sub>11</sub>	- 2	- 0.1	1	1.9	1.1	3.0
	A <sub>12</sub>	- 1.2	1.2	2.8	2.4	1.6	4.0
<i>Moyenne :</i>				1.6	1.8	3.3	
Brun ocreux Avoriaz	A <sub>12</sub>	- 0.1	0.7	1.4	0.8	0.7	1.5
	A <sub>13</sub>	1.7	2.4	2.7	0.7	0.3	1.0
Brun ocreux Robinot	A <sub>11</sub>	0.1	1.1	1.2	1.0	0.1	1.1
Ocre podzolique Avoriaz	A <sub>11</sub>	0.2	0.5	0.1	0 (0.3)	0 (-0.4)	0 (-0.1)
<i>Moyenne :</i>				0.6	0.2	0.9	

Horizons organo-minéraux  
A d'Humus de type

MULL

Horizons organo-minéraux  
A d'Humus de type

MODER

Tableau 2-XLVI : Différences de compositions isotopiques entre les fractions granulométriques des humus (horizons A) (PIERRE, 1979).

En milieu podzolisant, dans les horizons de surface où la dégradation et la réorganisation biologique sont faibles, les débris végétaux et les produits humiques adsorbés sur la phase minérale ont pratiquement le même  $\delta^{15}\text{N}$ , proche de zéro. La formation de composés solubles abondants (polycondensats polyphénols-peptides par exemple) qui migrent, se polymérisent et s'accumulent en profondeur dans les horizons B provoque un phénomène de différenciation "chromatographique" dans le profil, séparant matière organique héritée et matière organique humifiée (élévation du  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  avec la profondeur, cf. figure 2-66). En milieu brunifiant, la fraction grossière peu humifiée se distingue au contraire, en surface, très nettement de la fraction microagrégée résultant d'un remaniement biologique profond qui a pour effet d'augmenter son  $\delta^{15}\text{N}$ . Le complexe argilo-humique stable limite l'entraînement, aidé par l'activité biologique compensatrice : l'action des vers de terre et autres animaux fouisseurs provoque, par brassage mécanique l'homogénéisation des divers horizons du sol : la matière organique héritée et la fraction humifiée sont plus ou moins bloquées ensemble et la valeur de  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  entre les deux fractions granulométriques se maintient dans l'ensemble du profil (figure 2-66).

En tout état de cause se dessine d'ores et déjà le rôle essentiel du facteur microbien : toute matière organique ayant subi l'action des micro-organismes voit son  $\delta^{15}\text{N}$  augmenter. Cet enrichissement en  $^{15}\text{N}$  varie dans le même sens que l'activité biologique (comprise dans le sens : masse de matière organique transformée, nombre de cycles de transformations subies : on pourrait parler de "taux de métabolisation").

Nous avons voulu pousser plus avant la connaissance des enrichissements isotopiques en  $^{15}\text{N}$  dans la fraction organique des sols. A cet effet, nous avons utilisé deux techniques classiques de fractionnement de la matière organique que nous avons appliquées à la fraction humifiée (0-50  $\mu\text{m}$ ) : les hydrolyses acides et les extractions alcalines.

#### B) Composition isotopique de l'azote des fractions organiques hydrolysables et du résidu d'hydrolyse.

Les hydrolyses acides ont été pratiquées sur les horizons les plus représentatifs de la pédogénèse des sols de la séquence d'Avoriaz : soit  $A_{11}$  et  $A_{12}$  des sols bruns et respectivement B et Bh du sol brun ocreux et ocre podzolique.

##### 1) Méthode.

Nous avons utilisé la méthode classique (BREMNER, 1949) : ébullition (120°C) sous reflux pendant 24 heures du sol dans HCl 6N. Une méthode cinétique (JANEL, 1978) : hydrolyse à ébullition sous reflux dans HCl 3N avec séparation de la fraction acido-soluble à intervalle de temps donné, a également été testée : cette méthode évite que des composés acido-solubles se recombinent entre eux. Les résultats obtenus sont tout à fait comparables : dans les deux cas, les bilans chimiques et isotopiques sont parfaitement satisfaisants. La seconde méthode extrait 3 à 6 % d'azote en plus mais elle est plus longue à mettre en oeuvre et techniquement plus délicate : nous lui avons donc préféré la méthode classique HCl 6N de BREMNER. Les détails analytiques figurent dans le travail de PIERRE (1979).

##### 2) Résultats.

Ils figurent sur le tableau 2-XLVII et la figure 2-69.

Sol	Horizon	Matériel analysé		Résidu d'hydrolyse			Hydrolysats			Bilans	
		N %	$\delta^{15}\text{N}$	N %	% N	$\delta^{15}\text{N}$	N %	% N	$\delta^{15}\text{N}$	N %	$\delta^{15}$
Brun modal	A <sub>11</sub>	0,40	2,7	0,04	10,5	0,0	0,34	89,5	3,7	0,38	3,3
	A <sub>12</sub>	0,37	4,4	0,03	8,8	1,2	0,31	91,2	4,6	0,34	4,3
Brun acide	A <sub>11</sub>	0,45	3,7	0,05	11,6	0,3	0,38	88,4	4,4	0,43	3,9
	A <sub>12</sub>	0,48	3,3	0,05	11,4	1,3	0,39	88,6	4,9	0,44	4,5
Brun ocreux	A <sub>11</sub>	0,57	- 0,3	0,06	10,3	- 3,2	0,52	89,7	0,1	0,58	- 0,2
	A <sub>12</sub>	0,51	2,2	0,04	8,7	- 0,5	0,42	91,3	2,3	0,46	2,1
	B	0,30	3,7	0,04	12,5	- 0,3	0,28	87,5	4,3	0,32	3,7
Ocre podzolique	Bh	0,48	5,5	0,08	16,3	0,7	0,41	83,7	5,6	0,49	4,8

Tableau 2-XLVII : Compositions isotopiques et teneurs en azote des fractions hydrolysables et des résidus d'hydrolyse (fraction 0-50  $\mu\text{m}$ , séquence Morzine-Avoriaz) (PIERRE, 1979).

On constate que la composition isotopique des hydrolysats est radicalement différente de celle des résidus d'hydrolyse.

Le  $\delta^{15}\text{N}$  des hydrolysats est élevé, toujours positif ( $\bar{m} = 3,7 \%$ ) et toujours supérieur au  $\delta^{15}\text{N}$  du matériel initial. Au contraire, le  $\delta^{15}\text{N}$  du résidu d'hydrolyse varie peu autour de sa valeur moyenne de 0 % et présente une valeur toujours très inférieure à celle du matériel initial. Ces valeurs ne sauraient en aucun cas être attribuées à un phénomène de fractionnement isotopique au cours de l'extraction : dans ce cas on devrait logiquement s'attendre à obtenir une fraction extractible à composition isotopique basse par rapport au résidu (loi quasi-générale de la discrimination cinétique contre l'isotope lourd).

Le classement général des enrichissements isotopiques s'établit ainsi :  $^{15}\text{N}$  hydrolysats >  $\delta^{15}\text{N}$  échantillon global >>  $\delta^{15}\text{N}$  résidu d'hydrolyse.

Ces résultats recourent ceux de CHENG *et al.* (1964), pour les sols et de PANG et N'RIAGU (1976) pour les sédiments lacustres.

On sait que les composés azotés les plus labiles, composés organiques de synthèse biologique récente, en particulier des corps microbiens (protoplasme), de composition surtout protéique, se trouvent dans la fraction hydrolysable, notamment ceux dont le turn-over est le plus rapide (FRENEY et IMPSON, 1969 ; STANFORD, 1968) ; cependant, il existe de grandes différences dans les formes d'azote minéralisable et, selon KEENEY et BREMNER (1966), l'azote non hydrolysable pourrait, dans certains sols, constituer une forme exploitable par les micro-organismes. Toutefois, les expériences menées avec

des produits marqués indiquent une nette stabilisation des formes non hydrolysables lors de la biodégradation (KAI, 1975). Il est intéressant de constater que les résidus d'hydrolyse ont toujours un  $\delta^{15}\text{N}$  plus bas dans les horizons très superficiels que dans les horizons sous-jacents correspondants dont le taux d'humification est plus élevé. Une partie de l'azote non hydrolysable correspond donc à des formes distinctes de l'héritage végétal, marquées isotopiquement par l'humification (enrichissement en  $^{15}\text{N}$ ).

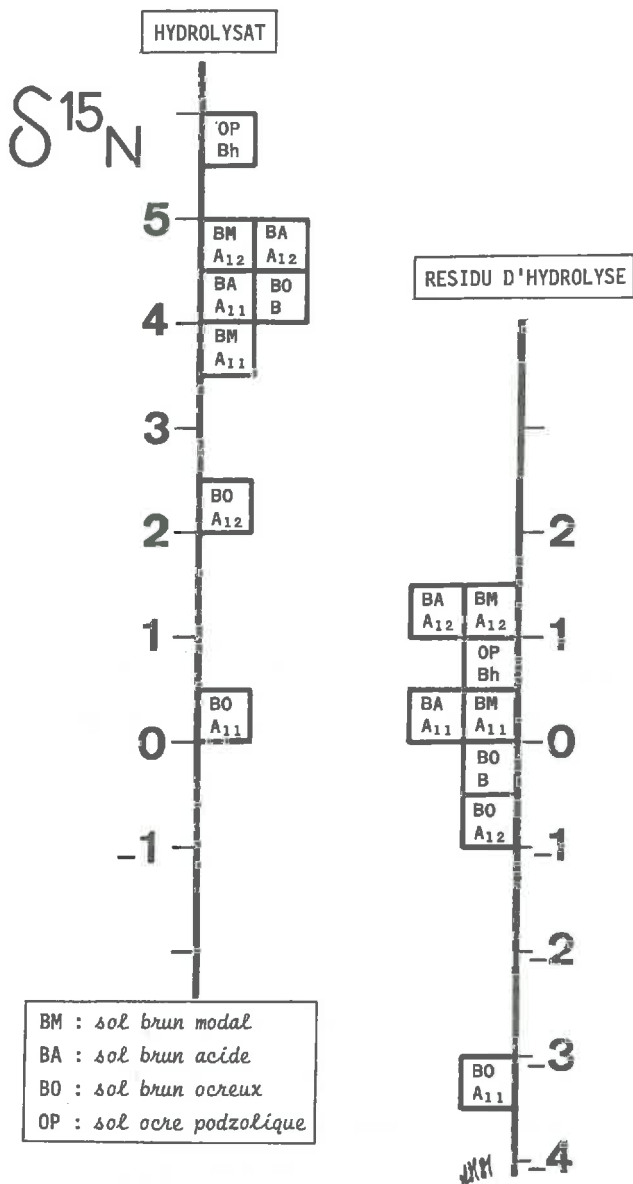


Figure 2-69 : Répartition du  $\delta^{15}\text{N}$  dans la fraction hydrolysable et dans le résidu de l'hydrolyse, pour les horizons choisis des quatre profils de la séquence Morzine-Avoriaz (fraction 0-50  $\mu\text{m}$ ).



C) Composition isotopique de l'azote des fractions organiques extractibles en milieu alcalin et de l'humine.

1) Matériel et méthodes.

Ces extractions ont été effectuées sur des sols de pédogénèses variées : nous n'avons retenu qu'un ou deux horizons caractéristiques comme l'indique le tableau 2-XLVIII qui en résume les paramètres chimiques. Rappelons que ces extractions ont été pratiquées sur la fraction 0-50 µm où se trouve concentrée la matière organique humifiée.

Lieu-dit	Biffontaine		Bellevontaine		Haut Jacques		Marcoeur	Séquence du Robinot						Séquence d'Avoriaz							
	Podzol		Rendzine		Brun acide	Chemozem	Andosol	Brun modal colluvial		Brun acide colluvial		Brun ocreux		Brun modal		Brun acide		Brun ocreux		Ocre podzologique	
Horizon	A <sub>11-12</sub>	Bh	A <sub>11</sub>	A <sub>13</sub>	A <sub>1</sub>	A	A <sub>1</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	B	Bh
C	18,50	4,43	12,27	10,08	5,94	4,36	12,40	9,72	6,34	13,07	8,57	14,49	11,84	4,08	3,33	5,45	5,52	7,13	6,17	3,30	9,26
N	0,74	0,21	1,04	0,96	0,45	0,33	1,00	0,79	0,52	0,94	0,65	0,90	0,74	0,40	0,37	0,45	0,48	0,57	0,51	0,30	0,48
C/N	25	21,1	11,8	10,5	13,2	13,2	13,4	12,3	12,2	13,9	13,6	16,1	16,0	10,2	9,0	12,1	11,5	12,5	12,1	11,0	19,3
δ <sup>15</sup> N	-0,3	4,1	0,3	2,1	0,4	6,6	3,4	1,2	3,3	-0,1	-	1,7	2,9	2,7	4,4	3,7	3,3	-0,3	2,2	3,7	5,5

Tableau 2-XLVIII : Caractéristiques des échantillons ayant servi aux extractions alcalines (PIERRE, 1979).

Ces extractions sont réalisées selon un protocole établi par BRUCKERT (1979), repris et décrit par PIERRE (1979). On effectue successivement des extractions avec :

- solution tamponnée (pH 9,7) de tétraborate de sodium,
- solution (pH 9,8) de pyrophosphate de sodium,
- soude 0,1 N (pH 12).

Les fractions organiques extraites par les deux premiers réactifs sont pour l'essentiel des composés humiques (acides fulviques et acides humiques) récemment insolubilisés ; celles extraites par la soude 0,1 N sont d'origine diverse notamment des produits humifiés étroitement liés au milieu minéral et des contenus cellulaires. La fraction résiduelle inextractible par ces trois réactifs alcalins est l'humine. Le détail des techniques utilisées figure dans la thèse de PIERRE (1979).



## 2) Test de la méthode.

La validité des techniques employées a été testée par la réalisation de bilans chimiques et isotopiques à partir des 4 fractions séparées et par la comparaison de la concentration en azote et du  $\delta^{15}\text{N}$  mesurés sur échantillon global à la concentration et au  $\delta^{15}\text{N}$  calculés par bilan sur les fractions : l'accord est excellent (cf. tableau 2-IL). On peut donc considérer que ce fractionnement chimique de la matière organique se fait de façon absolument quantitative.

## 3) Résultats.

Les résultats bruts figurent sur le tableau 2-L et la figure 2-70.

Pour ce qui concerne les taux d'azote des fractions, le fait majeur est que l'humine renferme toujours une forte proportion du total de l'azote (52 % en moyenne). L'extrait tétraborate contient des quantités très variables d'azote : faibles pour les sols bruns modal et acide d'Avoriaz et le Chernozem, élevées pour les autres sols.

*Les humines présentent des  $\delta^{15}\text{N}$  toujours positifs, le plus souvent élevés, à l'exception de la rendzine de Bellefontaine, du podzol de Biffontaine ( $A_{11}$ , mor), et du sol brun ocreux d'Avoriaz ( $A_{11}$ , moder). On constate (tableau 2-L) la nette augmentation des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  avec la profondeur, sur l'exemple des sols où deux horizons ont été étudiés (podzol de Biffontaine, sol brun ocreux d'Avoriaz notamment).*

On peut également mettre en évidence sur les figures 2-71 et 2-72 qu'il existe une forte corrélation négative, significative, entre le  $\delta^{15}\text{N}$  des humines et leur teneur en carbone et azote organique.

## 4) Interprétation.

Nous traiterons des résultats concernant les deux fractions les plus importantes : l'humine et la fraction extractible au tétraborate.

### a. - Humine.

Nous rappellerons ici quelques données essentielles concernant cette fraction de la matière humique du sol (DUCHAUFOR, 1977).

Tableau 2-II : Bilans chimiques et isotopiques de l'azote des extraits alcalins (PIERRE, 1979).

Sol	Biffontaine			Bellefontaine			Haut Jacques			Chernozem			Andosol			Séquence du Robinat						Séquence d'Avoriz							
	Biffontaine		Bh	Bellefontaine		A <sub>13</sub>	Haut Jacques		A <sub>1</sub>	Chernozem		A <sub>1</sub>	Andosol		Brun modal colluvial		Brun acide colluvial		Brun ocreux		Brun modal		Brun acide		Brun ocreux		Ocre podsolique		
Type de sol	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>13</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub>	A	A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>11</sub>	A <sub>12</sub>	B	Bh	
Horizon	N	0,74	0,21	1,04	0,96	0,45	0,33	1,00	0,16	0,16	0,16	0,19	0,30	0,23	0,35	0,33	0,04	0,05	0,05	0,07	0,20	0,10	0,07	0,21					
	X N	28,2	10,0	12,2	23,1	19,6	11,1	16,8	45,8	45,2	30,9	38,3	39,3	39,8	10,8	14,3	11,6	15,6	32,3	23,3	24,1	45,7							
	C X	4,78	2,88	2,33	2,30	1,82	1,12	2,25	3,97	3,18	5,65	3,97	5,88	4,62	0,78	0,49	0,57	0,76	1,55	0,90	1,35	5,11							
Térraborate pH 9,7	δ <sup>15</sup> N	- 3,0	0,6	0,1	1,3	- 1,9	6,2	3,4	0,2	1,2	- 0,7	0,4	1,2	1,5	6,0	3,0	2,4	5,3	0,7	1,5	1,7	4,3							
	N X	0,03	0,02	0,03	0,01	0,03	0,09	0,09	< 0,01	0,01	0,09	0,03	0,06	0,10	0,03	0,05	0,05	0,06	0,05	0,04	0,04	0,04							
	X N	4,2	20,0	3,7	1,3	6,8	25,0	9,5	0,8	2,4	9,3	5,0	6,7	12,1	8,11	14,3	11,6	13,3	8,1	9,3	13,8	8,7							
Pyrophosphate pH 9,8	C X	1,53	0,46	1,25	1,20	0,68	1,61	2,28	1,28	1,08	1,49	1,03	1,29	1,67	0,45	0,61	0,65	0,61	0,68	0,55	0,80	0,87							
	δ <sup>15</sup> N	- 1,1	3,9	-	1,9	- 0,6	4,2	2,7	0,5	1,9	- 0,6	1,4	1,9	2,2	2,4	2,8	-	3,8	- 0,9	0,6	2,6	2,5							
	N X	0,14	0,01	0,09	0,02	0,05	0,04	0,37	< 0,01	0,03	0,13	0,05	0,13	0,09	0,05	0,05	0,08	0,08	0,07	0,05	0,03	0,04							
Soude pH 12	X N	19,7	10,0	11,0	2,6	11,4	11,1	38,9	0,8	7,1	13,4	8,3	14,6	10,8	13,5	14,3	18,6	17,8	11,3	11,6	10,3	8,7							
	C X	3,82	0,44	1,79	1,70	0,68	0,58	3,99	1,07	0,68	1,55	1,22	1,81	0,86	0,73	0,41	0,72	0,76	0,75	0,41	0,62	0,47							
	δ <sup>15</sup> N	- 0,8	5,8	1,3	1,8	-	7,0	3,1	1,1	4,4	1,0	1,6	2,1	3,0	2,5	2,7	3,1	3,3	- 1,3	- 0,2	2,5	3,8							
Humine	N X	0,34	0,06	0,60	0,57	0,23	0,19	0,33	0,31	0,19	0,45	0,29	0,35	0,31	0,25	0,20	0,25	0,24	0,30	0,24	0,15	0,17							
	X N	47,9	60,0	73,2	73,1	52,3	52,8	34,7	52,5	45,2	46,4	48,3	39,3	37,3	67,6	57,1	58,1	53,3	48,4	55,8	51,7	37,0							
	δ <sup>15</sup> N	0,2	6,8	0,6	1,6	1,8	6,8	3,7	2,7	4,4	1,9	3,0	2,8	4,0	3,0	3,9	3,2	3,6	0,3	2,2	5,1	5,9							
X N extractible		52,1	40,0	25,9	27,0	47,8	47,2	65,2	47,4	54,7	53,6	60,6	62,7	32,4	42,9	41,8	46,7	51,7	44,2	48,2	65,1								
	X C extractible	54,8	85,3	43,8	51,6	53,5	75,9	68,7	65,0	77,9	66,5	72,6	60,4	48,0	45,3	35,6	38,6	41,8	56,4	83,9	69,7								

Tableau 2-I : Caractéristiques chimiques et isotopiques des différents types de matière organique contenu dans les extraits alcalins et de l'humine (PIERRE, 1979).

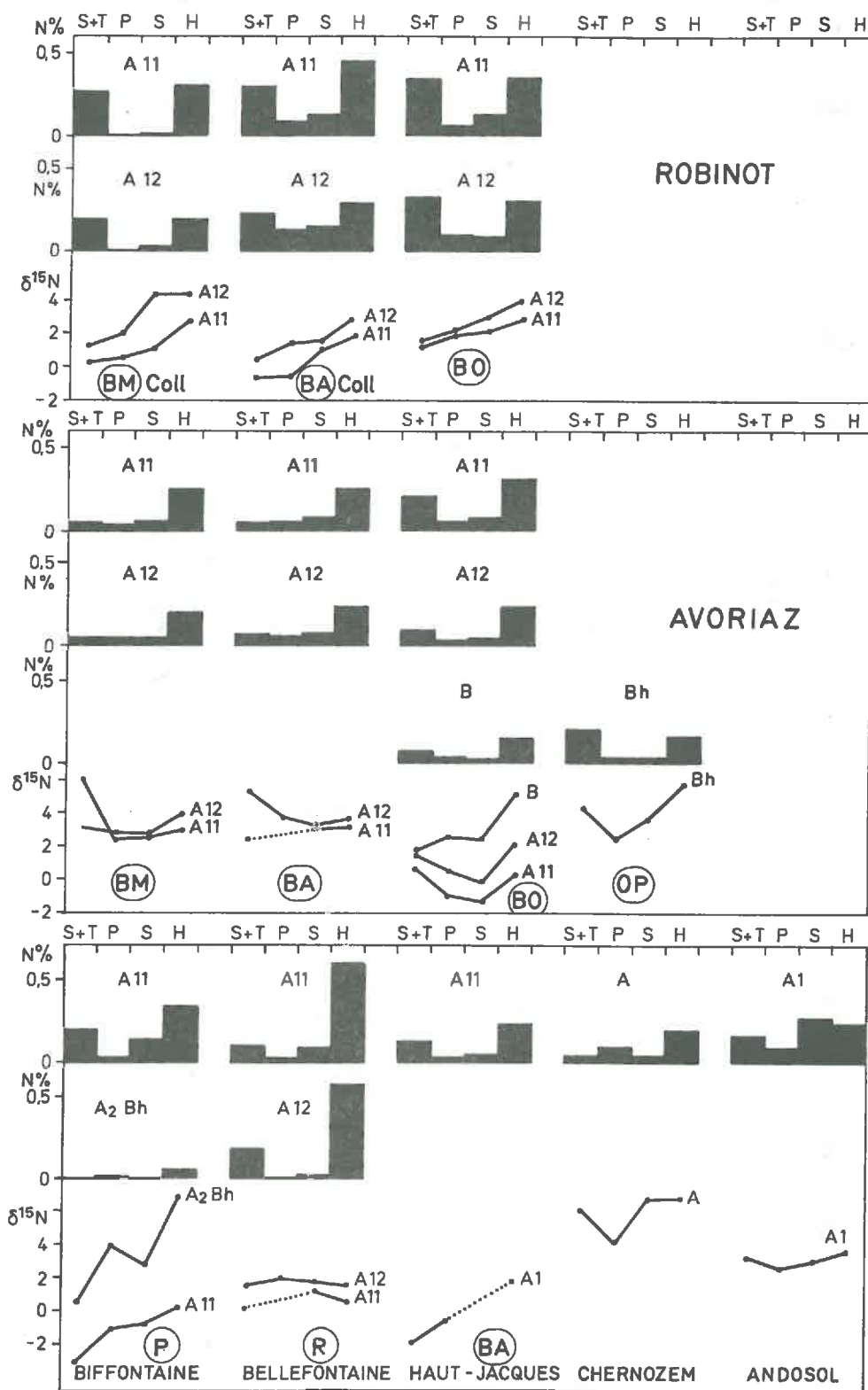


Figure 2-70 : Composition isotopique et taux d'azote des différents types de matière organique extraite par les réactifs alcalins et de l'humine (PIERRE, 1979).

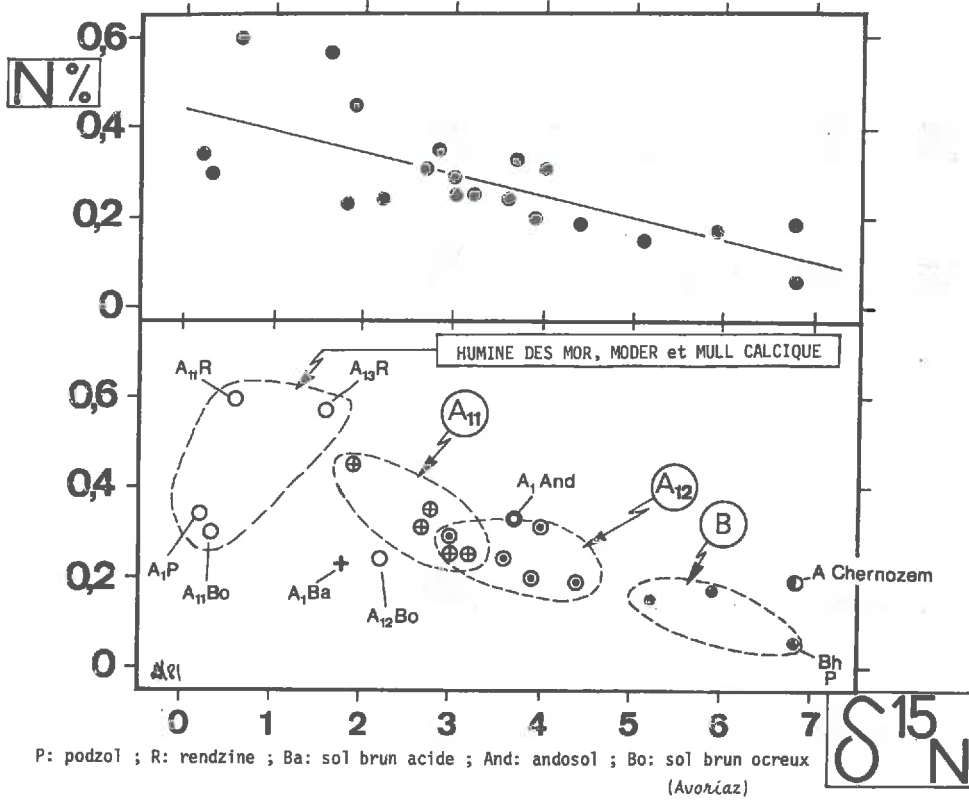


Figure 2-71 : Relation  $\delta^{15}\text{N}$  - N % pour les humines de la fraction < 50  $\mu\text{m}$  des sols étudiés.

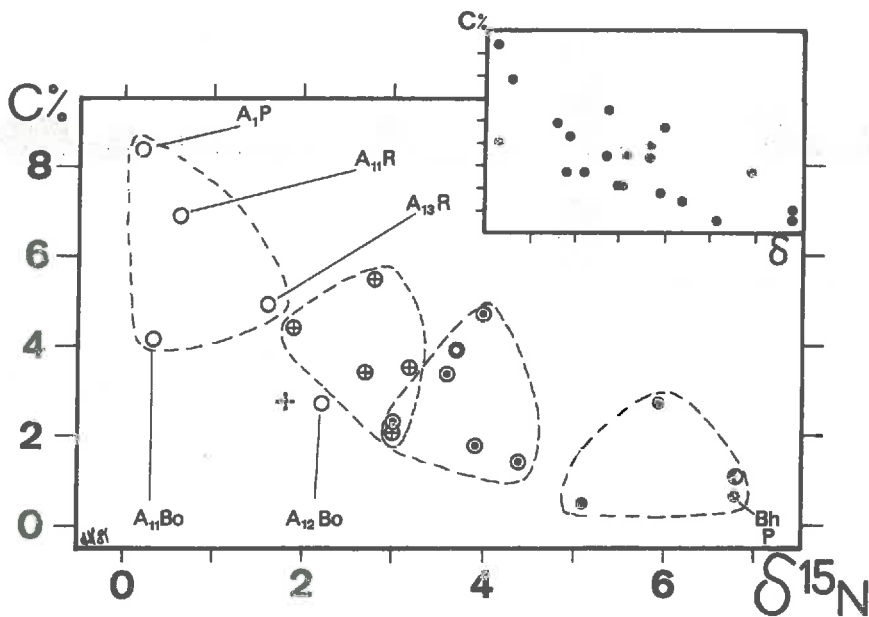


Figure 2-72 : Relation  $\delta^{15}\text{N}$  - C % pour les humines de la fraction < 50  $\mu\text{m}$  des sols étudiés (légende, cf. figure 4-71).

La définition retenue est la suivante : "ensemble des composés non extractibles ayant subi une transformation biochimique et contracté une liaison avec les composés minéraux". Cette définition générale recouvre en fait des composés de nature et origine fort différentes, faisant de cette fraction un ensemble fort hétérogène. On peut distinguer :

- *une humine héritée ou résiduelle* : proche de la matière organique fraîche, elle provient de l'évolution directe des composés insolubles préexistants dans les membranes cellulaires (lignine). Cette humine représente une fraction importante de l'humus dans les mor ou moder et les mull carbonatés,
- *une humine d'insolubilisation* provenant de la précipitation et de l'insolubilisation irréversible des précurseurs solubles, avec condensation de noyaux phénoliques. Cette humine domine dans des humus de type mull (acide, eutrophe ou andique),
- *une humine évoluée*, constituée de noyaux aromatiques polycondensés, correspondant à une insolubilisation plus poussée, présente dans des humus de type vertique ou chernozémique (maturation bioclimatique),
- *une humine microbienne* : il s'agit essentiellement des constituants structuraux des cellules microbiennes des décomposeurs, de polysaccharides, polyuronides, aminosucres résultant d'une néoformation microbienne en milieu très actif. Elle joue un rôle important dans les sols agricoles. Ces structures semblent transitoires, à vie courte, susceptibles de biodégradations saisonnières.

Les premières classifications des humus étaient essentiellement basées sur des critères morphologiques (épaisseur des litières, degré de mélange de la matière organique...) ou biochimiques globaux (C/N, taux de minéralisation annuel de l'azote), rendant grossièrement compte de l'activité biologique générale. Ces critères, insuffisants, sont complétés par des critères nouveaux basés sur la nature et la proportion des différentes fractions de l'humus, notamment l'humine.

On peut rappeler brièvement cette classification biochimique des humus (DUCHAUFOR, 1977) :

- (i) *Humus peu évolués* : forte proportion de matière organique à structure organisée et d'humine héritée : mor, moder, mull calcique.
- (ii) *Humus évolués - humification biologique dominante* : la matière organique peu transformée et l'humine héritée ne sont présentes qu'en faibles proportions, alors que dominant des composés humiques d'insolubilisation : les types seront les mulls acides, eutrophes et andiques (climats tempérés).

(iii) Humus évolués à lente maturation bioclimatique : caractérisés par une forte teneur en azote, des composés humiques à noyaux polycondensés, notamment de l'humine évoluée : mull chernozémique et humus vertique.

Or, on constate qu'une classification de ces humus basée sur la valeur du  $\delta^{15}\text{N}$  de l'humine des horizons  $A_{11}$  des sols étudiés recoupe de façon très étroite la classification biochimique (cf. figure 2-73).

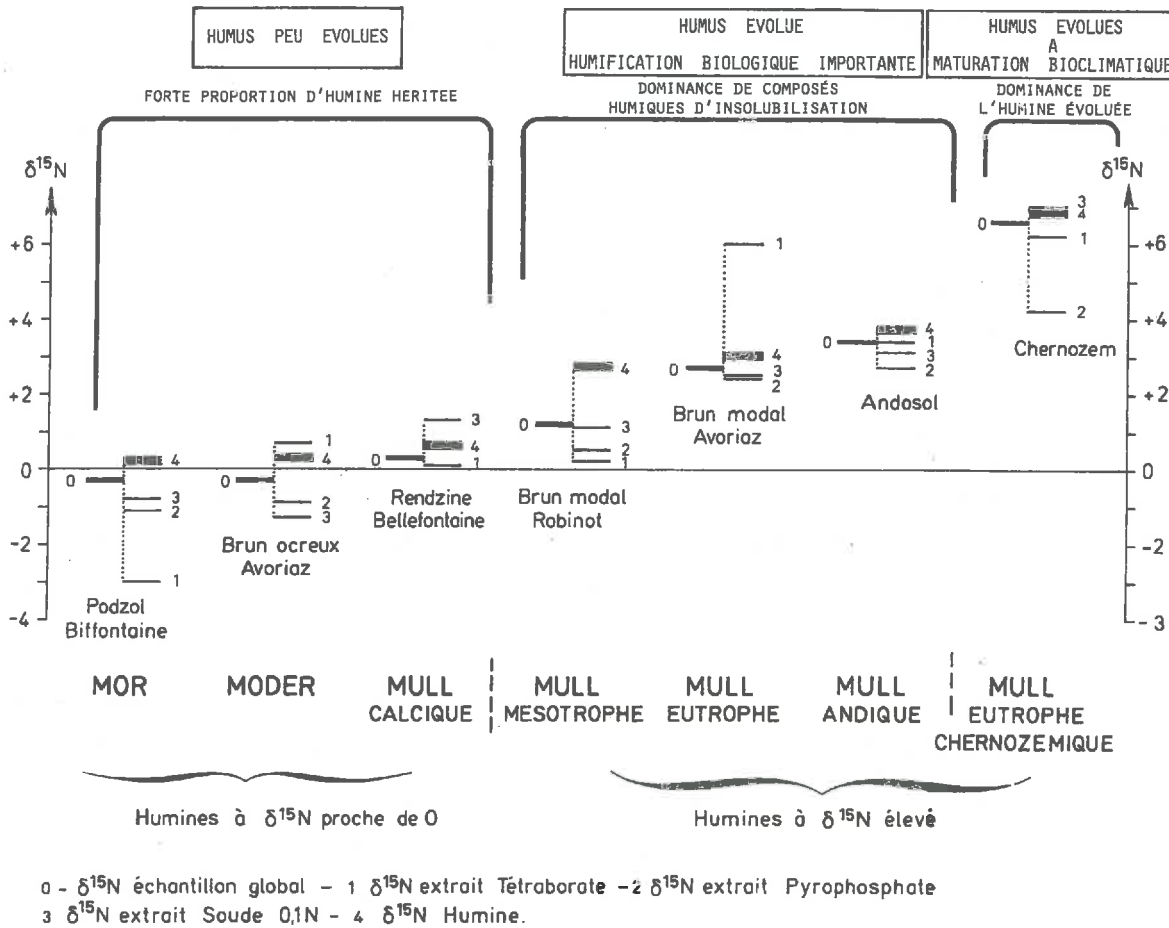


Figure 2-73 : Classification des humus en fonction des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  des humines de la fraction  $< 50 \mu\text{m}$  des sols étudiés (horizons  $A_{11}$ ).

On peut déduire des relations humine -  $\delta^{15}\text{N}$  que :

(i) les humus peu évolués sont caractérisés par des  $\delta^{15}\text{N}$  - humine voisins ou à peine supérieurs à zéro ( $< 1 \%$ ). Nous avons précédemment constaté que la végétation était caractérisée par des  $\delta^{15}\text{N}$  bas (le plus souvent même négatifs) : il est donc logique que cette humine, essentiellement sous forme

héritée, ait les compositions isotopiques les plus basses. Au sein de cette classe, le  $\delta^{15}\text{N}$  met clairement en évidence les relations qui existent entre les humus de type mor ou moder et les mull carbonatés. Ces deux types d'humus s'opposent très nettement par leur pH et leur activité biologique : les mor et les moder, de pH acide, sont caractérisés par une faible activité biologique et un faible taux d'humification. Au contraire, le mull carbonaté possède une forte activité biologique (C/N faible) et une intense activité de décomposition des litières, stimulées par la présence de calcaire actif. Mais ce calcaire actif, en enrobant d'une pellicule protectrice la matière organique fraîche ou peu transformée (humine héritée) la protège, par séquestration, de la biodégradation microbienne. Dans ces sols domine donc, même dans la fraction  $< 50 \mu\text{m}$ , la forme héritée de l'humine. La composition isotopique en  $^{15}\text{N}$  n'est donc pas, dans ce cas, le reflet d'une activité biologique plus ou moins intense mais plutôt le témoin d'un type de processus d'évolution biochimique caractérisée par un faible taux d'humification lié soit à une faible activité biologique, soit à l'action inhibitrice de  $\text{CaCO}_3$ .

(ii) Les humus évolués dans lesquels les processus biologiques entraînent des transformations plus ou moins profondes de l'héritage végétal acquièrent des  $\delta^{15}\text{N}$  plus élevés, autour de 2 à 4 ‰, pouvant s'élever à 7 ‰ dans le cas du chernozem. On retrouve encore ici l'influence du métabolisme microbien.

D'autre part, la figure 2-73 suggère également l'influence sur cette élévation du  $\delta^{15}\text{N}$  d'un autre paramètre, lié d'ailleurs au précédent : le taux de surface minérale active et le taux de colloïdes minéraux amorphes : lorsque diminue le pourcentage de textures grossières dans le sol, lorsque s'atténue la dominante siliceuse et qu'augmente la proportion de surface minérale active, le  $\delta^{15}\text{N}$  augmente. Il semble donc que la conjonction d'une activité biologique forte, peut-être rhizosphérique, et des capacités d'adsorption ou de protection des surfaces minérales vis-à-vis des composants de la microflore, favorise l'élévation du  $\delta^{15}\text{N}$ . Ainsi sont associés, par leur composition isotopique, des horizons aussi différents que le A du chernozem et les Bh des sols podzoliques ( $\delta^{15}\text{N}$  élevé) : le  $\delta^{15}\text{N}$  rapproche des horizons de pédogénèse différente mais dans lesquels l'impact des processus biologiques sont du même ordre.

Comme nous l'avons montré précédemment, on constate (cf. figure 2-71) sur le diagramme  $\delta^{15}\text{N}$ -humine-concentration en N que les points représentatifs de l'humine des humus de type mor, moder et mull calcique se différencient nettement des points représentatifs des humines des horizons  $A_{11}$ ,  $A_{12}$  (mull) et des horizons B des autres sols étudiés. Ces derniers s'alignent bien sur



une droite de corrélation hautement significative ( $N \% = - 0,046 \delta^{15}N + 0,428$   
 $r = - 0,81$ ). L'existence d'une telle relation semble indiquer que ces humines  
sont représentatives d'étapes d'un système en équilibre dynamique, phénomène  
qu'il nous appartient d'explicitier dans une conclusion regroupant l'essentiel  
des résultats obtenus.

b. - Fractions extractibles.

A cette logique qui caractérise l'humine, s'opposent des comportements  
variés et plus difficilement interprétables de la composition isotopique des  
fractions extractibles des sols.

Pour ce qui concerne les sols à fort taux d'humification (andosols,  
chernozems) les  $\delta^{15}N$  des extraits sont élevés, le plus souvent voisins de ceux  
de l'humine. On peut penser que ceci est dû à un remaniement biologique inté-  
gral de la matière organique initiale, avec un rôle fondamental des supports  
minéraux dans l'insolubilisation - en partie réversible en milieu alcalin -  
des composés humifiés.

Pour les sols podzolisés ( $A_1$ ), on a une opposition entre les  $\delta^{15}N$  des  
extraits alcalins, faibles, voire négatifs qui pourraient correspondre à des  
composés végétaux peu transformés et des humines (amorces d'une transformation  
biologique, le plus souvent discrète). Ceci se retrouve, moins marqué, pour  
l'horizon  $A_1$  de sol brun ocreux.

Les horizons Bh de podzol (tableau 2-L) ont des caractères d'horizons  
très remaniés par l'activité biologique ce qui n'est pas surprenant.

Pour ce qui concerne la rendzine, (tableau 2-L), le  $\delta^{15}N$  augmente  
dans tous les extraits, de  $A_{11}$  à  $A_{13}$ , mais lentement. Les extraits NaOH pH 12  
sont les enrichis en  $^{15}N$ ; les matières humifiées, extraites seulement après  
élimination du  $Ca^{++}$  (action préalable du pyrophosphate), ont encore ici le  
 $\delta^{15}N$  le plus élevé.

D) Conclusions - Interprétations.

De l'ensemble des résultats et interprétations ci-dessus évoqués, il  
ressort que les processus pédologiques sont responsables de l'élévation du  
taux de  $^{15}N$  des composés organiques ayant subi des transformations biologiques.

L'élévation du  $\delta^{15}N$  correspond au profond remaniement de la matière  
organique par les micro-organismes, remaniement d'autant plus évident que les  
produits végétaux hérités disparaissent, c'est-à-dire dans les horizons profonds  
des profils ainsi que dans les horizons de surface lorsque les débris végétaux



sont très biodégradables et biodégradés : un  $\delta^{15}\text{N}$  élevé semble donc lié à la perte du caractère "végétal".

Dans les litières, la matière organique fraîche domine largement sur les produits de néosynthèse microbienne: on n'observe pas les variations de  $\delta^{15}\text{N}$  qui seront enregistrées dès l'interface avec le minéral atteinte\* (cf. figure 2-64).

Vont contrarier l'élévation du  $\delta^{15}\text{N}$  tous les facteurs qui s'opposent à la biodégradation des composés organiques préexistants et à la réorganisation de molécules nouvelles :

- la rigueur du climat, les bas pH, les excès de carbonates ralentissent la microdivision par la mésofaune des résidus végétaux, notamment très lignifiés, ils ralentissent également leur biodégradation même après microdivision (cas du  $\text{CaCO}_3$ ),
- les textures grossières, la dominante siliceuse, les faibles proportions de surfaces minérales actives limitent l'insolubilisation des matériaux organiques néoformés.

Tous ces paramètres limitent l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$ .

A l'inverse, les matières organiques biodégradables (résidus végétaux microdivisés, en l'absence d'obstacles physico-chimiques à la biodégradation ; exsudats racinaires ; constituants préhumiques hydrosolubles) voient rapidement leur teneur en  $^{15}\text{N}$  augmenter à la faveur de la réorganisation de macromolécules nouvelles (humoprotéines, protéines, aminosucres, polycondensats azotés de type humique).

On voit le rôle déterminant que joue l'acquisition de la stabilité physico-chimique de ces macromolécules par les colloïdes minéraux\*\* dans l'élévation du  $\delta^{15}\text{N}$ . Ceci est justifié par :

- le contraste entre  $A_1$  et Bh de podzol,
- le ralentissement de l'enrichissement isotopique dans les rendzines et le rapprochement évident que permet le paramètre  $\delta^{15}\text{N}$  entre mull carbonaté et

---

\* Toutefois l'action spécifique des champignons (blanchiment) n'entraîne aucun enrichissement isotopique malgré l'intensité des transformations.

\*\* Qui n'est pas la stabilité apparente de la matière organique héritée des humus bruts qui ne peut être considérée comme intrinsèquement stable au vu de son accumulation sur ou dans le sol : la terre de bruyère de podzol se biodégrade plus vite après microdivision provoquée, dans un sol eutrophe.

humus de type mor et moder, en surface ; ces derniers sont peu évolués sous l'effet de la très faible activité biologique régnant dans ces milieux, le mull carbonaté voyant, lui, sa maturation bloquée par un comportement géochimique particulier (séquestration par le carbonate de calcium),

- l'enrichissement élevé de toutes les fractions de l'andosol : le blocage par l'aluminium ne concerne que les substances humiques (polycondensats anioniques) mais ne semble pas s'opposer à la biodégradation de molécules simples (ANDREUX, BOUDOT, communication personnelle),
- et, bien sûr le classement très significatif, par le  $\delta^{15}\text{N}$ , des humines des horizons  $A_1$  des sols étudiés, dans un ordre croissant de "métabolisation" de l'azote organique résiduel.

L'élévation du  $\delta^{15}\text{N}$  est donc liée à une augmentation de la stabilité des composés humiques vis-à-vis des agents biodégradants, stabilité qui s'accompagne des turn-over les plus lents (à l'exception des humus bruts).

L'existence de la relation entre le taux d'azote et le  $\delta^{15}\text{N}$  dans les humines (figure 2-71) s'interprète par la diminution du taux de matière organique qu'accompagne le profond remaniement des processus de l'humification.

La courbe d'évolution du C/N en fonction du  $\delta^{15}\text{N}$  des humines (figure 2-74) est également révélatrice des phénomènes évoqués ci-dessus : en surface le C/N renseigne sur la richesse en azote de la litière ; plus profondément il est influencé par les composés humiques de néoformation dont la proportion augmente vers la profondeur, ce qui se traduit par un abaissement de ce rapport qui s'accompagne de l'élévation du  $\delta^{15}\text{N}$ .

Cet ensemble de propositions mérite d'être *testé expérimentalement*. On sait (MULLER, 1972 ; MULLER et VEDY, 1978) que la mise en culture d'un sol forestier par exemple s'accompagne, par stimulation de l'activité biologique que traduit l'abaissement du C/N, d'une forte minéralisation de la fraction labile de la matière organique avec, par effet de bilan, une augmentation de la proportion des fractions résistantes stabilisées physico-chimiquement les plus pauvres en azote ; au total, on devrait assister, dans les sols forestiers mis en culture, à une élévation du  $\delta^{15}\text{N}$ .

L'étude de systèmes cultivés pour lesquels on connaît une référence naturelle sera donc un test, quasi expérimental, de la validité des observations et interprétations émises ci-dessus.

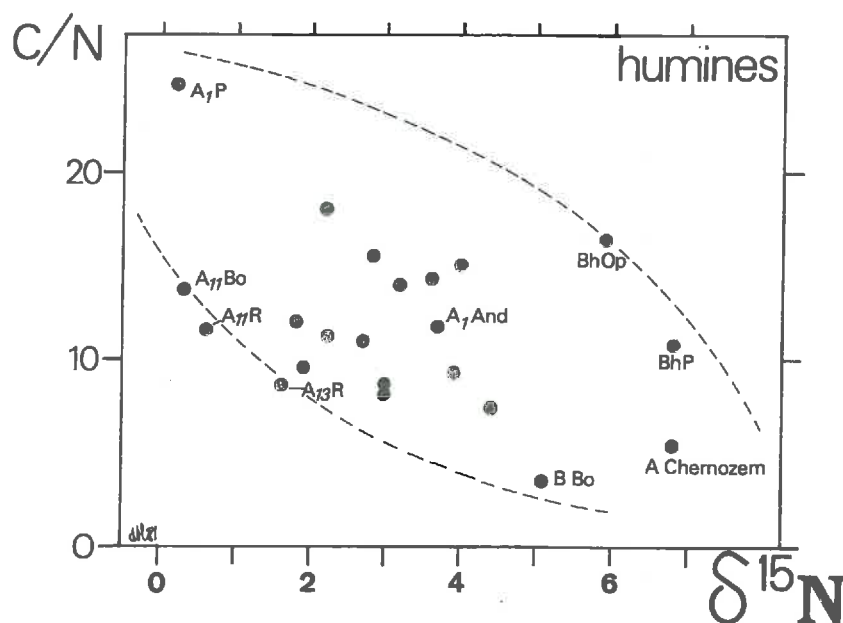


Figure 2-74 : Relation  $\delta^{15}\text{N}$  - C/N pour les humines de la fraction  $< 50 \mu\text{m}$  des sols étudiés.

2.7.5. - INFLUENCE DE LA MISE EN CULTURE DES SOLS SUR LES TENEURS EN  $^{15}\text{N}$  DE LA MATIÈRE ORGANIQUE.

Nous avons recherché, sur un dispositif agronomique installé à l'Institut National Agronomique (Grignon), quelle pouvait être l'influence des pratiques culturales sur la composition isotopique de l'azote de la matière organique du sol dans une expérimentation de longue durée.

A) Description des dispositifs étudiés.

Le premier dispositif est celui des parcelles dites "Dehérain", qui portent le nom de leur créateur, installées en 1875 : leur objet est l'étude de l'influence de divers modes de fertilisation sur le sol et le végétal. Ces parcelles sont implantées sur un sol brun colluvial faiblement lessivé. D'une surface de 100 m<sup>2</sup>, chaque parcelle est divisée en deux 1/2 parcelles cultivées alternativement en blé (var. Champlain) et betterave. Certaines parcelles restent sans culture. Sur le tableau 2-LI, nous indiquons les parcelles choisies pour cette étude, quelques caractéristiques de leurs pratiques culturales et de leurs compositions chimiques. La fertilisation est la suivante :

	kg.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup>
- Azote minéral (Ammonitrate)	87
- Phosphore (Superphosphate)	40
- Potassium (KCl)	75
- Fumier d'étable	10.000

N° parcelle	Fertilisation	Culture	Début du traitement	Azote (%)	Carbone (%)	C/N
45	Sans engrais	+	1675	1.09	9.59	9.32
44	"	+	1902	1.15	10.20	8.90
54	"	+	1931	1.36	12.58	9.25
86	Sans engrais	-	1902	1.07	9.40	8.78
43	N P K	+	1902	1.51	13.30	9.16
84	N P K	-	1964	1.16	11.04	9.48
47	N K sans P	+	1929	1.40	12.38	8.85
49	N P sans K	+	1929	1.36	12.58	9.25
48	P K sans N	+	1929	1.24	11.61	9.37
42	Fumier d'étable	+	1929	1.51	13.80	9.16
82	Fumier	-	1964	1.28	11.61	9.04
58	Fumier + N P K	+	1964	-	-	-

Tableau 2-LI : Caractéristiques des parcelles choisies dans le dispositif Dehérain. Les analyses chimiques figurant sur ce tableau ont été réalisées par le Laboratoire d'analyse des sols de l'I.N.A. Grignon en 1972.

Un deuxième dispositif, créé en 1959, a pour but d'étudier l'évolution dans le sol de la paille enfouie avec ou sans azote minéral, avec ou sans pré-humification de cette paille. Ce dispositif n'est pas cultivé mais subit des pratiques culturales (labour, hersage) identiques à celles des parcelles Dehérain. Il est désigné sous le terme "dispositif des 36 parcelles". La paille est incorporée au sol à raison de 70 kg par parcelle (10 m<sup>2</sup>) et l'azote sous forme d'ammonitrate, à raison de 0,07 kg/parcelle. Enfin, dans l'environnement immédiat de ces parcelles expérimentales, nous avons choisi et étudié :

- un sol sous bois : ce bois est un vestige de l'écosystème naturel avant culture. La strate arborescente est composée en majorité de chênes, avec charmes et érables, la strate arbustive comprend du buis et de l'aubépine, un tapis de mercuriale couvrant le sol. Cette végétation est caractéristique d'une forte alimentation en azote, d'un complexe absorbant saturé en

Ca<sup>++</sup>. Le sol est également du type sol brun colluvial légèrement lessivé,

- un sol sous prairie engazonnée depuis un siècle : cette prairie est située en bordure des parcelles Dehérain, son implantation est contemporaine de ces parcelles. Les seules pratiques culturales sont des coupes fréquentes du gazon,
- enfin, en bordure immédiate des parcelles expérimentales, nous avons prélevé un sol cultivé exploité depuis plusieurs siècles par la ferme rattachée actuellement à l'Institut. La nature du sol est, bien entendu, strictement identique à celle des parcelles Dehérain. La rotation de culture actuelle est : Blé, Maïs, Orge.

Tous ces sols (sols sous bois, cultivé, en prairie, parcelles expérimentales) ont été prélevés à moins de 300 m de distance les uns des autres, à une même altitude ; leur substratum est identique. Ils dérivent tous d'un même type pédologique, les différences qu'ils présentent apparaissent dès lors comme une conséquence de leur mise en culture.

#### Prélèvements.

Ils ont été effectués :

- pour les sols sous différents couverts de végétation, en juin 1977 à la bêche par tranches verticales, en distinguant deux couches superficielles par la couleur :

sous bois : 0-15 cm et 15-40 cm

sous prairie : 0-25 cm et 25-40 cm

sous culture : 0-30 cm et 30-40 cm

- pour les sols des dispositifs parcellaires expérimentaux, en mai 1977, en utilisant une sonde de 4 cm de diamètre, à la profondeur uniforme de 20 cm.

Pour minimiser les erreurs d'hétérogénéité, nous avons, pour chaque prélèvement, effectué 12 sondages que nous avons mélangés et homogénéisés.

#### B) Résultats.

##### 1) Sols sous différents couverts végétaux.

On constate sur le tableau 2-LII que la composition isotopique de l'azote total des sols augmente très nettement du sol vierge, sous couvert forestier, au sol cultivé. Pour l'horizon de surface, le plus riche en azote, le  $\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$  passe de 2,2 à 7,2 ‰, avec un abaissement corrélatif du C/N.

La valeur caractérisant le sol sous prairie est intermédiaire entre le sol vierge et le sol cultivé.

Occupation du sol	Profondeur (cm)	N <sub>total</sub> (%)	C/N	$\delta^{15}\text{N}$ (%)
Bois	0 - 15	4.10	10.6	2.2
	15 - 40	1.84	8.7	3.6
Prairie engazonnée	0 - 25	1.51	8.9	5.9
	25 - 40	0.84	11.2	7.1
Ferme de l'Institut Culture Blé-Maïs- Orge	0 - 30	1.56	8.9	7.2
	30 - 40	0.77	8.5	5.8

Tableau 2-LII : Résultats obtenus sous divers couverts végétaux.

Des observations allant dans le même sens ( $\delta^{15}\text{N}$  sols cultivés >  $\delta^{15}\text{N}$  sols vierges) ont été rapportées par BREMNER et TABATABAI (1973), RIGA *et al.* (1971), DOMENACH et CHALAMET (1976), RENNIE *et al.* (1976). Ainsi on peut mettre en évidence l'action essentielle du couvert végétal et du passage forêt-prairie qui se traduit par un important enrichissement en  $^{15}\text{N}$  (3,7 % dans le cas considéré). L'effet des divers traitements culturaux du sol poursuit cette évolution (enrichissement de 1,3 %).

Ce résultat est parfaitement cohérent avec ceux précédemment obtenus sur des sols vierges de pédogenèses variées pour lesquels une conclusion fondamentale était l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  lié, pour l'essentiel à l'augmentation de la fraction d'azote organique réorganisé biologiquement. L'augmentation d'activité biologique sous le sol de culture provoque une forte minéralisation de la fraction organique labile et se traduit par une augmentation relative de la fraction stabilisée fortement "métabolisée" et une diminution de l'héritage végétal.

Nous avons appliqué à l'horizon supérieur de ces 3 sols les techniques de fractionnement de la matière organique : fractionnement granulométrique, puis extractions alcalines sur la fraction < 50  $\mu\text{m}$  (humifiée) ; enfin nous avons réalisé sur la fraction non extractible, l'humine, une hydrolyse acide : nous disposerons ainsi de deux fractions supplémentaires : l'humine hydrolysable et l'humine non hydrolysable. Ces extractions et hydrolyse sont effectuées selon les méthodes précédemment évoquées.

Les résultats de ces fractionnements figurent sur le tableau 2-LIII et la figure 2-75. Dans les 3 sols, l'humine domine largement. Le sol vierge sous bois se caractérise par un marquage isotopique homogène sur toutes ses fractions, autour d'une valeur moyenne de 2,5 ‰, valeurs qui sont proches de celles obtenues sur des sols bruns précédemment étudiés, notamment sur l'humine (figure 2-73).

	HUMINE													
	Soude + Tétraborate		Pyrophosphate		Soude 0,1 N		Hydrolysat HCL		Résidu d'hydrolyse		Humine totale		Bilan pour la fraction < 50 µm	
	N ‰	δ <sup>15</sup> N	N ‰	δ <sup>15</sup> N	N ‰	δ <sup>15</sup> N	N ‰	δ <sup>15</sup> N	N ‰	δ <sup>15</sup> N	N ‰	δ <sup>15</sup> N	N ‰	δ <sup>15</sup> N
Sol vierge sous bois	0.3	2.5	0.3	2.1	0.4	2.3	2.22	2.4	0.5	2.9	2.72	2.5	3.72	2.4
Sol sous prairie	0.1	5.4	0.2	3.6	0.1	1.5	1.0	6.4	0.2	2.1	1.20	5.7	1.60	5.0
Sol cultivé	0.1	4.2	0.3	4.3	0.2	3.4	1.0	7.7	0.1	2.7	1.10	7.2	1.70	6.1

Tableau 2-LIII : Compositions isotopiques des différentes fractions séparées par extraction alcaline et hydrolyse acide.

Les deux autres sols, sous prairie et cultivé se caractérisent par un marquage très hétérogène de leurs diverses fractions. L'humine notamment, voit son δ<sup>15</sup>N s'élever considérablement : 5,7 ‰ pour le sol sous prairie, 7,2 ‰ pour le sol cultivé. Si on considère un diagramme δ<sup>15</sup>N-humine-teneur en azote, du type de celui de la figure 2-71, on constate (cf. figure 2-76) que les points représentatifs de ces 3 sols obéissent à la même loi de répartition linéaire que celle mise en évidence pour les sols de pédogenèses variées du paragraphe précédent. Ceci souligne le caractère apparemment général de cette relation, valable également, semble-t-il, pour des sols transformés par la mise en culture.

L'étude plus détaillée de la fraction humine, réalisée par hydrolyse acide, montre que l'essentiel en est hydrolysable par HCl à chaud et que c'est cette fraction hydrolysable de l'humine qui est enrichie en <sup>15</sup>N dans les sols sous prairie et cultivés. Au contraire, dans ces deux sols la fraction non hydrolysable de l'humine présente toujours la même composition isotopique que celle du sol sous bois.

Tout se passe comme si on pouvait distinguer dans cette humine une fraction hydrolysable, correspondante aux composés protéiques de réorganisation bactérienne (composés de type amino-polysaccharide caractérisant une humine microbienne) et une humine non hydrolysable, correspondant à la fraction la plus stable d'origine végétale.



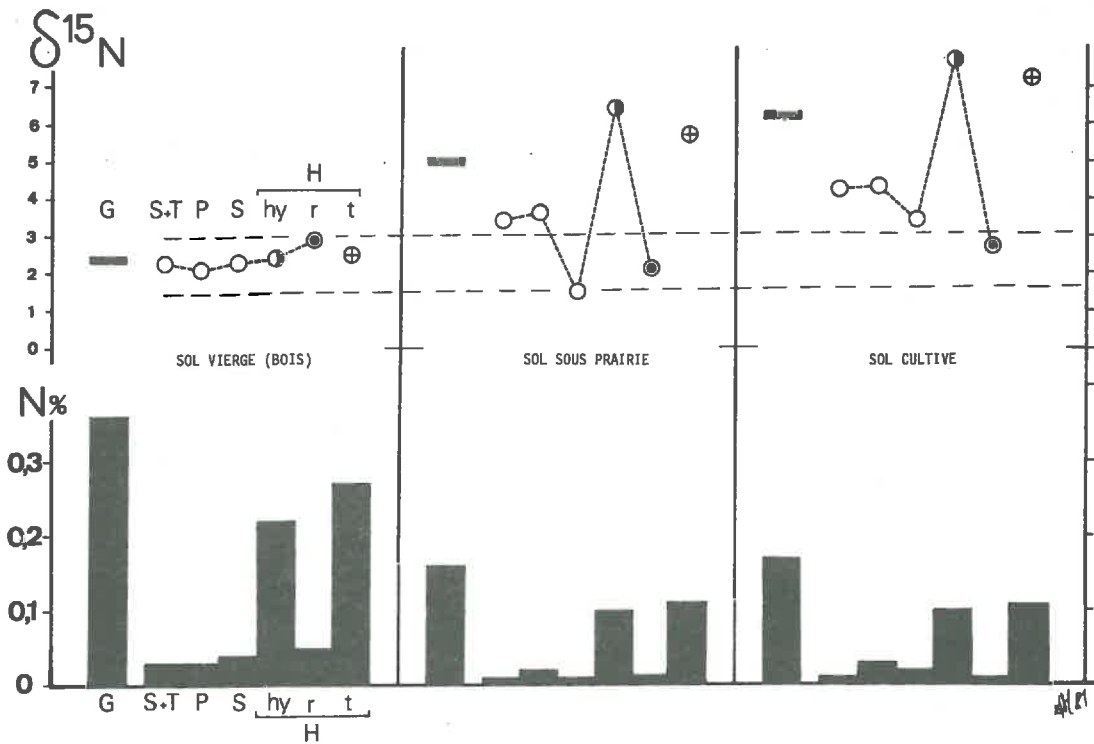


Figure 2-75 : Compositions isotopiques et teneurs en azote des différentes fractions séparées granulométriquement puis par extraction alcaline et hydrolyse acide, sur l'exemple de sols sous divers couverts végétaux.

G : échantillon total (fraction inférieure à 50  $\mu\text{m}$ )  
 S + T : soude + tétraborate ; P : pyrophosphate ; S : soude 0,1 N  
 H : humine (hy : fraction hydrolysable ; r : résidu d'hydrolyse ; t : total de l'humine).

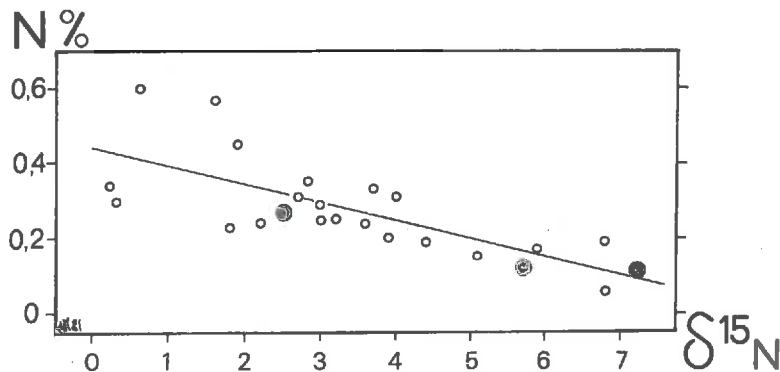


Figure 2-76 : Sur laquelle les trois points représentatifs des humines des sols sous divers couverts végétaux ont été reporté sur le diagramme de la figure 2-71 (relation entre la composition isotopique et la teneur en azote des humines).



La mise en culture provoque la diminution progressive des retombées végétales peu biodégradables à bas  $\delta^{15}\text{N}$  et augmente la participation de la biomasse bactérienne au pool organique ainsi que celle des composés humiques les mieux stabilisés (GREENWOOD et LEES, 1960 ; HUNTJENS, 1972).

Ces résultats confirment les hypothèses avancées après l'étude des sols forestiers :

(i) la fraction hydrolysable correspond à une fraction ayant subi l'action des micro-organismes et l'action stabilisatrice de l'humification microbienne, avec enrichissement en  $^{15}\text{N}$ .

(ii) La fraction non hydrolysable, à turn-over très lent, conserve, elle, sa composition isotopique même après plus d'un siècle de stimulation de l'activité biologique du sol : cette fraction n'ayant pas subi de modifications liées à l'action des micro-organismes, garderait donc son ancien "équilibre isotopique" acquis lors de sa pédogénèse initiale, cette composition isotopique basse reflétant un héritage végétal stable.

Si une telle hypothèse se vérifiait, on devine le rôle que pourrait jouer la mesure de composition isotopique de l'azote dans l'estimation du turn-over de la matière organique du sol.

On peut également constater que la composition isotopique des autres fractions, extractibles, s'enrichit en  $^{15}\text{N}$  du sol vierge sous bois au sol cultivé.

On montre ici que l'augmentation de l'activité biologique microbienne d'un sol, dans le cas présent liée à la mise en culture, a pour conséquence une très nette augmentation du  $\delta^{15}\text{N}$  de l'humine du sol et, partant, du  $\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$  de ces sols dont l'humine représente le pool azoté essentiel.

Nous pouvons nous interroger sur le rôle, dans ce processus, de la fertilisation azotée par les engrais, paramètre majeur de la pratique culturale, ainsi que sur l'action d'autres formes de fertilisation : résidus végétaux peu transformés (pailles) ou fumier, sur la composition isotopique de l'azote organique du sol et tenter d'apprécier ainsi le "remaniement" biologique des apports figurés.

Les dispositifs Dehérain et "des 36 parcelles" doivent répondre, sur un cas d'espèces, à ces questions.

2) Dispositifs Dehérain et des "36 parcelles".

Les résultats figurent sur le tableau 2-LIV et les figures 2-77 et 2-78. On peut constater que la composition isotopique de l'azote total du sol ne varie pas significativement en fonction du traitement cultural : fertilisation azotée (ammonitrate) ou pas, sol cultivé ou maintenu sans culture, restitution ou non des pailles. Pour l'ensemble des parcelles Dehérain, à l'exception des parcelles à fumure organique, on obtient ( $\bar{m} \pm \text{écart-type}$ )  $7,28 \pm 0,31 \%$  ; pour le dispositif "36 parcelles" :  $7,22 \pm 0,56 \%$ .

Dispositif Dehérain	N° parcelle	Traitement	Culture	N total (%)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
	45	Sans engrais	+	1.07	7.3
	44	Sans engrais	+	1.08	7.5
	54	Sans engrais	+	1.30	7.6
	86	Sans engrais	-	1.00	6.8
	48	P K sans N	+	1.25	7.8
	43	N P K	+	1.32	7.4
	84	N P K	-	1.23	7.0
	47	N K sans P	+	1.34	7.1
	49	N P sans K	+	1.33	7.1
	42	Fumure organique (fumier)	+	1.54	8.5
	82	"	-	1.30	8.1
	58	" + N P K	+	1.61	6.6

Dispositif des 36 parcelles	N° parcelle	Traitement	Azote engrais	N total (%)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
	111	Sans paille	-	1.08	7.6
	131	Sans paille	-	1.12	7.7
	122	Avec paille	-	1.26	7.0
	132	Avec paille	-	1.52	6.6
	133	Avec paille "préhumifiée"	-	1.31	6.6
	134	Sans paille	+	1.19	7.9
	164	Sans paille	+	1.18	7.5
	135	Avec paille	+	1.36	7.8
	165	Avec paille	+	1.35	7.2
	136	Avec paille "préhumifiée"	+	1.34	7.1
	146	Avec paille "préhumifiée"	+	1.36	7.1

Tableau 2-LIV : Caractéristiques et résultats analytiques obtenus sur les sols des dispositifs expérimentaux (Dehérain et "36 parcelles").

La seule différence significative que l'on puisse noter est le léger enrichissement en  $^{15}\text{N}$ , 1 % environ, dans les sols ayant reçu exclusivement une fumure organique (fumier d'étable) depuis 1928 et 1964. La parcelle 58 (fumier + NPK) a été créée en 1964 sur la prairie bordant le dispositif ; sa composition isotopique, plus basse que celle des autres parcelles et légèrement supérieure à celle du sol de prairie, semble indiquer qu'un état d'équilibre n'est pas encore atteint. L'apport des pailles au sol sur le dispositif des "36 parcelles" (figure 2-78) semble légèrement abaisser

le  $\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$ . Cet effet n'est pas très significatif, de même que, pour le même dispositif, l'effet de la fertilisation azotée minérale. Toutefois il faut signaler que RIGA *et al.* (1971) observent que l'enfouissement de vesces comme engrais vert a pour effet d'abaisser la teneur en  $^{15}\text{N}$  du sol. On comprend que l'apport d'engrais vert, surtout de légumineuses dont la composition isotopique est proche de celle de l'azote de l'air, en augmentant la part de l'héritage végétal, puisse diminuer le  $\delta^{15}\text{N}$  de la matière organique du sol.

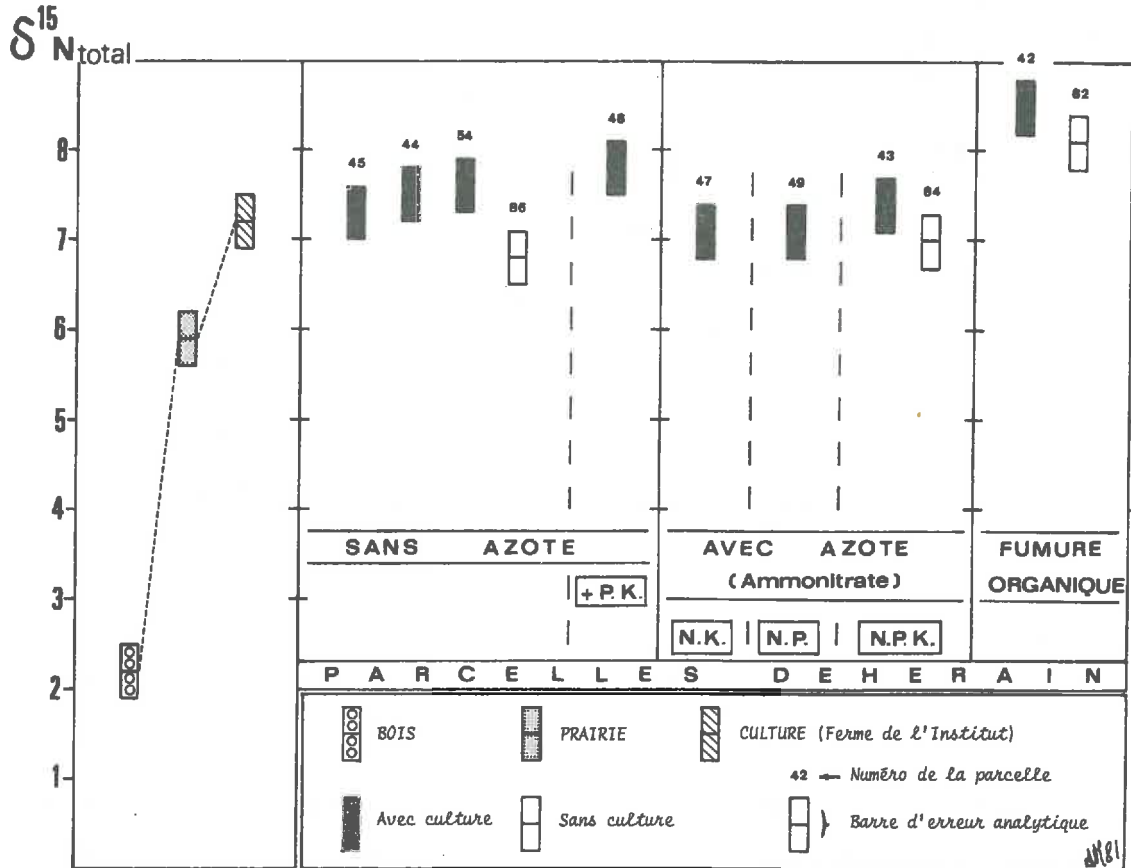


Figure 2-77 : Grignon. Composition isotopique de l'azote total des sols sous divers couverts végétaux et des sols des parcelles Dehérain.

Il reste, et c'est là un fait majeur, que l'apport, pendant plus de 75 ans, d'azote minéral de synthèse industrielle dont le  $\delta^{15}\text{N}$  est proche de 0 (cf. paragraphe 3-2-2-I, tableau 3-XII)\* dans le cycle de l'azote de sols mis

\* Avant la généralisation, après 1908, du procédé HABER et BOSCH, l'engrais azoté utilisé devait être le nitrate naturel du Chili : sa composition isotopique, que nous avons mesurée sur quelques échantillons varie de - 2,5 à - 5,5 ‰ : elle est donc encore plus basse que celle de l'azote des composés azotés d'origine industrielle.

en culture n'entraîne aucune variation de la composition isotopique ( $N_{total}$ ) de ces sols. MEINTS *et al.* (1975) ainsi que KOHL *et al.* (1973) font une constatation similaire sur des sols où l'application d'azote peut s'élever jusqu'à 448 kg N/ha/an. Toutefois, à l'inverse, RIGA *et al.* (1971) observent un abaissement de la teneur en  $^{15}N$  dans des sols recevant une fumure minérale NPK, par rapport à des sols témoins sans engrais.

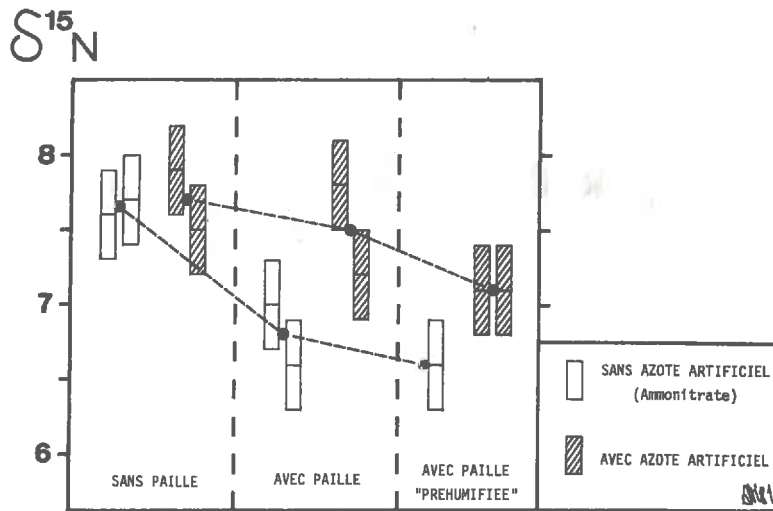


Figure 2-78 : Composition isotopique de l'azote total des sols non cultivés du dispositif dit "des 36 parcelles" à Grignon. Par azote "artificiel" on entend "d'origine industrielle".

L'augmentation, significative, du  $\delta^{15}N_{total}$  des sols recevant une fertilisation organique (observation qui confirme les résultats de RIGA *et al.*, 1971) est probablement due au fait que l'azote total du fumier d'étable appliqué sur ces parcelles est nettement enrichi en  $^{15}N$ , comme on peut le constater sur le tableau suivant.

Année	$\delta^{15}N_{total}$ fumier
1970	15.1
1972	17.5
1973	10.5
1976	11.9
1977	9.6

Lorsque l'apport d'azote s'effectue sous forme essentiellement organique, comme dans le cas du fumier, il peut donc entraîner à long terme (cf. note ci-dessus à propos de la parcelle n° 58) une élévation du  $\delta^{15}\text{N}$  de la matière organique du sol, à la condition, évidente, que cet apport soit isotopiquement marqué par rapport à l'azote initial du sol.

Au contraire, l'apport d'azote minéral de composition isotopique différente (dans le cas des engrais, inférieure) de celle du sol ne semble pas introduire d'évolution isotopique à long terme du  $\delta^{15}\text{N}$  du sol.

### C) Conclusions.

On devra retenir le rôle essentiel de la mise en culture d'un sol qui, bouleversant le cycle de ce sol, tend à enrichir l'azote de la matière organique en  $^{15}\text{N}$ . Par contre, *l'apport constant d'azote minéral de synthèse à bas  $\delta^{15}\text{N}$  ne semble pas, sur les exemples étudiés, modifier, même après 75 ans de fertilisation, cette composition isotopique.*

Sur les parcelles Dehérain il a été procédé (FERNANDEZ, 1977) à des mesures de composition isotopique du bié à différents stades de végétation. Les compositions isotopiques sont toujours très basses (< 2 %) même sur sol non fertilisé (à l'exception du cas de la fumure organique). La culture se traduit donc par une exportation d'azote organique à bas  $\delta^{15}\text{N}$  : il était tentant d'émettre l'hypothèse que, par effet de bilan, ceci devait se traduire, à la suite de la diminution de cet héritage végétal, par une augmentation de composition isotopique de l'azote restant dans le sol. Cette hypothèse ne peut expliquer à elle seule les résultats obtenus : le dispositif des 36 parcelles, non cultivé, auquel on ajoute de la paille devrait alors montrer la même variation relative de  $\delta^{15}\text{N}$  organique dans le sens d'appauvrissement : en fait cet effet est à la limite de la signification.

Nous avons observé que la mise en culture élevait la composition isotopique ( $\delta^{15}\text{N}$ ) de l'azote organique des sols. SHEARER, KOHL et CHIEN (1978) ont étudié 124 sols provenant de 20 états des Etats-Unis. Les caractéristiques et les conditions de milieu varient de façon importante : sols cultivés, sols de pâtures, prairies naturelles, forêt. Ils ont analysé la partie superficielle (0 - 15 cm) de ces sols. La composition isotopique moyenne obtenue est : ( $\bar{m} \pm \text{écart-type}$ )  $9,22 \pm 2,10 \%$ , 75 % de ces sols étant dans une gamme de  $\delta^{15}\text{N}$  de 7,1 à 11,1 %. Deux sols tourbeux du Wisconsin ont des  $\delta$  entre 2,5 et 3,5 %, sur les sept échantillons de  $\delta$  compris entre 4,5 et 5,5, quatre sont sous prairies naturelles, deux sous forêts. RENNIE, PAUL et JOHNS (1976) ont analysé 9 horizons  $A_p$  de sols chernozémiques et luvisoliques : la composition

isotopique moyenne est de 8,8 %, l'écart-type de 1,2 ; les valeurs les plus basses sont obtenues pour des sols sous forêt.

KARAMANOS, VORONEY et RENNIE (1981) analysent 38 sols cultivés\* bien drainés, 11 sols sous prairies naturelles et 9 sols salins. Leurs résultats sont les suivants :

- totalité des sols :  $9,4 \pm 3,0$  %
- sols cultivés et sous prairie :  $8,6 \pm 1,9$  %
- sols salins :  $13,8 \pm 3,8$  %

Ces derniers ont un  $\delta^{15}\text{N}$  significativement plus élevé.

70 % des sols cultivés sont dans la gamme 7 à 10 %.

Ces résultats sont présentés sur les histogrammes de la figure 2-79. On peut en conclure :

- que, conformément à nos observations et à celles de nombreux auteurs (BREMNER et TABATABAI, 1973 ; RIGA *et al.*, 1971), les sols cultivés sont plus enrichis en  $^{15}\text{N}$  que les sols vierges, forestiers notamment ;
- que la composition isotopique moyenne de sols cultivés est le plus souvent comprises entre 6 et 10 %.

De plus, l'article de KARAMANOS *et al.*, montre l'existence de faibles variations spatiales du  $\delta^{15}\text{N}$ , contrairement aux observations surprenantes de BROADBENT *et al.* (1980) qui constatent de très grandes variations latérales du  $\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$  dans le sol, sur le même site. Nos observations personnelles vont dans le même sens que celles de KARAMANOS *et al.*. Dans le chapitre 3-2, l'étude hydro-pédologique de la parcelle de CHAUSSY montre la très grande stabilité de la valeur de  $\delta^{15}\text{N}$  à l'échelle d'une parcelle de 22 ha, sur une même unité pédologique (cf. figure 3-37). Beaucoup de sols cultivés se caractérisent donc par un très net enrichissement en  $^{15}\text{N}$ , avec des valeurs moyennes proches de  $8 \text{ à } 9 \pm 2$  %.

Ceci n'est toutefois pas généralisable à l'ensemble des sols cultivés : nous avons personnellement pu constater que des sols cultivés, de type rendzine sur craie présentaient des  $\delta^{15}\text{N}$  relativement bas, ainsi qu'on peut le constater sur le tableau 2-LV. La composition isotopique du sol global est voisine de 5 %, ainsi que l'ensemble des fractions isolées par attaque alcaline sur la

---

\* Incluant les échantillons de l'article de RENNIE *et al.* (1975).

fraction granulométrique 50 - 0  $\mu\text{m}$ . On peut retenir, pour expliquer cette composition isotopique basse, le rôle de séquestration de la matière organique que joue le carbonate de calcium, rôle précédemment évoqué. On notera toutefois que le  $\delta^{15}\text{N}$  des différentes fractions de ce sol ainsi que le  $\delta^{15}\text{N}$  du sol global est très nettement supérieur à celui de la rendzine de Bellefontaine, dans un écosystème naturel (figure 2-61, tableau 2-L). La comparaison de ces résultats n'a de signification qu'à titre indicatif, étant donné l'éloignement des deux sites de prélèvement : on peut toutefois soupçonner dans ces résultats l'effet de la mise en culture sur l'augmentation en  $^{15}\text{N}$  de l'azote organique de la rendzine cultivée de Châlons-sur-Marne.

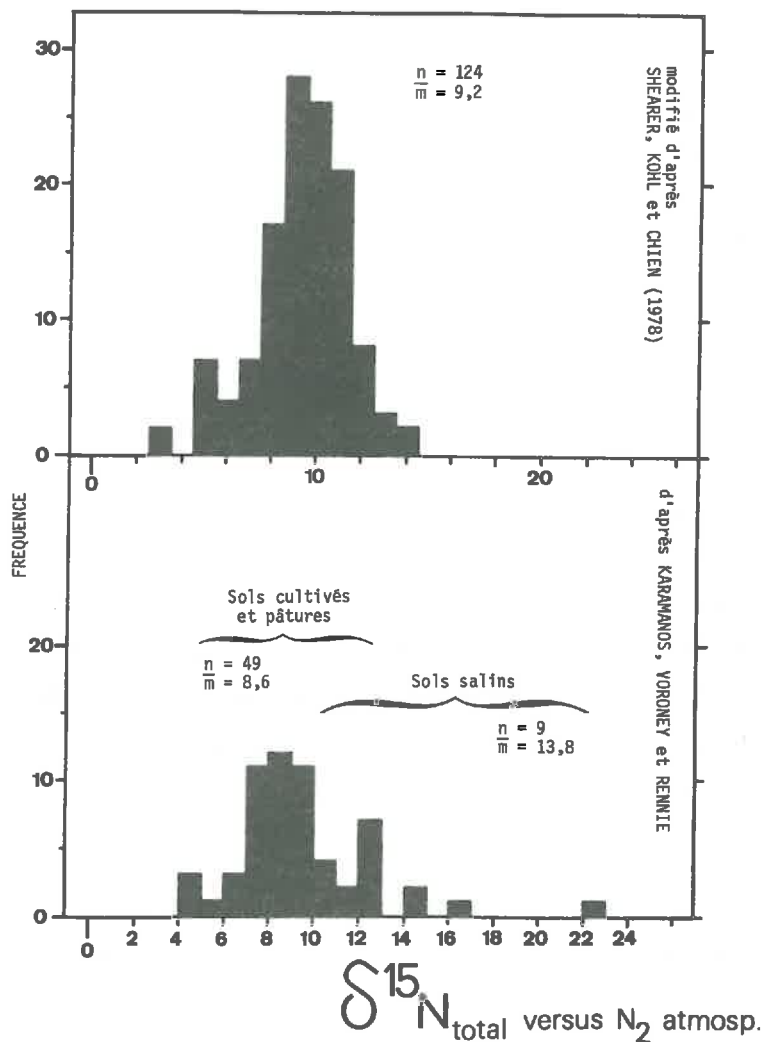


Figure 2-79 : Composition isotopique de l'azote total de sols des Etats-Unis et du Canada (analyse bibliographique).



	Importance pondérale/ sol global	Taux d'azote N %	$\delta^{15}\text{N}$ ‰
Sol global	100 %	0.67	5.1
Fraction granulométrique :			
2 mm - 100 $\mu\text{m}$	2.75 %	0.94	- 0.4
100 $\mu\text{m}$ - 50 $\mu\text{m}$	5.30 %	1.19	3.2
50 $\mu\text{m}$ - 0 $\mu\text{m}$	91.96 %	0.60	5.5

	Taux d'azote N % exprimé par rapport à la fraction 50 - 0 $\mu\text{m}$	$\delta^{15}\text{N}$ ‰
Fraction chimique :		
- Soude + tétraborate	0.06	5.5
- Pyrophosphate 1 %	0.09	5.1
- Soude 0,1 N	0.05	4.7
- Résidu Humine	0.35	4.7

Tableau 2-LV : Caractéristiques chimiques et isotopiques des fractions du sol Rendzine sur craie (Châlon-sur-Marne).

#### 2.7.6. - CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Plusieurs faits importants ressortent de cette étude. On peut constater que la composition isotopique de l'azote organique des sols ne varie pas de façon aléatoire. Pour des caractéristiques pédologiques semblables, les variations de ce paramètre sont faibles. Guidé par des processus pédologiques biochimiques, l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  obéit à des lois à caractère général.

(i) L'enrichissement isotopique de l'azote organique dans les sols se produit au cours des phases d'humification, lorsque la matière organique est réorganisée biologiquement et contracte des liens avec la matière minérale ; dans les litières où règne une importante activité biologique de minéralisation, il n'y a pas d'enrichissement isotopique : ce résultat est cohérent avec les observations de MIYAKE et WADA (1971) qui constatent que la décomposition aérobie de *Scenedesmus sp.* ne s'accompagne que de très faibles enrichissements isotopiques des cellules de l'algue en cours de dégradation (cf. chapitre 2-2, figure 2-19).



(ii) La composition isotopique de l'azote organique du sol est donc fondamentalement sous la dépendance de deux paramètres :

1) la proportion de matière organique fraîche ou apparentée par rapport à la fraction humifiée ; la première étant caractérisée par des  $\delta^{15}\text{N}$  négatifs dans les écosystèmes naturels, la deuxième par des  $\delta^{15}\text{N}$  plus élevés, le plus souvent positifs.

2) Pour la fraction humifiée, le taux d'enrichissement isotopique accompagne un processus de stabilisation biologique.

On peut ainsi distinguer :

- la matière organique fraîche (+ humine héritée) à  $\delta^{15}\text{N}$  négatif ou voisin de zéro,
- la matière organique humifiée dont le  $\delta^{15}\text{N}$  augmente jusqu'à des valeurs de 7 à 8 ‰ sur les exemples étudiés ; cette élévation étant liée aux transformations de la matière organique par les processus biologiques, on pourrait dire liée au "taux de métabolisation" de cette matière organique, qui s'accompagne d'une augmentation de la stabilité des composés humiques vis-à-vis des agents de la biodégradation.

(iii) Le  $\delta^{15}\text{N}$  de la fraction humine reflète les types de processus d'évolution biochimique des sols et met en particulier clairement en évidence les processus où le taux d'humification est faible, processus liés soit à des activités biologiques très faibles, comme dans les humus de type mor, soit à des blocages du phénomène, par exemple par séquestration de la matière organique dans des gangues de carbonate de calcium.

Profondeur du prélèvement	Concentration en $\text{N-NO}_3^-$ $\text{mg.l}^{-1}$	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ‰
0 - 25 cm	14	- 4.4
25 - 50 cm	18.5	- 4.6
50 - 75 cm	18.5	- 4.7
1 m	15	- 5.6
2 m	~ 15	- 4.7
4 m	~ 16	- 4.6
6 m	~ 8	- 4.4
7 m	~ 10	- 5.1

Tableau 2-LVI : Composition isotopique des nitrates dans la zone non saturée sous rendzine non cultivée.

Ce tableau se rapporte à la note infrapaginale de la page 287.

Une conséquence de ce qui précède est l'augmentation du  $\delta^{15}\text{N}$  des sols cultivés par rapport aux sols vierges, observation faite par de nombreux auteurs. Toutes choses égales par ailleurs, on peut estimer a priori que l'azote minéralisé annuellement aux dépens de la matière organique du sol présentera des compositions isotopiques très différentes selon que l'on s'adresse à un sol vierge ou un sol cultivé, probablement plus élevées pour ce dernier\*.

Il ressort également que la fraction hydrolysable des sols est plus enrichie en  $^{15}\text{N}$  que la fraction réfractaire à l'hydrolyse : or la fraction hydrolysable est réputée la plus facilement minéralisable : dans le cas où la minéralisation de compartiments dégradables dans le sol est complète, on comprend que l'azote minéral apparaissant puisse être enrichi, lui aussi, en  $^{15}\text{N}$ , comme il a été fréquemment observé.

Pour terminer, il ressort que l'étude des abondances naturelles en  $^{15}\text{N}$  dans la matière organique des sols peut se révéler un outil de choix pour l'étude de processus pédogénétiques. Cet outil a été récemment utilisé par KARAMANOS et RENNIE (1980) pour l'étude de processus liés à des pédogenèses particulières, en sols salins.

---

\* Nous donnerons comme exemple typique celui d'une observation faite sur rendzine sur craie. Nous avons étudié dans le chapitre 2-2, consacré aux effets isotopiques associés aux processus de minéralisation-nitrification, la composition isotopique du nitrate apparu dans ces sols cultivés ou ayant été cultivés : ces observations ont été faites soit en incubation, soit sur cases lysimétriques (cf. figures 2-10 et 2-14). Les nitrates naturels biosynthétisés dans ces sols ont un  $\delta^{15}\text{N}$  compris entre 2 et 3 ‰.

J.C. MULLER a procédé, en 1979, à des prélèvements dans la zone non saturée en pays de craie sous divers sites, afin de suivre la migration des nitrates en profondeur (MULLER et BALLIF, 1981). Il a notamment procédé à des prélèvements sous une rendzine n'ayant jamais été cultivée, ni fertilisée, occupée depuis plus de cinquante ans par une pelouse à graminées, dans un camp militaire. Les résultats figurent sur le tableau 2-LVI. On y trouvera les teneurs en nitrate dans l'eau interstitielle du sol et du sous-sol, exprimées conformément aux principes décrits dans le chapitre 2, paragraphe 2-2-4. Les compositions isotopiques des nitrates biosynthétisés dans ce sol vierge sont considérablement appauvris en  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$  moyen = - 4,8 ‰) par rapport aux nitrates naturels apparus dans un sol, à l'origine identique pédologiquement, mais ayant subi une mise en culture : la différence est supérieure à 7 unités delta en moyenne. Des observations tout-à-fait semblables seront rapportées dans le chapitre 3-2-2-II (site des Fonds de Cayenne).

## CHAPITRE 2

### 2.8. - CONCLUSIONS SUR LE CHAPITRE



## 2.8. - CONCLUSIONS SUR LE CHAPITRE.

La plupart des transformations de l'azote au cours de son cycle ont été examinées au point de vue des fractionnements isotopiques qui y sont associés. De nombreuses inconnues ou imprécisions demeurent encore : l'intérêt des recherches dans ce domaine de la Géochimie isotopique n'est apparu que très récemment et nous sommes clairement dans une phase exponentielle d'acquisition des connaissances : on ne peut douter que les progrès à venir soient rapides et importants. En tout état de cause, le dossier analytique en notre possession nous permet de penser que l'application des mesures d'abondance isotopique naturelle de l'azote-15 à la connaissance du cycle biogéochimique de l'azote, repose déjà sur des bases solides.

Nous ne présenterons pas de discussion détaillée ni de conclusions particulières à ce chapitre : elles seront réservées à une synthèse plus générale, en forme de conclusion, à la fin de l'ouvrage.

Nous nous contenterons d'établir un tableau synoptique résumé (tableau 2-LVII), synthétisant les principaux résultats que nous avons acquis, complétés de quelques résultats tirés de la littérature, afin de présenter un ensemble concernant tout le cycle de l'azote.

Processus	Objet de l'étude	Caractéristiques du fractionnement isotopique apparent	$\delta^{15}N$ p/s	Observations
Fixation de l'azote atmosphérique + N <sub>org</sub>	-Diazotrophes symbiotiques  -Bactéries fixatrices libres	(0,+) Fractionnement très faible : léger enrichissement en <sup>14</sup> N dans les parties aériennes des légumineuses  (0,+) Léger enrichissement en <sup>14</sup> N du protoplasme bactérien	- 0.0 à - 2.0 % (parties aériennes des légumineuses ; influence du type de produits de transport de N fixé, depuis le nodule vers le reste de la plante : uréides ou glutamines).  = - 2.5 ± 1.5 %	Fractionnement isotopique constant au cours de la croissance végétative des légumineuses fourragères et relativement homogène d'un organe à l'autre, à l'exception d'un enrichissement en <sup>15</sup> N dans les nodules des légumineuses synthétisant des uréides comme produits de transport.
Nitrification + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-Bactéries, sols	(++,+++) Fractionnement important. Appauvrissement en <sup>15</sup> N dans NO <sub>3</sub> apparu et enrichissement corrélatif dans NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> résiduel.	- 35 à - 10 % environ	Fractionnement variable avec la concentration du substrat ? Rôle possible de l'équilibre : $NH_4^+ \rightleftharpoons NH_3 + H^+$
Minéralisation + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Décomposition de : -litière de hêtre -algue : <i>Scenedesmus</i> <sup>1</sup>	(0,+) Très faible fractionnement apparent		Peu de variations de $\delta^{15}N$ dans la matière organique en décomposition
Minéralisation + nitrification + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Sols	(0,+) Fractionnement apparent global très faible		Peu de différence de composition isotopique entre N-NO <sub>3</sub> apparu et N organique total sur certains types de sols (à l'équilibre dynamique). <i>Non généralisable.</i>
Nitrification logarithique + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + N <sub>2</sub> O, N <sub>2</sub>	Sols	(++,+++) Fort fractionnement, enrichissement en <sup>15</sup> N du nitrate et du nitrite résiduel	* - 20 ± 10 %	Fractionnement variable en fonction de la concentration en donneur d'électrons (C organique) : rôle de la dessiccation du sol. Dans une plus faible mesure, fonction également de la concentration en substrat.
Nitrification chimique + NO, N <sub>2</sub> O, N <sub>2</sub>	Solution de nitrite + cations réducteurs	(++,+++) Fort fractionnement, enrichissement en <sup>15</sup> N de NO <sub>2</sub> résiduel	≈ 20 %	
Fixation de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> par les végétaux cophylliens + N <sub>org</sub>	-Plantes supérieures -Algues <sup>2</sup>	(0,+) Fractionnement très faible	- 0.25 ± 0.65 % (38 espèces différentes de plantes supérieures)	Ce fractionnement est faible dans les conditions naturelles où la concentration en nitrate n'est pas très élevée et où l'intensité lumineuse n'est pas trop faible, limitant la fourniture en électrons <i>via</i> la photosynthèse. Dans le cas contraire, il peut devenir important (plante jeune, activité NR faible, très forte concentration en NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ).
Minéralisation de l'azote minéral par micro-organismes + N <sub>org</sub> + N <sub>org</sub>	-Bactéries, Champignons  -Sols	(0 + +++) Fractionnement très variable : de très important (avec enrichissement en <sup>14</sup> N dans le protoplasme), à très faible.  idem	- 40 à 0 % (?)	Le fractionnement isotopique semble fonction de la concentration en azote du substrat. Très élevé pour de fortes concentrations (ordre de grandeur : 2,4 · 10 <sup>-2</sup> M), il paraît s'annuler pour des concentrations plus basses.  idem, rôle probable de la concentration en carbone organique

<sup>1</sup>MIYAKE et WADA, 1971

<sup>2</sup>WADA et HATTORI, 1978

Processus	Objet de l'étude	Caractéristiques du fractionnement isotopique apparent	$\epsilon_{p/s}$	Observations
Volatilisation de $NH_3$ $NH_4^+_{sol} \rightleftharpoons NH_3_{gaz} + H^+$	Solution ammoniacale en pH alcalin	-à l'équilibre (+++) la vapeur est appauvrie en $^{15}N$ par rapport à la solution -cinétique (+ + +++) la vapeur est appauvrie en $^{15}N$ par rapport à la solution effet variable	- 24.92 ± 0.14 % à 25°C	Le fractionnement isotopique semble fonction de la concentration en azote du substrat ; une action, du second ordre, de la vitesse de volatilisation est probable
Fixation, adsorption de $NH_4^+$ sur les colloïdes électro-négatifs du sol	-Sols -Résines échangeuses d'ions <sup>3</sup>	(0, ±) Fractionnement isotopique très faible. Légère rétention de $^{15}N$ sur la fraction adsorbée par rapport à la fraction libre	< 1 %	
Dissolution de $N_2$ dans l'eau $N_{2,gaz} \rightleftharpoons N_{2,sol}$	Eau pure <sup>4</sup>	(0, ±) Fractionnement isotopique très faible ; légère concentration en $^{15}N$ dans $N_2$ dissous	0.85 ± 0.10 % à 0°C	
Humification de la matière organique dans les sols	Sols	L'évolution de la matière organique dans les sols provoque un enrichissement isotopique en $^{15}N$ de la fraction humifiée par rapport à la fraction héritée		L'élévation du $\delta^{15}N$ dans la matière organique est liée au remaniement de cette matière organique par les micro-organismes, à l'acquisition de la stabilité physico-chimique des macro-molécules réorganisées par les processus de l'humification. La mise en culture des sols s'accompagne d'une élévation du $\delta^{15}N$ organique.

<sup>3</sup>DELWICHE et STEYN, 1970

<sup>4</sup>KLOTS et BENSON, 1963

Tableau 2-IVII : Résumé sur les fractionnements isotopiques des principales étapes du cycle de l'azote.

0, +, ++, +++ ou ± : définit semi quantitativement l'intensité de l'effet isotopique.





CHAPITRE 3 : LES ABONDANCES ISOTOPIQUES NATURELLES DE L'AZOTE,  
MOYEN DE DIAGNOSTIC DE L'ETAT DU MILIEU NATUREL ;  
APPLICATIONS SEDIMENTOLOGIQUES, HYDROGEOLOGIQUES  
ET AGRONOMIQUES.

APPORT DE LA GEOCHIMIE ISOTOPIQUE DE L'AZOTE A LA  
DETERMINATION DE L'ORIGINE ET A L'ESTIMATION DE LA  
CONTRIBUTION RELATIVE DE COMPOSES PARTICIPANT A UN  
MELANGE.



Nous sommes à présent en possession d'un dossier analytique concernant les fractionnements isotopiques au cours du cycle de l'azote. Certes, ce dossier, dans l'état actuel de cette présentation est encore incomplet, souvent imprécis. De nombreuses équipes de recherche dans le monde s'attachent actuellement à l'étoffer, à éclairer ces imprécisions : entre l'instant où ces lignes sont écrites et celui où le lecteur pourra en avoir connaissance, je ne doute pas que de nouvelles données seront à la disposition de la communauté scientifique, que bien d'imprécisions seront levées.

En tout état de cause, nous pouvons dès à présent prétendre que ces données peuvent contribuer efficacement à l'étude du cycle de l'azote, comme traqueur de sens d'évolution ou comme marqueur naturel.

La connaissance des fractionnements isotopiques de l'azote permet également d'aborder les problèmes de détermination d'origine : l'utilisation de  $^{15}\text{N}$  en abondance naturelle comme traqueur d'origine dans un mélange de composés chimiquement identiques et comme paramètre permettant l'estimation de la contribution relative des sources impose :

- l'existence d'une *différence de composition isotopique entre les sources du mélange,*
- *le maintien de cette différence* : elle ne doit pas être altérée par des processus, accompagnés d'effets isotopiques, intervenant dans le système de mélange étudié, ou bien être altérée de façon *prévisible*, ce qui ne peut être permis que par la connaissance précise des ordres de grandeur de ces effets isotopiques.

D'autre part, la connaissance de ces fractionnements isotopiques permet, dans certains cas d'expliquer les différences de composition isotopique originelles entre ces sources.

Bien sûr, l'identification des sources par le traçage isotopique ne permet, en théorie, que la résolution de *mélanges bipolaires* : ne disposant en effet au maximum que de deux paramètres : la concentration ou la quantité de l'élément considéré et son contenu isotopique, il est seulement possible de résoudre un mélange à deux inconnues.

En fait, on en verra des exemples, d'autres paramètres chimiques peuvent contribuer quelquefois à augmenter la "capacité de résolution" de ces mélanges.

L'utilisation des abondances isotopiques naturelles comme traqueur d'origine est très largement développée, depuis plusieurs décades, pour ce qui concerne le carbone, ( $^{13}\text{C}$ ), l'oxygène ( $^{18}\text{O}$ ), le soufre ( $^{34}\text{S}$ ). Le traçage par  $^{15}\text{N}$  est de développement plus récent :

- KREITLER et JONES (1975) observent une différence d'abondance en  $^{15}\text{N}$  entre les nitrates provenant de sols non pâturés (+ 2 à 8 %) et les nitrates provenant de rejets animaux (+ 10 à + 20 %), dans la zone des Runnels County (Texas). Les eaux souterraines de ces régions montrent une grande similitude de la composition isotopique des nitrates dissous dans ces eaux avec celle des nitrates provenant de sols non pâturés : ceci est valable pour près des 2/3 des échantillons étudiés. Les auteurs en concluent que la principale source de contamination des eaux souterraines dans cette région réside dans les nitrates provenant de la minéralisation naturelle de la matière organique des sols ; les nitrates provenant de déchets animaux contribuent peu à cette contamination, limitée aux environs des fermes et des cours d'étables.
- Certains auteurs (DELWICHE et STEYN, 1970 ; MEINTS *et al.*, 1975 ; RENNIE *et al.*, 1976), notant l'existence de différences mesurables dans le contenu naturel en  $^{15}\text{N}$  de plantes fixatrices ou non fixatrices de l'azote atmosphérique, suggèrent que les mesures d'abondances naturelles en  $^{15}\text{N}$  des plantes fixatrices peuvent permettre la détermination quantitative de la contribution de la fixation à la nutrition azotée de ces plantes.

Dans le même ordre d'idées :

- WADA et HATTORI (1976) montrent que la composition isotopique d'algues phytoplanctoniques (genre *Trichodesmium*) de la Mer des Philippines est proche de celle de l'azote atmosphérique (- 1,7 à 0,5 ‰). *Trichodesmium* est un organisme fixateur de  $\text{N}_2$  atmosphérique, considéré généralement comme responsable de la fixation de l'azote dans les mers des zones tropicales et subtropicales. Ces auteurs interprètent ces résultats comme une indication significative de l'existence d'une abondante fixation d'azote atmosphérique dans cette mer. Ils observent également que le zooplancton associé à cette algue présente des compositions isotopiques très proches : - 0,7 à 2,3 ‰ ce qui suggère à ces auteurs que l'azote fixé, à  $\delta^{15}\text{N}$  proche de zéro, est à la base de l'écosystème local et se transfère dans la chaîne trophodynamique.

KOHL, SHEARER et COMMONER (1971) ont présenté en 1971, dans la revue "Science", un travail portant sur l'identification des sources contribuant à l'élévation des teneurs en nitrate dans les eaux de drainage et les eaux superficielles d'une région de grande culture de l'Illinois, grâce à l'utilisation des abondances naturelles de l'azote. Ce travail\*, contrairement aux exemples ci-dessus

---

Qui mettait en cause les engrais azotés de synthèse comme source de pollution.

cités, a été à l'origine d'une controverse et de critiques violentes (HAUCK *et al.*, 1972 ; BREMNER et TABATABAI, 1973 ; EDWARDS, 1973 ; BLACK et WARING, 1977).

L'équipe du Professeur KOHL, tenant compte des critiques formulées à son égard, corrigeant les approximations et les imprécisions contenues dans leur première publication, effectue toute une série de travaux dont on trouvera un excellent résumé dans la publication SHEARER, KOHL et COMMONER (1975) et montre que si les conclusions de leurs travaux initiaux étaient prématurées et trop ambitieuses, elles restaient en grande partie et pour l'essentiel valides. Dans ce chapitre nous montrerons que les résultats que nous avons obtenus en France sont très proches de ceux de KOHL *et al.* (1971) et nous paraissent justiciables d'une interprétation très voisine : dans certaines conditions le traçage isotopique naturel permet de déterminer qualitativement ou semi-quantitativement\* l'origine des nitrates des aquifères : parmi ces sources, on peut citer les engrais de synthèse. Il semble que la controverse née des travaux de KOHL *et al.*, soit le reflet d'une "sensibilité" certaine à ce sujet qui présente, on l'imagine, des implications pour la définition d'une politique des pratiques culturales.

Sur trois exemples concrets, volontairement choisis très différents, au rang desquels nous compterons une tentative de détermination de l'origine des nitrates dans divers aquifères, nous allons essayer de montrer la puissance et les limites de l'outil isotopique pour la résolution des problèmes d'identification de source.

---

\* Une des critiques, très largement justifiée, faite à la publication de KOHL *et al.* (1971) était de quantifier de façon relativement précise la contamination de l'aquifère étudié par les nitrates des engrais de synthèse.



## CHAPITRE 3

### 3.1. - UTILISATION DES ABONDANCES ISOTOPIQUES NATURELLES EN $^{15}\text{N}$ COMME TRACEUR D'ORIGINE DE LA MATIERE ORGANIQUE EN MILIEU COTIER.

APPLICATION A L'ESTIMATION DE LA CONTRIBUTION RELATIVE DE  
L'APPORT DE MATIERE ORGANIQUE D'ORIGINE MARINE ET TERRIGENE  
DANS LES VASES DE LA ZONE COTIERE BELGE (ESTUAIRE DE  
L'ESCAUT).





### 3.1. - UTILISATION DES ABONDANCES ISOTOPIQUES NATURELLES EN $^{15}\text{N}$ COMME TRACEUR D'ORIGINE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE EN MILIEU CÔTIER.

APPLICATION A L'ESTIMATION DE LA CONTRIBUTION RELATIVE DE L'APPORT DE MATIÈRE ORGANIQUE D'ORIGINE MARINE ET TERRIGÈNE DANS LES VASES DE LA ZONE CÔTIÈRE BELGE (ESTUAIRE DE L'ESCAUT).

#### 3.1.1. - INTRODUCTION

Au large de la partie Nord-Est de la côte belge, se situe une zone d'accumulation de vase très riche en matière organique. L'emplacement de cette zone coïncide avec la position moyenne d'un "gyre" hydrodynamique où le temps de séjour des masses d'eau, fortement influencées par l'estuaire de l'Escaut, est fortement allongé par rapport aux zones adjacentes.

L'étude des profils verticaux de nitrates et d'ammonium dans les eaux interstitielles de ces sédiments ont permis d'estimer les flux de recyclage des éléments azotés minéraux vers la colonne d'eau (BILLEN, 1976). L'importance quantitative de ces flux indique que l'existence de cette zone d'accumulation de vase joue un rôle non négligeable dans l'eutrophisation des eaux côtières (VANDERBORGHT *et al.*, 1977).

Le matériel organique qui se dépose à cet endroit est-il d'origine endogène (plancton) ou exogène (apports de l'estuaire de l'Escaut) ?

Parmi les apports de l'estuaire de l'Escaut, il faut encore distinguer entre le matériel purement terrigène (détritus domestiques et industriels et éventuellement phytoplancton d'eau douce) constituant la charge organique de la rivière en amont, et le matériel organique d'origine estuarienne proprement dite, résultant de la production primaire dans la partie aval, eutrophisée, de l'estuaire.

L'examen des variations saisonnières du profil de charge organique dans l'estuaire de l'Escaut (WOLLAST, 1977) montre l'importance de ce phénomène qui, en période de "bloom", conduit à une charge organique en aval, comparable à celle résultant, en amont, des apports détritiques.

Les tentatives de bilans de carbone effectués jusqu'à présent (tableau 3-I) suggèrent que les apports estuariens et côtiers ne contribuent que pour environ 10 % au matériel organique sédimentant dans la zone d'accumulation de vase.

Dégradation hétérotrophe	150 g C/m <sup>2</sup> an
Fossilisation	25 g C/m <sup>2</sup> an
→ Sédimentation	175 g C/m <sup>2</sup> an
Apport de l'Escaut <sup>1</sup> = 9000 t C/an	12 g C/m <sup>2</sup> an
Côte belge <sup>2</sup> = 3700 t C/an	5 g C/m <sup>2</sup> an
	17 g C/m <sup>2</sup> an
Production primaire moyenne nette <sup>3</sup>	110-190 g C/m <sup>2</sup> an

1 : WOLLAST, 1977

2 : 500 000 habitants, DBO de 55 g/hab.jour

3 : NIHOUL et POLK, 1977

Tableau 3-I : Bilan du carbone dans la zone d'envasement (surface de la zone : 750 km<sup>2</sup>).

Il conviendrait de confirmer cette conclusion au moyen d'une méthode directe permettant d'évaluer, sur des échantillons de matière organique déposée et en suspension dans la zone d'accumulation de vase, la part d'origine endogène et la part d'origine exogène.

SWEENEY *et al.* (1978) ont montré, sur l'exemple du Bassin de Santa Barbara en Californie, l'existence d'une *différence significative de composition isotopique de l'azote entre la matière organique terrestre et marine*. La première présente une composition isotopique significativement plus basse que la seconde.

Nous avons tenté d'utiliser ce traceur pour caractériser l'origine de la matière organique azotée dans l'estuaire de l'Escaut et dans les zones côtières et du large de la Mer du Nord.

### 3.1.2. - RESULTATS ET DISCUSSION.

#### A) Mesure de la composition isotopique de l'azote de la matière en suspension dans la partie amont de l'estuaire et en mer ouverte.

Le tableau 3-II montre les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  mesurées sur des échantillons de matières en suspension prélevées :

ZONE AMONT DE L'ESTUAIRE DE L'ESCAUT			MER OUVERTE		
Echantillon (km à l'embouchure)	Date	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Echantillon	Date	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
E 20 (74)	01.04.1974	1.4	M 20	18.09.1974	7.2
E 22 (79)	"	1.4		21.11.1974	6.5
E 25 (85)	"	1.7		28.04.1975	6.4
E 28 (92)	"	1.6		17.06.1975	9.1
				11.07.1975	8.6
Moyenne :		1.5	M 22	01.10.1974	10.8
Ecart-type :		0.2		29.04.1975	7.7
				17.06.1975	9.6
				10.07.1975	8.8
			M 9	09.07.1975	9.6
			M 4	30.09.1975	6.3
			M 13	30.04.1975	7.8
			Moyenne :		8.2
			Ecart-type :		1.4

Tableau 3-II : Composition isotopique des matières en suspension en amont de l'estuaire de l'Escaut et en mer du Nord. La localisation des échantillons est sur la figure 3-1.

- d'une part dans la partie amont de l'estuaire de l'Escaut en avril 1974 ; à cette période, il n'y a pas eu encore de production primaire importante dans l'estuaire : ces échantillons seront donc *représentatifs du pôle détritique continental de notre système* ;
- d'autre part (figure 3-1), dans les zones du large de la mer du Nord, à divers moment du cycle saisonnier planctonique.

Des différences très nettes apparaissent entre ces valeurs.

Dans la zone amont de l'estuaire, elles sont voisines de 1,5 ‰ : cette valeur est à rapprocher de celle de 2,5 ‰ trouvée par SWEENEY *et al.* (1978) pour les effluents domestiques rejetés dans le bassin de Santa Barbara. En mer ouverte, la valeur de  $\delta^{15}\text{N}$  des M.E.S. montre des fluctuations saisonnières avec des valeurs comprises entre 6,3 et 10 ‰ environ (cf. figure 3-2). D'autre part, on peut observer l'existence d'une relation étroite entre  $\delta^{15}\text{N}$  et teneur en N organique de ces matières en suspension (figure 3-3 et tableau 3-III).

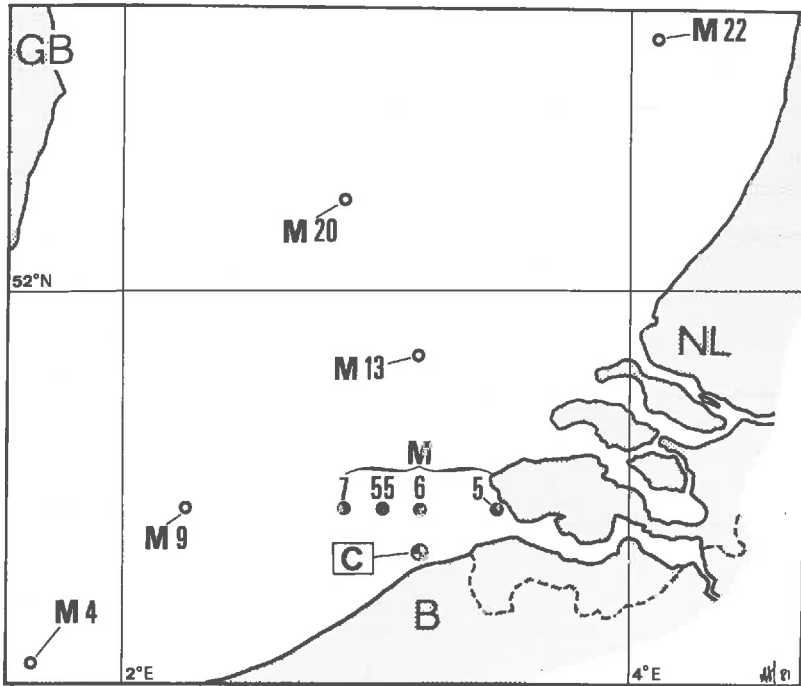


Figure 3-1 : Situation des points de prélèvements de matières en suspension en mer ouverte (M) et des carottages dans la zone d'accumulation de vase (C).

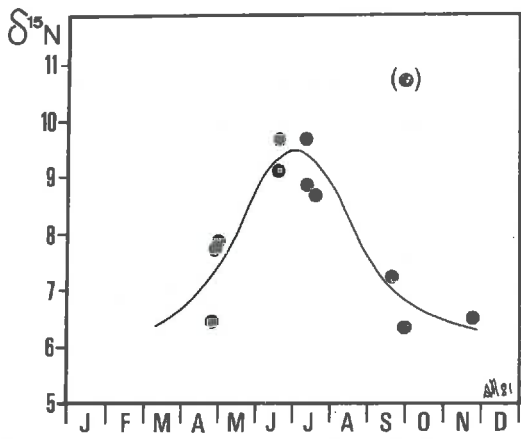


Figure 3-2 : Variations saisonnières de la composition isotopique de l'azote dans la matière en suspension de la zone du large de la Mer du Nord.

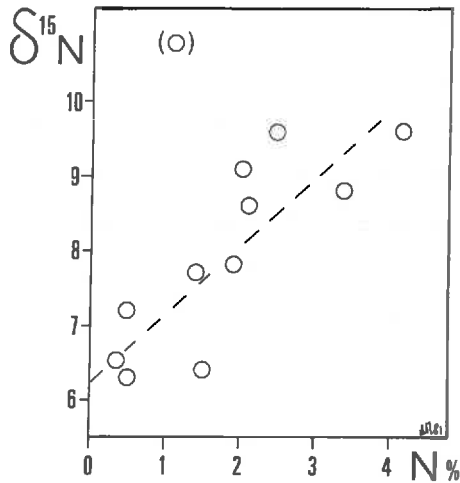


Figure 3-3 : Relation entre composition isotopique et teneur en N total de la matière en suspension de la zone du large de la Mer du Nord.

Echantillon	Date de prélèvement	$\delta^{15}\text{N}$ %	N organique %	Chlorophylle a + phéopigments mg/g	Pigments/N organique mg/g
M 20	18.09.1974	7.2	0.48	0.149	31.0
	21.11	6.5	0.36	0.156	43.3
	28.04.1975	6.4	1.50	0.836	55.7
	17.06	9.1	2.04	0.786	38.5
	11.07	8.6	2.10	0.237	11.3
M 22	01.10.1974	10.8	1.08	0.480	44.4
	29.04.1975	7.7	1.40	0.413	29.5
	17.06	9.6	2.43	0.745	30.7
	10.07	8.8	3.34	0.412	12.3
M 9	09.07.1975	9.6	4.15	2.116	51.0
M 4	30.09.1975	6.3	0.52	0.094	18.1
M 13	30.04.1975	7.8	1.88	0.785	41.8

Tableau 3-III : Composition chimique et isotopique de l'azote dans la M.E.S. en mer ouverte, teneur en pigments et rapport pigments/N organique.

Ces variations saisonnières de  $\delta^{15}\text{N}$  et de teneur en azote organique sont à peu près parallèles à l'évolution du développement phytoplanctonique, qui présente un épanouissement généralement en mai (LANCELOT, 1980). La matière en suspension en mer ouverte est constituée, selon les saisons, d'une part variable de phytoplancton vivant et de débris provenant de la dégradation de ce plancton.

Nous avons analysé dans nos échantillons la chlorophylle a et les phéopigments. Ces derniers sont le produit de dégradation de la chlorophylle, ils sont beaucoup plus stables qu'elle. Le rapport (chlorophylle a + phéopigments)/N organique peut, en première approximation, être pris comme un index caractéristique de la part de phytoplancton dans la matière organique en suspension. Il faut toutefois noter que le contenu en chlorophylle par rapport à l'azote organique total dans les cellules phytoplanctoniques vivantes varie selon leur état physiologique et donc selon la saison, entre 38 et 110 mg chlorophylle/g N org. (cf. figure 3-4 et tableau 3-IV).

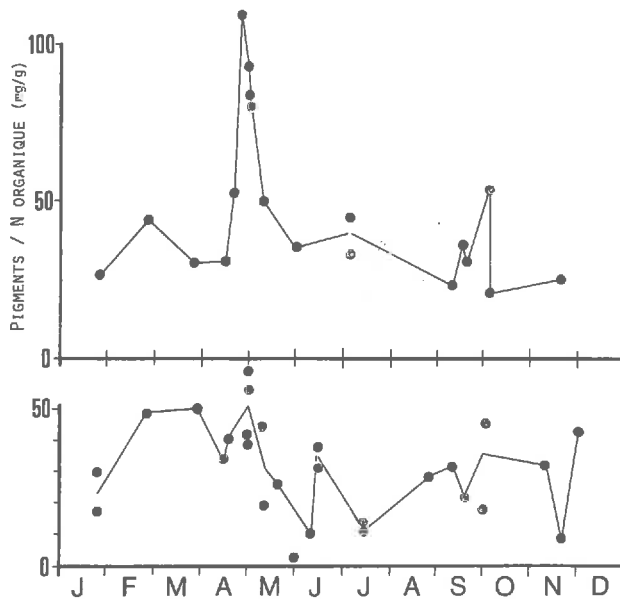


Figure 3-4 : Evolution saisonnière du rapport chlorophylle/N organique dans la zone côtière (en haut) et dans la zone du large de la Mer du Nord (en bas). D'après LANCELOT (1980).

Saison	Chlorophylle/N organique (mg/g)
Printemps	110
Eté	90
Automne	90
Hiver	38

Tableau 3-IV : Rapport pigment/N organique total dans le phytoplancton côtier pur en fonction de la saison (Ch. LANCELOT, communication personnelle).

Les variations saisonnières de composition isotopique de la M.E.S. en mer ouverte pourraient être, en première hypothèse, interprétées par un mélange avec des particules détritiques continentales à bas  $\delta^{15}\text{N}$  (du type zone amont de l'Escaut). Dans ce modèle, on devrait trouver une relation positive entre le rapport pigment/N organique et le  $\delta^{15}\text{N}$  : l'apport détritique, caractérisé par un  $\delta^{15}\text{N}$  bas et l'absence de pigments, contribuant à abaisser le  $\delta^{15}\text{N}$  corrélativement au rapport pigment/N organique. Or, sur la figure 3-5 on constate qu'il n'existe aucune liaison entre ces deux paramètres. Il est donc exclu d'interpréter les variations de  $\delta^{15}\text{N}$  au cours du cycle annuel par une simple variation de la proportion de matériel phytoplanctonique et détritique : la M.E.S. dans cette zone est donc pour l'essentiel du phytoplancton.

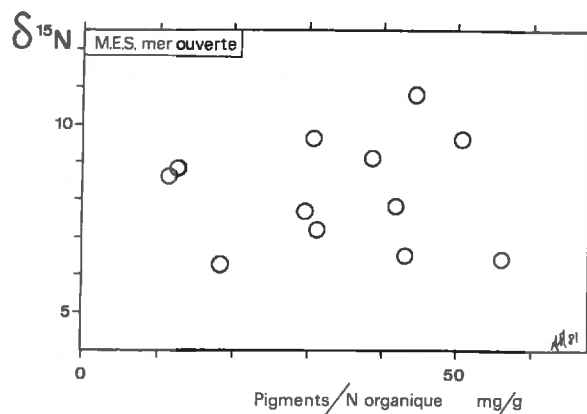


Figure 3-5 : Absence de relation entre la composition isotopique de l'azote dans la matière en suspension des zones du large de la Mer du Nord et la part de phytoplancton vivant dans cette matière en suspension, estimée par le rapport pigment/N organique.

- Ces variations saisonnières sont plus probablement le reflet de l'action des paramètres du milieu sur le phytoplancton :
- ces nitrates ne sont pas la seule source d'azote minéral pour le phytoplancton : l'ammonium, en été, est une forme qui devient importante : ces deux espèces minérales peuvent présenter des variations de composition isotopique au cours du temps ;
  - les paramètres du milieu peuvent également jouer sur le métabolisme du phytoplancton : ainsi que nous l'avons évoqué dans le paragraphe traitant du fractionnement isotopique au cours de l'assimilation (2-4), on peut penser que sous l'effet de conditions non optimales en lumière, à la sortie et à l'entrée de l'hiver, le fractionnement isotopique entre N-minéral et

N-organique augmente : l'étape de réduction (rupture d'une liaison N-O) au cours de l'assimilation de l'azote minéral ( $\text{NO}_3^-$ ) devient limitante sous l'effet de la réduction du flot d'électrons produits par la photosynthèse. Pendant cette période, le  $\delta^{15}\text{N}$  du phytoplancton est donc inférieur à sa valeur atteinte en été en conditions de lumière optimale, où le fractionnement isotopique pendant l'assimilation a toutes les chances d'être minimal. Si cette hypothèse est exacte, la mesure du  $\delta^{15}\text{N}$  du nitrate en mer devrait donner des valeurs proches de 8 à 9 ‰.

La relation positive  $\delta^{15}\text{N}$ -concentration en N organique (figure 3-3) est difficile à interpréter\*.

En tout état de cause, l'existence de ces variations de composition isotopique de la biomasse planctonique marine ne saurait oblitérer en totalité la différence de  $\delta^{15}\text{N}$  qui existe avec le pôle détritique continental du système étudié. Cette différence, en avril 1974, est de 4,8 ‰ au minimum.

B) Composition isotopique de l'azote de la matière en suspension dans l'estuaire de l'Escaut.

Nous avons procédé au prélèvement de la M.E.S. à différents points d'un profil longitudinal relevé les 2 et 3 avril 1974 dans l'estuaire.

Echantillon	Distance à l'embouchure (km)	Salinité $\text{gCl}^-/\text{l}$	N organique ‰	Chlorophylle a + phéopigments mg/g	Pigments/N organique mg/g	$\delta^{15}\text{N}$ ‰
E 1	2.0	11.1	0.17	0.043	25.3	7.4
E 4	20.0	9.6	0.20	0.043	21.5	6.3
E 5	25.0	8.9	0.16	0.030	18.8	6.6
E 7	36.0	7.4	0.20	0.020	10.0	5.6
E 9	43.0	5.6	0.28	0.037	13.2	5.2
E 11	51.0	4.0	0.70	0.063	9.0	4.0
E 13	57.5	2.6	0.49	0.051	10.4	4.7
E 15	61.5	1.8	0.67	0.060	9.0	3.0
E 18	68.5	1.0	0.39	0.025	6.4	2.6
E 20	73.5	0.4	0.61	0.096	15.7	1.4
E 22	79.0	0.3	0.36	0.033	9.2	1.4
E 25	85.0	0.2	0.56	0.065	11.6	1.7
E 28	92.0	0.2	0.54	0.046	8.5	1.6

Tableau 3-V : Estuaire de l'Escaut ; profil longitudinal effectué les 2 et 3 avril 1974. Paramètres chimiques et isotopiques.

*La protéosynthèse n'est pas favorisée en période de forte intensité lumineuse, bien au contraire (Ch. LANCELOT, communication personnelle).*



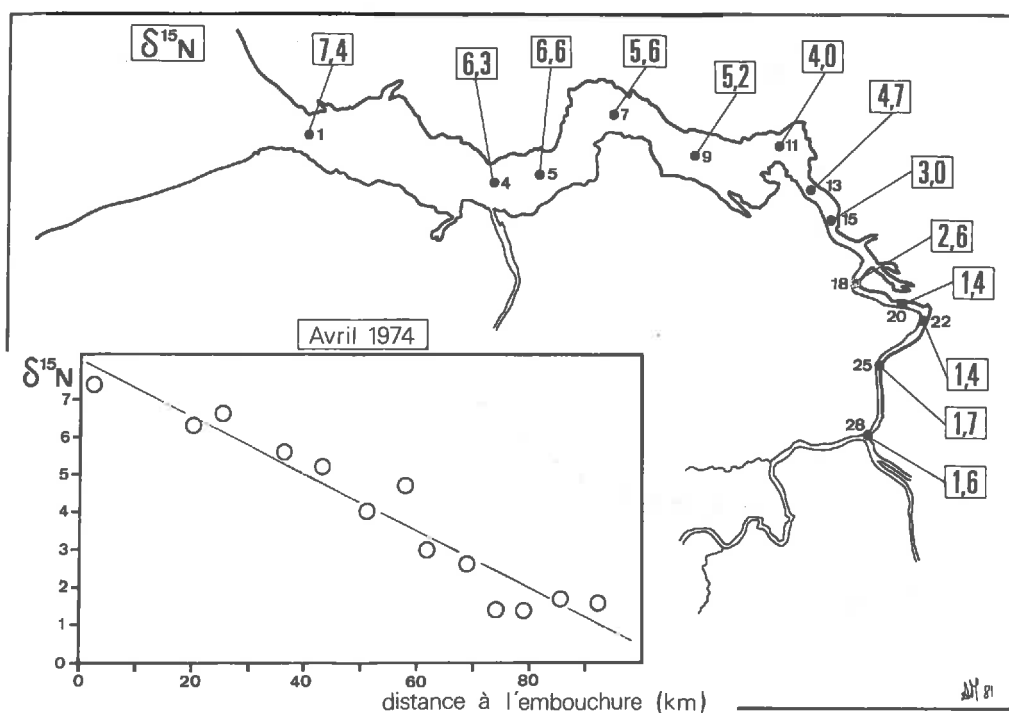


Figure 3-6 : Evolution de la composition isotopique de l'azote dans l'estuaire de l'Escaut, en avril 1974. L'accroissement des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  d'amont en aval exprime le mélange entre des matières en suspension d'origine détritique et le phytoplancton marin.

Les résultats figurent sur le tableau 3-V et la figure 3-6. On y constate l'augmentation progressive de  $\delta^{15}\text{N}$  d'amont en aval, depuis des valeurs voisines de 1,5 ‰ qui représentent à cette époque le pôle "détritique", jusqu'à des valeurs tendant vers 8 ‰, pôle "biomasse marine".

Les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  évoluent parallèlement au profil de salinité ainsi que le montre la figure 3-7 soulignant encore le mélange progressif de la matière organique terrigène avec la matière organique de caractère marin, mélange qui suit celui des masses d'eau.

Enfin la figure 3-8 montre que dans la zone de mélange de l'estuaire, le  $\delta^{15}\text{N}$  varie linéairement avec le rapport pigments/N organique. Ces deux paramètres sont donc d'excellents marqueurs de mélange de matières organiques. Dans la zone amont de l'estuaire (points de prélèvement 20, 22, 25, 28), où existent certaines populations algales d'eau douce, le  $\delta^{15}\text{N}$  est au contraire indépendant du rapport pigment/N organique, comme dans la zone marine (cf. figure 3-5).

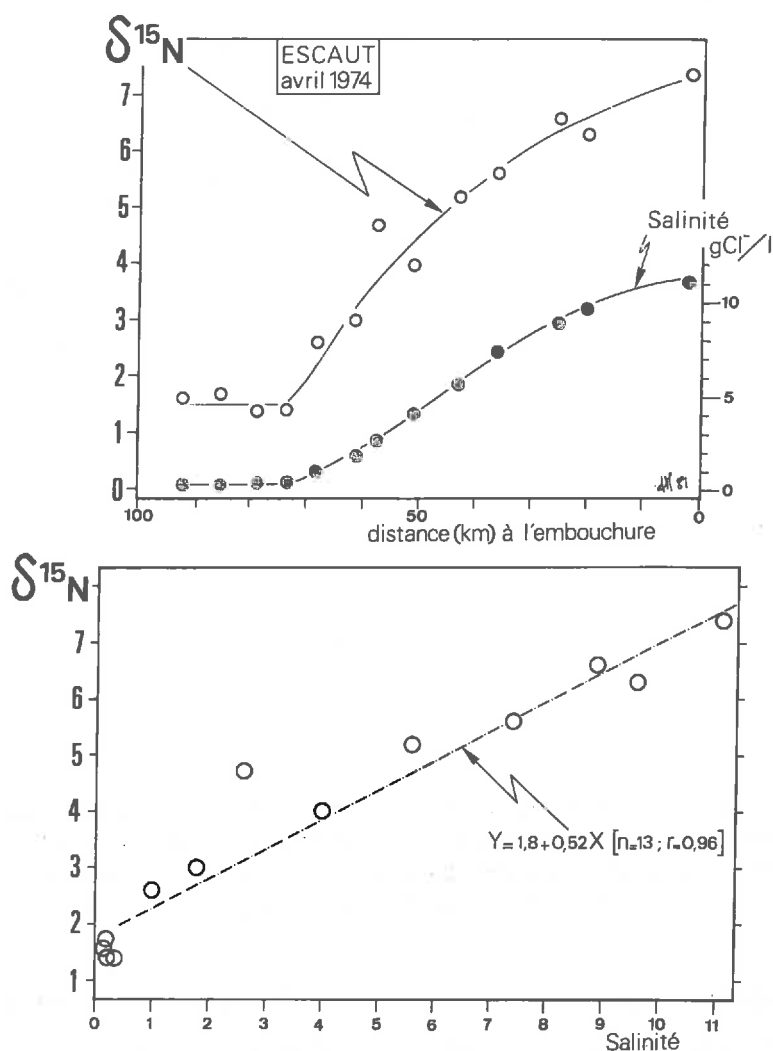


Figure 3-7 : Profil longitudinal de  $\delta^{15}N$  dans la matière en suspension dans l'estuaire de l'Escaut en avril 1974 ; profil de salinité au même moment (en haut). Relation composition isotopique de l'azote-salinité (en bas).

Dans la zone de mélange de l'estuaire (points de prélèvement 1 à 18) de l'Escaut on assiste donc, au début du mois d'avril 1974, à un mélange de matière organique détritique terrigène essentiellement non phytoplanctonique, caractérisée par un  $\delta^{15}N$  bas avec de la matière organique marine, essentiellement d'origine phytoplanctonique à  $\delta^{15}N$  élevé.

La composition isotopique de l'apport détritique s'obtient en extrapolant la droite  $\delta^{15}N$ -rapport pigments/N organique à la valeur zéro de ce rapport : on obtient 2 ‰ environ (cf. figure 3-8). Dans la zone amont de l'estuaire un développement algal est probablement responsable des teneurs non nulles en pigments ; cependant la composition isotopique de ces algues ne contribue pas à

modifier de façon significative le  $\delta^{15}\text{N}$  de l'apport terrigène pur : tout se passe comme si la composition isotopique de ce plancton d'eau douce avait la même composition isotopique\* que celle de l'apport détritique, estimé par extrapolation à 2 %.

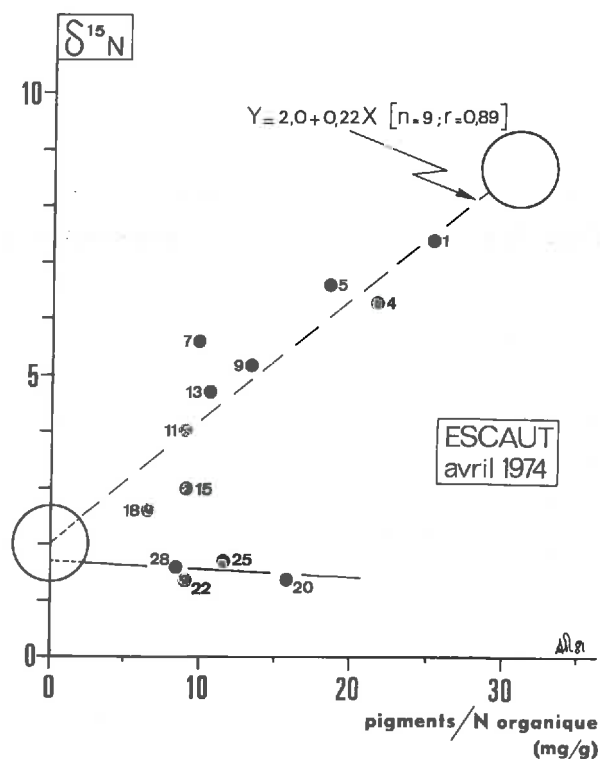


Figure 3-8 : Relation entre la composition isotopique de l'azote dans la matière en suspension de l'estuaire de l'Escaut et le rapport pigments/N organique (avril 1974). Les chiffres permettent de situer les points de prélèvement sur la figure 3-6.

*Les points 20 à 28 correspondent à la partie amont de l'estuaire.*

La contribution de la matière organique terrigène à la matière en suspension dans la partie aval de l'estuaire est pratiquement nulle, la droite  $\delta^{15}\text{N}$ -pigments/N organique s'extrapolant à la valeur moyenne, pour cette saison, du pôle constitué par la matière organique en suspension en mer ( $\delta^{15}\text{N} \sim 8,5$  ; pigments/N organique  $\sim 30$ ). Rappelons enfin qu'à cette période de l'année

\* Ou très légèrement plus basse.

(avril) il n'y a probablement pas encore de production primaire importante dans l'estuaire de l'Escaut, phénomène qui est susceptible de largement modifier les observations en période de "bloom" phytoplanctonique (mai-juin).

Nous allons maintenant prendre en considération la zone d'accumulation de vase afin de répondre à notre problème initial ; nous étudierons successivement les matières en suspension et les vases sédimentées.

C) Composition isotopique de l'azote dans la zone d'accumulation de vase.

Les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  trouvées dans la matière organique en suspension dans la zone côtière belge (cf. figure 3-1) sont reportées dans le tableau 3-VI.

Station	Date de prélèvement	$\delta^{15}\text{N}$ (%)	N organique (%)	Chlorophylle a + phéopigments
M5	1.05.1975	10.9	0.43	0.343
"	9.07.1975	9.7	0.64	0.212
M55	9.07.1975	8.2	0.75	0.342
M6	1.05.1975	13.0	0.42	0.353
M7	3.10.1974	9.2	0.42	0.222

Tableau 3-VI : M.E.S. de la zone d'accumulation de vase.

Bien que le nombre de mesures soit encore insuffisant pour conclure de façon définitive, il semble que ces valeurs de zones côtières soient un peu plus élevées qu'au large.

Il reste que la contribution de la matière organique terrigène dans cette zone paraît insignifiante sur la base des mesures de  $\delta^{15}\text{N}$ .

Dans cette zone d'accumulation de vase, nous avons carotté deux profils (point C, figure 3-1). Les résultats figurent sur le tableau 3-VII et la figure 3-9.

Les compositions isotopiques comprises entre 7,5 et 9,2 % indiquent sans conteste que la matière organique sédimentée est pour l'essentiel composée de phytoplancton marin : la proportion de détritique paraît négligeable. On peut constater sur la figure 3-9 que le prélèvement CV2, effectué au mois de mai présente des  $\delta^{15}\text{N}$  en moyenne inférieurs à ceux du prélèvement CV1 (octobre). On pourrait voir ici un effet de la variation saisonnière de composition isotopique du phytoplancton (figure 3-2) : au début du printemps le matériel sédimenté serait composé pour l'essentiel de phytoplancton à bas  $\delta^{15}\text{N}$

(entre 7 et 8 ‰ , cf. figure 3-2), à la sortie de l'été, la matière organique sédimentée serait en grande partie constituée de phytoplancton d'été à  $\delta^{15}\text{N}$  plus élevé (jusqu'à 10 ‰ , cf. figure 3-2).

Carotte (date de prélèvement)	Profondeur (cm)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N total (%)
CV 1 12.10.1977	0-1	8.7	0.27
	1-2	8.9	0.27
	2-3	9.2	0.26
	3-4	8.8	0.32
	4-5	9.2	0.29
	5-7	9.1	0.23
	7-9	9.0	0.21
	9-11	9.5	0.12
	11-13	8.7	0.20
	13-15	9.1	0.21
	15-17,5	9.0	0.24
	20-25	8.2	0.18
	25-30	8.1	0.22
CV 2 21.05.1975	0-2	-	0.26
	2-4	8.4	0.12
	4-6	8.0	0.05
	6-8	7.5	0.06
	8-10	7.5	0.12
	15-17	7.9	0.04
20-22	8.6	0.06	

Tableau 3-VII : Composition isotopique et teneur en azote organique dans les carottes réalisées dans la zone d'accumulation de vase.

L'absence de variation de composition isotopique dans les trente premiers centimètres de ces carottes montre que les "humus" marins, contrairement aux humus des sols, se caractérisent par une *absence totale d'enrichissement isotopique, même en surface où des processus biologiques de transformation de l'azote doivent se dérouler*. La conservation de la composition isotopique de l'azote organique après sédimentation est un facteur favorable à l'utilisation de  $^{15}\text{N}$  comme traqueur dans ces milieux.

Nous pouvons donc répondre à l'interrogation posée dans l'introduction : le matériel organique qui se dépose dans la zone d'accumulation de vase au large de la partie Nord-Est de la côte belge, matériel en partie responsable de l'eutrophisation des eaux côtières, est pour l'essentiel d'origine endogène (biomasse planctonique marine) : les apports exogènes (détritique continental) de l'estuaire de l'Escaut paraissent insignifiants.

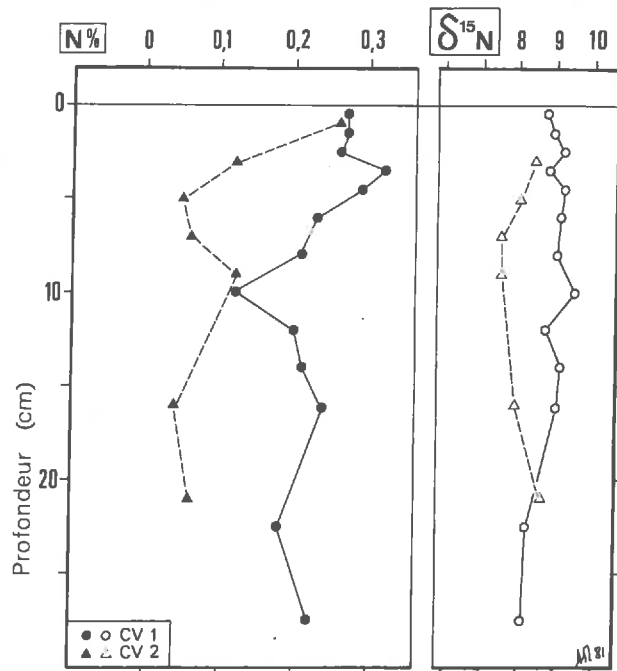


Figure 3-9 : Teneurs en N organique et composition isotopique de l'azote en fonction de la profondeur dans les carottes réalisées dans la zone d'accumulation de vase (CV 1 : 12.10.1977 ; CV 2 : 21.05.1975).

Il ressort de ces observations que les abondances naturelles en  $^{15}\text{N}$  peuvent se révéler un traqueur naturel très utile dans les milieux côtiers pour la détermination de l'origine de l'azote organique des sédiments.

Dans une situation très semblable, SWEENEY *et al.* (1978) montrent (figure 3-10) l'existence dans la partie superficielle de sédiments côtiers du haut fond San Pedro en Californie, d'une courbe de mélange typique entre l'azote organique d'effluents urbains ( $\delta^{15}\text{N}$  mesuré : 2,5 ‰) et l'azote lié à la biomasse planctonique marine ( $\delta^{15}\text{N} > 9$  ‰ en accord avec les mesures effectuées sur le plancton côtier de Californie du Sud, cf. tableau 3-VIII).

Il est inutile de souligner la grande similitude qui existe entre ces résultats et ceux que nous avons présentés pour la zone de l'Escaut, tant au point de vue de la composition isotopique de l'azote détritico-continental, dans les deux cas liés pour l'essentiel à des déchets urbains, que celle de l'azote du plancton marin.

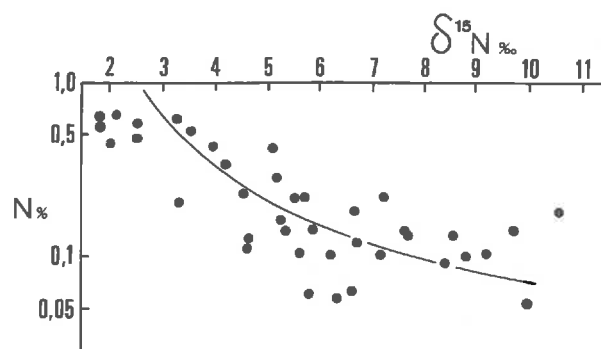


Figure 3-10 : Relation entre composition isotopique et teneur en azote organique dans la partie superficielle de sédiments côtiers du haut fond San Pedro en Californie (d'après SWEENEY *et al.*, 1978).

Lieu de prélèvement	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
120°W 35'N	12.1
120°W 33'N	8.2
119°W 34'N	6.9
118°W 30'N	6.5
95°W 10'N	9.5
120°W 33'N	8.5
119°W 34'N	11.1
119°W 34'N	9.0

Tableau 3-VIII :  $\delta^{15}\text{N}$  du plancton collecté sur la côte californienne (extrait de SWEENEY *et al.*, 1978).

### 3.1.3. - GENERALISATION ET CONCLUSION.

Ces résultats sont-ils généralisables ? Sont-ils applicables à la détermination de la source de l'azote organique d'un sédiment marin quelconque ?

Deux conditions doivent être remplies : l'existence d'une différence de composition isotopique entre les deux sources et le maintien de la composition isotopique du mélange après sédimentation\* et, peut-être, fossilisation

\* Vérifié, dans le cas de l'estuaire de l'Escaut, sur les carottes jusqu'à 30 cm de profondeur, c'est-à-dire dans une zone a priori biologiquement très active.

ou, pour le moins, début de diagenèse. Nous examinerons successivement ces points, en commençant par le problème de la composition isotopique du plancton marin.

A) Composition isotopique du plancton marin.

Celle-ci est liée au  $\delta^{15}\text{N}$  de l'azote minéral dissous.

Le  $\delta^{15}\text{N}$  du nitrate de la partie tropicale Est de l'Océan Pacifique N. varie de 6,5, dans les eaux antarctiques, à 18,8 ‰ dans la zone de *dénitrification active* (CLINE et KAPLAN, 1975). Des résultats semblables sont reportés pour la partie W de la mer des Caraïbes : 6,4 à 12 ‰ (CLINE, résultats non publiés, *in* : SWEENEY *et al.*, 1978).

MIYAKE et WADA (1967) obtiennent un  $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  moyen de 6,6 ‰ pour la partie W de l'Océan Pacifique N. Près d'Hawaï, CLINE et KAPLAN (1975) obtiennent 5,8 ‰. Enfin LIU (résultats non publiés *in* : SWEENEY *et al.*, 1978) mesure, au large de la Californie du Sud, des  $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  entre 8 et 9 ‰ ; valeurs très proches de celles du plancton.

Dans les régions tempérées des océans où l'abondance d'algues bleues phytoplanctoniques fixatrices d'azote est limitée, c'est l'assimilation des nitrates qui est la source principale d'azote du phytoplancton.

Nous avons vu sur le tableau 3-VIII que la composition isotopique moyenne du plancton au large de la côte ouest de la Californie est de 9 ‰, similaire à celle du nitrate dissous.

MIYAKE et WADA (1967), au large des côtes du Japon, obtiennent des moyennes de  $\delta^{15}\text{N}$  pour le phytoplancton et les végétaux marins, de l'ordre de 9 ‰, proches encore des valeurs du nitrate dissous. Dans ces deux zones, l'enrichissement isotopique associé à l'assimilation des nitrates est donc voisin de zéro.

A l'heure actuelle les mesures de  $\delta^{15}\text{N}$  sur du phytoplancton d'océans tropicaux sont très limitées. WADA et HATTORI (1975) interprètent des basses valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  dans le plancton de telles zones par le rôle important de la fixation d'azote atmosphérique par des algues bleues.

Il reste que la composition isotopique du plancton hors de telles zones semble généralement enrichie en  $^{15}\text{N}$ , cet enrichissement étant le reflet de celui du nitrate dissous.

CLINE et KAPLAN (1975) analysant les rapports  $\text{N}_2/\text{Ar}$ , la concentration et la composition isotopique du nitrate dissous dans les eaux de la partie tropicale E. de l'Océan Pacifique N. concluent à l'existence d'une dénitrification s'accompagnant d'un effet isotopique élevé ( $\epsilon \approx -40$  ‰). La vitesse de dénitrification dans cette zone est estimée à environ  $16 \times 10^{12}$  g N/an (CODISPOTI, 1973).



De manière générale, l'activité de dénitrification semble être une des composantes essentielles du bilan de l'azote dans les Océans ainsi que l'on peut le constater sur le tableau 3-IX.

	1	2	3	4	5	6
<b>ENTREES :</b>						
Apport par les fleuves	19	10	30	20	10-30	30
Pluie	59	10	4	20	15-60	15
Fixation d'azote moléculaire	-	-	10	10	9-160	15-90
<b>SORTIES :</b>						
Enfouissement	8.6	10	0.2	-	10	10
Dénitrification	80	10	40	50	120-280	50-125

1 : EMERY *et al.*, 1955

2 : HOLLAND, 1970

3 : DELWICHE, 1970

4 : McELROY, 1975

5 : SOEDERLUND *et al.*, 1975

6 : SWEENEY *et al.*, 1978

Tableau 3-IX : Termes du bilan de l'azote dans l'océan.

*Les unités sont en  $10^{12}$  g N/ani (in SWEENEY *et al.*, 1978).*

Cette dénitrification paraît donc responsable de l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  du nitrate océanique dissous et partant, de celle du phytoplancton marin, en l'absence d'une trop importante fixation biologique qui agit en sens contraire (synthèse de matière organique à  $\delta^{15}\text{N}$  proche de zéro : WADA et MATTORI, 1976).

#### B) Composition isotopique des apports continentaux.

Beaucoup moins de données sont disponibles. Pour ce qui concerne les effluents organiques d'origine urbaine, le présent travail, ainsi que les résultats de SWEENEY *et al.*, 1978, montrent qu'ils semblent caractérisés par des  $\delta^{15}\text{N}$  bas (1 à 2 ‰).

Une source essentielle d'azote organique pour l'océan réside dans les végétaux et la matière organique des sols arrachée au continent par l'érosion.

Les végétaux des écosystèmes naturels, susceptibles d'être entraînés dans les aires de sédimentation, présentent des  $\delta^{15}\text{N}$  bas ainsi que nous l'avons observé dans le chapitre 2-7.

Pour ce qui concerne l'azote organique des sols, on peut penser que la fraction non hydrolysable de cet élément, la plus réfractaire à la biodégradation est celle qui doit subsister préférentiellement au cours du transport par les rivières vers les lacs et océans. Or, nous avons pu constater, en accord avec les résultats de CHENG *et al.* (1964), que cette fraction de l'azote organique des sols est caractérisée par des  $\delta^{15}\text{N}$  particulièrement bas (entre - 3 et 1,5 ‰ pour nos résultats, cf. figure 2-69 ; entre -3 et 1 ‰ pour CHENG *et al.*, 1964).

On peut donc raisonnablement s'attendre à ce que l'azote détritique continental arrivant dans les aires de sédimentation, soit caractérisé par des compositions isotopiques basses, proches de celles de l'azote de l'air, le plus souvent donc significativement différentes de celles de la biomasse planctonique.

L'étude des dépôts organiques et charbons du delta de la Mahakam (Indonésie) va nous permettre -d'une part d'illustrer concrètement la conclusion précédente, pour ce qui concerne l'origine végétale continentale de la matière organique d'une aire de sédimentation -d'autre part de suivre l'évolution isotopique de l'azote de cette matière organique au cours de son enfouissement et de sa diagenèse.

C) Etude de la composition isotopique de l'azote de sédiments deltaïques d'origine continentale (delta de la Mahakam, Indonésie).

Ces sédiments ont fait déjà l'objet de nombreuses études (DURAND et DUDIN, 1979 ; BOUDOU, 1981).

1) Présentation géologique et sédimentologique du delta (BOUDOU, 1981).

Il s'est développé depuis la fin du Paléogène sur la bordure orientale du bassin de Kutéi au sud-est de Kalimantan, en Indonésie. Des débris organiques végétaux sont à l'origine des charbons ou de matières organiques dispersées dans des sédiments argilo-sableux soit par accumulation *in situ*, dans le

cas de la plaine deltaïque où se forme un tapis végétal de feuilles et de racines de végétaux dont *Nypa fruticans*, soit par transport hydrodynamique de débris végétaux détritiques en provenance du bassin versant de la Mahakam, qui s'accumulent dans les argiles du front du delta en donnant des cordons de lignites ou de la matière organique disséminée dans les argiles et sables.

La sédimentation rapide et le faible remaniement sont favorables à la préservation de la matière organique dans un milieu réducteur.

Ce delta actuel diffère peu du delta ancien : depuis le Miocène moyen, les espèces végétales de la flore-mère des charbons sont demeurées, pour la plupart, les mêmes et les zones de dépôt sont demeurées inchangées. Enfin, d'autres arguments paléogéographiques confirment que cette région est restée dans une même zone climatique.

## 2) Matériel et méthode.

Les échantillons étudiés, obtenus par de nombreux cuttings (Société Total-Indonésie, Compagnie Française des Pétroles) sont ceux décrits par J.P. BOUDOU dans sa thèse (1981). Ils constituent une série qui va du matériel végétal frais jusqu'au stade houille, série qui nous permettra donc une étude complète de l'évolution de la matière organique liée à l'enfouissement.

Il a été montré que les degrés d'évolution de la matière organique à une même profondeur peuvent être très différents, même dans un secteur géographique limité : en aucun cas l'âge des dépôts ou leur profondeur ne saurait être pris comme indicateur de l'évolution : nous choisirons donc un paramètre interne à la matière organique. BOUDOU (1981) a choisi un paramètre universellement utilisé : la teneur en carbone organique des charbons purs et secs. Ce paramètre permet de définir des grandes étapes d'évolution, dont les stades sont résumés sur le tableau 3-X.

Stade de l'évolution	Zones de formation des hydrocarbures	Indicateurs d'évolution	
		Carbone % charbon pur et sec	Réflectance de la vitrinite : $R_o$
I	Niveaux superficiels	50 - 60	< 0.25
II	Diagenèse	60 - 70	0.25 - 0.45
III		70 - 80	0.45 - 0.60
IV	Début de la Catagenèse	80 - 85	0.60 - 0.90

Tableau 3-X : Définition des étapes d'évolution de la matière organique (d'après BOUDOU, 1981).

Le stade I débute en moyenne à 50 - 100 mètres de profondeur et se poursuit jusqu'à la diagenèse proprement dite. Le stade IV représente le début de la zone principale de formation des hydrocarbures.

### 3) Résultats.

#### - Teneurs en N organique.

Au début du premier stade d'évolution, ces teneurs en azote sont faibles (1 à 2 %) et très variables, à cause de l'hétérogénéité de répartition de l'azote dans la matière organique végétale initiale, soumise dès le dépôt à des activités microbiennes de dégradation. Pendant le stade I, on assiste à une réduction de la dispersion des teneurs en N (évolution "en entonnoir") et à un enrichissement en azote qui se poursuivent tout au long de la diagenèse (stades II et III). Par contre, au cours du stade IV ces teneurs semblent diminuer (cf. BOUDOU, thèse 1981, figure 9).

#### - Compositions isotopiques (cf. figure 3-11).

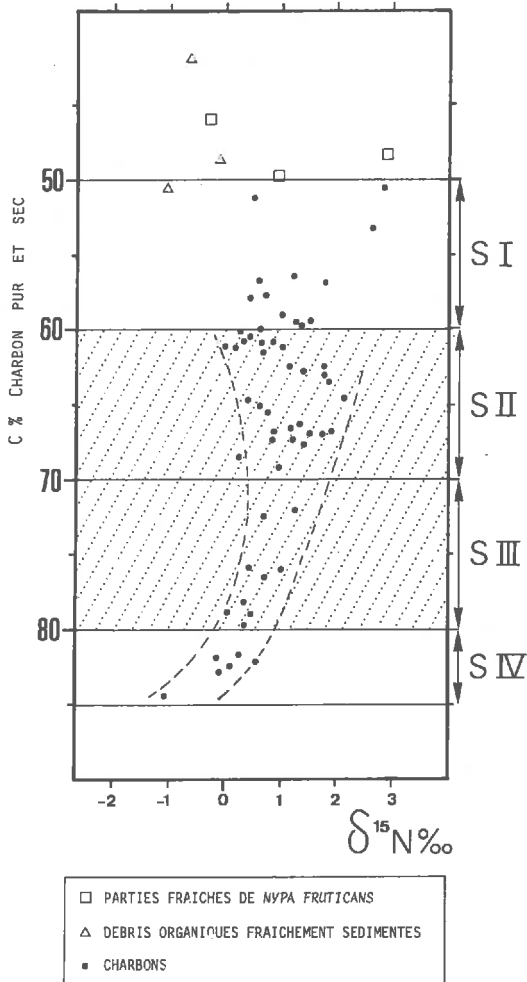


Figure 3-11 : Variation du  $\delta^{15}\text{N}$  de la matière organique fraîche et des charbons de la Mahakam en fonction de leur degré d'évolution (C mg/100 mg M. org.).

- . Matériel de départ : Il est hétérogène mais pour l'essentiel la composition isotopique est comprise entre - 1 et + 1 % (à l'exception des limbes de feuilles de *Nypa fruticans* : 4,9 %).
- . Matériel évolué : En début d'évolution, la dispersion des valeurs décroît. Cette composition isotopique reste stable au cours des évolutions ultérieures :  $0,92 \pm 0,77$  %. Au cours de la diagenèse le  $\delta^{15}\text{N}$  n'évolue pas significativement; tout au plus peut-on noter une tendance à l'abaissement de ses valeurs durant le stade IV (figure 3-11).

#### 4) Discussion et conclusion.

Cet exemple est intéressant à plus d'un titre :

- il montre que l'azote organique détritique continental, d'origine végétale est bien caractérisé par des compositions isotopiques basses ;
- cet azote détritique, une fois sédimenté, ne subit plus de variations de sa composition isotopique ni dans les zones superficielles de biodégradation biologique (ce qui ressortait déjà de l'examen de la figure 3-9) ni durant les stades d'évolution diagénétique de la matière organique.

Cette étude nous permet donc de penser que, dans les circonstances favorables où existe une différence de  $\delta^{15}\text{N}$  entre les sources d'azote organique (par exemple azote détritique et autochtone) on peut espérer le maintien de cette différence, même après une importante évolution géologique de la matière organique : ceci pourrait peut-être permettre de déterminer l'origine de l'azote dans des roches sédimentaires organiques anciennes.

Ainsi, au-delà de l'exemple de l'estuaire de l'Escaut, nous pensons que le traçage isotopique par  $^{15}\text{N}$  peut se révéler fructueux pour la détermination de l'origine des constituants organiques des vases et sédiments estuariens ou deltaïques, peut-être même des roches sédimentaires. Ce paramètre pourra s'ajouter à la panoplie de méthodes dont disposent déjà les sédimentologues, il pourra être couplé à d'autres paramètres isotopiques, telles les teneurs naturelles en  $^{13}\text{C}$ , déjà utilisées dans ces milieux (LETOLLE et MARTIN, 1970).



## CHAPITRE 3

3.2. - UTILISATION DES ABONDANCES ISOTOPIQUES NATURELLES EN  $^{15}\text{N}$   
COMME TRACEUR DE L'ORIGINE DES NITRATES DANS LES SYSTEMES  
AQUIFERES.

APPLICATION A L'EXEMPLE DES AQUIFERES SUPERFICIELS ET  
SOUTERRAINS AU SUD ET A L'EST DE PARIS (BRIE - BEAUCE).





### 3.2. - UTILISATION DES ABONDANCES ISOTOPIQUES NATURELLES EN $^{15}\text{N}$ COMME TRACEUR DE L'ORIGINE DES NITRATES DANS LES SYSTEMES AQUIFERES.

APPLICATION A L'EXEMPLE DES AQUIFERES SUPERFICIELS ET SOUTERRAINS AU SUD ET A L'EST DE PARIS (BRIE - BEAUCE).

Le deuxième exemple choisi est une application hydrologique et hydrogéologique du traçage isotopique naturel par  $^{15}\text{N}$ .

Depuis quelques années, l'attention des hydrogéologues, des hygiénistes, des distributeurs d'eau, des collectivités locales et... des organismes d'information est attirée par le problème de la pollution des aquifères par les nitrates et du danger potentiel de cette pollution\*.

Bien sûr, l'utilisation dans les pays industrialisés des engrais azotés de synthèse, en net essor depuis 1950 environ, a placé très fréquemment l'Agriculture en position d'accusée.

Le Ministère de l'Agriculture, et le Ministère de l'Environnement, ont créé un groupe de travail, réuni pour la première fois en janvier 1980 avec comme tâche de caractériser l'état actuel et l'évolution probable de la qualité des eaux lorsqu'elle est concernée par les activités agricoles, de comprendre les mécanismes de cette dégradation et d'envisager les actions à entreprendre pour la maîtriser. Bien évidemment la pollution azotée fut l'une des préoccupations majeures de ce groupe de travail, dont le responsable, le Professeur S. HENIN, a rendu compte des activités et des conclusions dans un ouvrage (HENIN, 1980) où est présenté un bilan de l'azote à l'échelle du territoire national, bilan dont on essaye d'affiner la précision au maximum. Cette difficulté est telle que le bilan général reste entaché d'une erreur importante. Notre propos n'est pas de résumer ici cette somme de travaux et de réflexions. Nous tirerons de ce document deux éléments qui nous permettront de situer le problème abordé :

---

\* L'action des nitrates en toxicologie humaine est :

- reconnue chez l'enfant, causant l'apparition de méthémoglobinémie (décrite pour la première fois en 1945, aux U.S.A. : "cyanose de l'eau de puits").
- soupçonnée dans l'apparition de certains types de cancers (nasopharynx, oesophage, estomac) via la formation de composés N-nitrosés (nitrosamines).

On consultera un résumé in MARTIN, 1979, pp. 39 à 48).

(i) "La conclusion inéluctable... est que, pour les paramètres azotés, les eaux tant superficielles que souterraines tendent à se dégrader, que l'ensemble des activités humaines est à l'origine de cette situation et que parmi elles figurent certaines pratiques agricoles".

(ii) Les termes du bilan de l'azote à l'échelle du territoire national, tels qu'ils sont présentés dans cet ouvrage, peuvent être appréhendés de la façon très simplifiée suivante :

	+ engrais (2,0)		
Entrées	+ apports atmosphériques (0,5)	:	3,8 millions de tonnes
	+ fixation biologique (1,3)		
	+ pertes dans les eaux (0,8)		
Sorties	+ pertes gazeuses (2,4)	:	3,2 millions de tonnes

Le déficit de 600 000 tonnes peut être, bien sûr, attribué aux incertitudes affectant les termes du bilan, toutefois HENIN n'exclut pas d'autres interprétations, notamment l'existence d'un stockage de l'azote dans la solution de la zone non saturée, menace très grave pour les eaux souterraines : un tel stockage a été clairement mis en évidence sur l'exemple des aquifères de craie en Grande-Bretagne (YOUNG *et al.*, 1976).

Rappelons enfin que dans certaines régions (la Beauce par exemple) beaucoup d'adductions offrent des eaux d'excellentes qualités pour tous les paramètres chimiques et bactériologiques sauf pour les nitrates dont la concentration dépasse la norme de 44 mg/l : la ressource en eau risque de s'en trouver considérablement affectée.

Il est enfin essentiel de savoir si parmi les sources de pollutions figure l'azote des engrais de synthèse : au-delà des problèmes de pollution, l'élévation du coût de l'énergie rendra de moins en moins supportable la perte économique que représente la non utilisation par les plantes d'une fraction de l'azote des engrais dont la synthèse est particulièrement gourmande en énergie.

On comprendra donc l'intérêt que porte en elle toute méthode capable de contribuer à définir, dans une zone donnée, les causes de la contamination en azote : la lutte ne peut être menée efficacement qu'une fois cette connaissance acquise.

### 3.2.1. - INTRODUCTION - GENERALITES



### 3.2.1. - INTRODUCTION - GENERALITES.

Considérons le cas théorique du mélange de deux sources d'un composé de même nature chimique (par exemple deux sources de nitrates) et de compositions isotopiques différentes, homogènes et stables au cours du temps. Plusieurs cas peuvent être envisagés (KROUSE *in* FRITZ et FONTES, 1980), nous nous limiterons ici à deux exemples simples. Le premier verra le mélange d'une source A (cf. figure 3-12 I) dont l'émission (ou la concentration) est constante, avec une source B dont la part au mélange est variable : ce cas est désigné : source A constante homogène, source B variable homogène. Si Q est la masse où la concentration des sources et  $\delta$  leur composition isotopique il vient :

$$Q_M \delta_M = Q_A \delta_A + Q_B \delta_B \text{ avec } Q_M = Q_A + Q_B$$

Les indices M, A et B se réfèrent respectivement au mélange des 2 sources, à la source A et à la source B.

d'où :

$$\delta_M = \frac{Q_A (\delta_A - \delta_B)}{Q_M} + \delta_B$$

On constate donc que *l'évolution de la composition isotopique en fonction du mélange est représenté par une hyperbole, limitée sur sa branche verticale et asymptotique sur sa branche horizontale à la valeur de la composition isotopique de la source B* (figure 3-12 I).

On peut par exemple considérer que A représente une source de nitrate naturel, de faible concentration car correspondant uniquement à la minéralisation de la matière organique des sols et B pourrait représenter la source d'abondance variable, mais isotopiquement homogène, des engrais. Dans un cas comme celui-ci, si on postule que la source "naturelle" présente également une composition homogène, on doit cependant admettre que cette source ne peut être caractérisée par une émission constante : elle va varier en fonction de l'intensité de la minéralisation, elle-même liée aux fluctuations climatiques et édaphologiques locales. Considérons donc cette source comme variable avec toutefois une gamme de variation très inférieure à celle de B (dont, dans le cas considéré, la limite supérieure théorique est liée au taux d'application des engrais et à la quantité d'eau infiltrée). Le résultat obtenu pour ce cas théorique est représenté sur la figure 3-12 II. La composition isotopique du mélange en fonction de  $Q_M$  couvre donc une *aire limitée par les deux branches d'hyperbole correspondant aux valeurs extrêmes de  $Q_A$* . Bien évidemment on constate que plus  $Q_A$  est petit, au plus vite la composition isotopique du mélange atteint la

valeur asymptotique de la composition isotopique de la source B. De même, on doit admettre qu'une bonne approximation de la valeur de  $\delta_B$  sera donnée par les plus basses valeurs de composition isotopique du mélange, aux plus grandes concentrations.

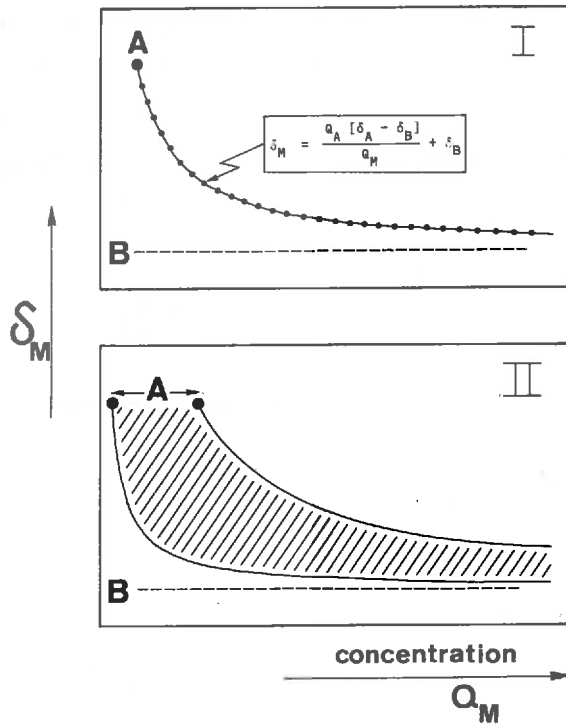


Figure 3-12 : I - Courbe de mélange de deux sources :  
 A d'émission constante et de composition isotopique homogène,  
 B variable et homogène.  
 II - Aire de répartition des points correspondant au mélange d'une source A variable dans des limites fixes et homogène et d'une source B variable et homogène.

Ainsi dans un système naturel on peut espérer trouver une telle répartition des compositions isotopiques en fonction de  $Q_M$  aux conditions suivantes :

- la composition isotopique des deux sources doit être homogène et stable au cours du temps,
- ces compositions isotopiques doivent être suffisamment différentes l'une de l'autre.

Ce type de raisonnement peut s'appliquer à des systèmes naturels simples où le mélange est bipolaire : en effet au-delà de deux sources, comme on ne dispose que de deux inconnues : composition isotopique et concentration

(ou masse), il faudra trouver des paramètres supplémentaires pour que le système puisse présenter une solution (même qualitative).

La grandeur désignée par  $Q_M$  dans l'exposé précédent mérite d'être explicitée. Nous l'avons assimilée en première approximation à une *concentration* (figure 3-12). En toute rigueur il faut raisonner en terme de masse, de *flux d'émission*. Ce sera possible si on étudie des systèmes hydrologiques où les flux de matière peuvent être calculés, c'est-à-dire où les débits liquides sont mesurés : ce sera le cas pour les systèmes hydrologiques de surface. Pour les nappes souterraines, nous ferons l'approximation de l'utilisation de la concentration en faisant abstraction des variations de la masse du produit dans le réservoir, liées aux variations de masse du réservoir lui-même.

Sur la base de ces principes, nous testerons la possibilité qu'apporte le traçage isotopique naturel par  $^{15}\text{N}$  de la détermination de l'origine des nitrates dans les systèmes aquifères.

Cette étude aura un caractère régional. Les exemples seront choisis dans deux régions naturelles du Bassin de Paris : la Brie et la Beauce.

Nous aborderons, en un premier temps, le cas des eaux superficielles sur l'exemple de la Brie. Notre choix a porté sur un petit bassin versant expérimental : le bassin de Mélarchez : il s'agit d'un sous-bassin du système de l'Orgeval, représentatif du Bassin du Grand Morin et du plateau de Brie : ces bassins sont gérés par le Centre Technique du Génie Rural et des Eaux et Forêts (C.T.G.R.E.F.) qui étudie les techniques d'acquisition, de dépouillement et d'archivage des paramètres hydrologiques ainsi que l'influence quantitative et qualitative du drainage sur le cycle de l'eau.

Nous présenterons ensuite des résultats obtenus sur un bassin versant à caractère mixte : agricole en amont, puis largement urbanisé en aval : le bassin de l'Yerres, au S-E de Paris.

Dans un deuxième temps, nous étudierons le cas des eaux souterraines en Brie (nappe des calcaires de Brie et nappe des calcaires de Champigny) et en Beauce (nappe des calcaires de Beauce et nappe de la Craie), après avoir examiné, à plus grande échelle, les résultats obtenus sur l'étude du drainage d'une parcelle cultivée de 22,43 hectares, en Beauce.





### 3.2.2. - LE CAS DES EAUX SUPERFICIELLES



3.2.2. - LE CAS DES EAUX SUPERFICIELLES.

I. - LE BASSIN DE MELARCHEZ\*.

A) Présentation du bassin (HLAVEK, 1967).

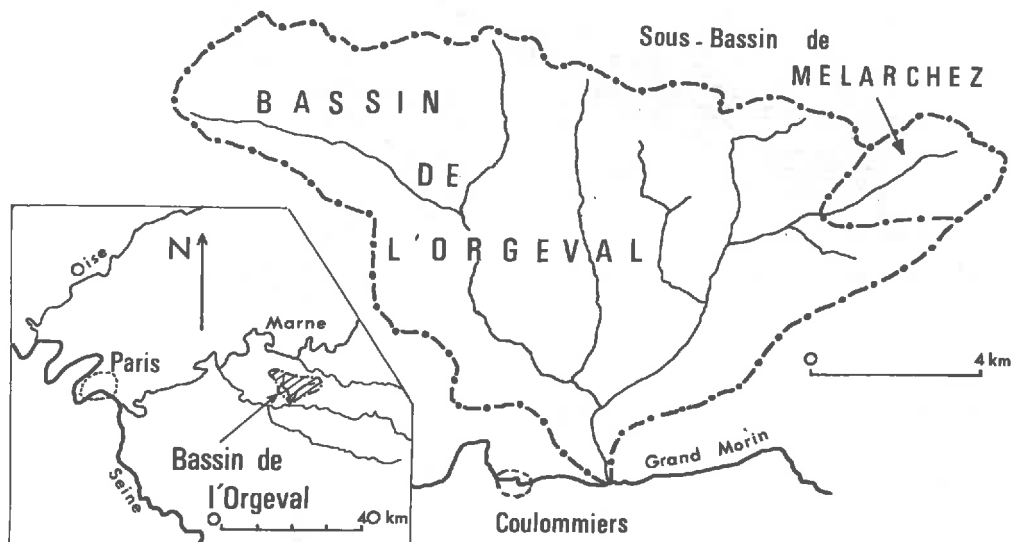
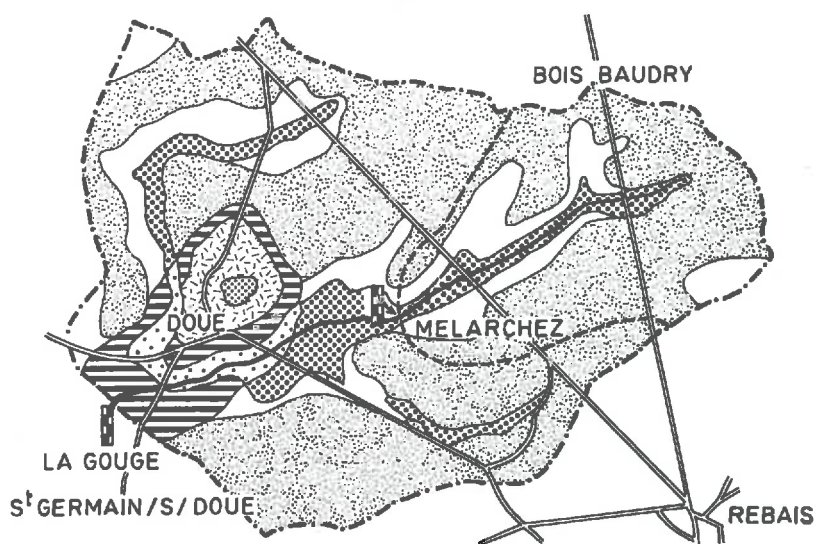


Figure 3-13 : Carte de situation du Bassin de l'Orgeval et du sous-bassin de Mélarchez.


Le bassin de Mélarchez fait partie du Bassin de l'Orgeval, affluent du Grand Morin (figure 3-13), dont il est le sous-bassin oriental amont. De petite taille, 6,6 km<sup>2</sup>, à l'altitude moyenne de 175 m, son substratum géologique est constitué par les formations de Brie, calcaires siliceux ou marneux, argiles de décalcification et sable emballant des rognons de meulière. Cette formation de Brie repose sur le niveau repère des Argiles vertes, elle est en surface, en quasi totalité masquée par des limons de plateau passant progressivement en profondeur aux argiles à silex. Un petit aquifère de surface, très hétérogène se développe dans les limons. Cette particularité permet d'établir des bilans en eau relativement précis et d'estimer comme négligeables les fuites vers des nappes plus profondes. Les sols qui se développent sur ces formations (cf. figure 3-14) sont assez homogènes et présentent les caractères suivants :

---

\* MARIOTTI *et al.*, 1975 ; MARIOTTI *et* LETOLLE, 1977 ; MARIOTTI, 1977.



GROUPE	FAMILLE ou SERIE	
SOLS BRUNS tempérés	Sols bruns calcaires sur alluvions sablo-calcaires	[Hachures diagonales]
	Sols bruns faiblement lessivés sur sable	[Hachures croisées]
SOLS à HYDROMORPHIE temporaire PSEUDOGLEY	A texture sablo-limoneuse	[Hachures horizontales]
	A texture limoneuse, devenant argileuse à 50 cm	[Hachures diagonales]
	A texture limoneuse, argileux à faible profondeur.	[Hachures croisées]
"GLEY" HYDROMORPHIE permanente	A texture limono-sableuse.	[Points]
	A texture limoneuse	[Hachures diagonales]

 Station de jaugeage


 0 1 2km

Figure 3-14 : Carte pédologique des sous-bassins de Mèlarchez (à l'est) et de La Gouge (à l'ouest) (BLAVOUX, 1978).

i) Texture fine, limoneuse ou sableuse (< 0,2 mm), se chargeant en argile en profondeur.

ii) Acidité faible ou nulle.

iii) Hydromorphie plus ou moins prononcée.

Ces sols sont du type pseudogley ou gley, ils présentent vers la côte - 50 cm un horizon de réduction coloré par les sels de fer et sont caractérisés par une faible perméabilité de surface, entraînant l'accumulation d'eau à faible profondeur pendant les périodes humides. Sur le plan hydrogéologique, les travaux de CANIPELLE (1964) et FILIZ (1973) montrent l'existence de

deux aquifères : la nappe libre des limons de plateaux exploitée par des puits peu profonds, entre 0 et 5 m, surtout sur le bassin de Mèlarchez et l'aquifère plus profond de la formation de Brie sous son faciès calcaire bien développé à l'ouest du bassin de Mèlarchez (région de Doue, cf. figure 3-14). Toutefois, l'existence de relations hydrauliques entre les deux aquifères ne permettent pas de différencier clairement les deux niveaux piézométriques. Sur le bassin de Mèlarchez, les puits dont nous parlerons atteignent la nappe libre des limons.

Ce bassin est à vocation agricole, plus particulièrement céréalière : blé, maïs, orge et escourgeon occupent 80 % de la surface, les prairies permanentes 7,8 %, 3,7 % de la surface sont boisés et les 8,5 % restant ont des utilisations diverses : zones habitées (0,5 %), cultures industrielles. L'élevage est une activité peu importante et qui tend à régresser au profit de la grande culture.

La structure géologique et pédologique a rendu nécessaire le *drainage* de ce bassin. Il est réalisé avec des drains de poterie situés vers 60 à 80 cm de profondeur. Actuellement *plus de 80 % de la surface du bassin est drainée*. On peut donc penser que la qualité des écoulements superficiels de ce bassin, doit refléter assez fidèlement pendant la période de drainage, la qualité de la tranche supérieure des nappes superficielles drainées. Les apports d'engrais s'effectuent sous forme d'ammonitrate, de phosphate d'ammonium, au début du mois de mars puis début avril. Les taux d'application de ces engrais ont été, à titre d'exemple, en 1973 :

- blé : 125 kg N/ha
- orge : 63 kg N/ha
- maïs : 150 kg N/ha

Les apports complémentaires de fumier ou de compost sont très peu importants.

BELAMIE (1980) dans un bilan de l'azote sur le bassin de Mèlarchez estime l'apport d'engrais sur les cultures à environ 100 kg/ha/an de 1975 à 1978 (cf. tableau 3-XI).

	1975/76		1976/77		1977/78	
	N kg.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup>	%	N kg.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup>	%	N kg.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup>	%
Apports météoriques	6.3	5.9	9.2	8.0	13.8	12.5
Engrais	101.0	94.1	100.5	92.0	97.0	87.5
Total apport	107.3	100.0	109.7	100.0	110.8	100.0
Pertes à l'exutoire	7.9	9.6	20.5	20.4	32.4	30.2
Exportation par les récoltes	74.0	90.4	80.0	79.6	75.0	69.8
Total exportation	81.9	100.0	100.5	100.0	107.4	100.0

Tableau 3-XI : Bilan azoté du bassin de Mèlarchez (1975-1978) d'après BELAMIE (1980).

B) Prélèvements - échantillonnage.

L'étude isotopique sur ce bassin a porté sur un échantillonnage relativement hétérogène sur la période s'étendant de novembre 1971 à mars 1977. Tous les prélèvements ont été effectués à l'exutoire du bassin sur le Rû de Rognon, contrôlé par une station hydrométrique constituée par un bief aménagé équipé d'une échelle limnigraphique, de deux limnigraphes et d'une vanne déversante. La connaissance du régime hydrologique du bassin expérimental de l'Orgeval est le fait du C.T.G.R.E.F. (division hydrologie-hydraulique fluviale) qui a assuré sur plus de 15 années les mesures des pluies et débits en de nombreux points (OBERLIN, 1974).

De novembre 1971 à juin 1973, l'étude a porté sur des prélèvements instantanés hebdomadaires, plus fréquents aux pointes de crue.

L'échantillonnage a repris en août 1975 jusqu'en avril 1976. Il s'est alors effectué à l'aide d'un préleveur automatique (C.T.G.R.E.F.) maintenu à 10°C et programmé afin de constituer un échantillon cumulé sur 8 heures par prises instantanées toutes les heures. Ce prélèvement élémentaire permet la constitution d'échantillons moyens journaliers proportionnels au débit (BEN HALIMA, 1977).

Enfin, au début de l'année 1977, nous avons pu disposer, du 3 février au 14 mars d'un échantillonnage journalier avec examen détaillé, par pas de temps de 8 heures, d'un épisode de crue (3.2.77 au 6.2.77).

C) Caractérisation des sources d'azote.

Sur ce bassin à vocation agricole deux sources dominent : l'azote (essentiellement nitrique) provenant de la minéralisation de la matière organique des sols et l'azote d'origine industrielle des engrais. De plus, l'existence de quelques villages et fermes sur le bassin, notamment à proximité du bief limnigraphique où ont lieu les prélèvements, implique que quelques rejets organiques domestiques ou d'élevage (jus de purins, fumier) puissent atteindre le Ru de Rognon et contribuer, de façon probablement très légère, compte tenu de la faible occupation humaine, à l'apport d'azote que nous qualifierons "d'origine organique".

Il nous appartient de caractériser ces diverses sources.

1) Composition isotopique des engrais artificiels.

Ils sont *synthétisés à partir de l'azote de l'air* par des procédés issus de celui de HABER et BOSCH.

Nous avons mesuré la composition isotopique de 27 engrais utilisés couramment dans le Bassin Parisien. On peut constater, à l'examen du tableau 3-XII que la composition isotopique de l'azote ammoniacal est proche de celle de l'azote de l'air, peut-être légèrement appauvrie en  $^{15}\text{N}$  : au cours de la synthèse de l'ammoniac,  $^{14}\text{N}$  semble très légèrement favorisé dans la cinétique de réaction. Toutefois cette synthèse s'effectuant à haute température, il est normal que le fractionnement isotopique soit faible.

La composition isotopique de  $\text{N-NH}_4^+$  est  $-0,1 \pm 1,21 \%$  ; celle de  $\text{N-NO}_3^-$  :  $2,8 \pm 2,5 \%$ . Cet enrichissement du nitrate est probablement la conséquence de réactions isotopiques d'échange se produisant après l'oxydation de  $\text{NH}_4^+$ , dans la production de l'azote nitrique (SPINDEL, 1954 ; MAHENC, 1965). En conséquence nous avons par ailleurs mesuré fréquemment des nitrites d'origine industrielle dont les  $\delta^{15}\text{N}$  peuvent être aussi bas que  $-80 \%$  (abondance absolue : 0,3370 atome  $^{15}\text{N} \%$ ).

Les valeurs que nous obtenons sont très proches de celles de différents auteurs dans divers pays : on en trouvera les valeurs sur le tableau 3-XIII. Ces valeurs sont toutes voisines de celles que nous avons mesurées. Bien évidemment toute étude détaillée doit tenir compte non pas de ces valeurs moyennes mais de la composition isotopique des engrais réellement utilisés sur la parcelle ou le champ expérimental étudié. A l'échelle régionale, une moyenne semble plus proche de la réalité ; toutefois il faut alors tenir compte du fait que certains de ces engrais, les ammonitrates par exemple, sont beaucoup plus utilisés que d'autres : le poids de chacune des valeurs du tableau 3-XII n'est

pas le même. Les valeurs moyennes pour les ammonitrates sont :

$\delta^{15}\text{N-NH}_4^+ = 0,5 \pm 1,02 \%$  ;  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^- = 2,3 \pm 0,5 \%$ , très proches de celles proposées par FREYER et ALY (1974) et SHEARER *et al.*, (1974).

Formule	Forme	$\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$	$\delta^{15}\text{N}$ organique
8.16.16 S	solide	-1.9	2.7	3.8
15.15.15	"	-3.7	-2.7	
18.24.12	"	0.1	4.5	
17.17.17	"	0.9	6.2	
17.17.17	"	-0.7	1.4	
18.22.12	"	0.9	1.3	
14.20.20	"	0.5	1.9	
14.20.20	"	0.7	3.0	
15.15.15	"	1.4	3.5	
15.20.18	"	-1.8	1.7	
Ammonitrate 33,5%	"	0.5	2.3	
Ammonitrate 33,5%	"	0.5	2.5	
14.20.20	"	-1.3	1.7	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	liquide	-0.5	-	
Engrais complet	liquide	-0.6	1.3	
Urée	solide	-	-	
Ammonitrate 33,5%	solide	2.0	2.7	
14.20.20	"	0.3	5.9	
15.20.18	"	0.2	3.2	
17.17.17	"	-0.6	0.3	
Ammonitrate 33,5%	solide	0.4	2.4	
Ammonitrate 33,5%	"	-0.9	1.5	
Engrais complet	liquide	-0.5	0.8	
14.20.20	solide	0.4	2.6	
17.17.17	"	1.4	10.8	
17.17.17	"	-0.7	1.4	
17.17.17	"	0.9	6.2	
12.12.17	"	-1.0	3.8	
moyenne		-0.11	2.80	
écart-type		1.21	2.49	
(N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) : moyenne			1.32	
écart-type			2.43	

Tableau 3-XII : Composition isotopique d'engrais utilisés en Brie et en Beauce (2 : utilisés sur le Bassin de Mélarchez en 1975-76 ; 3 : utilisés sur la parcelle expérimentale de Chaussy, cf. paragraphe 3-2-3-I).

	$\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$		$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$	
	Nombre d'analyses	Moyenne ± écart-type	Nombre d'analyses	Moyenne ± écart-type
FREYER et ALY (1974)	11	-1,3 ± 1,5	10	2,6 ± 2,0
SHEARER <i>et al.</i> (1974)	28	-0,5 ± 1,8	13	2,3 ± 1,8
RENNIE <i>et al.</i> (1976)	4	1,6 ± 1,9	2	4,2 ± 0,6

Tableau 3-XIII : Compositions isotopiques de l'azote d'engrais de type ammonitrate ; valeurs moyennes extraites de la littérature.



En conclusion, nous pouvons affirmer que *l'azote minéral d'origine industrielle apporté aux systèmes culturaux comme engrais a une composition isotopique basse, en moyenne toujours inférieure à 3 ‰, avec toutefois des variations locales possibles.*

2) Composition isotopique de l'azote naturel provenant de la minéralisation de la matière organique des sols du bassin de Mélarchez.

La connaissance de ce paramètre est bien évidemment plus difficile à obtenir que celle du précédent. Nous avons toutefois pu bénéficier de l'existence de la parcelle expérimentale de Boissy-le-Chatel, installée par le C.T.G.R.E.F. et conçue pour étudier l'influence du drainage. D'une surface de 615 m<sup>2</sup>, elle est située à proximité immédiate du bassin de Mélarchez. Le schéma des dispositifs expérimentaux de cette parcelle est reproduit sur la figure 3-15. Son sol est du même type que celui du bassin étudié : limoneux, faiblement lessivé avec faible hydromorphie marquée entre 45 et 90 cm. Son étanchéité a été testée après réalisation de murs parafouilles en argile jusqu'à 1 m de profondeur. Elle est drainée à une profondeur de 60 à 80 cm. Les drains sont reliés à un collecteur équipé d'un déversoir triangulaire et d'un limnigraphe permettant de mesurer les débits. Le couvert végétal est composé essentiellement de ray grass associé au trèfle et au lotier. Anciennement cultivée, cette parcelle fonctionne naturellement depuis 1972, elle ne reçoit aucun apport de fertilisant depuis cette date : on doit donc admettre qu'au cours des hivers 1975-76 puis 1980-81, périodes d'étude du drainage de cette parcelle, *les nitrates obtenus ont une origine naturelle, biosynthétique (minéralisation de la matière organique des sols et des résidus végétaux).*

Les résultats obtenus sur des prélèvements d'octobre 1975 à janvier 1976 puis de décembre 1980 à avril 1981, figurent sur le tableau 3-XIV et la figure 3-16.

Si on compare les débits du réseau de drainage de cette parcelle de Boissy-le-Chatel aux débits mesurés à la station limnigraphique de Mélarchez, on peut noter entre ces deux grandeurs une nette corrélation, significative (BEN HALIMA, 1977). On peut en conclure que l'influence du drainage est majeure sur le débit liquide du bassin de Mélarchez. Les concentrations en nitrate sur cette parcelle sont faibles le plus souvent, mais peuvent atteindre des valeurs non négligeables.

BELAMIE (1980) donne les teneurs moyennes en nitrates pour 3 années de mesure, à l'exutoire du bassin de Mélarchez, en sortie du drain de référence de Boissy-le-Chatel et sur divers points du bassin de l'Orgeval. Ce tableau (3-XV) est reproduit ci-dessous avec des teneurs en  $\text{NO}_3^-$  exprimées en N -  $\text{NO}_3^-$  (mg/l).

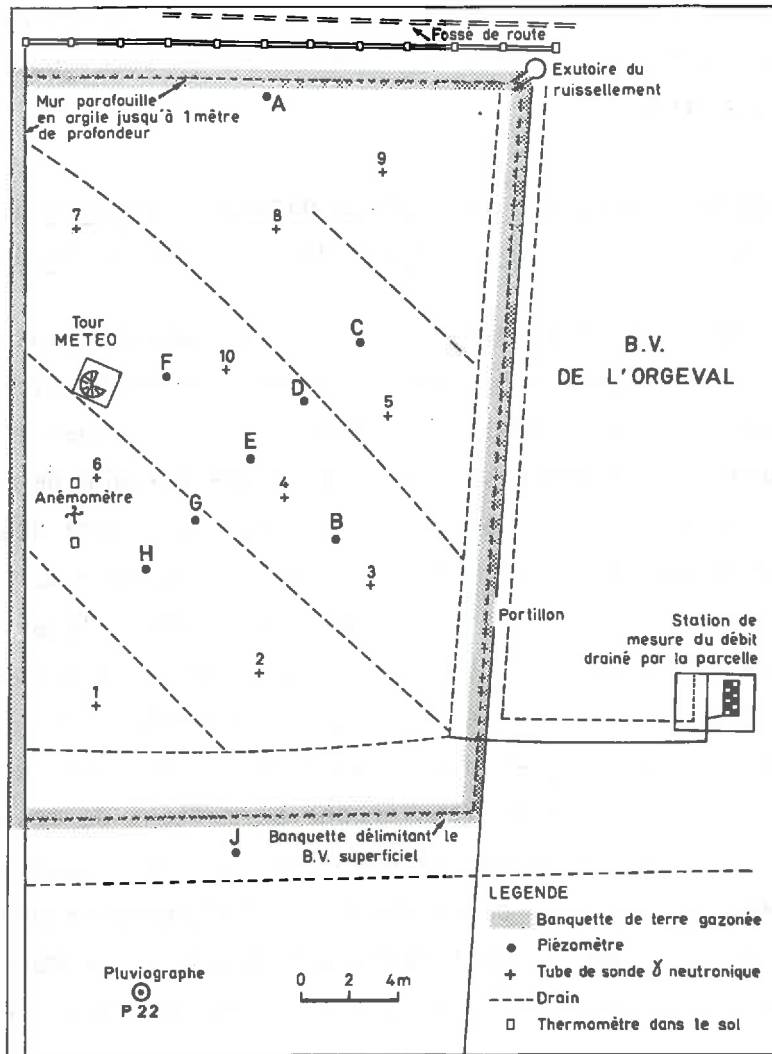


Figure 3-15 : Dispositifs expérimentaux de la parcelle drainée de 615 m<sup>2</sup> à Boissy-le-Chatel (situation début 1973).

L'examen du tableau 3-XV fait clairement ressortir le fait que la teneur moyenne en nitrate provenant de la minéralisation naturelle de l'azote organique du sol (Drain de Boissy-le-Chatel) peut être *extrêmement variable d'une année à l'autre* et surtout *extrêmement importante*, par exemple au cours de l'exceptionnelle année climatique 1976, caractérisée par un important déficit hydrique, de fortes températures estivales et une minéralisation tout à fait exceptionnelle de la matière organique (voir plus loin).

Date de prélèvement	Débit moyen ml/s	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/l	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l	PO <sub>4</sub> <sup>=</sup> mg/l	K <sup>+</sup> mg/l	Cl <sup>-</sup> mg/l	Flux moyen N-NO <sub>3</sub> µg/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ‰
02.10.1975	3.73	2.7	0.0	0.00	0.1	0.4	9.4	10.07	} 7.7
03.10	1.21	2.9	0.0	0.00	0.3	0.2	6.7	3.51	
16.11	75.50	2.4	0.03	0.08	0.2	0.7	11.3	181.20	5.6
17.11	25.10	1.6	0.0	0.08	0.0	0.7	10.7	40.16	} 6.6
18.11	14.50	0.8	0.0	0.08	0.0	0.6	4.9	11.60	
19.11	9.42	0.9	0.0	0.12	0.0	0.8	7.6	8.48	} 6.1
20.11	31.90	0.8	0.0	0.00	0.0	0.8	7.0	25.52	
21.11	12.70	0.9	0.0	0.00	0.0	0.3	7.9	11.40	} 6.6
22.11	5.90	0.9	0.0	0.08	0.0	0.4	9.9	5.31	
23.11	3.84	0.9	0.0	0.23	0.0	0.8	25.8	3.46	} 6.7
26.11	61.50	0.6	0.01	0.04	0.3	0.4	6.7	36.90	
27.11	31.80	0.8	0.0	0.08	0.0	1.0	6.0	25.44	} 6.5
28.11	34.30	0.7	0.0	0.08	0.0	0.9	3.4	24.01	
29.11	18.90	0.8	0.0	0.20	0.0	0.9	7.3	15.12	} 7.5
30.11	10.20	0.8	0.0	0.04	0.2	0.3	11.2	8.16	
01.12	6.03	3.3	0.0	0.00	0.0	0.9	7.2	19.90	} 9.3
02.12	42.60	2.0	0.0	0.43	0.0	0.6	5.9	85.20	
03.12	25.00	2.9	0.0	0.00	0.0	1.1	8.2	72.50	6.3
02.01.1976	8.24	1.4	0.0	0.43	0.0	0.5	10.8	11.54	} 7.9
03.01	5.75	3.6	0.0	0.20	0.0	0.4	11.5	20.70	
16 au 22.12 1980	26.60	1.45	0.00	0.00	0.02	0.1	11.0	38.60	5.5
23 au 29.12	18.0	1.99	0.01	0.04	0.02	0.1	35.0	35.80	6.4
30.12 au 05.01 1981	17.0	2.17	0.01	0.08	0.02	0.1	13.0	36.90	6.9
06 au 12.01	13.9	2.56	0.01	0.23	0.00	0.1	14.0	35.60	7.5
13 au 19.01	38.7	2.03	0.01	0.08	0.02	0.1	14.0	78.60	7.3
20 au 26.01	28.4	2.81	0.01	0.04	0.00	0.1	15.0	79.80	7.2
27.01 au 02.02	7.4	3.53	0.01	0.12	0.02	0.2	17.0	26.10	8.2
03 au 09.02	28.3	2.33	0.00	0.12	0.03	0.1	13.0	65.90	7.4
10 au 16.02	7.2	3.69	0.00	0.00	0.05	0.2	17.0	26.70	7.4
17 au 23.02	3.0	3.87	0.00	0.00	0.16	0.1	18.0	11.60	8.0
24.02 au 02.03	17.5	2.57	0.01	0.04	0.08	0.2	15.5	45.00	8.8
03 au 09.03	26.9	2.01	0.01	0.04	0.05	0.1	10.5	54.10	9.3
10 au 16.03	28.6	1.90	0.02	0.00	0.05	0.2	9.0	54.30	6.3
17 au 23.03	15.7	2.55	0.01	0.00	0.03	0.0	11.0	40.00	5.5
24 au 30.03	19.0	2.32	0.00	0.04	0.00	0.0	12.0	44.10	-
31.03 au 06.04	1.5	4.07	0.01	0.08	0.02	0.2	20.0	6.10	7.1
07 au 13.04	0.6	4.70	0.02	0.08	0.02	0.6	23.0	2.80	8.4

Période d'octobre 1975 à janvier 1976 :

δ<sup>15</sup>N (m ± σ) : 6,98 ± 1,04 ‰  
 δ<sup>15</sup>N moyen pondéré par la quantité de nitrate drainée : 6,83 ‰

Période de décembre 1980 à avril 1981 :

δ<sup>15</sup>N (m ± σ) : 7,33 ± 1,07 ‰  
 δ<sup>15</sup>N moyen pondéré par la quantité de nitrate drainée : 7,26 ‰

Tableau 3-XIV : Parcelle de Boissy-le-Chatel. Paramètres chimiques et isotopiques (octobre 1975 à janvier 1976 puis décembre 1980 à avril 1981).

	1975-76	1976-77	1977-78
Bassin Mélarchez (exutoire)	6.2	10.0	7.9
Drain de Boissy-le-Chatel	2.0	8.7	1.8
Ecoulements issus de zones forestières	0.34	0.86	1.9
Ecoulements en zones rurales	5.9	9.3	10.6

Tableau 3-XV : Teneurs moyennes en nitrate sur le bassin de Mélarchez, d'après BELAMIE (1980), (en mg N/l).

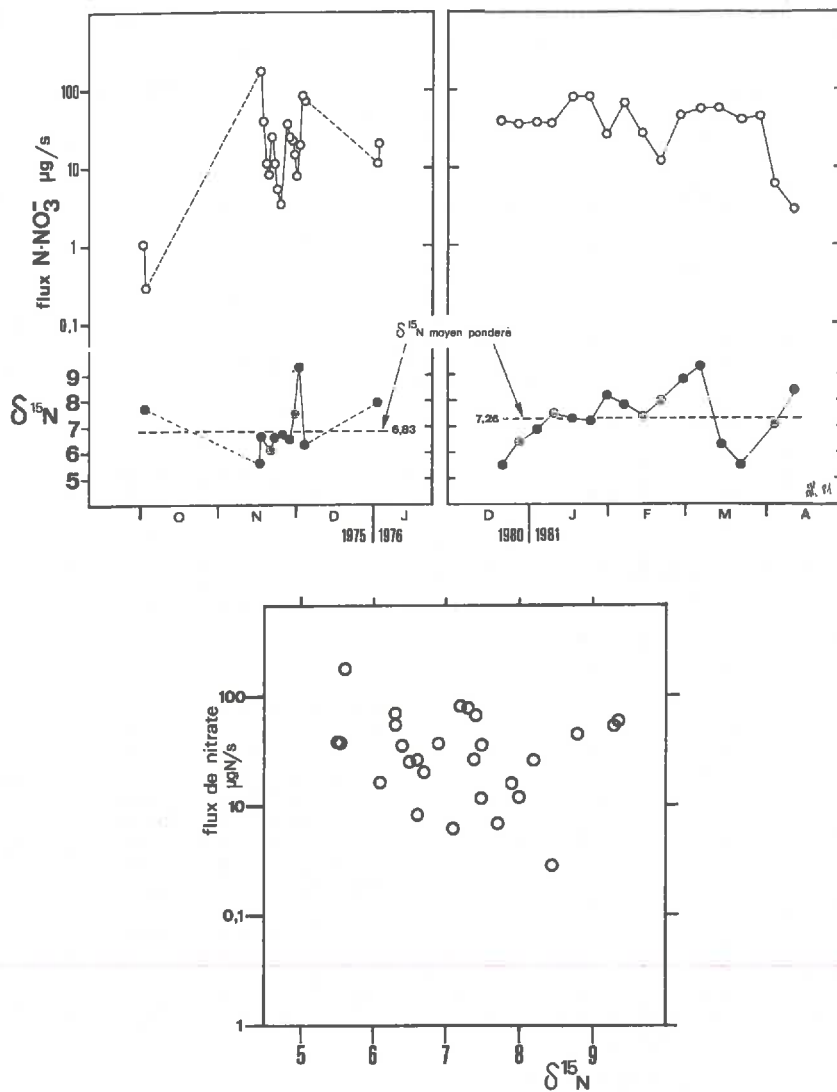


Figure 3-16 : Parcelle de Boissy-le-Chatel.

En haut : évolution du flux moyen en azote nitrique et du  $\delta^{15}\text{N-NO}_3$  au cours de deux périodes de drainage (octobre 1975-janvier 1976 et décembre 1980-avril 1981). Les compositions isotopiques moyennes pondérées par la quantité de nitrate sont reportées (respectivement 6,83 % et 7,26 %).

En bas : absence de corrélation entre le flux en nitrate et la composition isotopique.

La composition isotopique des nitrates varie :

pour la période d'octobre 1975 à janvier 1976 de 5,6 à 9,3 % avec une valeur moyenne pondérée par la quantité de nitrate drainé, de 6,83 % (figure 3-16).

Pour la période de décembre 1980 à avril 1981, de 5,5 à 9,3 % avec une valeur moyenne pondérée par la quantité de nitrate drainé de 7,26 %.

Les deux moyennes pondérées sont très proches. On peut retenir la valeur de 7 % environ\* pour les nitrates naturels biosynthétisés dans des sols du type de celui de la parcelle de Boissy-le-Chatel et du bassin de Mëlarchez, autant que l'on puisse faire le transfert d'échelle de 615 m<sup>2</sup> à 6,6 km<sup>2</sup>. Sur la figure 3-17, nous avons reporté les divers paramètres mesurés sur cette parcelle, de mi-novembre au début décembre 1976 en comparant les résultats obtenus au drainage à ceux obtenus sur la pluie. Il est clair en particulier que les nitrates au drainage n'ont rien de commun avec ceux de la pluie caractérisés par une composition isotopique très basse : ici une moyenne, sur la période, de 2,8 ‰. La concentration en nitrate des eaux de pluie est toujours très inférieure à celle du drainage. L'inverse est réalisé pour l'ammonium.

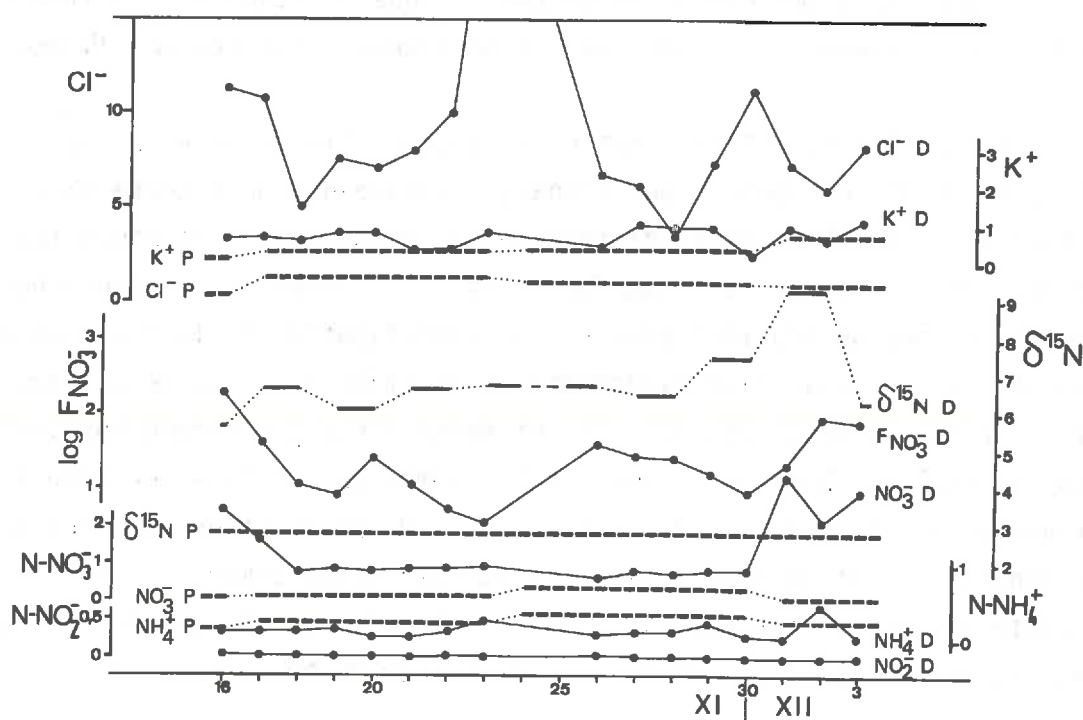


Figure 3-17 : Variation de certains paramètres chimiques dans les eaux de drainage de la parcelle de Boissy-le-Chatel et les eaux de pluie, en novembre et décembre 1975.

Les concentrations sont exprimées en mg.l<sup>-1</sup> (K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), le flux en N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> est exprimé en 10<sup>-3</sup>mg/s, δ<sup>15</sup>N désigne la composition isotopique de l'azote nitrique. P désigne la pluie, D le drainage.

\* Valeur très proche de celle obtenue sur les nitrates au drainage d'une case nue sur sol de limon, à la station I.N.R.A. de Versailles (6,73 ‰, cf. tableau 2-XVI).

Il ressort -(a) de la figure 3-16, qu'il n'existe aucune corrélation entre le flux en nitrate et le  $\delta^{15}N$  -(b) du tableau 3-XIV, qu'il n'y a pas de corrélation débit-concentration en nitrate.

Ce tableau 3-XIV donne des valeurs pour les concentrations en  $K^+$  et  $Cl^-$  qui pourront nous servir de références géochimiques naturelles, en l'absence d'apport d'engrais.

En conclusion, nous pourrions retenir de cette étude que les nitrates naturellement minéralisés dans ce type de sol, ne recevant aucune fertilisation azotée, ont une composition isotopique, voisine de 7 ‰, toujours plus élevée que celle de l'azote de synthèse industrielle apporté sous forme d'engrais.

Dans un système relativement simple comme celui du bassin de Mèlarchez où deux sources d'azote sont prédominantes : l'azote nitrique naturel et l'azote nitrique et/ou ammoniacal de synthèse, nous pouvons donc considérer que nous avons une différence mesurable dans l'abondance naturelle en  $^{15}N$  des deux sources.

Une deuxième condition devra être remplie afin de pouvoir caractériser la part relative de ces sources par l'analyse isotopique du nitrate dans l'eau : le maintien dans le sol de cette différence de composition isotopique lorsque l'azote des engrais subira ses transformations classiques, au premier chef de ces transformations se trouvant bien sûr la nitrification de la fraction ammoniacale de ces engrais. Bien évidemment la fraction nitrique de cet azote peut être rapidement lessivée, puisque cet anion n'est pas retenu sur les argiles ou le complexe absorbant comme l'est l'ammonium, et peut échapper ainsi à ces transformations : il ne pourra s'agir que d'une fraction du stock de nitrate apporté. Avant de nous interroger sur ces transformations dans le sol de cet azote exogène et des modifications éventuelles de son contenu isotopique, examinons les résultats obtenus sur le bassin de Mèlarchez.

#### D) Résultats obtenus à l'exutoire du bassin.

L'ensemble des résultats est répertorié sur le tableau AI qui figure en annexe.

Nous présenterons tout d'abord les résultats de l'année hydrologique 1971-72.

##### 1) Année hydrologique 1971-1972.

Les prélèvements sont hebdomadaires, instantanés, plus fréquents aux pointes de crue. Sur la figure 3-18 on peut suivre l'évolution au cours du temps du débit liquide du Rû du fossé Rognon, la concentration en azote nitrique,

le flux instantané de nitrates ( $\text{mg N} \cdot \text{s}^{-1}$ ), la composition isotopique de ce nitrate et la teneur en  $^{18}\text{O}$  ( $\delta^{18}\text{O}$ ) de l'eau. On constate un certain nombre de particularités, dont les plus marquantes sont :

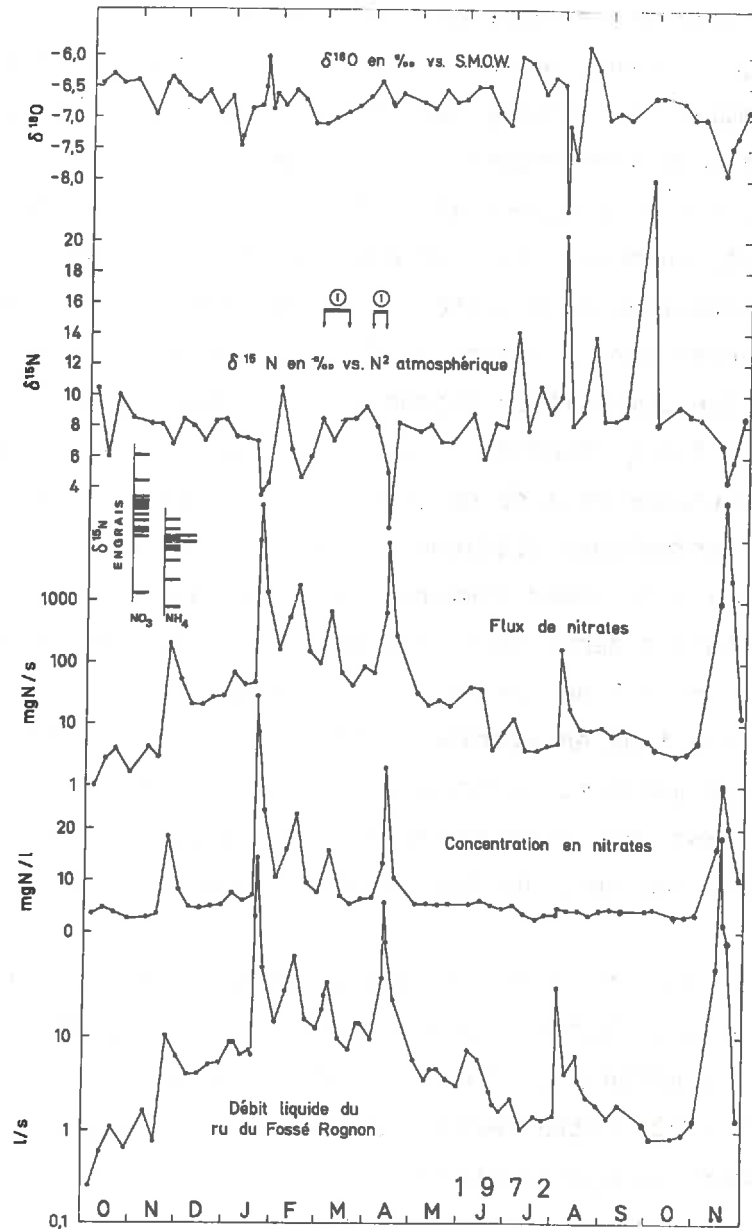


Figure 3-18 : Evolution des paramètres hydrologiques, chimiques et isotopiques à l'exutoire du bassin de Mèlarchez (année hydrologique 1971-72) (MARIOTTI *et al.*, 1975, 1977).

1 = période d'application des engrais.  
On a également représenté sur l'échelle des  $\delta^{15}\text{N}$ , sous forme d'histogramme, les compositions isotopiques des engrais.



(i) une corrélation positive entre le débit liquide et la concentration en nitrate, notamment pendant la période de hautes eaux hivernales ;

(ii) une dépendance certaine entre l'évolution isotopique et celle des concentrations ou des flux de nitrates. Cette covariation n'est toutefois pas générale : pendant la saison humide d'hiver, en hautes eaux, cette covariation, inverse, existe ; par contre pendant la saison d'été, on voit apparaître sporadiquement des nitrates à composition isotopique élevée, sans relation évidente avec le débit liquide. On peut donc retenir le fait majeur de *l'abaissement de la composition isotopique avec l'augmentation du flux en nitrate*. En période d'étiage ou plus exactement, en dehors des périodes de crues (étiage relatif hivernal) la composition isotopique du nitrate à l'exutoire est en moyenne de + 7 à 8,5 %. On peut même observer sur la figure 3-18 une certaine tendance à une fluctuation saisonnière de cette composition isotopique : en hiver plutôt proche de 7 %, en été s'élevant vers 8,5 %. Pendant l'hiver, la composition isotopique de ce nitrate s'abaisse à chaque épisode de crue alors que le flux en nitrate augmente. Les compositions isotopiques atteignent alors souvent 4 % ; on note même que la crue du 12/4/72 qui suit immédiatement l'application des engrais (habituellement appliqués sur le bassin début mars puis début avril), avec un débit maximal de 280 l/s, présente un  $\delta^{15}\text{N}$  des nitrates extrêmement bas : 1,4 %. Enfin, pendant l'été, alors que les flux en nitrates sont au plus bas, on note sporadiquement, à partir du mois de juillet, la présence de nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  élevé (jusqu'à 24 % le 28/9/72) avec une certaine tendance à l'élévation de cette composition isotopique au cours des épisodes successifs d'apparition de ces  $\delta$  élevés (figure 3-18).

Le calcul du  $\delta$  pondéré par le flux en azote donne, pour la période hivernale du 5/10/71 au 10/4/72, 3,9 % ; pour la période d'étiage et faibles crues d'été 7,9 % ; enfin pour l'ensemble de la période considérée (année hydrologique 1971-1972) cette valeur est de 4,1 % : *l'influence des nitrates à basse composition isotopique est majeure, celle des nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  élevés quasiment nulle sur l'année*. Cette dernière source, s'il s'agit bien d'une source parfaitement individualisée, est donc quantitativement négligeable à l'échelle du bassin. Par contre, la contribution des nitrates à composition isotopique basse semble importante.

## 2) Crues de février et mars 1977.

Nous présenterons ensuite les résultats obtenus durant les mois de février et mars 1977 (du 3/2/1977 au 14/3/1977). Il s'agit là de l'examen détaillé de périodes de crues, avec parfois prélèvement heure par heure (journées du 5 et 6/12/1977 et du 11/3/1977). Entre ces échantillonnages horaires le pas



de temps de prélèvement est réduit à 8 ou 24 heures avec des interruptions dans ce prélèvement (cf. tableau AI en annexe).

Sur la figure 3-19 sont reportés ces résultats avec distinction de la période du 3/2/1977 au 6/2/1977 qui voit le passage de l'étiage (3 et 4/2) à la crue (5 et 6/2) avec échantillonnage suivi de la montée de crue heure par heure, la pointe de crue intervenant le 6 à 16 h 10 (débit : 118 l/s). Après le 6 février, on est dans un régime de crues successives avec en particulier une tendance au retour à l'étiage du 4 au 10/3 suivie d'une nouvelle crue à maximum (120 l/s) le 11/3.

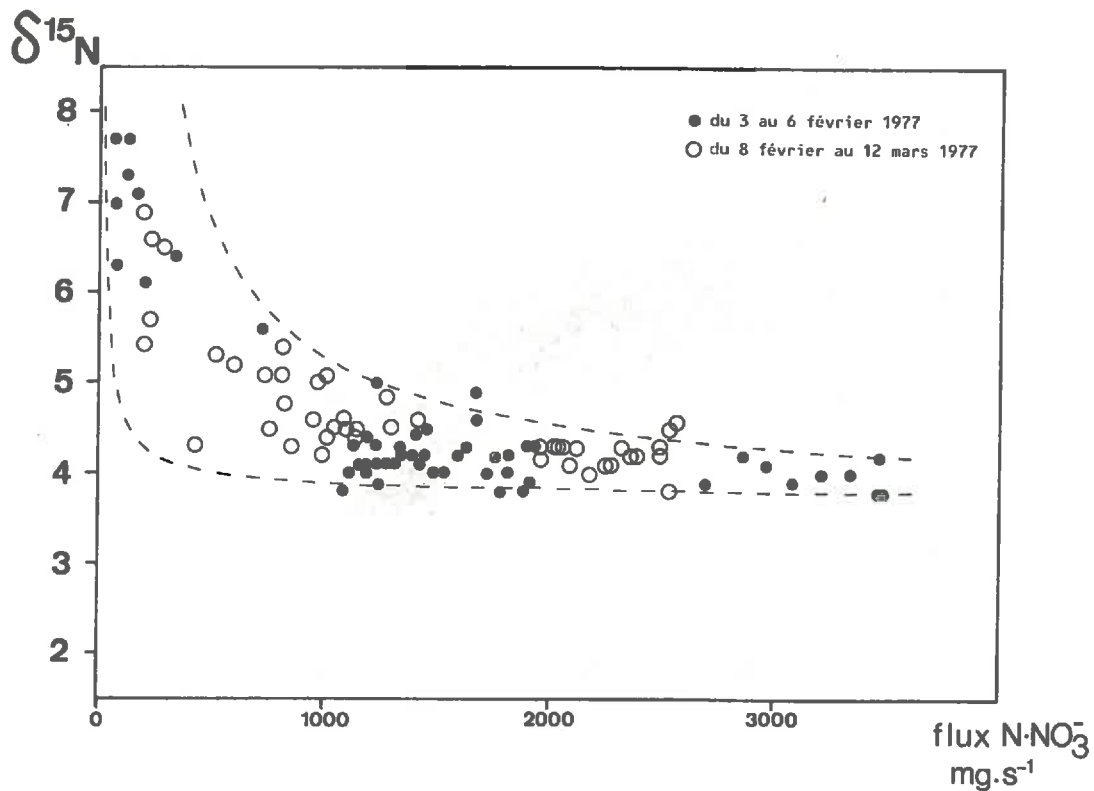


Figure 3-19 : Bassin de Mélarchez. Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - flux d'azote nitrique pour les périodes de crues de février et mars 1977. La répartition des points est très nettement d'allure hyperbolique.

Sur la figure 3-19, on constate que l'ensemble des points obtenus se place sur une courbe d'évolution dont le meilleur ajustement simple est une courbe de type *hyperbole à branche limitée à  $\delta$  7,8 % et branche asymptotique à  $\delta$  3,8 %*.

Tout se passe donc comme si on était en présence d'un mélange simple bipolaire entre une source de nitrate de  $\delta$  7 à 8 ‰ et dont l'émission varierait dans de faibles proportions et une source variable de composition isotopique 3,8 ‰ environ. C'est ce que nous avons symbolisé en traçant sur la figure 3-19 une enveloppe composée de deux hyperboles asymptotiques à une même valeur de 3,8 ‰.

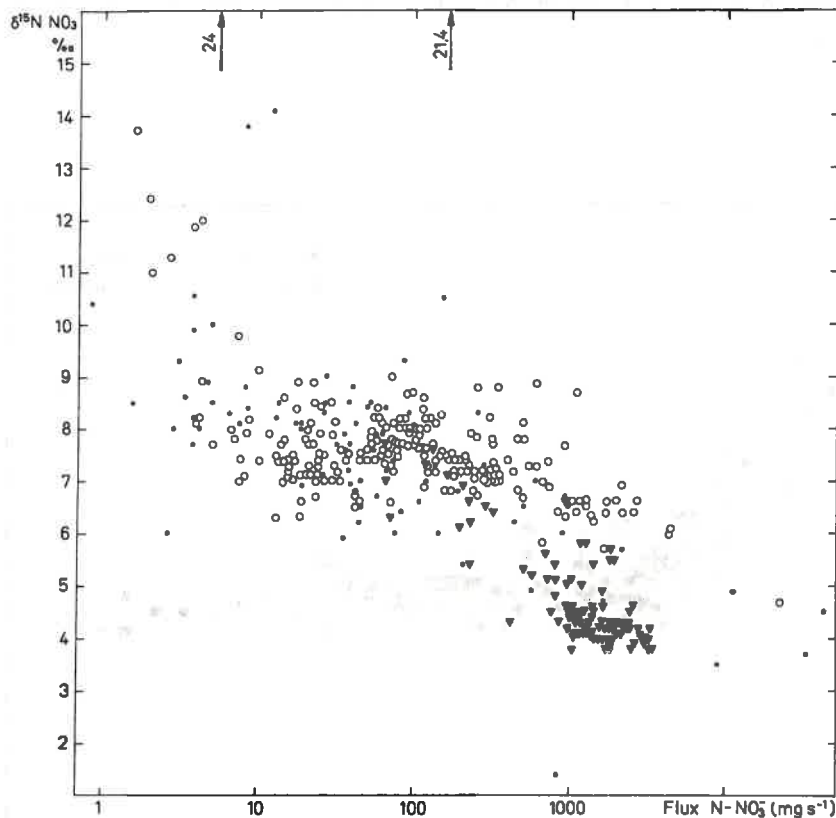


Figure 3-20 : Bassin de Mélarchez. Diagramme semi-logarithmique  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  - flux  $\text{N-NO}_3^-$  pour l'ensemble des prélèvements effectués à la station de jaugeage du bassin.

Signification des figurés : points : années 1971-72-73 ; cercles : années 1975 (depuis juillet) et 1976 (jusqu'à avril) ; triangles : février et mars 1977.

Enfin, sur la figure 3-20\*, nous avons reporté sur un diagramme semi-logarithmique  $\delta^{15}\text{N}$  - flux  $\text{N-NO}_3^-$  ( $\text{mg.s}^{-1}$ ) l'ensemble des points observés sur toute la période d'étude (années hydrologique 1971-1972 ; 1972-1973 ; 1975-1976 et les crues de février et mars 1977). La figure 3-21 représente l'ensemble de ces points dans un diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en  $\text{N-NO}_3^-$ . Sur le diagramme de la figure 3-20 on peut mettre en évidence l'existence de

\* Et 3-20 bis, page 336.

deux familles de points :

(i) un premier groupe à  $\delta^{15}\text{N}$  compris entre 8,5 et 3,5 ‰ et correspondant à des flux de nitrate de 5 à 15000 mg  $\text{N-NO}_3^-/\text{s}$ .

(ii) Un groupe de points à  $\delta^{15}\text{N}$  élevé ( $\delta = 10$  ‰ ou plus) et correspondant à des flux de nitrate, généralement très faibles : de 1,5 à 10 mg/s.

Echappant à cette classification, un point de  $\delta^{15}\text{N} = 1,4$  ‰ déjà évoqué précédemment (en date du 12/4/1972). Il correspond à un flux en  $\text{N-NO}_3^-$  déjà important (près du gramme par seconde).

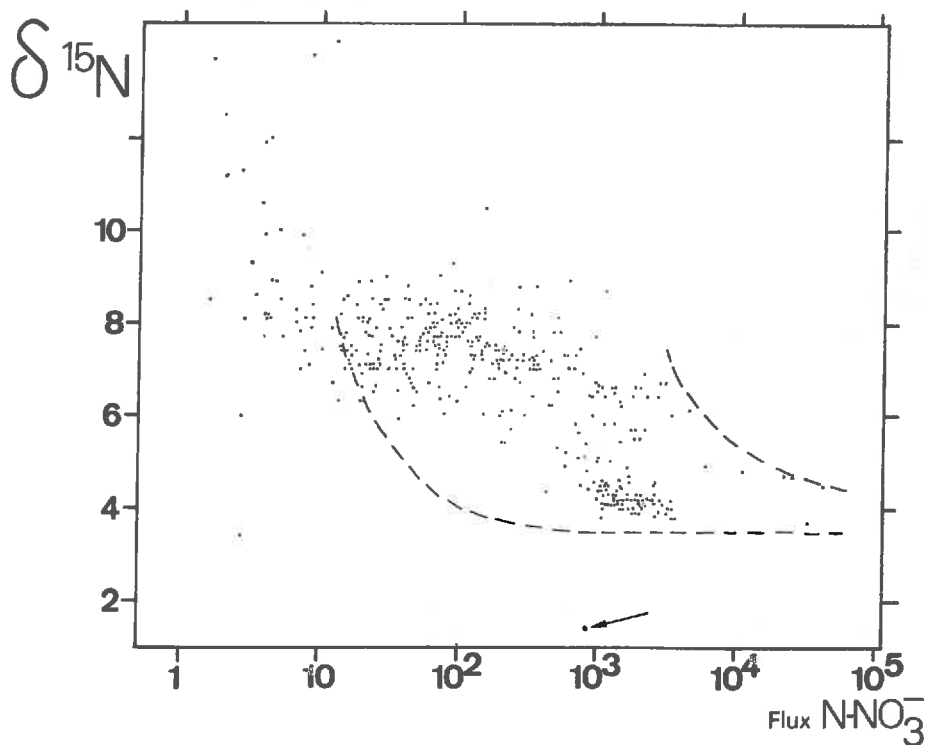


Figure 3-20 bis : cf. légende figure 3-20.

*Les enveloppes hyperboliques se réfèrent à un modèle de mélange simple, évoqué dans le texte.*

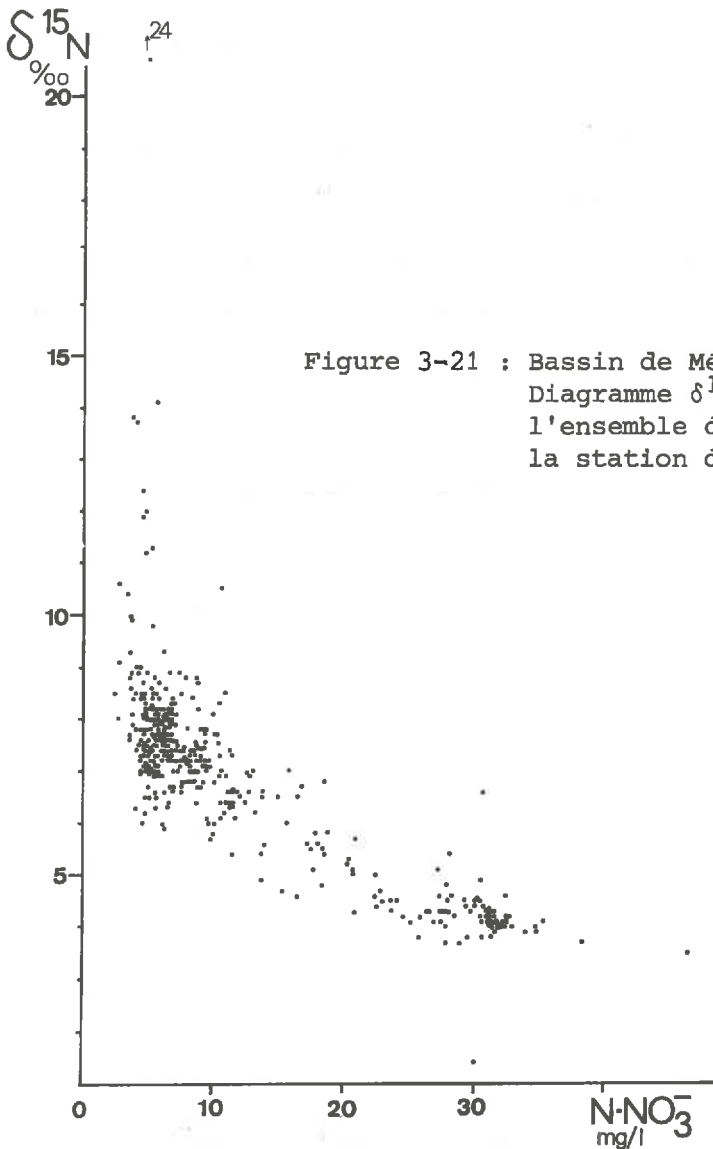


Figure 3-21 : Bassin de Mélarchez.  
Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$ -concentration  $\text{N-NO}_3^-$  pour  
l'ensemble des prélèvements effectués à  
la station de jaugeage du bassin.

a. - Famille de compositions isotopiques comprises entre  
8,5 et 3,5 ‰.

Ce premier groupe montre donc nettement une tendance à l'abaissement des compositions isotopiques lorsque le flux augmente. On peut constater que la forme de ce nuage de points évoque de très près la figure 3-22 où l'on peut voir l'anamorphose logarithmique de l'aire de répartition des points représentant le mélange de deux sources dont l'émission est variable : variation limitée pour la source A, illimitée pour la B (figure 3-12). On est donc conduit à émettre l'hypothèse que l'ensemble de ces points, dans cette configuration, représente le mélange de deux sources d'émission variable et de compositions isotopiques différentes. Quelles peuvent être ces sources ?

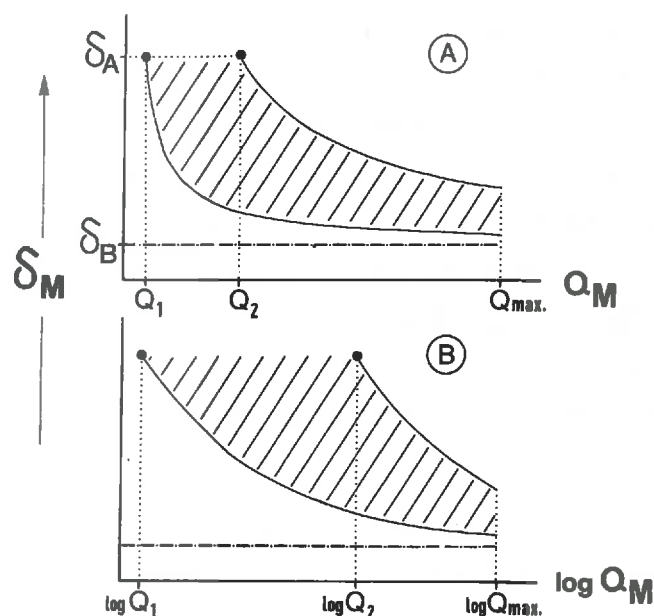


Figure 3-22 : A - Aire de répartition des points représentant le mélange de deux sources : A de composition isotopique  $\delta_A$ , de concentration (ou flux) variant de  $Q_1$  à  $Q_2$ , B de composition isotopique  $\delta_B$ , de concentration (ou flux) variable (cf. figure 3-12).

B - Anamorphose logarithmique de cette aire.

### Interprétation.

(i) La première source est caractérisée par un  $\delta^{15}\text{N}$  compris entre 7 et 8,5 %.

Elle correspond aux périodes d'étiage donc aux concentrations les plus basses. Pendant l'année hydrologique 1971-1972 (figure 3-18) nous avons pu constater que les compositions isotopiques des nitrates d'étiage montraient une tendance à des fluctuations saisonnières : en hiver vers 7 %, en été s'élevant vers 8,5 %. Un certain nombre d'arguments concourent à faire penser que cette source de nitrate trouve son origine dans la minéralisation naturelle de la matière organique des sols :

- la composition isotopique hivernale des nitrates, dont on a la certitude qu'ils sont d'origine naturelle, dans la parcelle expérimentale de Boissy-le-Chatel est proche de 7 %.
- Ces nitrates correspondent aux concentrations et aux flux les plus faibles : l'azote nitrique minéralisé au cours d'une saison normale sur un bassin comme celui de Mélarchez (cf. tableau 3-XV) est relativement faible devant la quantité d'azote nitrique apportée par les engrais.

- Des compositions isotopiques de l'ordre de 7 à 9 ‰ ont été fréquemment trouvées pour des nitrates provenant de la minéralisation de la matière organique de sols cultivés (cf. chapitre 2-2, figure 2-18) : RENNIE *et al.* (1976) sur des sols de type chernozem proposent pour l'horizon Ap des moyennes :  $\delta^{15}\text{N}$  total (organique) :  $8,8 \pm 1,1$  ‰,  $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  :  $9,0 \pm 3$  ‰ (nitrates extraits de sols prélevés au champ). Sur des sols variés SHEARER *et al.* (1975) puis FEIGIN *et al.* (1974) donnent une valeur moyenne de  $8,5 \pm 1,1$  ‰ pour le  $\delta^{15}\text{N}$  de nitrates produits en incubation. Enfin rappelons que les nitrates naturels synthétisés dans les sols de limons des cases lysimétriques non cultivées de Versailles ont une composition isotopique de 6,73 ‰ (chapitre 2-2, tableau 2-XVI).
- Un autre argument est plus indirect : il porte sur les résultats particuliers de l'année hydrologique 1975-1976.

Rappelons quelques caractéristiques de cette année hydrologique exceptionnelle. Pour le bassin parisien, l'étude des moyennes de précipitation et d'évapotranspiration potentielle (E.T.P.) montre que le mois d'octobre est le premier mois durant lequel la pluie est supérieure à l'E.T.P. Il marque donc le début de l'année hydrologique. La pluviométrie du bassin parisien pour cette année 1976 (01/10/75 au 30/09/76) figure sur le tableau suivant (3-XVI) extrait de la thèse de L. DEVER (1978).

Station	Moyenne 1931-1960 (mm/an)	1976 (mm/an)	Ecart à la moyenne (mm/an)	Déficit pluie (%)
Paris	618.6	367.0	251.6	- 40.7
Rouen	679.6	388.5	291.1	- 42.8
Orléans	599.7	446.0	153.7	- 25.6
Saint-Quentin	667.0	374.5	292.5	- 43.8
Chatillon/Seine	809.5	573.5	236.0	- 29.1

Tableau 3-XVI : Pluviométrie du Bassin Parisien pour l'année hydrologique 1976 (1-10-75 au 30-09-76).

On constate donc, pendant cette période globale, que le déficit est important. Bien évidemment il est essentiel de connaître la distribution de ce déficit au cours de l'année, par exemple en considérant la pluviométrie trimestrielle.

Les résultats figurent sur le tableau 3-XVII.

Stations	1975	1976			
	4T* (%)	1T* (%)	2T* (%)	3T* (%)	4T* (%)
Paris	- 30.4	- 48.5	- 74.6	- 14.0	- 12.2
Rouen	- 39.3	- 27.9	- 80.1	- 31.3	+ 8.9
Orléans	- 3.7	- 30.8	- 78.9	+ 4.3	+ 13.4
Saint-Quentin	- 29.3	- 40.2	- 72.5	- 38.0	- 2.2

\* 1T 2T 3T 4T : 1<sup>o</sup> trimestre, 2<sup>o</sup> trimestre...

Les écarts sont exprimés en pour cent par rapport à la moyenne interannuelle 1931-1960 (d'après L. DEVER, 1978).

Tableau 3-XVII : Variations relatives des lames d'eau précipitées à l'échelle trimestrielle pour la période octobre 1975 fin 1976.

On constate sur ce tableau que le déficit pluviométrique est déjà très net, en particulier à Paris pour le 4<sup>ème</sup> trimestre de 1975.

Ce déficit hydrique, associé à de hautes températures estivales, explique la minéralisation exceptionnelle de 1976 (cf. tableau 3-XV) dont on peut penser qu'elle était préparée dès le 4<sup>ème</sup> trimestre de 1975 par l'absence de lessivage des sols.

On constate effectivement sur le diagramme  $\delta^{15}\text{N}$ -flux  $\text{N-NO}_3^-$  (figure 3-20) que cette année hydrologique se caractérise par un très grand étalement des valeurs de flux en azote avec un  $\delta^{15}\text{N}$  compris entre 7 et 8,5 % ; pour des valeurs de flux de l'ordre de  $10^3 \text{mg.s}^{-1}$  on peut avoir des  $\delta$  de l'ordre de 8 % alors qu'en 1971/1972 ou 1977, pour un même flux, les compositions isotopiques sont plutôt comprises entre 4 et 6 %. Pour la période du 5.10.75 au 10.4.76 le  $\delta$  moyen pondéré est de 6,3 % : il était de 3,9 % du 5.10.71 au 10.4.72. En fait ce calcul du  $\delta$  moyen pondéré est effectué en prenant une valeur par jour. Si le calcul pour 1975-1976 est fait de la même manière qu'en 1971-1972, (c'est-à-dire un point par semaine et échantillonnage détaillé de la pointe de crue) on obtient 5,4 %. Les comparaisons sont difficiles mais les différences significatives. L'influence de la sécheresse est majeure sur la composition isotopique des nitrates.

Une minéralisation exceptionnelle de la matière organique du sol en 1975-1976 produisant des quantités importantes de nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  compris entre 7 et 8,5 % explique l'ensemble de ces résultats.

On peut donc considérer que la source de nitrate à composition isotopique comprise entre 7 et 8,5 % environ est celle des nitrates naturellement minéralisés dans les sols. La minéralisation exceptionnelle de 1976, préparée déjà au 4ème trimestre 1975, se traduit par des flux très importants de nitrates de composition isotopique comprise dans ces limites. Pour cette année hydrologique il faut que les flux s'élèvent considérablement pour que les  $\delta^{15}\text{N}$  s'abaissent faiblement, contrairement aux années 1971, 1972, 1973 et 1977.

(ii) Reste à examiner et caractériser la deuxième source. Cette source de nitrate présente une composition isotopique basse ; d'après la figure 3-20\* l'asymptote horizontale inférieure de l'enveloppe des points de mesure est située vers 3,5 %. C'est en prenant cette valeur qu'ont été tracées les deux hyperboles enveloppe de la figure 3-20 bis.

Une source évidente d'azote à  $\delta^{15}\text{N}$  bas est celle des engrais, (cf. tableau 3-XII). On peut proposer une interprétation de nos résultats en terme de mélange d'une source d'azote naturelle et d'une source industrielle, à bas  $\delta^{15}\text{N}$  : les engrais. Une objection s'impose immédiatement ; la valeur asymptote du mélange qui se situe vers 3,5 % semble élevée pour pouvoir représenter celle de ces engrais.

Seule une valeur obtenue lors de la pointe de crue du 12.4.72, qui suit immédiatement l'application des engrais, correspond clairement à une composition isotopique d'azote de synthèse industrielle ( $\delta = 1,4$  % ; débit : 280 l/s).

Une tentative d'interprétation de ce résultat peut être tentée. Elle fait entre autre appel à l'examen de la relation débit liquide-concentration en nitrate. Cette relation a fait l'objet, sur le bassin de Mèlarchez, d'un examen très attentif et d'interprétations poussées, par R. BELAMIE (1980), au cours des années 1975 à 1978. Il observe que la variation de la concentration en nitrate suit une loi générale croissante bien corrélée avec le logarithme des débits. En fait la mauvaise coïncidence des valeurs extrêmes avec la courbe de tendance générale conduit cet auteur à la réalisation, sur un graphe

---

\* On peut constater sur cette figure 3-20 que la répartition des points n'est pas homogène : on a plutôt un groupement de point à  $\delta^{15}\text{N}$  élevé, correspondant à l'étiage et un autre groupement à  $\delta$  bas et flux élevé, correspondant aux crues. Ce phénomène est dû au fait que la période de montée de crue qui voit le passage d'un régime à l'autre est brève et ne peut donc correspondre qu'à un nombre limité de prélèvements, donc de mesures, cf. figure 3-20 bis, page 336.



semi-logarithmique de ces deux paramètres, de la décomposition suivante des points obtenus par décade :

- les débits extrêmement faibles s'accompagnent d'une chute très rapide de la concentration, et correspondent aux périodes estivales : l'explication proposée est l'existence de phénomène de dénitrification et/ou d'assimilation végétale dans le ruisseau en cours de tarissement.
- De 1 à 10 l/s les variations de concentration sont peu liées au débit : les nitrates correspondraient à l'écoulement de base de la nappe.
- Au-delà de 10 l/s les concentrations augmentent avec les logarithmes des débits : ceci serait dû au lessivage des sols par les pluies d'automne et d'hiver. Les valeurs proposées par BELAMIE (1980) sont :

Campagne 1975-1976	$C = 4,3 + 18,2 \log Q$	$r = 0,87$	$n = 30$
" 1976-1977	$C = 10,6 + 29,8 \log Q$	$r = 0,71$	$n = 27$
" 1977-1978	$C = 5,8 + 16,2 \log Q$	$r = 0,74$	$n = 30$

(C = concentration en azote ; Q = débit liquide)

On remarquera l'exceptionnelle concordance entre les deux campagnes extrêmes et l'effet des conditions climatiques particulières de 1976. L'examen détaillé des crues (1977-1978) conduit toutefois BELAMIE à proposer un découpage (plus ou moins empirique) supplémentaire :

- $10 < Q < 100$  l/s : la concentration augmente avec le logarithme du débit : le phénomène de *lessivage des sols* est prépondérant.
- $Q > 100$  l/s : les concentrations peuvent varier de façon inversement proportionnelle aux débits ; on serait alors en présence d'un régime pluvieux dont l'intensité est très supérieure aux capacités d'infiltration des sols, induisant un *ruissellement* important dont les eaux, moins enrichies en nitrate, provoquent un phénomène de *dilution* dans la rivière.

Nous avons reporté dans un diagramme logarithme du débit-concentration en  $N-NO_3^-$  (figure 3-23) les points correspondants à la totalité de nos analyses. On pourra y retrouver les observations de BELAMIE. On y note en particulier le comportement très différent des points obtenus pendant l'année hydrologique 1975-1976 marquée par la sécheresse : la pente de la droite concentration en nitrate-logarithme du débit est beaucoup plus faible qu'au cours des années 1971, 1972, 1973 et 1977.

Les observations de BELAMIE peuvent contribuer partiellement à l'interprétation de nos résultats.

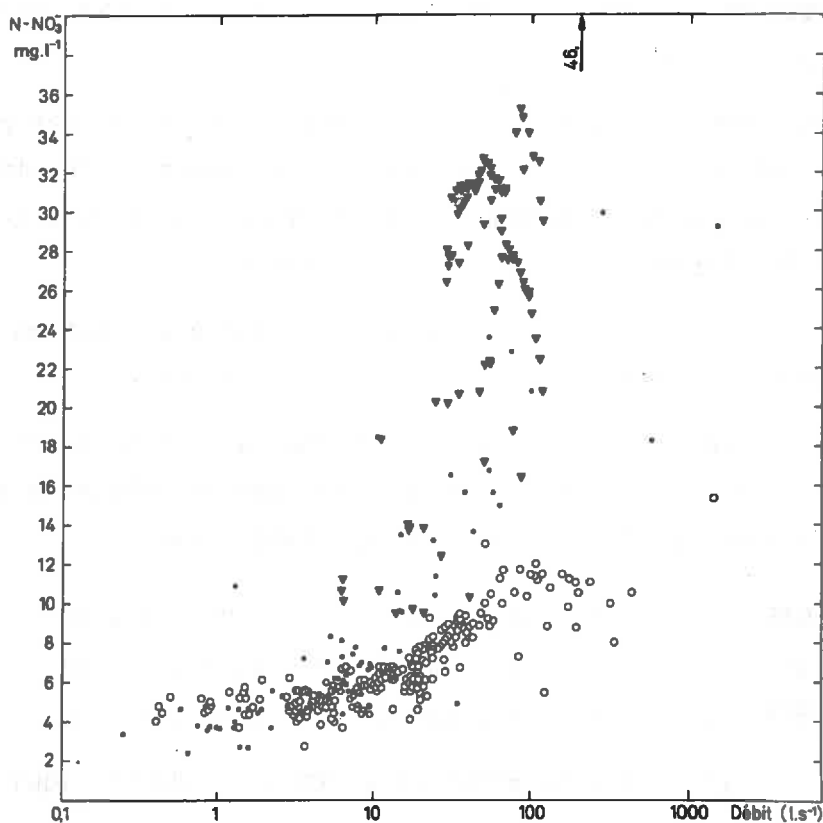


Figure 3-23 : Bassin de Mèlarchez. Diagramme semi-logarithmique concentration en N-NO<sub>3</sub> - débit liquide pour l'ensemble des prélèvements effectués à la station de jaugeage du bassin.

Pour la signification des figurés, voir figure 3-20.

Pour la classe de débit 10 - 100 l/s le lessivage des sols est prépondérant entraînant, selon leur disponibilité immédiate, les nitrates présents dans le sol (d'origine naturelle ou de synthèse) en proportions variables. Pour la classe de débits supérieurs à 100 l/s le ruissellement peut devenir important avec, comme conséquence, une dilution des nitrates, ce qui ne saurait en aucun cas effectuer la composition isotopique de ces nitrates dans la rivière. Cependant un phénomène de ruissellement d'intensité importante suivant de peu l'application des engrais, en mars-avril, par exemple est susceptible d'entraîner par écoulement de surface rapide vers la rivière des quantités importantes de nitrates de synthèse industrielle présents à la surface du sol sous forme de granulés et passés en solution. C'est par un tel phénomène que l'on peut expliquer la composition isotopique de 1,4 ‰ de l'épisode de crue du 12.4.1972 : nous avons là un transfert latéral direct de l'engrais de la surface du sol à la rivière sans transit dans le sol et sans métabolisation donc sans modification *a priori* de son contenu isotopique. En dehors de telles périodes l'azote des engrais transite dans le sol jusqu'au réseau de drainage

il peut être soumis à un grand nombre de transformations :

- adsorption par les plantes supérieures : ceci est surtout le fait de l'ion nitrate.
- Réorganisation par les micro-organismes du sol : l'ammonium est préférentiellement utilisé.
- Fixation et adsorption par les argiles et le complexe absorbant, du cation  $\text{NH}_4^+$ .
- Nitrification de la fraction ammoniacale de l'engrais.
- Dénitrification.

L'absorption des nitrates par les plantes supérieures peut être considérée comme non fractionnante. Pour ce qui concerne la réorganisation de l'ammonium, les choses sont moins claires, l'effet isotopique semblant lié à la concentration en substrat et à l'espèce : dans certains cas, un effet isotopique faible a été mis en évidence. La 4ème étape, nitrification de l'ammonium, présente un facteur de fractionnement isotopique élevé (chapitre 2-2), tel que cette nitrification produit pendant une période importante des nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  inférieur à celui de l'ammonium de départ : ces nitrates auront donc des compositions isotopiques fortement négatives. Un lessivage important pendant cette période pourra être chargé en nitrates dont l'azote aura une composition isotopique inférieure à celle de l'azote des engrais apportés : ces nitrates représentant alors le mélange :

+ du nitrate originellement présent dans l'engrais et dont, en l'absence de dénitrification, la composition isotopique ne subit que peu de variations puisque ce nitrate ne peut être impliqué que dans l'assimilation par les plantes et le lessivage, étapes toutes peu fractionnantes,

+ du nitrate provenant de la nitrification de l'ammonium de synthèse et dont la composition isotopique est variable d'une valeur très négative jusqu'à celle de l'ammonium de départ (environ zéro dans le cas des engrais) lorsque l'oxydation est totale.

Cependant, si on considère le bilan de l'azote d'un système cultural, il est évident que les pertes en nitrate par lessivage ne représentent qu'une faible fraction de l'azote assimilé, donc exporté, par les plantes : l'assimilation des nitrates domine largement les pertes en nitrates dues au lessivage (cf. tableau 3-XI).

La plante, en période favorable à la nitrification, c'est-à-dire, sous nos climats, celle qui suit l'application des engrais au printemps, assimile donc avec un fractionnement nul ou très faible, outre les nitrates

biosynthétiques du sol, les nitrates provenant des engrais apportés :

- d'une part ceux initialement présents,
- d'autre part ceux qui proviennent de la nitrification de l'ammonium, caractérisés par un  $\delta^{15}\text{N}$  négatif. En terme de bilan ceci signifie qu'une quantité notable d'azote appauvri en  $^{15}\text{N}$  est retirée du système par la plante. Ce bilan isotopique se boucle en considérant l'ammonium résiduel des engrais, bien évidemment enrichi en  $^{15}\text{N}$ . Cet ammonium se trouvera bientôt totalement transformé en nitrate. S'il existe dans le sol un excédent d'azote minéral non absorbé par la plante, sous forme de  $\text{NO}_3^-$ , on peut prévoir que l'azote de ce nitrate peut présenter une composition isotopique plus élevée que celle de l'azote de l'engrais de départ. Ainsi, au cours du temps, par le jeu d'un tel mécanisme, s'il existe, le nitrate des engrais pourra voir sa composition isotopique remonter. Il est clair que l'azote de synthèse industrielle apporté au sol peut subir des transformations isotopiques, notamment pour sa fraction ammoniacale, transformations dont la complexité transcende sûrement celle des mécanismes précédemment évoqués. A l'exception de circonstances probablement exceptionnelles où l'on peut voir parvenir à la rivière des nitrates de synthèse industrielle non transformés, par exemple à la suite d'une pluie importante dépassant la capacité d'infiltration du sol et provoquant un important ruissellement à une période où de l'engrais en granulés, non totalement dissous peut encore se trouver à la surface du sol, on doit admettre que l'azote des engrais étant en grande partie métabolisé dans le cycle de l'azote *pourra voir sa composition isotopique se modifier*. Ces modifications ne sont pas forcément très importantes, elles peuvent même être inexistantes : il suffit pour cela que les mécanismes majeurs de métabolisation soient peu fractionnants *et/ou que les transformations soient complètes et rapides : le contenu isotopique d'un réservoir se trouvant alors intégralement transféré dans le réservoir-produit*.

Par exemple, on constate que l'on voit apparaître dans la rivière des nitrates à composition isotopique basse *avant l'application d'engrais de l'année en cours* : ceci semblerait vouloir indiquer qu'un stock de nitrate datant de l'année ou des années précédentes existe dans le sol. On peut toutefois proposer une alternative à cette conclusion. Lorsqu'on se trouve au stade nitrate, le principal devenir de cet ion dans le sol est d'être assimilé par les végétaux supérieurs (en l'absence de conditions favorables à la dénitrification) ce qui contribue à créer un pool de matière organique aisément minéralisable. Ce pool aura une composition isotopique peu différente de celle de l'azote minéral de départ, puisque les fractionnements isotopiques évoqués sont faibles ou nuls.

Lorsqu'une partie de cette fraction de matière organique restée dans le sol sera reminéralisée, à l'automne ou au printemps suivant, la minéralisation et la nitrification *totale* de ce pool aisément minéralisable\* donnera un nitrate à  $\delta^{15}\text{N}$  peu différent de ce qu'il était au départ ; d'autre part, on a vu que le phénomène de minéralisation n'était pas forcément affecté d'un effet isotopique (chapitre 2-2).

Il reste que sur cet exemple du bassin de Mèlarchez, les flux importants en nitrate se caractérisent par des compositions isotopiques plus basses que celles qui accompagnent les flux faibles.

Parmi tous les phénomènes étudiés dans la première partie de ce travail, nous avons vu que *seule la transformation du cycle produisant des nitrates (c'est-à-dire la nitrification s.l.) peut entraîner l'apparition de nitrates à composition isotopique basse*. Les expériences d'incubation de sol montrent clairement ce phénomène : *il se produit en début de nitrification et, en terme de bilan, n'affecte qu'une infime fraction du nitrate synthétisé, ce qui ne peut en aucun cas expliquer les résultats obtenus ici*.

Nous pensons donc que ces nitrates à composition isotopique basse dans la rivière traduisent l'arrivée dans cette dernière de nitrates de synthèse industrielle liés à l'application d'engrais sur le bassin.

*L'ensemble des considérations émises ci-dessus indique déjà clairement que cette méthode, dans l'état actuel de nos connaissances, ne saurait être utilisée en vue de l'établissement d'un bilan quantitatif de ces pertes.*

b. - Famille de composition isotopique supérieure à 10 ‰.

La deuxième famille de points est caractérisée (cf. figure 3-20) par des compositions isotopiques élevées, supérieures à 10 ‰, pouvant dépasser 20 ‰. Ces valeurs élevées s'observent toujours pendant les mois d'été et, dans le cas le plus général, accompagnent des débits et des flux d'azote extrêmement faibles (cf. figures 3-20 et 3-24). En terme de bilan annuel, la contribution de ces nitrates à  $\delta$  élevé est quasi nulle.

---

\* *Ou la minéralisation totale de petits réservoirs élémentaires : au cours du phénomène de minéralisation la matière organique ne peut être considérée comme un réservoir homogène parfaitement mélangé (cf. chapitre 2-2).*

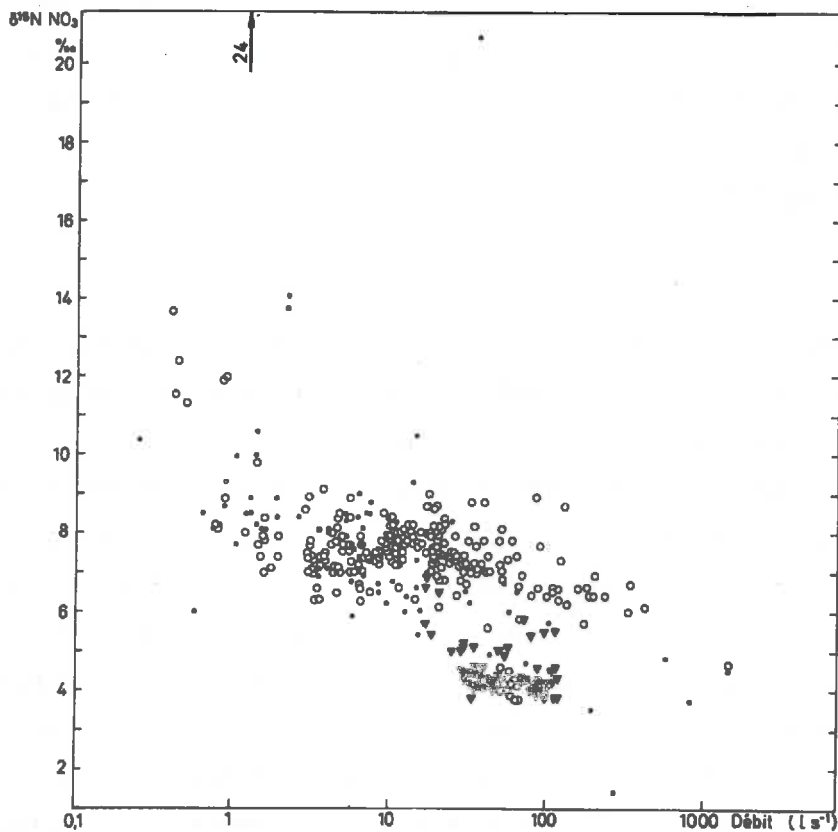


Figure 3-24 : Bassin de Mélarchez. Diagramme semi-logarithmique  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  - débit liquide pour l'ensemble des prélèvements effectués à la station de jaugeage du bassin.

Pour la signification des figurés, voir légende de la figure 3-20.

Nous interprétons ces résultats par la contribution de nitrates résultant de l'oxydation de matières organiques et d'ammoniaque provenant de rejets animaux (purins, fumier) ou domestiques. La perte par volatilisation d'ammoniac  $\text{NH}_3$  au cours de la fermentation ammoniacale enrichit en  $^{15}\text{N}$  l'ammonium résiduel (cf. chapitre 2-6-1). Après oxydation de cet ammonium, ce phénomène contribue à l'apparition de nitrates  $\delta^{15}\text{N}$  élevé. Nous présentons ci-après des arguments qui étayeront cette hypothèse.

On peut remarquer (BEN HALIMA, 1977), au cours de l'année hydrologique 1975-1976, que l'apparition de nitrate à  $\delta^{15}\text{N}$  élevé, s'accompagne quelquefois de l'apparition de traces, ou de faibles quantités, de nitrites ou d'ammonium, étapes transitoires du processus minéralisation-nitrification.

Sur la partie amont du bief limnigraphique du Rû de Rognon aboutissait en 1975-1976, un écoulement à ciel ouvert en provenance de la ferme la plus proche.



Son débit est très faible. Un certain nombre de prélèvements instantanés de cet écoulement, contemporains de prélèvements de la rivière en amont et en aval de la confluence, donne les résultats reportés sur le tableau 3-XVIII. On peut constater sur ce tableau, en B, que l'écoulement est caractérisé :

	Date	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (%)	K <sup>+</sup> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (mg/l)
A Bief limnigraphique en amont de l'écou- lement domestique	21.11.75	10.2	6.4	1.9	31.3
	15.12.75	5.8	5.3	1.5	22.0
	28.01.76	6.9	7.4	1.7	27.8
	25.02.76	8.6	7.5	1.7	26.3
	17.03.76	6.3	7.4	1.6	20.4
	21.04.76	5.7	7.2	1.6	15.6
B Ecoulement domestique qui se déverse dans le bief limnigraphique	21.11.75	8.6	10.2	12.0	31.6
	15.12.75	8.9	11.0	9.8	30.9
	28.01.76	6.6	11.5	13.9	29.1
	25.02.76	9.5	10.6	13.7	30.7
	17.03.76	5.6	12.3	18.1	30.2
	21.04.76	6.7	-	26.7	25.4
C Bief limnigraphique en aval de l'écou- lement domestique	21.11.75	9.3	6.6	2.0	35.0
	15.12.75	3.5	7.6	1.7	22.3
	28.01.76	6.8	7.2	1.9	28.2
	25.02.76	8.6	7.6	2.1	26.7
	17.03.76	5.8	7.9	2.3	22.0
	21.04.76	5.9	7.3	2.0	16.2

Tableau 3-XVIII : Bassin de Mélarchez. Prélèvements réalisés sur le bief limnigraphique montrant l'influence d'un écoulement domestique sur la composition isotopique et chimique de l'eau.

- par des concentrations en nitrates relativement élevées, du même ordre de grandeur que celles de la rivière au même instant, mais toutefois beaucoup moins élevées que celles atteintes dans la rivière pendant les épisodes de crues hivernales.
- Par une composition isotopique toujours élevée, comprise entre 10,2 et 12,3 %. Les prélèvements ayant été effectués en hiver, où les conditions de température sont telles que la volatilisation de l'ammoniac est limitée, on peut s'attendre, en été, à des volatilisations beaucoup plus importante et, partant à des δ<sup>15</sup>N plus élevés.

- Par des concentrations en  $K^+$  très élevées et très variables, contrairement à la rivière (A, tableau 3-XVIII).
- Par des concentrations en  $Cl^-$  un peu plus élevées que celles de la rivière. Sur le tableau 3-XVIII (C) on peut également constater l'influence de l'écoulement domestique sur l'élévation du  $\delta^{15}N$  (et des teneurs en  $K^+$  et  $Cl^-$ ) dans la rivière en aval de la confluence : cette influence, nettement appréciable est toutefois faible car le rapport des débits est largement, en cette période hivernale, en faveur de la rivière. En plein étiage estival, au contraire, on peut estimer que l'influence de l'écoulement domestique, qui reste plus ou moins constant au cours du temps, puisse devenir importante, en valeur relative. On peut ainsi expliquer l'apparition de nitrates à  $\delta^{15}N$  élevé en été,  $\delta^{15}N$  d'autant plus élevé que la température favorisera la minéralisation de la matière organique et surtout la volatilisation de l'ammoniac.

La pollution organique, dans ce cas d'origine domestique, se caractérise par des valeurs élevées de la composition isotopique des nitrates et par la présence, classique, de fortes teneurs en  $K^+$  et  $Cl^-$ .

Sur le bassin de Mélarchez, nous avons pu étudier un certain nombre de puits (cf. figure 3-25) contaminés par des pollutions organiques : qu'il s'agisse de contaminations domestiques, sur des puits situés à proximité immédiate de puits par exemple, ou de contaminations à caractère agricole sur des puits situés à proximité de cours de ferme, près de tas de fumier, etc... Les résultats sont présentés sur le tableau 3-XIX. On y constate que les concentrations en  $K^+$  et  $Cl^-$  sont élevées, et que les  $\delta^{15}N$  sont toujours supérieurs à 0 ‰. Par contre, les concentrations en nitrates sont très variables, de 2,8 à 3,4 mg N/l c'est-à-dire susceptibles d'être inférieures à celles de puits "non pollués" où les nitrates proviennent uniquement d'une minéralisation exacerbée de la matière organique du sol par un intense travail de la terre (tableau 3-XXI, étude du puits 78).

Le puits 55 (figure 3-25) se trouve situé dans une prairie à quelques dizaines de mètres, dans le sens de l'écoulement de la nappe (FILIZ, 1973), du puits 54. Il subit une pollution liée à la présence entre ces deux puits d'un bassin de rejets domestiques. Les résultats obtenus sur le puits 54 figurent également sur le tableau 3-XIX : les teneurs en nitrates, potassium et chlorures sont très basses, de l'ordre de grandeur des références naturelles (cf. tableau 3-XIV). Si on considère que le puits 55 voit le mélange des nitrates naturels biosynthétisés dans cet environnement de prairie, qui est le même pour les autres puits et de nitrates provenant de la contamination organique, de l'équation de mélange classique (figure 3-12) on peut tirer la composition isotopique



de l'azote nitrique de cette composante "contamination organique" (tableau 3-XX).

Puits	Date de prélèvement	Piézométrie H m/sol	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %	K <sup>+</sup> mg/l	Cl <sup>-</sup> mg/l	O <sub>2</sub> dissous % de saturation
77	17.10.1975	1.80	6.7	13.3	35.2	28.9	-
	21.11	1.32	7.5	12.2	35.2	26.9	-
	15.12	1.60	7.1	15.9	27.6	29.8	-
	28.01.1976	1.68	7.4	13.7	15.0	29.5	-
	25.02	1.69	12.5	11.6	20.5	26.4	-
	17.03	1.82	12.2	12.1	18.1	26.8	-
	21.04	1.86	10.7	15.0	15.9	24.0	-
	26.05	2.00	7.2	18.1	13.8	28.4	23
1	17.10.1975	2.40	6.1	15.5	11.2	34.9	-
	21.11	1.60	4.8	11.3	9.3	26.9	-
	15.12	1.17	9.5	11.4	10.5	33.4	-
	28.01.1976	1.10	7.1	11.5	9.7	33.8	-
	25.02	1.03	9.4	9.8	9.8	42.2	-
	17.03	1.30	9.5	10.2	9.4	82.0	-
	21.04	1.57	9.5	11.0	9.7	35.2	-
	26.05	2.40	7.5	11.3	7.8	43.3	16
3	28.01.1976	-	17.1	18.2	7.6	130.6	-
	25.02	-	18.4	8.3	10.6	45.7	-
	17.03	-	21.4	11.9	9.4	112.0	-
	21.04	-	23.4	19.0	7.9	140.0	-
	26.05	-	10.5	17.6	3.4	136.0	.9
55	28.01.1976	0.74	3.1	17.3	12.7	22.8	-
	25.02	0.71	4.2	16.8	15.9	18.2	-
	17.03	0.78	3.8	18.4	12.7	19.7	-
	21.04	1.00	3.1	16.5	13.1	21.6	-
	26.05	1.14	2.8	14.2	25.6	17.4	4
54 (référence naturelle locale pour 55)	28.01.1976	1.05	0.5	7.1	0.3	3.8	-
	25.02	0.86	0.5	4.6	0.6	4.1	-
	17.03	1.18	0.7	5.5	0.4	2.8	-
	21.04	1.36	0.7	7.4	0.2	3.1	-
	26.05	1.70	0.3	8.4	0.2	0.8	16

Tableau 3-XIX : Composition chimique et teneurs en <sup>15</sup>N de quelques puits superficiels situés sur le bassin de Mélarchez (cf. figure 3-25) et atteints par une contamination de "type organique", caractérisée par de fortes teneurs en K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> et <sup>15</sup>N.

Date	δ <sup>15</sup> N % composante "contamination organique"
28.01.76	19.3
25.02.76	18.4
17.03.76	21.3
21.04.76	19.2
26.05.76	14.9

Tableau 3-XX

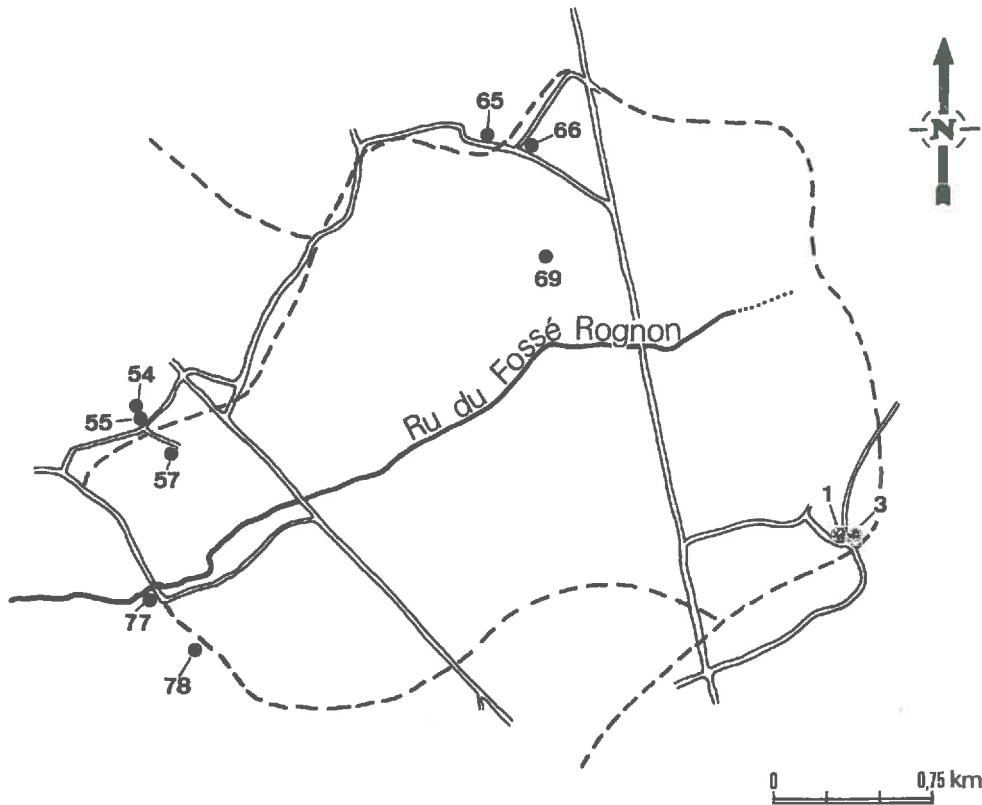


Figure 3-25 : Bassin de Mélarchez. Carte de localisation des puits étudiés.

On peut donc considérer que le processus d'admixtion de nitrates provenant de l'oxydation de matières organiques d'origine domestique ou agricole, après concentration isotopique de  $^{15}\text{N}$  dans l'ammoniaque par distillation partielle de  $\text{NH}_3$  est responsable de l'apparition de nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  supérieur à 10 ‰, dans la rivière.

Rappelons que le  $\delta$  moyen pondéré par le flux azoté est, durant l'année hydrologique 1971/1972 par exemple, de 3,9 ‰ pour la période hivernale, 7,9 ‰ pour l'été et pour l'ensemble de l'année hydrologique : 4,1 ‰ : cette source de nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  élevé présente une influence quasi-nulle sur le bilan en azote de la rivière. La mise en évidence de ces nitrates dans la rivière ne peut être claire que pendant les périodes où le débit liquide et donc le flux d'azote sont au plus bas. Ce sont par ailleurs les périodes (été) où ces nitrates sont *a priori* les plus marqués par leur contenu isotopique (volatilisation de  $\text{NH}_3$  plus importante).

Nous pouvons donc proposer un modèle de mélange simple tripolaire : nitrates naturels de biosynthèse, nitrates de synthèse industrielle et nitrates dits de "pollution organique". Cette troisième source quantitativement très

inférieure aux deux précédentes dans le cas étudié ne peut s'exprimer qu'en périodes exceptionnelles où les deux sources majeures deviennent très discrètes. Cette circonstance est favorable car un mélange tripolaire de sources à émission quantitativement voisines n'aurait pu être résolu par l'analyse de seulement deux paramètres.

Si la caractérisation des sources est plus ou moins établie, il reste à proposer un modèle de fonctionnement du système.

E) Modèle hydrodynamique.

Ce modèle sera largement inspiré de celui proposé par BLAVOUX (1978) et FILIZ (1973). Une étude hydrologique isotopique ( $^{18}\text{O}$ ) conduit ces auteurs à constater que l'alimentation du Rû du Fossé Rognon, en période d'étiage prolongé, provient essentiellement des petites nappes libres des limons. L'étude de la parcelle de Boissy-le-Château montre, au cours de périodes de drainage de juillet et août 1972, l'existence de transits directs et rapides de la pluie vers les drains, alors que l'on s'attendait plutôt à des transferts de pression dans un milieu réputé peu perméable et argileux. Ces transits directs constituent l'essentiel de l'écoulement des drains en juillet et août.

Par contre, en novembre le niveau piézométrique remonte jusqu'au niveau des drains qui évacuent alors l'eau de l'aquifère à nappe libre. Les auteurs constatent cependant que le transit direct de la pluie n'est pas absent des écoulements de cette période : il peut atteindre, instantanément jusqu'à 30 % du débit total.

L'étude de l'écoulement de deux champs cultivés drainés confirme ces résultats : au cours d'écoulements d'avril et novembre 1972, la concentration en  $^{18}\text{O}$  varie peu autour de la valeur qui est celle des eaux souterraines (- 6,9 %). Elles ne sont que peu influencées par les pluies de la saison de drainage qui sont pourtant assez marquées en  $^{18}\text{O}$  par rapport à l'eau de la nappe. Ces drains fonctionnent, comme ceux de la parcelle de Boissy, comme des évacuateurs des eaux de la nappe en rabattant les niveaux piézométriques. Néanmoins, une partie faible du transit direct de la pluie est interceptée par le réseau de drains, soit directement, soit par l'intermédiaire de la frange supérieure de l'aquifère qui serait plus ou moins stratifié. Enfin, l'analyse au moyen de  $^{18}\text{O}$  des hydrogrammes de crue à la station de Mélarchez confirme ces résultats. En avril et novembre les crues sont essentiellement "souterraines" leur composition isotopique est celle de la nappe : l'écoulement de ces crues est constitué par l'eau de la nappe des limons écrêtée et évacuée par le réseau de drainage. Au contraire, une crue estivale (2 août 1972) (figure 3-18) montre

que la contribution de la pluie, caractérisée par une composition isotopique en  $^{18}\text{O}$  très négative (- 9,05 %) est prépondérante, notamment en début de crue. Essayons d'appliquer ce modèle à nos résultats.

Caractérisation par leur composition isotopique ( $^{15}\text{N}$ ) des nitrates de la nappe des limons.

Sur le bassin de Mélarchez nous avons sélectionné un certain nombre de puits atteignant la nappe superficielle des limons sur des critères stricts concernant leur environnement, en rejetant tous les puits situés à proximité de puisards, de cour de ferme et les puits où les teneurs en  $\text{K}^+$  et  $\text{Cl}^-$  sont anormalement élevées : ceci pour éviter les contaminations azotées d'origine organique (cf. paragraphe précédent).

Nous avons retenu (cf. figure 3-25) 4 puits :

Identification (figure 3-25)	Fond/sol (m)	Environnement immédiat
54	3.92	Prairie
65	8.35	Prairie
66	6.80	Jardin potager
78	3.50	Jardin + champ cultivé

Les résultats analytiques figurent sur le tableau 3-XXI. Les concentrations en  $\text{K}^+$  et  $\text{Cl}^-$  sont souvent supérieures à celles rencontrées dans l'écoulement du drain de la parcelle de Boissy-le-Chatel, référence naturelle, mais très inférieures à celles rencontrées dans des puits atteints par une pollution organique. Les concentrations en nitrates sont très variables : très faibles sous les prairies, élevées à très élevées sous les jardins et champs cultivés où la terre est très travaillée (labourage, hersage, binage), favorisant l'absorption d'humidité et la circulation de l'air, et stimulant l'activité nitrificatrice. Ces résultats sont classiquement observés dans ces différents milieux (POCHON et DE BARJAC, 1958).

Puits	Date de prélèvement	Piézométrie H m/sol	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %	K <sup>+</sup> mg/l	Cl <sup>-</sup> mg/l
54	28.01.1976	1.05	0.5	7.1	0.3	3.8
	25.02	0.86	0.5	4.6	0.6	4.1
	17.03	1.18	0.7	5.5	0.4	2.8
	21.04	1.36	0.7	7.4	0.2	3.1
	26.05	1.70	0.3	8.4	0.2	0.8
65	15.12.1975	2.30	1.2	4.4	6.1	10.5
	28.01.1976	2.10	0.9	-	6.2	12.5
	25.02	1.30	1.0	4.9	6.4	14.6
	17.03	1.52	0.7	-	6.2	13.8
	21.04	2.02	0.7	5.2	6.3	12.2
26.05	2.65	0.1	-	5.0	11.7	
66	17.10.1975	3.35	35.2	7.3	0.6	24.2
	21.11	3.17	33.2	6.9	0.4	26.7
	15.12	2.14	25.9	6.6	0.6	26.7
	28.01.1976	2.01	38.3	7.1	0.6	26.8
	25.02	1.70	36.6	7.2	0.6	26.4
	17.03	1.83	40.0	7.1	0.6	26.0
	21.04	2.16	37.5	6.5	0.6	23.6
	26.05	2.65	36.6	6.4	0.3	25.6
78	13.05.1972	-	15.5	8.6	-	-
	12.06	-	13.0	8.8	-	-
	17.07	-	15.0	8.3	-	-
	03.08	-	15.0	7.8	-	-
	04.10	-	15.0	8.1	-	-
	17.11	-	15.0	6.8	-	-
	17.10.1975	1.07	11.3	6.9	1.0	19.9
	21.11	0.57	11.6	6.9	0.7	20.4
	15.12	0.80	9.8	6.8	0.9	21.7
	28.01.1976	0.78	9.5	7.1	0.8	22.2
	25.02	0.80	12.5	7.0	0.8	21.6
	17.03	0.92	11.6	7.5	0.9	22.6
	21.04	1.10	10.7	7.3	0.8	28.0
26.05	1.40	9.1	6.8	0.4	26.6	

Tableau 3-XXI : Composition isotopique et teneurs en <sup>15</sup>N de quelques puits superficiels situés sur le bassin de Mèlarchez.

Les compositions isotopiques des nitrates sont légèrement inférieures dans la partie de la nappe située sous prairie (puits 54 :  $\bar{m} = 6,6 \%$  ; puits 65 :  $\bar{m} = 4,8 \%$ ) que sous sol cultivé (puits 66 :  $\bar{m} = 6,9 \%$  ; puits 78 :  $\bar{m} = 7,5 \%$ ). L'explication de ces écarts est sans doute liée à une différence de composition isotopique de la matière organique du sol, toujours un peu plus élevée sur sol cultivé que sur sol resté en prairie : on se reportera à l'étude des parcelles Dehérain à Grignon, chapitre 2-7-4.

Il reste que ces compositions isotopiques, surtout celles observées dans les puits en zone de culture, sont de l'ordre de grandeur de celles obtenues sur la parcelle de Boissy-le-Chatel : on peut donc estimer que la nappe, sur l'exemple des puits étudiés contient pour l'essentiel des nitrates d'origine biosynthétique.

D'autre part, il est très clair que la gamme de concentration en nitrate rencontrée sur ces quelques exemples est très large, à tel point que ces concentrations peuvent largement dépasser la norme actuellement en vigueur (10 mg N/l) et être supérieures à celles de puits "pollués" par des contaminations organiques (cf. tableau 3-XIX).

L'étude d'écoulements provenant de drains situés sous des champs cultivés a été effectuée en avril et novembre 1972 puis février 1977. Les résultats pour avril et novembre 1972 sont présentés sur la figure 3-26. L'épisode d'écoulement au drainage de février 1977 a été suivi du 14 au 21 février par échantillonnage moyen journalier ou moyen sur 8 h. Les résultats sont reportés sur un diagramme concentration N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> - δ<sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (figure 3-27) sur lequel nous avons également fait figurer les résultats obtenus en février et mars 1977 sur le Rû de Rognon.

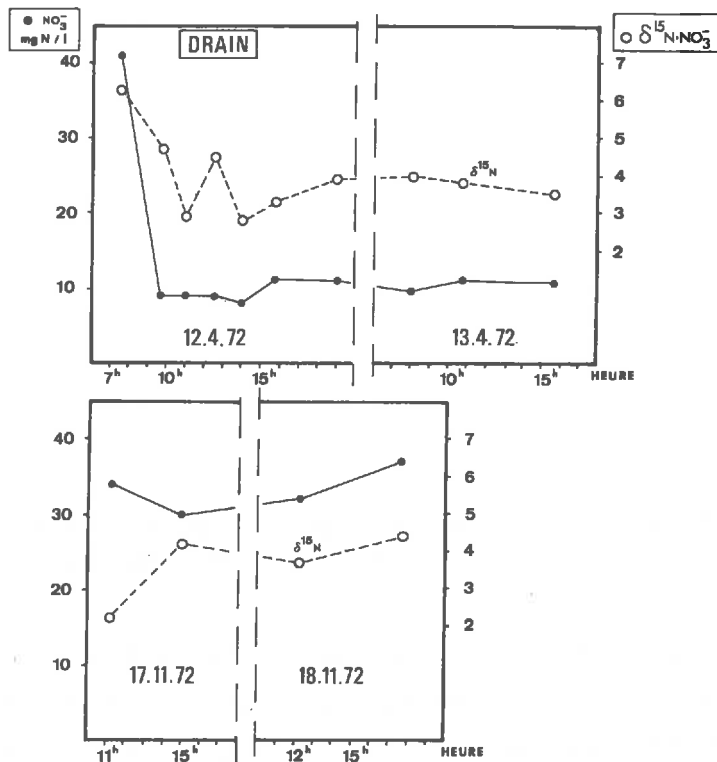


Figure 3-26 : Evolution de la concentration et de la composition isotopique des nitrates contenus dans l'eau d'un drain au cours de deux épisodes pluvieux de l'année 1972.

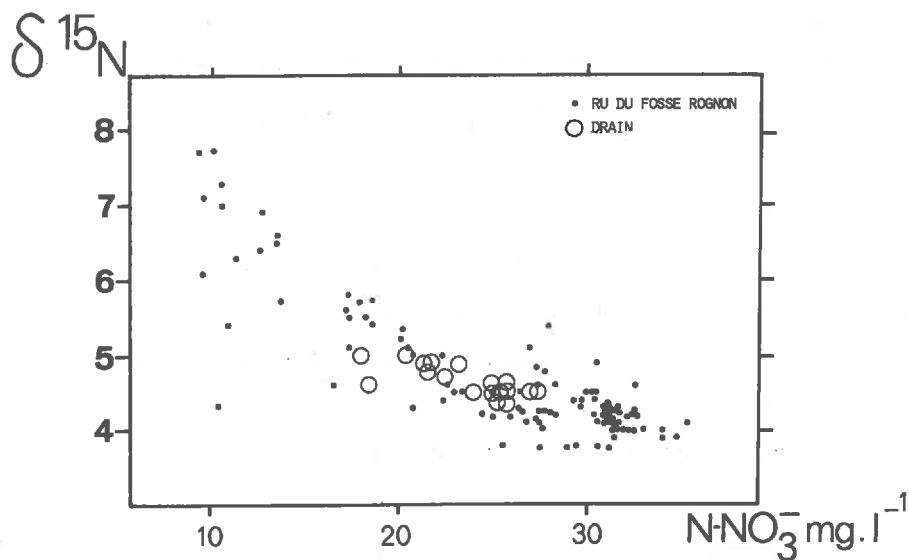


Figure 3-27 : Bassin de Mélarchez. Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en  $\text{N-NO}_3^-$  obtenu en février et mars 1977 d'une part dans la rivière, à la station de jaugeage, d'autre part sur un écoulement de drain.

*Pendant les périodes de fort débit liquide, correspondant aux fortes concentrations en azote et aux faibles valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$ , il est clairement établi l'identité des nitrates obtenus au drainage (cercles) et des nitrates de la rivière (points).*

En 1972 au cours des deux épisodes de drainage étudiés, la composition isotopique des nitrates est comprise entre 2 et 4,5 ‰, à l'exception du premier écoulement du 12.4.1972 qui est plus élevé (6,2 ‰).

En 1977 le suivi du drainage montre sans ambiguïté (figure 3-27) l'identité des nitrates entre le drainage et l'écoulement de la rivière, identité tant en concentration qu'en composition isotopique ; il est clair que durant cette période, les écoulements dans la rivière sont en majorité sous contrôle quantitatif et qualitatif des écoulements du drainage.

On peut donc proposer à l'échelle du bassin de Mélarchez une hypothèse de fonctionnement hydrodynamique expliquant les transferts d'azote.

La nappe libre des limons soutient le débit d'étiage de la rivière ; elle contient des nitrates qui ont la même identité isotopique que ceux présents dans cette rivière en étiage. Ces valeurs de compositions isotopiques sont celles que nous avons retenue comme caractéristiques de nitrates biosynthétisés dans le type de sol du bassin de Mélarchez : entre 7 et 8,5 ‰ environ.



Les eaux de drainage contiennent des nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  plus bas, qui expliquent les valeurs atteintes dans la rivière en période de crue. Ces compositions isotopiques basses ne peuvent être dues selon nous qu'à un phénomène de mélange avec des nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$  : nous proposons les nitrates de synthèse industrielle des engrais.

Pendant les épisodes pluvieux d'hiver ou de printemps, la nappe libre des limons remonte et se trouve écrêtée de sa frange supérieure par le réseau de drainage ; en remontant elle va à la rencontre des nitrates de la solution de la zone agronomique du sol contenant une partie de nitrate à bas  $\delta^{15}\text{N}$ .

La frange supérieure de l'aquifère peut se trouver ainsi plus ou moins stratifiée en nitrates mais elle va être évacuée par le réseau de drainage en hiver.

Un tel système est donc susceptible de protéger le corps de la nappe de l'arrivée des nitrates à composition isotopique basse. Toutefois une très légère contribution de ces nitrates pourrait expliquer les fluctuations enregistrées de la composition isotopique des nitrates de la rivière en étiage (cf. figure 3-18) : autour de 7 % en hiver et 8,5 % en été ; variations que l'on peut retrouver sur le puits 78 (tableau 3-XXI) du 13.5.72 au 17.11.72 : la composition isotopique de l'azote s'abaisse sensiblement de 8,5 environ à 6,8 %, en novembre, au moment où le niveau piézométrique (FILIZ, 1973), après avoir marqué une période stationnaire en avril-mai et s'être abaissé jusqu'en octobre, accuse une brusque remontée. Bien évidemment selon que le front de nitrate à basse composition isotopique se trouve au-dessus ou au-dessous du réseau de drains les premiers écoulements liés à la remontée de la nappe seront respectivement plutôt proches de la valeur de la nappe (ex. de l'épisode de début de drainage du 12.4.72 : 6,2 %) ou plus proches de la valeur de la solution du sol qui peut contenir selon la période de notables quantités de nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$ .

On constate ainsi que l'écoulement au drainage serait déjà en lui-même, pour les nitrates, un mélange ; mélange des nitrates de la solution du sol et des nitrates de la nappe. Le suivi des compositions isotopiques des nitrates de la rivière montrera donc successivement : en étiage l'apparition des eaux qui caractérisent la nappe :  $\delta^{15}\text{N}$  autour de 7 à 8,5 % ; en crue, des nitrates qui résulteront eux-mêmes du mélange de nitrates de la nappe et de nitrates du sol\*, la composition isotopique de ce mélange correspond à l'asymptote horizontale des figures 3-19 et 3-20.

---

*Eux-mêmes par ailleurs mélange de plusieurs nitrates : biosynthétique, de synthèse industrielle...).*



La valeur de cette asymptote (3,5 à 3,8 ‰) ne correspondrait plus alors, dans un tel modèle, à la composition isotopique des nitrates des engrais modifiée par les transformations subies dans le sol mais à la composition isotopique du mélange. La figure 3-20 représenterait alors le mélange entre un pôle pur et un pôle constitué lui-même d'un mélange.

Il reste à expliquer le fait que la nappe des limons contienne des nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  voisin de 7 à 8 ‰, pour lesquels on peut proposer l'hypothèse d'une origine biosynthétique. Certes cette nappe peut se trouver en grande partie protégée de l'arrivée des nitrates de synthèse industrielle, à composition isotopique basse, par le réseau de drain : ceci ne suffit cependant pas à expliquer le fait que la nappe soit exclusivement alimentée par des nitrates naturels. On peut envisager la production de nitrate par nitrification dans les parties profondes du sol : cela paraît peu plausible, l'essentiel de la capacité de nitrification d'un sol étant en général limité aux premiers centimètres du sol. En fait, on l'a vu précédemment, on peut considérer qu'en été le sol argilo-limoneux du bassin de Mélarchez, comme celui de la parcelle de Boissy-le-Chatel se comporte, au point de vue hydrodynamique, comme un karst avec des transferts directs rapides liés à l'ouverture d'une macroporosité importante (fentes de dessiccation etc...). Certes le réseau de drainage peut intercepter une partie de ces transferts *per descensum* mais probablement une fraction importante échappe à ce sort et alimente la nappe dont le niveau piézométrique est alors en-dessous du réseau de drains.

Ces transferts rapides, circulant dans la macroporosité du sol, alors ouverte, peuvent lessiver les nitrates présents sur les flancs des microfractures, fentes de dessiccation... Avant la dessiccation importante du sol, les conditions d'humidité, de température, de circulation de l'air dans la macroporosité commençant à s'ouvrir, sont optimales pour la minéralisation de la matière organique du sol et la nitrification. L'essentiel des nitrates présents dans cette macroporosité peut donc être d'origine biosynthétique naturelle. Ces nitrates seront totalement différents de ceux emprisonnés dans les sites de la microporosité, à l'intérieur des agrégats. Ces derniers ne peuvent être repris par ces transferts rapides de solution en été. Par contre, ce sont eux qui circulent lentement, dans le sol en hiver, au travers de la microporosité, la macroporosité étant alors inexprimée.

D'autre part, on peut considérer qu'en été l'essentiel des nitrates des engrais a été exporté par les parties aériennes des végétaux ou se trouve stocké sous forme organique plus stable (racines etc...). Ce modèle explique donc que la partie profonde de la nappe libre puisse être préservée en grande partie en hiver de l'arrivée de nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$ , ces derniers se trouvant "court circuités" par le réseau de drainage. Cette nappe est par contre préférentiellement alimentée en été par des nitrates d'origine biosynthétique naturelle

véhiculés dans une macroporosité ouverte par des transferts verticaux rapides et directs liés à des épisodes pluvieux brefs (orages d'été). Ce schéma est cohérent avec les modèles de circulation hydrique proposés par BELAMIE (1978 et 1980) et BLAVOUX (1978) et explique nos résultats analytiques.

#### F) Conclusions.

L'étude du bassin de Mèlarchez révèle donc que les deux sources essentielles de nitrate contribuant à la contamination du Rû du Fossé Rognon sont :

- d'une part les nitrates provenant de la minéralisation de la matière organique des sols cultivés, assurant une contamination continue, sorte de "bruit de fond", de concentration non négligeable (environ 5 à 6 mg N/l, cf. figure 3-18, période d'étiage relatif), pouvant atteindre localement de très fortes valeurs (cf. puits 66, sous jardin, tableau 3-XXI),
- d'autre part des nitrates liés à la fertilisation azotée minérale ; cette contribution est discontinue, on ne peut l'observer que lorsque les flux d'azote sont importants, c'est-à-dire en période de crue. Sur le plan quantitatif cette source domine la précédente à l'exception d'années très particulières comme 1976, marquée par la sécheresse.

Ces résultats sont tout à fait comparables, quant aux conclusions et quant aux ordres de grandeur numériques du dossier analytique, à ceux obtenus par KOHL, SHEARER et COMMONER (1971) sur le bassin drainé de la rivière Sangamon dans la Corn Belt de l'Illinois. La figure 3-28, extraite de cette publication, est à comparer avec nos figures 3-20 ou 3-21.

Sur l'exemple du bassin de Mèlarchez, la source d'azote nitrique provenant de la minéralisation de rejets organiques domestiques ou agricoles\* est quantitativement négligeable. Un deuxième exemple, portant sur l'étude isotopique des nitrates des eaux superficielles d'un bassin proche de celui de l'Orgeval, le bassin de l'Yerres (figures 3-29 et 3-44) montrera l'impact de l'urbanisation sur la pollution nitrique des eaux de surface (et, dans ce cas précis, des eaux souterraines).

---

\* Impossibles à différencier entre eux par la technique isotopique mais qui pourraient l'être par l'analyse du contenu en Bore, spécifique de la pollution domestique.

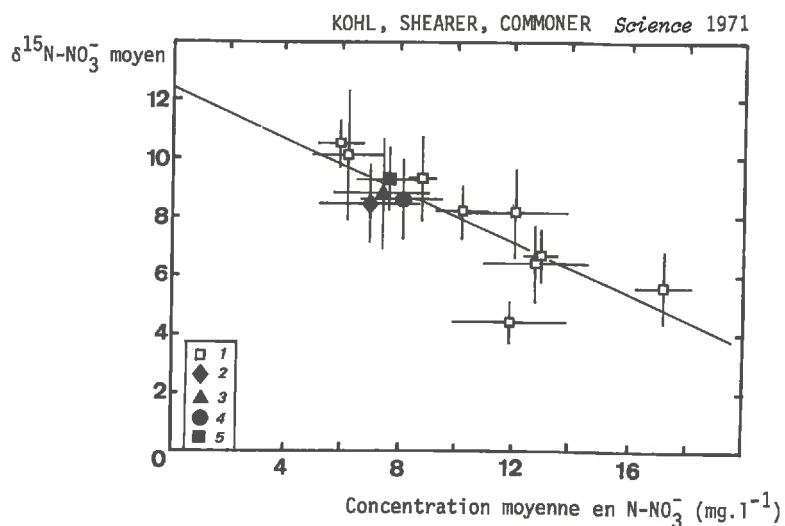


Figure 3-28 : Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en  $\text{N-NO}_3^-$ . Bassin de la rivière Sangamon (Illinois) (d'après KOHL, SHEARER et COMMONER, 1971).

- 1) Effluent de drainage
- 2) Lac Decatur (au barrage)
- 3) Lac Decatur (entrée de la retenue)
- 4) Rivière Sangamon près de Cerro Gordo
- 5) Fossé de drainage à Cerro Gordo

Chaque point représente la moyenne et l'écart-type d'échantillons prélevés entre janvier et juin 1970 (période d'écoulement des drains).



II. - LE BASSIN DE L'YERRES.

A) Situation géographique, géologique et occupation des sols  
S.R.A.E., 1973).

L'Yerres est un affluent rive droite de la Seine qu'elle rejoint à Crosne après un parcours de 88 km (cf. figures 3-29 et 3-44).

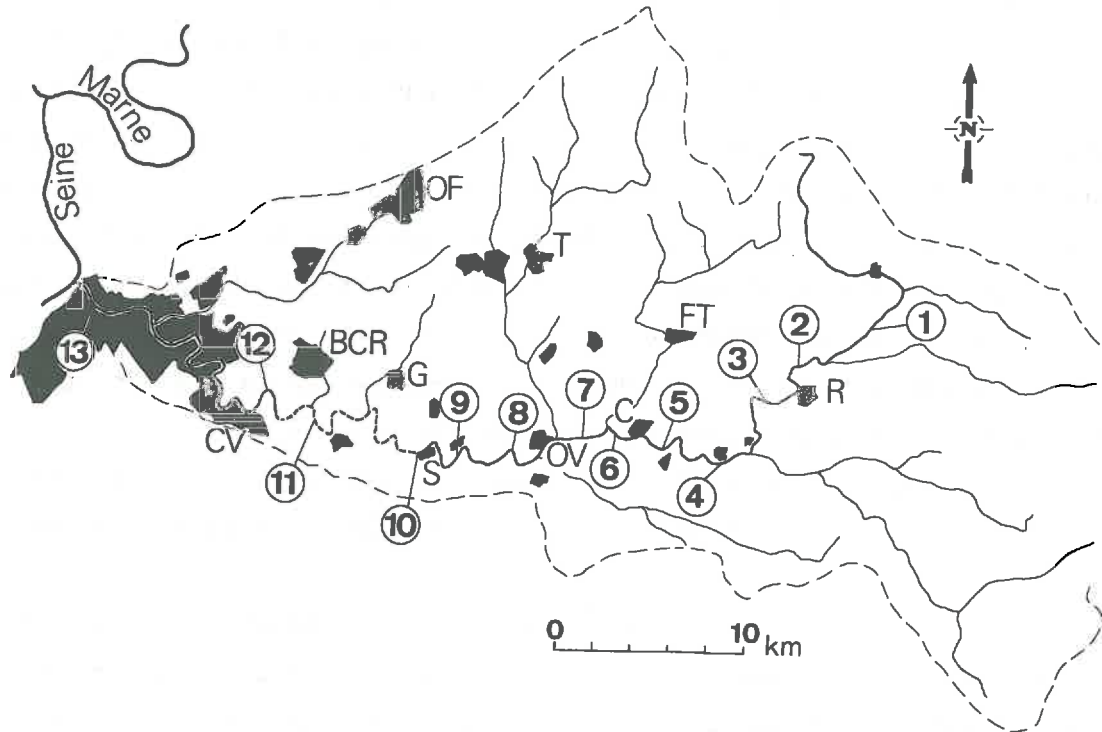


Figure 3-29 : Le bassin de l'Yerres. Situation des points de prélèvement (de 1 à 13). Sur le cours de la rivière, les zones de pertes sont indiquées en pointillés.

Agglomérations : BCR : Brie-Comte-Robert ; C : Chaumes ;  
CV : Combs-la-Ville ; FT : Fontenay-Trésigny ;  
G : Grisy ; OF : Ozoir-la-Ferrière ;  
OV : Ozouer-le-Voulgis ; R : Rosay ;  
S : Soignolles ; T : Tournan.

Stations de jaugeage : 4 : Courtomer (gestion S.R.A.E.)  
13 : Crosne (gestion : Circonscription  
électrique "Nord et Paris").

Le plateau de Brie qui est traversé par la vallée de l'Yerres est constitué par des limons et calcaires de Brie (Sannoisien) déterminant la surface structurale du plateau briard, qui reposent sur les marnes vertes, glaises à Cyrènes (Sannoisien) et marnes syragypseuses (Ludien). Cet ensemble constitue les formations de Brie ; elles surmontent les calcaires de Champigny

formant un aquifère multicouche. Cette nappe s'écoule selon la direction générale de la vallée de l'Yerres.

L'Yerres a déblayé largement les formations de Brie en entaillant plus ou moins profondément le calcaire de Champigny. *Cette formation est fortement karstifiée ce qui permet l'établissement d'échanges entre les eaux de l'Yerres et celles de la nappe du calcaire de Champigny.*

En étiage, la rivière est en position suspendue et alimente la nappe par des pertes entre Soignolles et Grisy (cf. figure 3-29 : partie pointillés); plus à l'aval, entre Grésy (point 11 de la carte de la figure 3-29) et Combs-la-Ville, le niveau piézométrique de la nappe atteint et dépasse la surface topographique : la rivière est alors en position soutenue par rapport à la nappe et elle est alimentée par cette dernière (MEGNIEN, 1970). En fait ces inter-communications des eaux superficielles et des eaux souterraines obéissent à un modèle infiniment plus complexe, les relations étant variables dans l'espace, dans le temps, notamment selon les saisons et la pluviométrie qui conditionnent les positions respectives des niveaux de la nappe et de la rivière. Les études hydrologiques précises par jaugeage fixe ou volant (S.R.A.E., 1973), montrent notamment, que les pertes de l'Yerres commencent déjà, au droit de Rosay (figure 3-29) donc très en amont du secteur où elles sont maximales (entre Soignolles et Grésy).

En conclusion, il est clair que dans cette région, la nappe des calcaires de Champigny est potentiellement très sensible aux pollutions par les eaux superficielles, pollutions qui pourront se propager très rapidement dans le corps de la nappe, compte tenu de l'importance de la fissuration du calcaire de Champigny.

#### + Occupation des sols.

Le bassin de l'Yerres montre, en amont, un caractère rural sur le plateau de Brie occupé par des cultures de céréales, betteraves, maïs. Vers l'aval, on assiste à une augmentation de l'emprise des sols par le tissu urbain (figure 3-29). La plupart des agglomérations riveraines ont une vocation rurale ; certaines prennent un caractère industriel le long de la R.N. 19. Les flancs de la vallée sont boisés et en raison de leur escarpement, ils sont les lieux privilégiés de dépôts d'ordure (Brie-Comte-Robert, Evry-les-Châteaux, Grégy, Solers, Mardilly, Suisnes) (S.R.A.E., 1973).

L'étude du S.R.A.E. (1973) sur le secteur Chaumes-en-Brie, Combs-la-Ville apporte des précisions sur la pollution induite par les agglomérations sur l'Yerres ou ses affluents. Sur le tableau suivant ces résultats globaux sont reportés.

Nombre d'habitants (1973)	Pollution créée (kg/j)	Pollution résiduelle (kg/j)
29458	4127	1854

La pollution créée, en kg/j, résulte de l'application des barèmes de l'Agence de Bassin Seine Normandie : les chiffres correspondent à la somme des matières en suspension et des matières oxydables. La pollution résiduelle est celle qui résulte de l'existence éventuelle d'une station d'épuration. Le rendement global de l'épuration sur le bassin de l'Yerres est de 0,55 mais ces chiffres semblent surestimés en raison du mauvais fonctionnement d'une grande partie des stations (S.R.A.E., 1973).

Enfin soulignons qu'un grand nombre d'agglomérations ne possède pas de station d'épuration.

B) Etude de la composition isotopique des nitrates.

1) Prélèvements.

Cette étude a consisté en la réalisation de 4 profils en long instantanés de la rivière, respectivement les 1er et 31 mai 1977, le 27 septembre 1978 et le 14 janvier 1981 (ces deux derniers prélèvements ont été réalisés par le S.R.A.E.).

D'autre part il a été réalisé un suivi, à différentes périodes de l'année hydrologique, de deux points sur la rivière, correspondant à des stations de jaugeage : respectivement Courtomer (point de prélèvement 4 de la figure 3-29) et Crosne (point de prélèvement 13 de la figure 3-29).

2) Etude des profils en long de la rivière Yerres.

Trois des quatre profils réalisés sont détaillés (9 ou 11 points de prélèvement) et ont été effectués en période de basses eaux, aux mois de mai et de septembre (débit à Courtomer respectivement de 0,36 , 0,27 et 0,158 m<sup>3</sup>/s). Le quatrième profil est moins détaillé (5 points de prélèvement) ; il est effectué en période de hautes eaux, à la mi-janvier (débit à Courtomer : 2,02 m<sup>3</sup>/s). Les résultats obtenus sont présentés sur le tableau 3-XXII et les figures 3-30 et 3-31.



Point de prélèvement (cf figure 3-29)	Débit l/s	Température eau °C	Conductivité µmho/cm à 20°C	O <sub>2</sub> dissous mg/l	% de la saturation O <sub>2</sub>	DBO 5 mg/l	Na <sup>+</sup> mg/l	K <sup>+</sup> mg/l	Cl <sup>-</sup> mg/l	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/l	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	Flux de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> g/s	PO <sub>4</sub> <sup>=</sup> mg/l	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %	δ <sup>15</sup> N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> %
CAMPAGNE DE PRELEVEMENT DU 1er MAI 1977																
13	1200	11.0	747	5.9	55	-	35.0	5.0	53.2	0.98	0.14	39	46.8	3.2	11.7	12.2
12		12.0	752	7.1	68	-	30.5	5.8	56.8	1.76	0.20	47		1.9	10.3	9.3
11		13.0	709	9.9	97	-	25.0	5.1	49.7	0.14	0.08	49		0.7	10.2	
10		13.0	704	9.6	94	-	25.0	4.7	53.2	0.13	0.08	50		0.7	9.2	
9		12.0	683	9.6	92	-	25.0	4.4	49.7	0.10	0.12	60		0.7	10.2	
8		12.5	591	9.9	96	-	26.5	4.9	46.5	0.28	0.16	55		0.7	10.1	
7		13.0	626	11.1	109	-	22.0	3.4	35.5	0.18	0.13	58		0.5	9.9	
4		360	13.0	647	9.4	92	-	17.5	2.9	31.9	0.10	0.15	59	21.2	0.1	7.8
2	140	12.5	467	7.7	74	-	15.0	2.5	35.5	0.12	0.10	60	8.4	0.1	7.6	
CAMPAGNE DE PRELEVEMENT DU 31 MAI 1977																
13	860	16.0	734	5.4	56	9.7	26.0	4.8	63.9	0.60	0.94	37	32.9	2.7	12.3	
12		14.0	783	5.0	51	9.0	26.8	5.8	71.0	1.20	3.05	41		5.4	12.0	18.9
11		16.0	701	9.2	96	-	20.0	5.6	56.8	0.13	0.33	37		1.2	12.0	
10		16.0	701	9.4	98	7.3	21.2	5.0	63.9	0.16	0.63	36		2.0	12.0	
9		16.5	683	6.5	68	-	20.3	4.6	63.9	0.07	0.56	39		2.1	11.3	
8		16.0	690	6.6	69	2.6	20.8	4.6	62.5	0.05	0.74	38		1.9	11.3	
7		16.0	614	9.2	96	6.4	17.0	3.4	49.7	0.04	0.35	33		1.6	11.0	
4		270	15.0	629	8.9	91	3.9	14.4	3.5	42.6	0.05	0.29	40	10.8	0.5	10.0
2	140	15.0	618	10.0	102	2.2	12.8	2.6	42.6	0.06	0.20	49	6.9	0.5	7.8	
CAMPAGNE DE PRELEVEMENT DU 27 SEPTEMBRE 1978																
11	76	13.4	700	11.0	106	-	21.5	7.2	50.0	0.03	0.14	32	2.4	2.2	10.9	
10	139	13.6	815	12.0	120	-	22.0	7.8	55.0	0.10	0.22	43	6.0	2.7	9.2	
9	140	13.2	775	11.4	106	-	21.0	7.0	50.0	0.05	0.53	48	6.7	2.7	9.2	
8	136	12.9	735	9.7	92	-	21.5	7.2	51.0	0.27	1.40	48	6.5	2.7	9.1	
7	101	12.4	685	14.0	132	-	16.5	5.3	41.0	0.08	0.06	37	3.7	1.1	10.3	
6	119	12.8	700	9.8	93	-	15.4	5.4	39.0	0.11	0.13	39	4.6	1.2	9.8	
5	147	12.8	655	12.0	113	-	14.1	4.9	39.0	0.07	0.25	43	6.3	0.6	9.1	
4	158	13.5	720	10.0	97	-	13.6	4.5	38.0	0.06	0.16	45	7.1	0.7	8.2	
3	166	13.7	720	10.0	97	-	13.6	4.1	36.0	0.11	0.40	46	7.6	0.7	8.3	
2	154	12.8	715	10.4	99	-	11.8	3.9	34.0	0.06	0.14	52	8.0	0.1	7.3	
1	33	12.8	770	8.8	83	-	12.8	4.0	35.0	0.07	0.20	61	2.0	0.7	6.6	
CAMPAGNE DE PRELEVEMENT DES 12 ET 14 JANVIER 1981																
12 - 13 <sup>1</sup>	8350	-	-	-	-	-	-	-	-	0.25	0.30	61	509.5	-	7.7	
8	≈3000	-	-	-	-	-	-	-	-	0.25	0.13	59	≈177	-	7.3	
4	2020	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	0.16	64	129.3	-	7.2	
2	1070	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10	0.13	52	55.6	-	7.1	
1	≈400	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	0.10	29	≈11	-	7.7	

<sup>1</sup> : prélèvement à BOUSSY St ANTOINE, entre les points 12 et 13 de la carte de la figure 3-29.

Tableau 3-XXII : Paramètres physico-chimiques et isotopiques des eaux de l'Yerres au cours de quatre campagnes de prélèvement d'un profil en long.

a. - A l'été (figure 3-30).

Aux mois de mai 1977 et septembre 1978, on constate que, pour les 3 campagnes de prélèvement, on assiste à une régulière augmentation des compositions isotopiques de l'azote des nitrates, d'amont en aval de la rivière. On peut également constater que les concentrations en nitrates diminuent le long du parcours de la rivière. L'examen des flux de nitrates ne peut apporter de renseignements utiles en raison de l'existence des pertes de l'Yerres, importantes en valeur relative en période d'été. Sur la figure 3-31, nous avons reporté, pour les deux campagnes de mai 1977 un certain nombre de



paramètres chimiques ( $\text{DBO}_5$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) en fonction de la composition isotopique du nitrate. Tous ces paramètres sont bien corrélés (positivement) avec le  $\delta^{15}\text{N}$ .

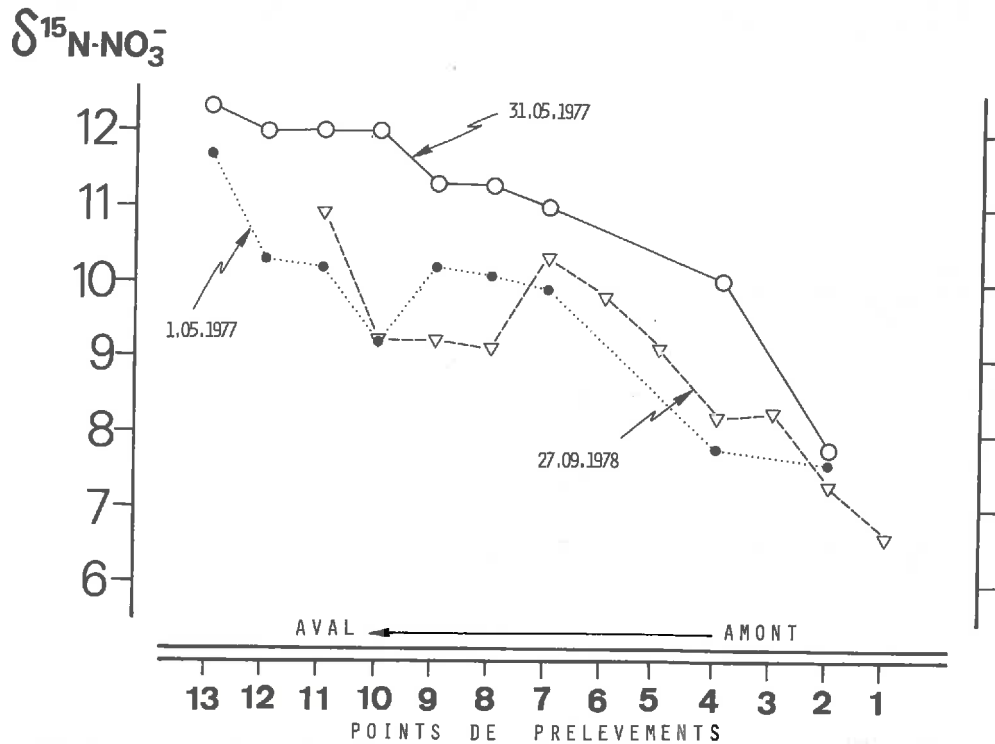


Figure 3-30 : Variation de la composition isotopique de l'azote des nitrates dans la rivière Yverres d'amont en aval au cours de trois campagnes de prélèvements.

(Les points de prélèvement sont situés sur la figure 3-29).

La demande biochimique en oxygène ( $\text{DBO}$ ) est théoriquement proportionnelle à la teneur de l'eau en matières organiques dégradables par voie biologique. Les ions chlorures, potassium et sodium peuvent être l'indice d'une pollution liée à des rejets humains ou animaux, le sodium pouvant également être lié aux rejets d'eaux usées préalablement adoucies. Les orthophosphates, eux, peuvent également être l'indice d'une pollution domestique (orthophosphates des formulations détergentes). Ces indices, couplés à l'augmentation des compositions isotopiques de l'azote des nitrates, imputable à la distillation partielle d'ammoniac vers l'atmosphère au cours de l'étape ammoniacale de l'oxydation de la matière organique, conduisent à la mise en évidence d'une contamination de la partie aval de l'Yverres par des nitrates qui proviennent de l'oxydation de matières organiques liées à des rejets urbains domestiques,

ce que confirme la présence fréquente, dans la partie aval de la rivière, de nitrite et d'ammonium parfois en concentration notable\*.

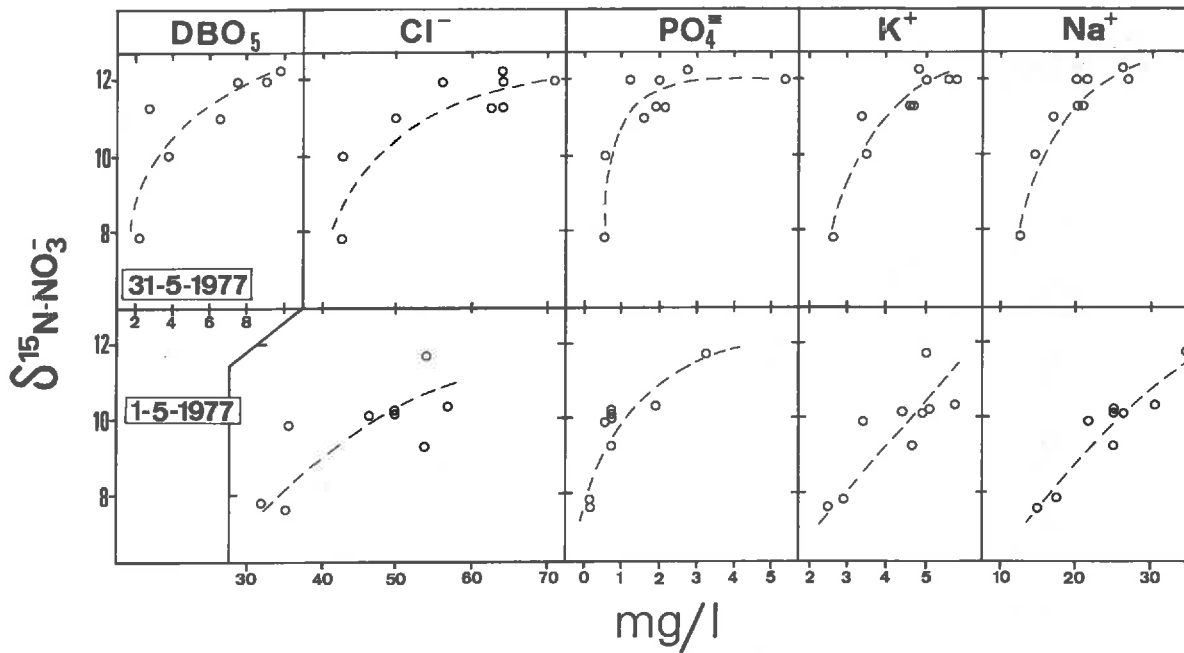


Figure 3-31 : Relation entre la composition isotopique des nitrates dans l'Yerres et les paramètres chimiques :  $\text{DBO}_5$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ , tous exprimés en mg/l.

On peut donc considérer qu'en période d'étiage, la composante "agricole"<sup>\*\*</sup> du flux en nitrate de la partie amont de l'Yerres est caractérisée par une composition isotopique comprise entre 6 et 7 ‰, valeur voisine de celle de la nappe

\* Une autre interprétation de ces résultats, basée sur la simple observation d'une augmentation du  $\delta^{15}\text{N}$  liée à la diminution des concentrations en nitrate selon le profil de la rivière, pourrait être proposée : on pourrait y voir l'effet d'une dénitrification. Cette hypothèse peut être réfutée par l'existence des liens de covariation entre le paramètre  $\delta^{15}\text{N}$  et les paramètres chimiques :  $\text{DBO}_5$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ , mais surtout par l'observation des teneurs élevées en oxygène dissous des prélèvements (tableau 3-XXII) : nous ne sommes pas en conditions anaérobies, nécessaires au développement du phénomène de dénitrification.

\*\* Elle est dite agricole car elle provient du cours supérieur de l'Yerres où dominant des activités agricoles. Toutefois ce terme ne saurait désigner une source précise parmi toutes les sources potentielles : nitrates naturels de la minéralisation des sols cultivés, engrais, fumure organique éventuelle etc...

du calcaire de Champigny, telle que l'on peut l'analyser à Jouy-le-Châtel (figure 3-44, annexe AII et figure 3-54) en amont de l'Yerres (cf. chapitre 3-2-3-II).

Au contraire la composante "pollution domestique" est caractérisée par une composition isotopique supérieure à 12 ‰ (valeur maximale enregistrée sur la rivière). Rappelons toutefois que cette composante est caractérisée par de faibles concentrations en nitrates et provoque pendant l'étiage un phénomène de dilution des nitrates d'amont en aval de l'Yerres (cf. tableau 3-XXII). La présence des pertes de la rivière ne permet pas un bilan amont-aval significatif.

*b. - Pendant les hautes eaux.*

Sur le tableau 3-XXII on trouvera les résultats de la campagne de prélèvement du 12 au 14 janvier 1981. Le débit de la rivière est déjà important et on peut constater que la composition isotopique du nitrate ne présente pas de variation d'amont en aval autour d'une valeur de 7,4 ‰ : la composante "agricole" amont, précédemment définie, domine alors largement la composante "pollution domestique" aval. On retrouvera l'expression de ce phénomène dans l'étude du suivi de la composition isotopique des nitrates à deux stations de jaugeage (Courtomer et Crosne).

3) Etude du suivi de la rivière à Courtomer et Crosne.

Sur le tableau 3-XXIII figurent les résultats obtenus au cours de prélèvements effectués à différentes périodes de l'année hydrologique sur la station amont Courtomer (4 de la figure 3-29) et la station aval Crosne (13 de la figure 3-29). Les résultats sont reportés sur la figure 3-32, en un diagramme semi-logarithmique flux en nitrates- $\delta^{15}\text{N}$ .

On observe que lorsque le flux de nitrate augmente, les compositions isotopiques diminuent, comme nous l'avons observé sur le Rû du Fossé Rognon (bassin de Mélarchez). Malgré le petit nombre d'observations, on peut constater que l'Yerres à Courtomer présente un comportement proche de celui du Rû du Fossé Rognon :  $\delta^{15}\text{N}$  autour de 8 ‰ en étiage, (les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  supérieures à 8 sont liées à des écoulements très faibles ou en voie de tarissement), et qui s'abaisse en période de hautes eaux. A Crosne en aval, les compositions isotopiques d'étiage sont voisines de 12 à 13 ‰ et s'abaissent avec l'augmentation des flux, en restant toutefois toujours plus élevées que celles de Courtomer. Toutefois les périodes de crues importantes (21.1.81 par exemple)

n'ont pu être échantillonnées à Crosne, ce qui nous prive d'une information précieuse concernant l'évolution isotopique lors de ces phases du régime hydrique. On peut toutefois noter que le 14.1.81, à Boussy-St-Antoine, c'est-à-dire tout près de la station de Crosne (entre les points de prélèvements 12 et 13 de la figure 3-29) la composition isotopique du nitrate est de 7,7 % (figure 3-32).

Date de prélèvement	CROSNE				COURTOMER			
	$\delta^{15}\text{N}$ %	$\text{N-NO}_3^-$ mg/l	Débit $\text{m}^3/\text{s}$	Flux $\text{N-NO}_3^-$ g/s	$\delta^{15}\text{N}$ %	$\text{N-NO}_3^-$ mg/l	Débit $\text{m}^3/\text{s}$	Flux $\text{N-NO}_3^-$ g/s
21.11.1974	13.4	7.0	1.79	12.53	8.8	11.3	0.50	5.65
19.12	8.6	12.0	8.49	101.88	6.8	16.2	4.50	72.90
19.01.1975	9.2	10.9	4.25	46.33	7.8	12.7	1.80	22.86
23.06	11.9	7.7	2.58	19.87	6.4	19.3	2.20	42.46
26.09	12.2	6.7	1.27	8.51	10.1	8.2	0.25	2.05
23.10	11.3	8.7	1.85	16.10	8.8	8.8	0.27	2.38
24.11	12.2	8.9	2.45	21.81	8.4	10.2	1.05	10.71
29.12	9.6	10.6	1.72	18.23	8.4	10.0	0.55	5.50
22.01.1976	10.9	9.1	1.27	11.56	8.6	8.8	0.53	4.66
24.02	9.2	8.5	1.21	10.29	8.5	9.5	0.81	7.70
01.05.1977	11.7	8.9	1.20	10.68	7.8	13.4	0.36	4.82
31.05	12.3	8.4	0.89	7.48	10.0	9.1	0.27	2.46
07.10	11.6	6.0	0.41	2.46	10.5	5.1	0.15	0.77
27.09.1978					8.2	10.2	0.16	1.63
14.01.1981	7.7 <sup>1</sup>	13.9 <sup>1</sup>	8.35 <sup>1</sup>	116.07 <sup>1</sup>	7.2	14.4	2.02	29.09
21.01					6.3	12.4	12.30	152.52
03.02					7.5	10.8	1.86	20.09
09.02					7.3	10.8	4.00	43.20
11.02					7.3	10.4	3.14	32.66

<sup>1</sup> : prélèvement effectué le 12.01.1981 à BOUSSY St ANTOINE, immédiatement en amont de CROSNE ; le débit est mesuré à CROSNE.

Tableau 3-XXIII : Débit, concentration, flux et composition isotopique des nitrates aux stations de jaugeage Crosne et Courtomer.

Le calcul des  $\delta$  moyens pondérés par le flux en nitrate donne, pour la période du 21.11.74 au 7.10.77, où l'échantillonnage est simultané à Courtomer et à Crosne :

Courtomer : 7,3 % (6,9 % pour l'ensemble des prélèvements analysés)

Crosne : 10,1 %

L'influence de la composante "pollution domestique" est manifeste à Crosne.

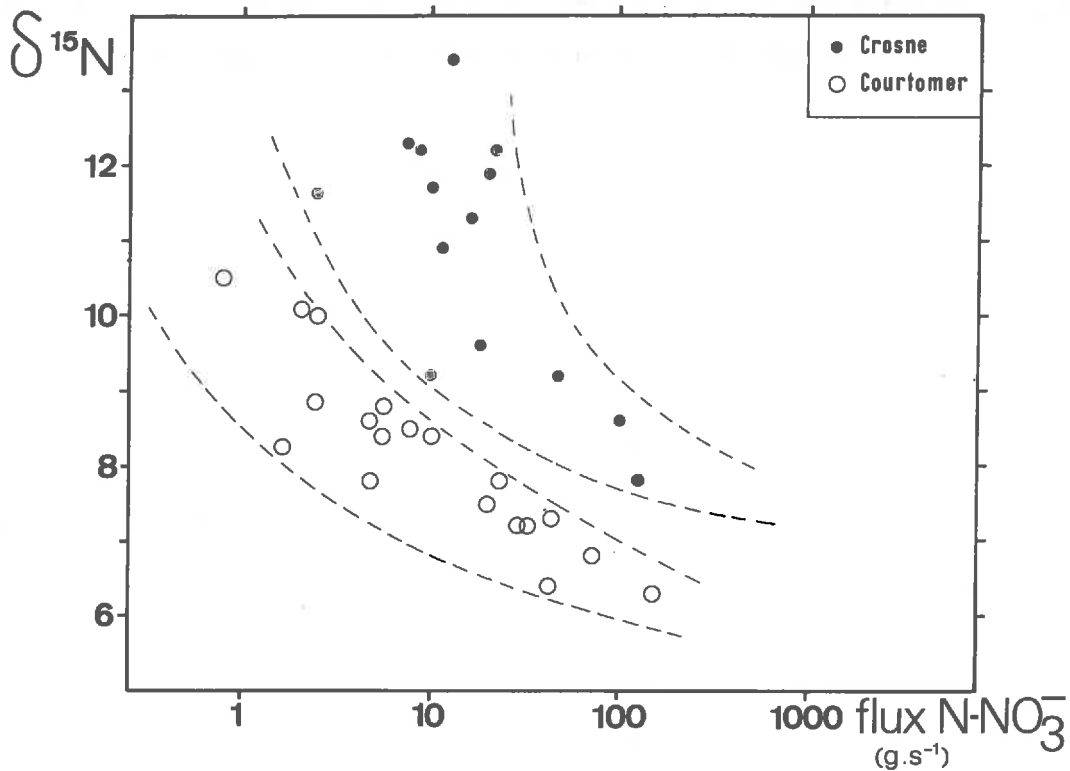


Figure 3-32 : Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$ -flux N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, aux stations de jaugeage Crosne et Courtomer, sur l'Yerres (Crosne en aval, Courtomer en amont).

*On a représenté des enveloppes de type hyperbolique des points analytiques, en raisonnant dans un modèle de mélange. La différence d'identité des nitrates entre l'amont et l'aval de la rivière ressort clairement de cette figure.*

C) Conclusion.

Certes le choix de cet exemple peut être considéré comme caricatural : ce petit bassin largement urbanisé en sa partie aval ne pouvait que présenter les traces d'une pollution en nitrates d'origine organique domestique.

Toutefois l'intérêt de ce travail est de montrer la puissance de l'outil isotopique dans une telle recherche d'origine où l'une des sources à identifier est très marquée isotopiquement (ici enrichie en <sup>15</sup>N). Dans des cas moins typés où la présence de potassium, chlorure ou phosphate pourrait être attribuée par exemple soit à une contamination "organique", soit à un apport d'éléments fertilisants de synthèse (NPK), la composition isotopique du nitrate devrait sans ambiguïté permettre de caractériser la source dominante.

Enfin, cette étude du bassin de l'Yerres nous sera nécessaire pour déterminer l'origine des nitrates dans la nappe des calcaires de Champigny (région de Brie-Comte-Robert) dans la zone des pertes de la rivière.

### 3.2.3. - LE CAS DES EAUX SOUTERRAINES





### 3.2.3. - LE CAS DES EAUX SOUTERRAINES.

#### I. - APPLICATION DU TRACAGE ISOTOPIQUE NATUREL PAR $^{15}\text{N}$ A LA DETERMINATION DE L'ORIGINE DES NITRATES AU DRAINAGE D'UNE PARCELLE EXPERIMENTALE EN BEAUCE.

La nappe des calcaires de Beauce est un des réservoirs aquifères libres les plus importants de France : ses réserves sont estimées à 10 milliards de  $\text{m}^3$ , (DESPREZ, MEGNIEN, 1975). Cette nappe est très vulnérable aux pollutions : parmi celles-ci la pollution nitrique est la plus préoccupante : importante, croissante dans les dernières années, elle dépasse les normes de potabilité en de nombreux points notamment près des lignes de partage des eaux souterraines (DESPREZ et MEGNIEN, 1975). Cette pollution préoccupe les services concernés : Agence de Bassin, B.R.G.M., Chambre d'Agriculture etc...

En 1976, une étude, ci-dessous présentée, est réalisée conjointement par l'Agence de Bassin Loire-Bretagne, la Chambre d'Agriculture du Loiret, le G.R.C.T.A. de Pithiviers, le S.R.A.E. du Centre, l'Agence de Bassin Seine-Normandie et le Laboratoire de Géologie Dynamique de l'Université Pierre et Marie Curie. Cette étude consistait à évaluer les termes du bilan azoté d'une parcelle expérimentale choisie comme représentative des pratiques culturales de Beauce. Elle a fait l'objet d'une étude de détail, dans le cadre de la thèse de 3ème cycle de M.C. DUTRIAUX (1980).

#### A) CHOIX DE LA PARCELLE, CARACTERISTIQUES PEDOLOGIQUES ET HYDROLOGIQUES.

La parcelle retenue est située sur la commune de Chaussy (Loiret), dans la partie Sud de la Haute Beauce (cf. figure 3-33). Sa superficie est de 22,43 ha. Elle est située dans une dépression due à un effondrement du calcaire de Beauce, dépression comblée partiellement par des argiles et sables du Burdigalien, plus ou moins remaniés par solifluxion au Quaternaire et dont la partie supérieure peut être considérée comme un paléosol lessivé dégradé et tronqué fournissant un plancher plus ou moins colmaté et imperméable. Le drainage naturel de cette parcelle, généralement insuffisant est amélioré artificiellement par un réseau de drains en PVC et poterie à la profondeur moyenne de 0,80 m. L'étude pédologique de ce périmètre a été réalisée par Pierre HOREMANS (1978) et est reproduite en détail dans la thèse de 3ème cycle de M.C. DUTRIAUX. P. HOREMANS décrit 9 unités pédologiques différentes (cf. figure 3-34) obéissant aux principaux types suivants :

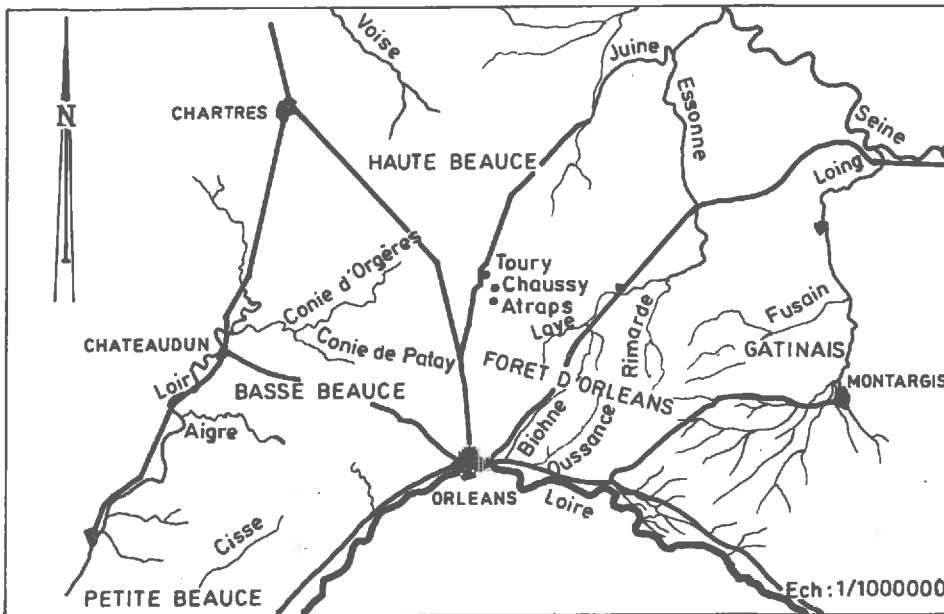


Figure 3-33 : Carte de situation de la parcelle expérimentale de Chaussy.

- sols bruns lessivés sur limons des plateaux (unités I à III de P. HOREMANS). Ces sols peuvent être faiblement hydromorphes ou tronqués (disparition du A<sub>2</sub>). La teneur en matière organique est voisine de 2 %. L'horizon B<sub>t</sub>, argilo-limoneux est apte au stockage de l'eau et des éléments nutritifs. Le substrat miocène est imperméable à une profondeur supérieure à 90 - 100 cm,
- sols bruns vertiques hydromorphes à faiblement hydromorphes sur argile, argile sableuse ou calcaire. Ce sont des sols argilo-limoneux très argileux en profondeur. Ils présentent une forte porosité structurale, même en période humide et drainent assez bien (unités IV à VII de P. HOREMANS),
- sols colluviaux limoneux hydromorphes peu drainants en profondeur ou vertiques argileux humifères. Ce dernier type, présent dans la partie aval du périmètre, voit la concentration des eaux de drainage (naturellement et artificiellement). On trouvera une description détaillée de 5 profils représentatifs des sols (HOREMANS, 1978) et la correspondance de chacun de ces profils avec les 9 unités distinguées (figure 3-35). Les analyses physico-chimiques de ces 5 profils figurent dans la thèse de M.C. DUTRIAUX (1980).

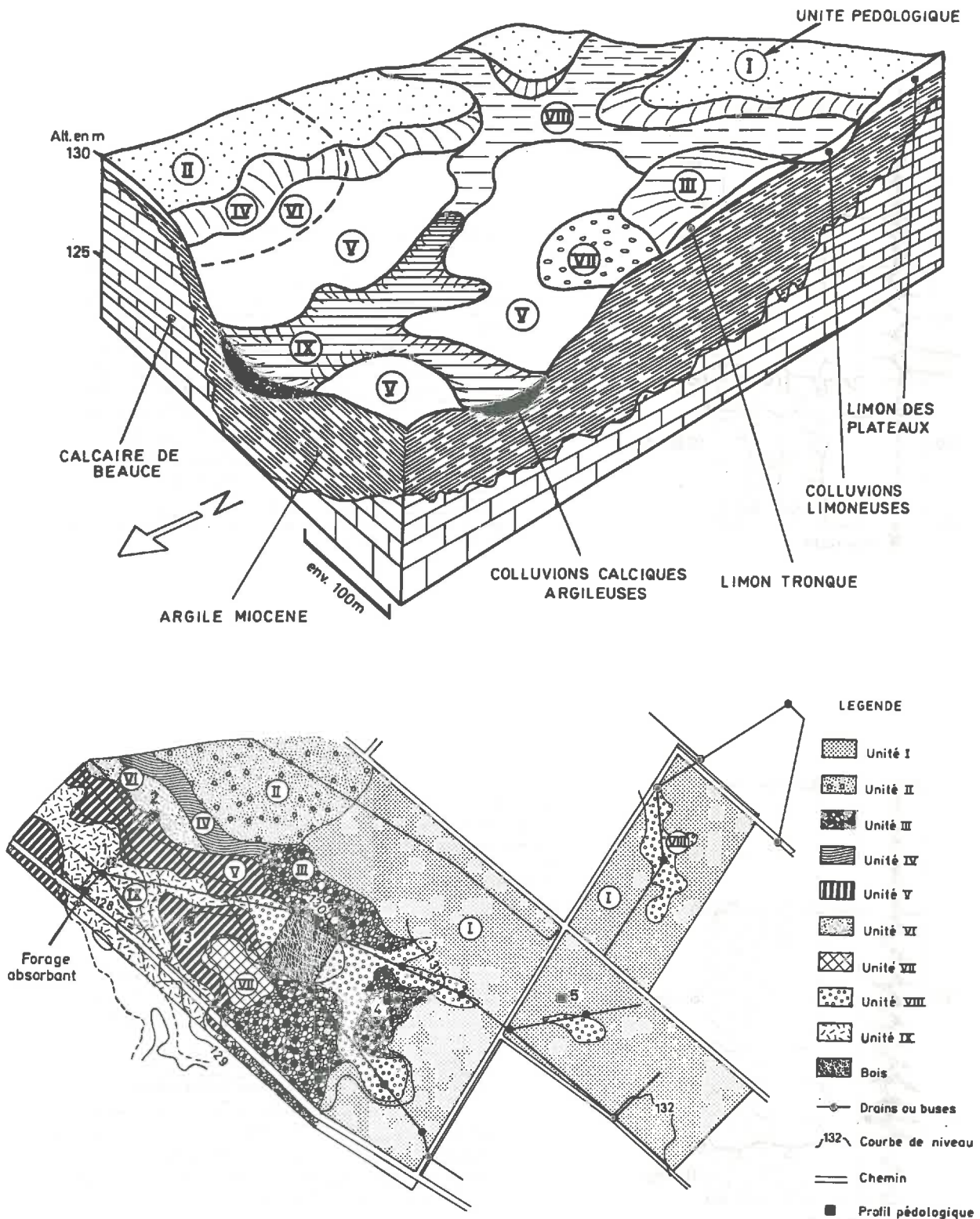
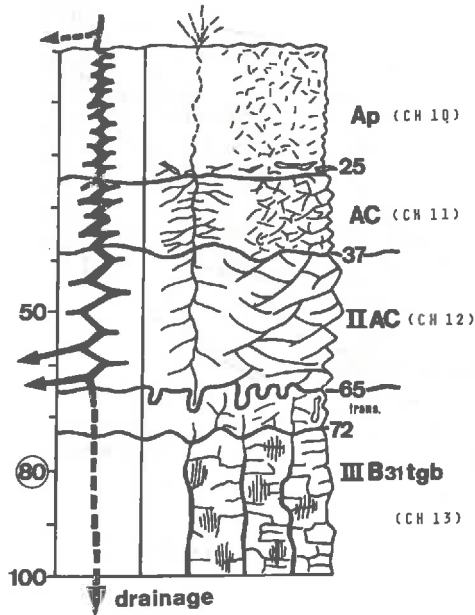


Figure 3-34 : Périmètre de Chaussy. Etude pédologique (d'après P. HOREMANS, 1978) bloc-diagramme. Carte hydro-pédologique, position des 5 profils pédologiques, extension latérale des 9 unités de sol.

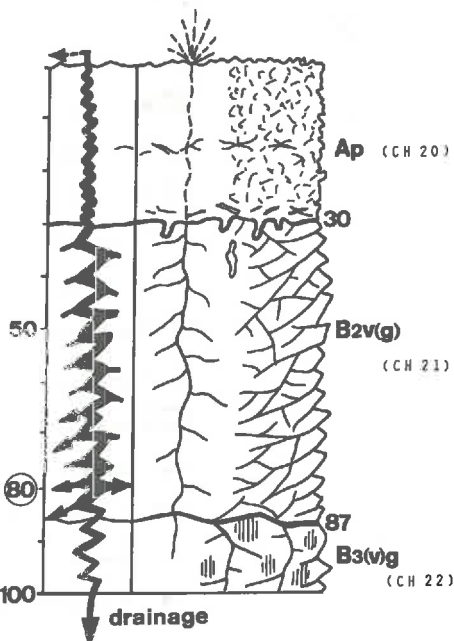


**Profil n° 1**

Altitude : 127,50 m (bas de pente)  
 Prélèvement humide en hiver  
 Végétation : sol labouré, nu  
 Drainage moyen

Type : sol colluvial vertique humifère calcique

- 10 - Horizon Ap, de 0 à 25 cm, jaune brunâtre gris humide (10 YR 4/1), jaune brunâtre gris sec (10 YR 5/1), matière organique non directement décelable, sans cailloux. *Texture argileuse, structure grumeleuse fine à moyenne, très forte porosité.* Matériau dur sec, humide collant et plastique. Limite nette et régulière, pailles enfouies en bas de l'horizon.
- 11 - Horizon AC, colluvion beige de 25 à 37 cm, jaune brunâtre gris humide (10 YR 6/1), jaune brunâtre gris sec (10 YR 6/2), quelques cailloux roulés. *Texture argileuse, structure grumeleuse à polyédrique subanguleuse, bonne porosité.* Matériau dur sec, plastique et collant à l'état humide. Nombreuses racines fines. Limite nette, ondulée.
- 12 - Horizon II AC de 37 à 65 cm, jaune brunâtre gris humide (10 YR 5/1), jaune brunâtre gris sec (10 YR 6/2), noir humifère, quelques cailloux arrondis. *Texture argileuse faiblement sableuse, structure polyédrique anguleuse grossière à caractère vertique avec des faces de glissement, horizon peu poreux à poreux.* Matériau colluvial calcaire, dur à l'état sec, collant et plastique à l'état humide. Activités racinaires peu importantes. Limite irrégulière due à la pénétration biologique.
- 65-72 cm - Petit horizon de transition constitué du mélange des matériaux d'en haut et de ceux d'en bas par l'activité biologique, sans trace d'hydromorphie. Limite ondulée avec l'horizon sous-jacent.
- 13 - Horizon III B 31tgb du paléosol de type orléanais, gris brunâtre clair (7,5 YR 7/2) humide, gris orange sec (7,5 YR 7/3). Apparemment non organique. Sans cailloux. *Texture argilo-sableuse à sable grossier, structure prismatique avec sous-structure polyédrique anguleuse à lamellaire, très peu poreuse avec l'hydromorphie.* Matériau dur à l'état sec, collant et plastique à l'état humide.



**Profil n° 2**

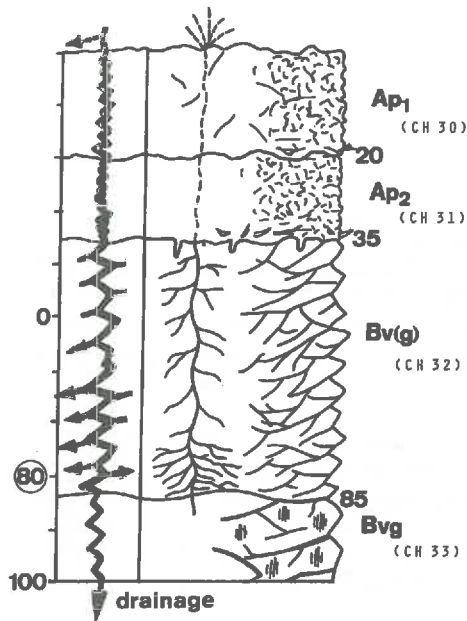
Altitude : 129,50 m (haut de la pente)  
 Prélèvement humide en hiver  
 Végétation : sol labouré, nu  
 Drainage médiocre

Type : sol brun vertique hydromorphe

- 20 - Horizon Ap de 0 à 30 cm, jaune brunâtre gris (10 YR 5/1) humide, jaune brunâtre gris sec (10 YR 6/2), humus calcique avec de la paille enfouie par le labour, graviers peu abondants. *Texture argilo-sableuse, structure grumeleuse fine à moyenne, forte porosité.* Matériau dur à sec collant et plastique humide. Limite nette et régulière, pailles enfouies en bas de l'horizon.
- 21 - Horizon B<sub>2</sub>v(g) de 30 à 90 cm, gris orange humide (7,5 YR 6/3), gris orange (7,5 YR 6/4) sec, *taches sous forme de plages ocre diffusées*, matière organique non directement décelable, sans cailloux. *Texture argilo-sableuse, structure polyédrique anguleuse, moyenne à grossière, caractères vertiques accentués à faces très luisantes, peu poreuse.* Matériau dur à sec, collant et plastique humide, pas de racines. Limite à transition graduelle avec l'horizon sous-jacent.
- 22 - Horizon B<sub>3</sub>(v)g à partir de 90 cm, gris orange humide (7,5 YR 6/3), gris orange sec (7,5 YR 6/4) avec des taches d'hydromorphie, apparemment non organique, sans cailloux. *Texture argilo-sableuse, nettement plus sableuse que l'horizon sus-jacent, structure relativement plus prismatique, moins de faces luisantes, plus hydromorphes.* Matériau dur sec, collant et plastique humide, pas de racines.

Figure 3-35





**Profil n° 3**

Altitude : 130,25 m

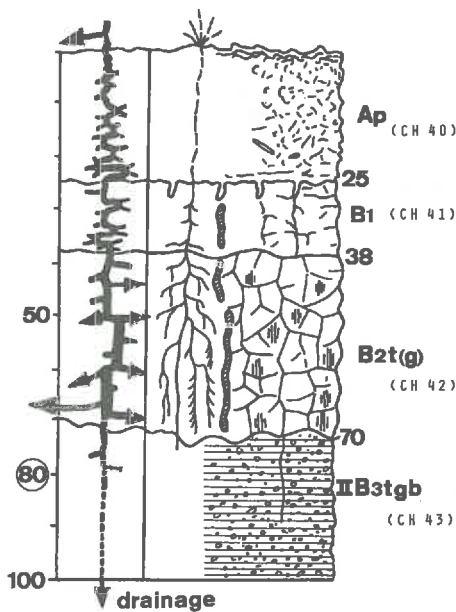
Prélèvement humide en hiver

Végétation : semis de blé d'hiver

Drainage médiocre

Type : sol brun vertique hydromorphe

- 30 - Horizon Ap<sub>1</sub> de 0 à 20 cm, gris brunâtre clair humide (10 YR 6/1), légèrement plus clair à sec (10 YR 7/1), humifère avec de la paille enfouie par le labour, sans éléments grossiers. Texture limono-argileuse, structure grumeleuse moyenne à grossière mélangée avec des polyèdres anguleux à caractères vertiques (retournement provoqué par le labour), apparemment poreuse. Matériau dur à l'état sec, peu collant, peu plastique à l'état humide. Limite distincte.
- 31 - Horizon Ap<sub>2</sub> de 20 à 35 cm de même couleur que l'horizon sus-jacent, humifère, sans éléments grossiers. Texture limono-argileuse, structure grumeleuse fine à moyenne, poreuse. Matériau dur à l'état sec, peu plastique et peu collant à l'état humide. Transition nette avec l'horizon sous-jacent.
- 32 - Horizon Bv(g) de 35 à 85 cm, gris orange humide (7,5 YR 6/3), légèrement plus clair à sec (7,5 YR 6/4), peu de taches d'hygro-morphie, sans éléments grossiers. Texture argilo-limoneuse, structure polyédrique anguleuse verticale moyenne à grossière, peu poreuse. Matériau dur à l'état sec, collant, peu plastique à l'état humide. Racines fines et moyennes verticales jusqu'au bas de l'horizon. Limite nette avec l'horizon sous-jacent.
- 33 - Horizon Bvg de 85 cm à la base du profil, gris brunâtre clair humide (7,5 YR 7/2), gris orange sec (7,5 YR 7/3), taches grises et ocre vif importantes, sans éléments grossiers. Texture argilo-limoneuse, structure polyédrique plus grossière, des plaquettes obliques à faces sub-horizontales blanchies (caractères vertiques), non poreuse. Matériau dur à l'état sec, collant et plastique à l'état humide. Sans racines. Appartenant probablement à la formation miocène de l'Orléanais.



**Profil n° 4**

Altitude : 130,50 m

Prélèvement humide en hiver

Végétation : semis de blé d'hiver

Drainage médiocre

Type : sol lessivé tronqué

- 40 - Horizon Ap de 0 à 25 cm, jaune brunâtre gris (10 YR 6/1) humide, légèrement plus clair sec (10 YR 7/1), humifère (humus brunifié), sans éléments grossiers. Texture limoneuse, structure grumeleuse fine à moyenne, battante, poreuse. Matériau dur sec, peu collant - peu plastique humide. Limite nette avec l'horizon sous-jacent.
- 41 - Horizon B<sub>1</sub> de 25 à 38 cm, jaune brunâtre gris clair (10 YR 7/2) humide, gris jaunâtre orange (10 YR 7/3) sec, sans éléments grossiers. Texture limoneuse (légèrement argileuse), structure polyédrique fine à moyenne, poreuse. Matériau dur sec ; peu plastique, peu collant humide. Racines. Limite ondulée et discontinue avec l'horizon sous-jacent.
- 42 - Horizon B<sub>2t</sub> de 38 à 70 cm, gris orange humide (7,5 YR 6/4), légèrement plus clair sec (7,5 YR 7/3), non organique, sans éléments grossiers. Texture limoneuse (légèrement argileuse) à limono-argileuse, structure polyédrique moyenne à grossière, peu poreuse. Matériau dur sec ; peu plastique, peu collant humide. Racines verticales importantes, activités biologiques fortes (présence de vers de terre). Limite nette, ondulée avec l'horizon sous-jacent.
- 43 - Horizon II B<sub>3tgb</sub> dans le matériau orléanais à partir de 70 cm ; orange clair humide (7,5 YR 8/6), brun rougeâtre sec (5 YR 5/8), non organique, graviers caractéristiques de l'Orléanais. Texture : sable grossier dans le plasma argileux, structure polyédrique, peu poreuse. Matériau dur sec, collant et plastique pour le plasma. Disparition des activités biologiques. C'est un paléosol.

Figure 3-35

**Profil n° 5**

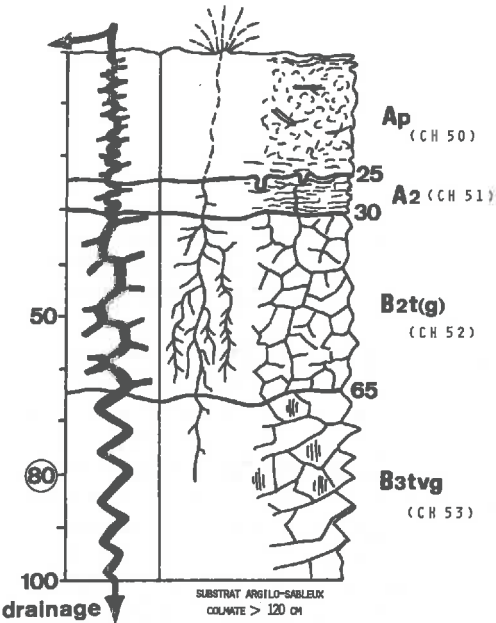
Altitude : 131,75 m (haut de la pente)

Prélèvement humide en hiver

Végétation : semis de blé d'hiver

Drainage médiocre

Type : sol lessivé légèrement hydromorphe L(g).



- 50 - Horizon Ap de 0-25 cm, gris brunâtre humide (7,5 YR 6/2), gris brunâtre clair sec (10 YR 8/2), humifère (humus brunifié) avec de la paille enfouie par le labour, sans cailloux. *Texture limoneuse*, structure grumeleuse fine à moyenne, battante, apparemment poreuse. Matériau dur à sec, non plastique et non collant humide. Limite nette et régulière avec l'horizon sous-jacent.
- 51 - Horizon A<sub>2</sub> de faible épaisseur de 25 à 30 cm, gris jaunâtre orange humide (10 YR 6/3), gris brunâtre clair sec (10 YR 8/2) sans cailloux ni graviers. *Texture limoneuse*, structure polyédrique à tendance lamellaire, peu poreuse. Matériau dur sec, non plastique et non collant humide. Limite nette et régulière avec l'horizon sous-jacent.
- 52 - Horizon B<sub>2t</sub>(g) de 30 à 70 cm, gris orange humide (7,5 YR 6/3), gris brunâtre clair sec (7,5 YR 8/1), quelques taches beiges ocrées d'hydromorphie, sans cailloux. *Texture limono-argileuse*, structure polyédrique anguleuse moyenne à grossière, peu poreuse. Matériau dur à l'état sec, peu collant et peu plastique à l'état humide. Racines fines et moyennes en direction verticale avec présence d'une activité biologique importante (vers de terre). Transition graduelle avec l'horizon sous-jacent.
- 53 - Horizon B<sub>3tvg</sub> de 70 à 100 cm, gris orange humide (7,5 YR 6/3), gris orange légèrement plus clair sec (7,5 YR 6/4), *taches d'hydromorphie importantes*, sans cailloux. *Texture argilo-limoneuse*, structure polyédrique anguleuse à face luisante (caractère verticale) moyenne et grossière, très peu poreuse. Matériau dur à l'état sec, collant et plastique à l'état humide. Disparition des traces biologiques. Orléanais non atteint.

Profil analysé	Unité concernée	Profil valable aussi pour les unités	Pourcentage de la surface de la parcelle
1	IX		9
2,3	V	VI, VII	16
4	III	IV	11
5	I	II, VIII	64

Figure 3-35 : Les profils pédologiques (d'après HOREMANS).

B) EQUIPEMENT DE LA PARCELLE.

Le drainage artificiel de la parcelle converge vers un forage absorbant. Au niveau du collecteur des drains il a été installé un seuil déversant triangulaire et un limnigraphe à flotteur permettant la mesure des débits. L'échantillonnage automatique est réalisé par une pompe péristaltique et un répartiteur automatique de 24 flacons. Le pas de temps des prélèvements est variable, de 1/2 heure à 9 h ; le pas le plus fréquent est de 6 heures.

Nous allons, dans un premier temps, analyser les paramètres "entrée" du système : à savoir l'apport d'azote par les eaux météoriques, par les eaux d'irrigation (éventuellement), par les engrais et par la minéralisation de la matière organique du sol, en essayant de les caractériser par leur composition isotopique en  $^{15}\text{N}$ .

C) CARACTERISATION ISOTOPIQUE DE L'AZOTE ENTRANT DANS LE SYSTEME.

1) Apport d'azote par les pluies.

La teneur et la composition isotopique de l'azote minéral des précipitations à Chaussy sont reportées sur le tableau 3-XXIV. Les analyses chimiques présentées sur ce tableau sont celles réalisées sur l'échantillon moyen constitué ; elles ne sont qu'indicatives.

Période de prélèvement	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	$\delta^{15}\text{N}$ -[NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] (‰)
du 20.06.77 au 27.09.77	< 0.5	1.9	- 2.4
23.11.77 03.03.78	< 0.5	< 0.5	1.1
04.03.78 21.03.78	< 0.5	< 0.5	- 1.6
22.03.78 02.05.78	< 0.5	< 0.5	2.4
19.05.78 06.09.78	2.9	< 0.5	2.4
07.09.78 23.11.78	< 0.5	< 0.5	2.6
21.12.78 16.02.79	1.3	< 0.5	1.4

Tableau 3-XXIV : Composition isotopique de l'azote minéral des pluies sur la parcelle de Chaussy (DUTRIAUX, 1980).

L'apport moyen d'azote par les pluies a été estimé à environ 6,5 kg/ha/an, il est caractérisé par une composition isotopique basse.

## 2) Apport d'azote par les eaux d'irrigation.

Il n'a été réalisé d'irrigation, à partir de l'eau de la nappe des calcaires de Beauce, qu'en juillet et août 1978, sur 12,80 ha. Dans le secteur, la nappe a une concentration en  $N-NO_3^-$  de 7 à 10 mg/l. Le  $\delta^{15}N-NO_3^-$  de cette nappe a été mesuré au captage A.E.P. d'Atraps, commune de Chaussy en février 1976 et sur l'eau d'un puits communal d'Atraps (nappe des calcaires de Beauce) en janvier 1979 : les valeurs sont respectivement 4,3 ‰ et 5,3 ‰.

## 3) Apport par les engrais azotés.

On retrouvera sur le tableau 3-XXV les différents types d'engrais utilisés sur la parcelle, leur taux d'application ainsi que les différentes cultures et rendements.

	CULTURE 1977	FUMURE AZOTÉE 1977 en N/ha	CULTURE 1978	FUMURE AZOTÉE 1978 en N/ha	CULTURE 1979	FUMURE AZOTÉE 1979 en N/ha
Exploitant 1 Surface : 3 ha	Blé (semis nov. 76) Rendement : 70 qx/ha	Ammonitrate 130 kg/ha 2/3 en Février 1/3 en Avril	Blé (semis nov. 77) Rendement : 70 qx/ha	Ammonitrate 33,5 % 140 kg/ha Le 20/3/78	Maïs	Ammonitrate 33,5 % 50 kg/ha Mars 79 Lisier de poules 40 t = 400 kg/ha Mars 79
Exploitant 2 Surface : 1 ha 90	Betteraves Suc. (semis mars 77) Rendement : 55 t/ha	Ammonitrate 175 kg/ha (fin Mars)	Blé (semis nov. 77) Rendement : 69 qx/ha	Ammonitrate 33,5 % - 90 kg/ha Le 10/3/78 - 50 kg/ha Le 10/4/78	Blé (semis d'hiver)	Ammonitrate 33,5 % 100 kg/ha début Mars 79 50 kg/ha Le 15/4/79
Exploitant 3 Surface : 1 ha 80	Orge (semis mars 77) Rendement : 48 qx/ha	Ammonitrate 81 kg/ha (Mars)	Betteraves sucrières (semis mars 78) Rendement : 55 t/ha Irrig. : 45 mm : 20/7/78 45 mm : 20/8/78	14.20.20 140 kg/ha Le 25 Mars 78	Blé (semis d'hiver)	Ammonitrate 33,5 % 60 kg/ha 10/2/79 80 kg/ha 10/4/79
Exploitant 4 Surface : 11 ha	Blé (semis nov. 76) Rendement : 64 qx/ha	Ammonitrate 165 kg/ha 2/3 en Mars 1/3 début avril	- 5 ha Bett. suc. : 44 t - 3 ha Dignons : 31,5 t - 2 ha P. de T. : 35 t - 1 ha Maïs : 70 qx Irrig. : 2 fois 40 mm Fin Juillet-fin Août	- 17.17.17 : 153 kg/ha Mars et 10/4/78 - 12.12.17 : 108 kg/ha Le 1/4/78 - Nitrate de Chaux 20/6/78 (22 kg/ha) - 12.12.17 : 108 kg/ha - 12.12.17 : 160 kg/ha Mars et 10/4/78	Blé (semis d'hiver)	Engrais Liquide 39 % 160 kg/ha Le 1/4/79 et 15/5/79
Exploitant 5 Surface : 3 ha+1 ha 73	Blé (semis nov. 76) Rendement : 74 qx/ha	Engrais Liquide 39 % 150 kg/ha (fin Mars)	Blé (semis nov. 77) Rendement : 70 qx/ha paille brûlée	Engrais Liquide 39 % 156 kg/ha 2/3 Le 9/3/78 1/3 Le 24/4/78	Maïs Blé (semis de printemps)	Engrais Liquide 39 % 160 kg/ha fin Avril 79 70 kg/ha fin Mars 79

Tableau 3-XXV : Engrais utilisés à Chaussy et types de cultures de 1976 à 1979 (DUTRIAUX, 1980).

La composition isotopique des engrais de synthèse industrielle utilisés sur la parcelle figure sur le tableau 3-XII. Au printemps 1978 un des exploitants a utilisé sur 5 ha un engrais ternaire 17.17.17. Par mégarde, il n'a pas conservé d'échantillons de l'engrais utilisé pour analyse isotopique. Aussi donnons-nous les abondances isotopiques de l'azote minéral de 3 engrais 17.17.17



(cf. 3 du tableau 3-XII), de différents fabricants. L'un de ces engrais a un  $\delta^{15}\text{N}$  très élevé, "anormal" : 10,8 %. Il n'est pas du tout certain qu'il ait été utilisé : dans l'affirmative, la surface d'application ne concerne que 20 % de la surface de la parcelle. En ne tenant pas compte du lisier épandu en mars 1979, la dernière année de l'étude, on peut proposer un bilan approximatif des quantités d'engrais azotés épandus chaque année, et donner leur composition isotopique pondérée par les quantités épandues sur chacune des exploitations du périmètre d'étude. Les résultats figurent sur le tableau 3-XXVI.

Nature de l'engrais	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	
	kg N/ha	$\delta^{15}\text{N}$	kg N/ha	$\delta^{15}\text{N}$
1976 - 77	83.5	-0.3	67.5	1.8
1977 - 78	85.5	-0.2	55.0	3.3
1978 - 79	110.5	-0.5	47.0	1.2

Tableau 3-XXVI : Quantités pondérées par la surface d'épandage et compositions isotopiques moyennes pondérées par les quantités épandues, des engrais azotés utilisés sur la parcelle de Chaussy de 1976 à 1979.

On peut donc considérer que l'apport d'azote par les engrais est, annuellement, de l'ordre de 150 kg N/ha et se trouve caractérisé par une composition isotopique faible (pour toute la période d'étude :  $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$  moyen : - 0,3 % ;  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  moyen : 2,1 % ;  $\delta^{15}\text{N}$  minéral total : 0,6 %).

4) Caractérisation de la composition isotopique de l'azote minéral biosynthétique provenant des processus de minéralisation-nitrification de la matière organique des sols.

a. - Composition isotopique de l'azote total des sols.

Les 5 profils de sol représentatifs de la parcelle étudiée ont été prélevés horizons par horizons en vue de la détermination du  $\delta^{15}\text{N}$  de l'azote total Kjeldahl. Les résultats sont exprimés sur la figure 3-36. Sur le tableau 3-XXVII sont reportées les valeurs moyennes de  $\delta^{15}\text{N}$  total de chaque profil, pondérées par le taux d'azote de chaque horizon.

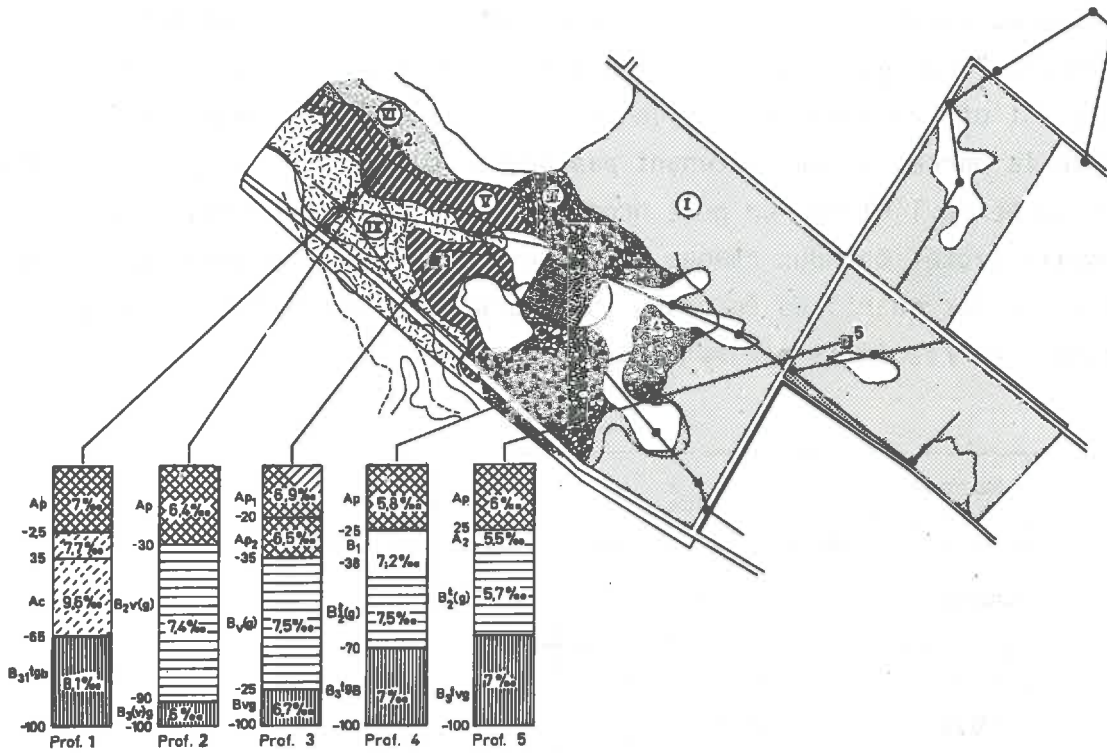


Figure 3-36 : Abondance isotopique de l'azote total de chaque horizon des profils pédologiques des sols du périmètre de Chaussy.

Profil (cf. fig. 3-36)	$\delta^{15}\text{N}$ total moyen pondéré
1	8.1
2	6.7
3	7.1
4	6.7
5	6.1

Tableau 3-XXVII :  $\delta^{15}\text{N}$  total des profils de la parcelle de Chaussy.

Nous avons voulu estimer la variabilité naturelle de la composition isotopique de l'azote total Kjeldahl dans l'horizon Ap de l'un des sols de la parcelle. Nous avons choisi le sol 5 (unités I, II et VIII), le plus représenté, et nous avons réalisé, sur toute la surface d'étude 15 prélèvements. Les résultats obtenus sont portés sur la figure 3-37 : on peut y constater que les variations latérales de cette composition isotopique sont très faibles : + 0,86 , - 0,84 , autour de la valeur moyenne 6,06 %.

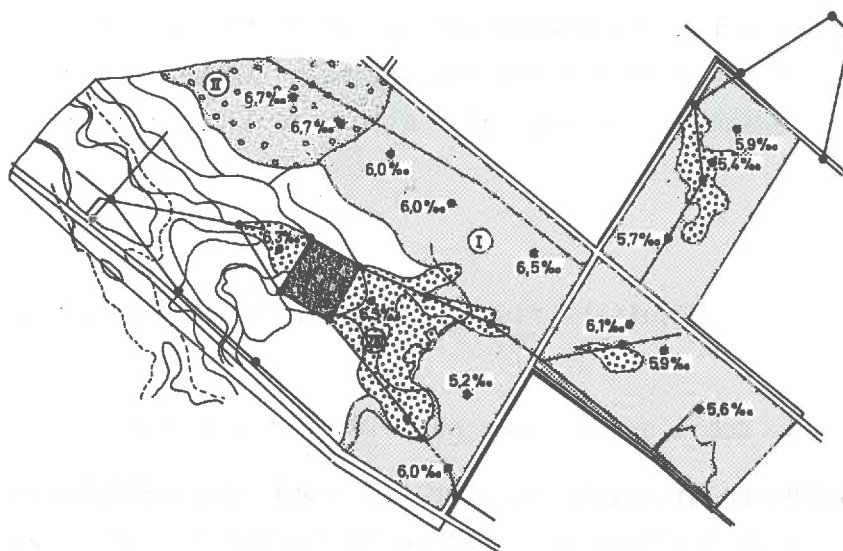


Figure 3-37 : Variations latérales du  $\delta^{15}\text{N-N}$  total des horizons Ap des unités pédologiques I - II - VIII représentées par le profil 5 (DUTRIAUX, 1980).

*La composition isotopique de l'azote total d'un sol est donc un paramètre très stable à l'échelle d'une unité pédologique.*

On peut donc probablement effectuer une correspondance entre l'extension en surface des caractères pédologiques de chaque unité et le  $\delta^{15}\text{N}$  total du profil représentant ces unités. Ainsi, le  $\delta^{15}\text{N}$  total moyen pour l'ensemble de la parcelle, pondéré par le pourcentage de la surface que représente chacun des profils, est voisin de 6,5 %.

b. - Détermination expérimentale de la composition isotopique de l'azote naturellement minéralisé dans les sols de la parcelle.

Ne disposant pas d'une parcelle expérimentale non fertilisée comme celle de Chaussy, dispositif idéal pour la mesure de ce paramètre, nous avons procédé à une tentative d'estimation par des expériences d'incubation, soit au champ, soit au laboratoire, en étuve thermostatée.

+ Incubations au champ.

A la fin du mois de janvier 1978 nous avons reconstitué, horizon par horizon, les profils pédologiques 1, 2, 3 et 5 dans des barils de 0,8 m<sup>3</sup>. Le profil reconstitué est drainé à sa base par un lit de cailloux. Après installation, on a procédé à un lessivage initial abondant à l'eau déminéralisée.

Ces dispositifs installés en plein air sont lessivés naturellement par les pluies, les prélèvements des solutions drainantes se sont échelonnés de fin janvier 1978 à juin 1979. Pendant la période d'incubation, aucun apport d'engrais n'a été effectué. Le dernier épandage sur ces sols, alors en place, datant du printemps 1977.

### Résultats.

L'ensemble des résultats figure sur le tableau 3-XXVIII. On peut constater que :

- le comportement du débit est le même pour les 4 dispositifs,
- les concentrations en nitrates et leur flux sont considérablement plus élevés que ceux des eaux de drainage de la parcelle pendant les mêmes périodes (cf. tableau 3-XXVIII, II) : la quantité de nitrate lessivée de janvier 1978 à juin 1979 est en moyenne de 115 kg N-NO<sub>3</sub>/ha alors que la quantité exportée par le drainage de la parcelle expérimentale pendant la même période est de 31 kg/ha environ. *L'absence de végétation sur ces dispositifs explique ces différences,*
- les  $\delta^{15}\text{N}$  des 4 dispositifs évoluent parallèlement mais ceux du dispositif 5 sont toujours très nettement inférieurs aux 3 autres et montrent une nette tendance à l'abaissement de leur valeur en hiver pendant les périodes de flux importants de nitrate,
- quelques valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  très élevées (13,8 et 12,1 ‰) ont été enregistrées en été sur des écoulements en voie de tarissement.

Les valeurs de compositions isotopiques moyennes pondérées par le flux en nitrates, pour les 4 dispositifs d'incubation au champ figurent sur le tableau 3-XXIX. On peut constater qu'à l'exception du profil 5, ces valeurs sont toujours supérieures à celles obtenues au drainage de la parcelle expérimentale ( $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  pondéré par le flux en nitrate). Pour le profil 5, les deux valeurs ne sont toutefois pas très différentes.

PERIODE D'ECOULEMENT CORRESPONDANT LES ANALYSES	DISPOSITIF 1			DISPOSITIF 2			DISPOSITIF 3			DISPOSITIF 5		
	Débit l/s/ha	N-NO <sub>3</sub> mg/l	F(N-NO <sub>3</sub> ) mg/ha/s	Débit l/s/ha	N-NO <sub>3</sub> mg/l	F(N-NO <sub>3</sub> ) mg/ha/s	Débit l/s/ha	N-NO <sub>3</sub> mg/l	F(N-NO <sub>3</sub> ) mg/ha/s	Débit l/s/ha	N-NO <sub>3</sub> mg/l	F(N-NO <sub>3</sub> ) mg/ha/s
19.01.78 au 02.02.78	0,16	29,4	4,6	0,16	17,2	2,7	0,16	22,8	3,5	6,2	0,16	34,3
02.02.78 au 27.02.78	0,15	15,4	2,2	0,15	14,1	2,0	0,15	16,7	2,4	5,4	0,15	21,2
27.02.78 au 09.03.78	0,12	16,0	1,8	0,12	14,8	1,7	0,12	14,8	1,7	6,8	0,12	23,1
09.03.78 au 27.03.78	0,13	20,8	2,5	0,13	12,3	1,5	0,13	14,4	1,7	5,3	0,13	15,5
27.03.78 au 19.04.78	0,04	17,2	0,6	0,04	11,4	0,4	0,04	16,4	0,6	6,4	0,04	16,4
08.05.78 au 09.08.78	0,01*	11,3	0,1*	0,01	30,0	0,3*	0,01*	30,0	0,3*	13,8	0,01*	20,0
09.08.78 au 15.12.78	0,02	88,0	1,5	0,02	148,0	2,5	0,02	144,0	2,4	8,5	0,02	142
15.12.78 au 19.01.79	0,07	56,0	3,5	0,07	84,0	5,2	0,07	84,0	5,2	6,9	0,07	52,0
19.01.79 au 29.01.79	0,13	80,0	9,8	0,13	88,0	11,0	0,13	92,0	11,4	6,9	0,13	70,0
29.01.79 au 07.02.79	0,26	68,9	16,7	0,26	85,0	20,7	0,26	57,2	13,9	6,3	0,26	76,2
07.02.79 au 13.02.79	0,39	47,2	17,2	0,39	52,8	19,3	0,39	35	12,7	5,7	0,39	37,8
13.02.79 au 09.03.79	0,06	87,6	4,5	0,06	59,0	3,3	0,06	44,4	3,2	8,4	0,06	43,3
09.03.79 au 19.03.79	0,35*	77,5	23,7*	0,33*	70,0	21,5*	0,33*	45	13,8*	4,4	0,33*	47,5
19.03.79 au 06.04.79	0,08*	49,0	3,6*	0,08*	30,0	2,2*	0,08*	21	1,5*	4,0	0,08*	25,4
06.04.79 au 12.06.79	0,02*	51,0	0,8*	0,02*	28,5	0,4*	0,02*	25	0,4*	6,6	0,02*	22,0

I

II

Tableau 3-XXVIII : I - Concentrations, Flux, teneurs en <sup>15</sup>N des nitrates et débit des écoulements à la sortie des dispositifs d'incubation, 1, 2, 3 et 5.  
 Les valeurs marquées d'un astérisque ont été calculées à partir des quantités précipitées à Chaussy pendant la même période.

II - Flux et teneur en <sup>15</sup>N des nitrates des eaux de drainage, calculés par périodes de temps correspondant au suivi des dispositifs d'incubation au champ (DUTRIUX, 1980).

Dispositif d'incubation	Flux N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/ha/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> pondéré	Drainage de la parcelle	
			Flux N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/ha/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> pondéré
1	93	6.6	27	4.0
2	95	6.2		
3	75	6.1		
5	79	4.5		

Tableau 3-XXIX : Comparaison des δ<sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> moyens pondérés par le flux en azote nitrique, obtenus du 19.01.78 au 12.06.79 sur chaque dispositif d'incubation au champ et du δ<sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> moyen pondéré obtenu au drainage de la parcelle pendant la même période.

Incubations en laboratoire.

Elles ont été effectuées au laboratoire de la station I.N.R.A. de Châlons-sur-Marne suivant une méthode décrite par MULLER (1977).

Les horizons Ap des 5 profils précédemment décrits, après séchage à l'air sont placés en allonge, lessivés, l'humidité étant ensuite ramenée aux 2/3 de la capacité de rétention. Les incubations sont conduites en étuve thermostatée à 10°C pendant 24 semaines. Les conditions d'incubations sont proches des conditions naturelles.

Les résultats figurent sur le tableau 3-XXX.

Profil (horizon Ap)	δ <sup>15</sup> N total (%)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (%)
1	7.0	5.1	8.8
2	6.4	10.6	6.9
3	6.9	7.6	8.5
4	5.8	8.4	12.6
5	6.0	8.4	6.1

Tableau 3-XXX : Teneurs et abondance isotopique de l'azote nitrique apparu après 24 semaines d'incubation en laboratoire à 10°C à partir des horizons Ap des 5 profils pédologiques représentatifs de la parcelle de Chaussy.



A l'exception du profil 4, les compositions isotopiques des nitrates apparus sont relativement proches de celles de l'azote total Kjeldahl des horizons Ap des sols et sont toujours sensiblement plus élevées que celles obtenues en incubation au champ (tableau 3-XXIX), notamment pour le profil 5. Le résultat pour le profil 4 apparaît élevé : il s'agit peut être d'un artéfact.

#### + Conclusions et discussion.

Les résultats sont sensiblement différents pour les incubations au champ et en étuve. Ces différences tiennent aux conditions d'expérimentation. Rappelons que les sols prélevés pour ces études proviennent du périmètre expérimental : ils ont donc subi depuis plusieurs décades les pratiques agricoles, notamment une importante fertilisation azotée. On peut donc raisonnablement penser que des engrais pouvaient encore se trouver dans ces sols au moment de leur prélèvement en janvier 1978 ; soit sous forme nitrates qui n'auraient pas été éliminés par le lessivage, forcément insuffisant, effectué au début de l'incubation, soit plus probablement sous une forme plus stable, insensible au lessivage : forme ammoniacale adsorbée, ou organique constituant une partie de la micro-flore : cette forme, labile, se reminéralise plus vite que le reste de la matière organique stabilisée (humifiée), pour plus de la moitié la première année, le reste essentiellement la deuxième année (REMY, 1975 ; BONNEAU et SOUCHIER, 1979). Ces formes, peuvent être réfractaires au lessivage de début d'incubation. Cette hypothèse est très vraisemblable. L'antithèse de cette proposition serait : les nitrates minéralisés dans ces dispositifs sont uniquement d'origine biosynthétique. Comme, surtout dans le dispositif 5, la composition isotopique s'abaisse avec l'augmentation du drainage (donc du flux d'azote), il faudrait admettre que le passage d'une importante quantité d'eau dans le sol déclenche une importante minéralisation, ("flush effect") susceptible, on l'a vu (chapitre 2-2) de provoquer, en tout début de minéralisation, un abaissement notable des compositions isotopiques. Outre le fait que ces nitrates appauvris ne représentent que la toute première fraction du nitrate minéralisé (cf. figures 2-9 et 2-10), tout ce que l'on sait de "l'éthologie" des germes nitrificateurs conduit à penser que ces périodes de drainage intense ne sont pas, au contraire, favorables à la nitrification. On peut donc admettre que ces dispositifs ne peuvent permettre de caractériser la composition isotopique des nitrates naturels. L'influence des engrais est encore importante, notamment pendant la période du drainage intense : tout se passe comme si les nitrates à composition isotopique basse (probablement de synthèse) se trouvaient dans des sites uniquement accessibles aux flux en eau les plus importants : il est clair, à l'examen du tableau 3-XXVIII que, pour la plupart des périodes

étudiées, la composition isotopique du nitrate décroît avec l'augmentation du débit.

Dans le cas des incubations en étuve, le séchage à l'air, préalable à l'incubation, a vraisemblablement détruit une fraction importante de la biomasse, en partie minéralisée. Le lessivage effectué en début d'incubation, a alors probablement éliminé l'azote minéralisé à partir de cette biomasse. D'autre part, le séchage préalable a pu également induire la nitrification rapide d'ammonium adsorbé.

Ainsi, on peut considérer que les incubations de longue durée en étuve donnent une bonne idée de la composition isotopique des nitrates produits par la matière organique "humifiée" des sols de Chaussy, comme nous l'avons mis en évidence sur la rendzine crayeuse de Châlons (cf. chapitre 2-2).

On peut donc considérer que la teneur en  $^{15}\text{N}$  des nitrates produits naturellement dans les sols de limon de Chaussy est comprise entre 6 et 8 %.

Ceci est parfaitement cohérent avec les résultats obtenus sur la case lysimétrique en sol de limon non cultivé installée par l'I.N.R.A. à Versailles (chapitre 2-2) (composition isotopique des nitrates naturels : 6,73 %), et les résultats obtenus au drainage de la parcelle de Boissy-le-Chatel (chapitre 3-2-2-I).

#### D) Résultats au drainage de la parcelle.

##### 1) Essais de bilans hydriques (DUTRIAUX, 1980).

###### a. - Pluviométrie.

L'étude commence à la fin de l'année 1976 marquée par une exceptionnelle sécheresse déjà évoquée. Les premiers mois de l'année 1976-1977 sont encore caractérisés par une faible pluviosité. Pendant toute la période d'étude seule cette année présente un déficit pluviométrique ETP - P de 54 mm.

###### b. - Capacité de rétention des sols de la parcelle.

Elle a été estimée, par la formule de GRAS, entre 27 et 35 % (pourcentage volumique).

On a pu observer que le tarissement du drainage correspond à une humidité du sol d'environ 270 mm pour un profil de 80 cm (profondeur du drainage) ce qui correspond à peu près à la capacité au champ. La réserve utilisable (HENIN *et al.*, 1969) est estimée à 120-150 mm, selon la profondeur d'enracinement. L'année 1976-1977 voit un écoulement de 4 096 m<sup>3</sup>, soit 18 mm : cet écoulement est très inférieur à l'excédent théorique des pluies. Il semble donc que



la réserve potentielle en eau du sol ait été supérieure à 100 mm cette année-là : la sécheresse de 1975-1976 a sûrement eu pour effet d'augmenter la profondeur d'enracinement et de développer un puissant système de fissures dans ce sol argileux ; la réserve potentielle du sol vis-à-vis de l'eau a augmenté et sa saturation doit être plus tardive. L'humidité du sol en 1976-1977 n'est nettement supérieure à la capacité au champ qu'au mois de février. L'année 1977-1978 se caractérise par un écoulement de 20 014 m<sup>3</sup> (89 mm). L'humidité du sol est toujours nettement supérieure à la capacité au champ de décembre 1977 à mai 1978. L'évaluation de l'écoulement théorique indique que la percolation naturelle de l'eau entre les drains est de l'ordre de 25 % de l'écoulement réel. L'année 1978-1979 est très proche de la précédente. Les conclusions de l'étude hydrogéologique de P. HOREMANS (1978) concernant les horizons inférieurs des sols du périmètre suggèrent l'existence d'une hydromorphie de profondeur, temporaire :

- en période de pluviosité importante, l'eau de gravité des horizons supérieurs doit s'écouler difficilement, entraînant une stagnation dans l'horizon inférieur du sol et la formation d'une nappe perchée,
- en été cette nappe peut disparaître par évaporation. Ces conclusions ont été vérifiées par la mise en place de 3 batteries de piézomètres en "flûte de Pan" en juillet 1978.

## 2) Données piézométriques.

La position et la profondeur des différents piézomètres sont données sur la figure 3-38. Au moment de l'implantation du dispositif aucun des sondages, jusqu'à 6 m n'a révélé la présence d'eau.

Par contre en décembre, janvier et mars 1978, on a pu mettre en évidence l'existence d'une nappe franchement au-dessus des drains dans les piézomètres de la batterie 2. Dans la batterie 3 (figure 3-38) le niveau piézométrique varie de part et d'autre de la profondeur d'implantation des drains, il est au-dessous dans le cas de la batterie 1.

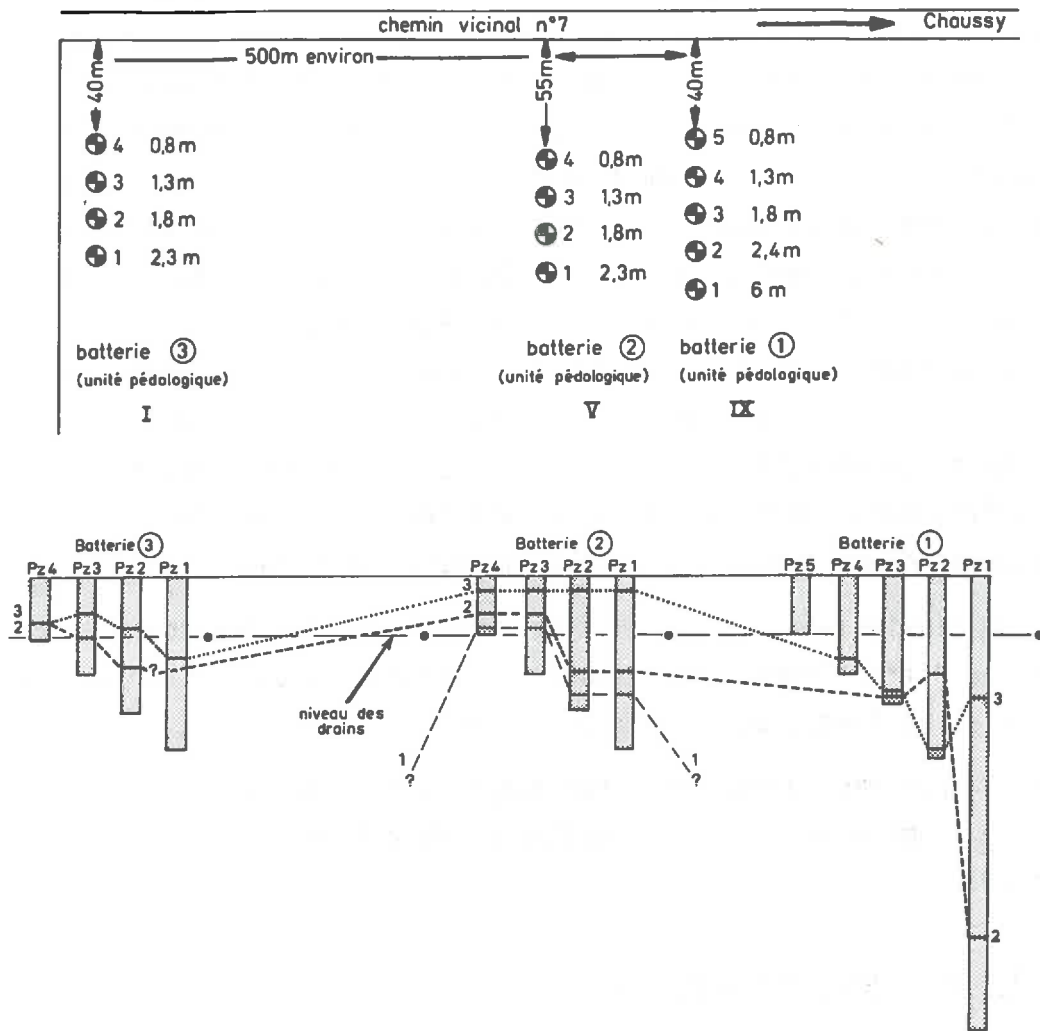


Figure 3-38 : En haut - Plan de position des piézomètres (d'après Sol-Progrès, juillet 1978).

En bas - Plan en coupe des piézomètres. Niveau piézométrique de la nappe perchée le 21 décembre 1978 (1) le 18 janvier 1979 (2) et le 26 janvier 1979 (3).

### 3) Composition isotopique des nitrates.

Sur la figure 3-39, nous avons reporté l'ensemble des résultats concernant les débits ( $l.s^{-1}$ ), les flux en nitrates ( $mg.s^{-1}$ ), les concentrations en  $N-NO_3^-$  ( $mg.l^{-1}$ ) et les compositions isotopiques ( $\delta^{15}N-NO_3^-$  ‰ versus azote atmosph.) ; ceci pour les 3 années hydrologiques 1976-1977 (figure 3-39a), 1977-1978 (figure 3-39b), 1978-1979 (figure 3-39c). On peut y constater une grande similitude entre les années 1977-1978 et 1978-1979 : les écoulements sont quasi continus, les  $\delta^{15}N$  s'abaissent lors des forts rejets en nitrates et sont plus élevés à la reprise du drainage et en fin d'écoulement de printemps.

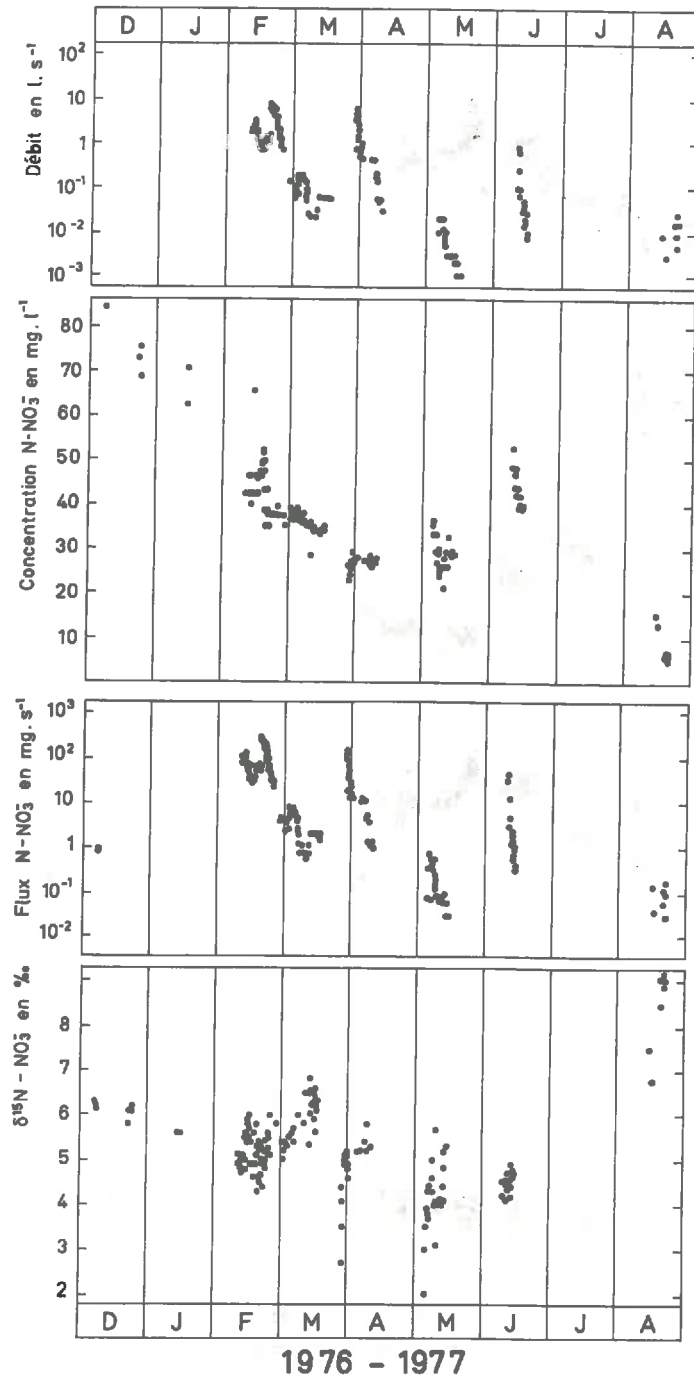


Figure 3-39a

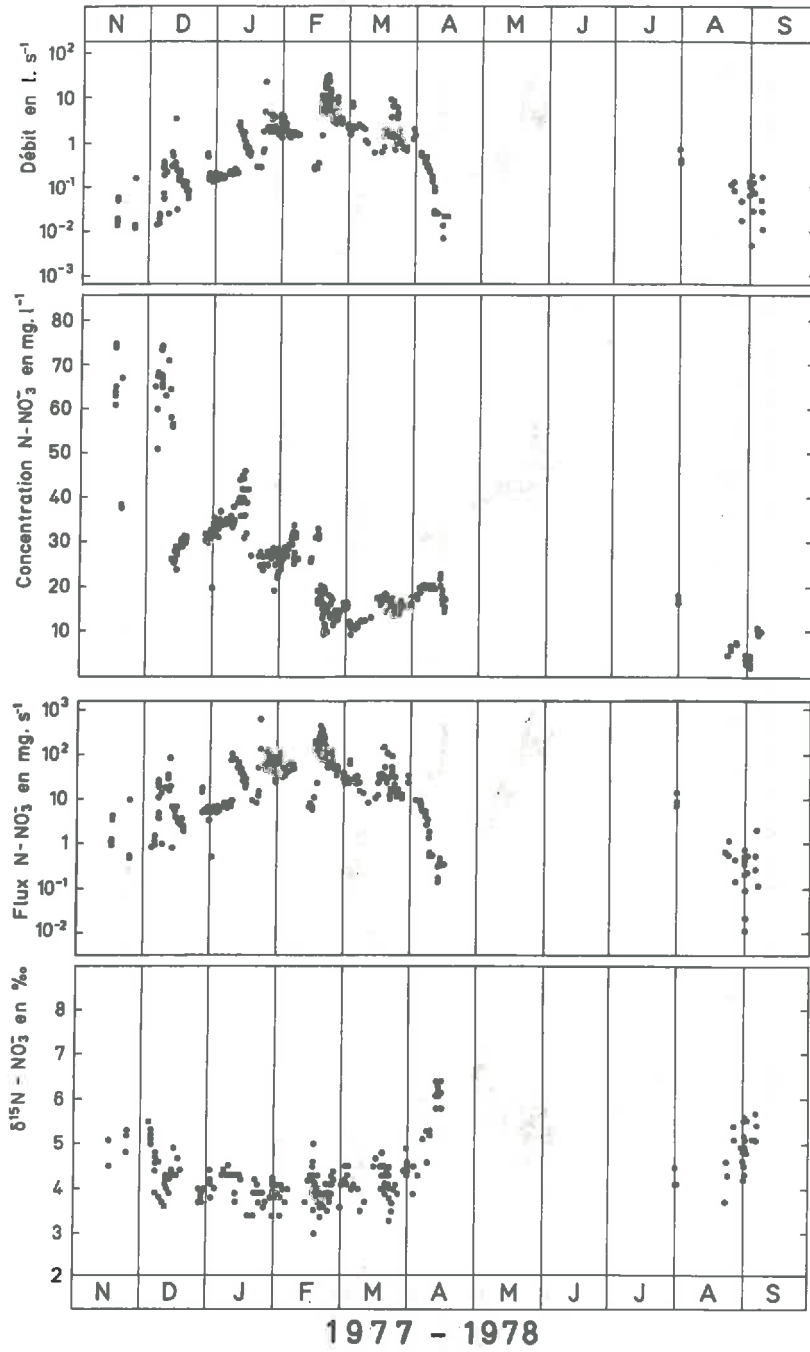


Figure 3-39b

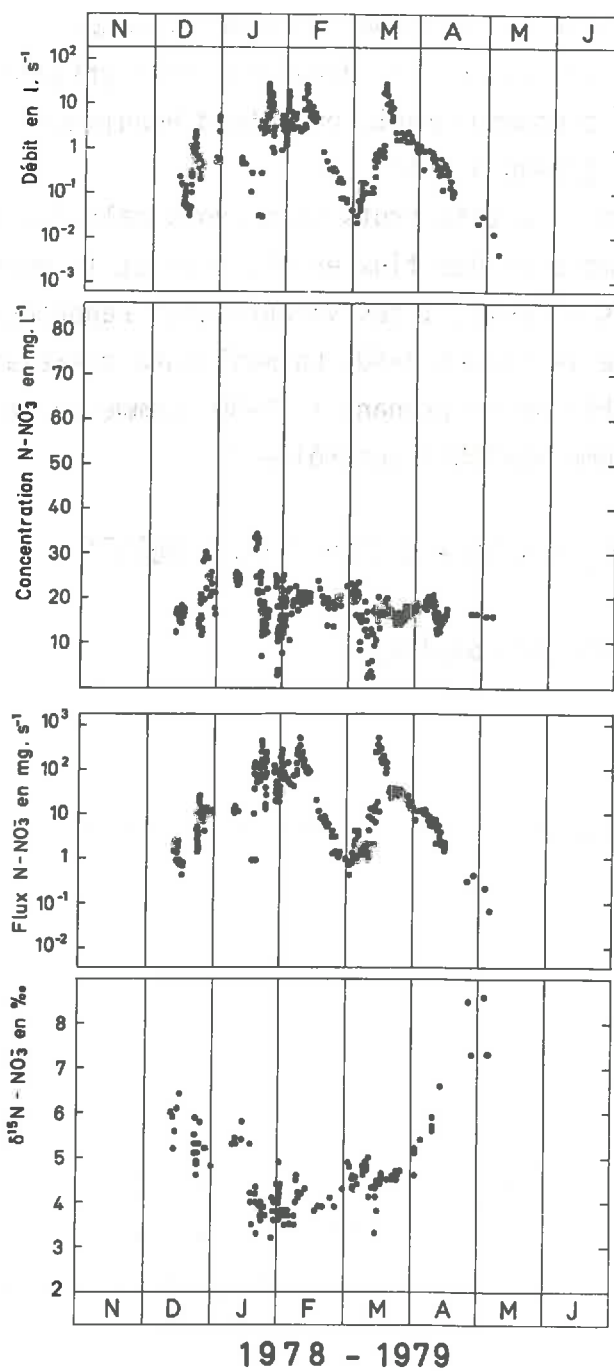


Figure 3-39c : Evolution des paramètres chimiques et isotopiques de l'azote au drainage de la parcelle de Chaussy ; débit liquide et flux d'azote nitrique (DUTRIAUX, 1980).

Au contraire, l'année 1976-1977, qui fait suite à la sécheresse exceptionnelle de 1975-1976, se distingue par des écoulements intermittents, accompagnés par des singularités de l'évolution de la composition isotopique aux reprises de drainage de fin mars et début mai 1977 (figure 3-39a). Ces deux reprises de drainage s'accompagnent, en tête d'écoulement, de compositions isotopiques très basses (jusqu'à 2 ‰).

A partir des résultats bruts nous avons calculé, par période d'une semaine environ, la moyenne des flux en nitrates et la moyenne, pondérée par les flux d'azote, des  $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  ; ces valeurs sont reportées sur le diagramme semi-logarithmique de la figure 3-40. La meilleure corrélation simple entre ces deux variables est obtenue en prenant  $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  comme variable aléatoire et l'inverse du flux comme variable contrôlée :

$$\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^- = 4,58 + 0,0079. (\text{Flux N}-\text{NO}_3^-)^{-1}$$

$$r = 0,65 \text{ (61 couples)}$$

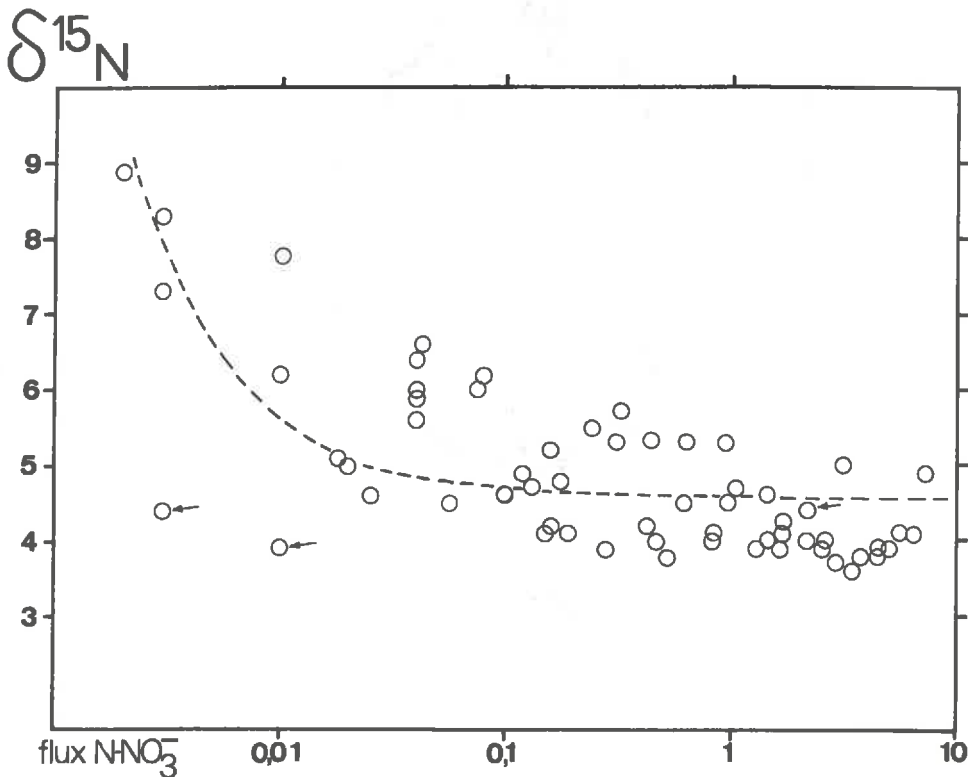


Figure 3-40 : Ecoulements au drainage de la parcelle de Chaussy.  
Diagramme semi-logarithmique  $\delta^{15}\text{N}$  - flux  $\text{N}-\text{NO}_3^-$  (en  $\text{mg.s}^{-1}$ ).  
Valeurs moyennes pondérées hebdomadaires.

La corrélation s'améliore si on ne tient pas compte des points incluant les périodes exceptionnelles de reprise de drainage de fin mars et début mai 1977, qui s'accompagnent de compositions isotopiques très basses (points repérés par des flèches sur le diagramme de la figure 3-40) :

$$\delta^{15}\text{N-NO}_3^- = 4,60 + 0,010 \cdot (\text{Flux N-NO}_3^-)^{-1}$$

$$r = 0,76 \text{ (58 couples)}$$

Il semble donc que l'on puisse proposer une *relation de type hyperbolique* entre ces deux paramètres. Ceci se retrouve sur la figure 3-41 où sont reportés tous les points analytiques obtenus au cours des années 1977-1978 et 1978-1979.

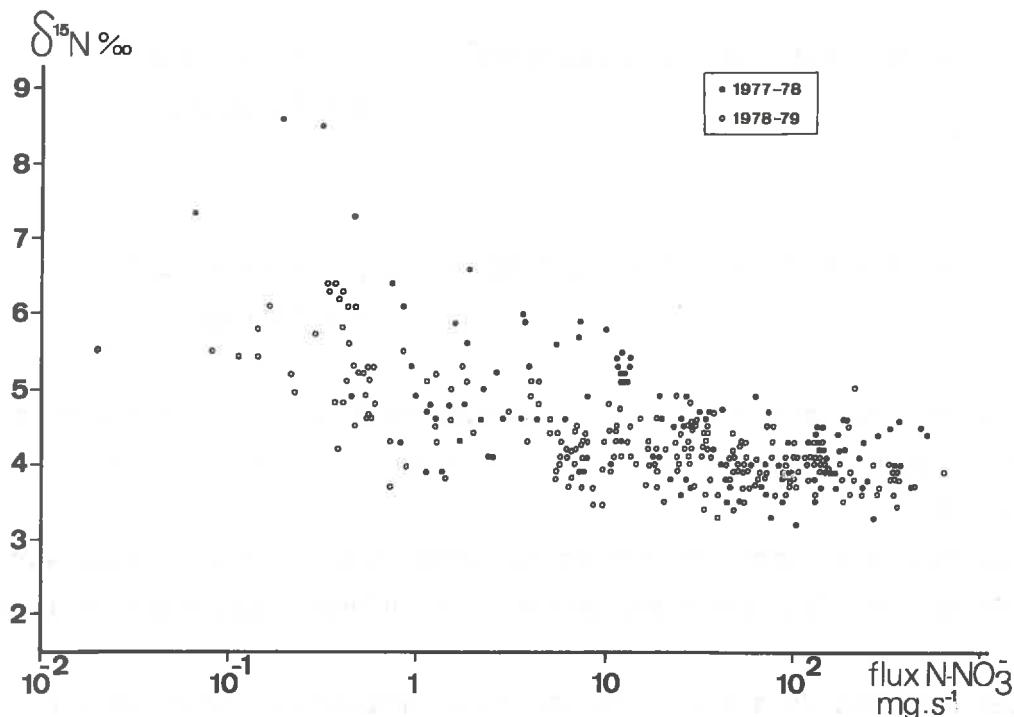


Figure 3-41 : Diagramme semi-logarithmique  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  - flux  $\text{N-NO}_3^-$  pour la totalité des mesures effectuées pour les années hydrologiques 1977-78 et 1978-79.

#### E) Interprétation.

Il est clair que ces résultats peuvent s'interpréter en termes d'un mélange bipolaire de nitrates :

+ un pôle caractérisé par des  $\delta^{15}\text{N}$  de l'ordre de 6,5 à 7,5 ‰ (pouvant s'élever jusqu'à 8,5 ‰ exceptionnellement) et une émission (flux) faible,

+ un pôle correspondant à des  $\delta^{15}\text{N}$  de l'ordre de 3 à 3,5 ‰ correspondant à la valeur asymptote de l'hyperbole que l'on pourrait tracer comme enveloppe inférieure des points de la figure 3-40 par exemple.

L'équation générale obtenue à partir des valeurs moyennes hebdomadaires (à l'exception des reprises de drainage hivernales de mars et mai 1977) est représentative des 3 années d'étude. Si on calcule ces relations année par année, on obtient :

1976-1977 (à l'exception des reprises de drainage en mars et mai) :

$$\delta^{15}\text{N} = 5,5 + 0,006.(\text{Flux N-NO}_3^-)^{-1} ; r = 0,93 \pm 0,31$$

n = 11 couples

1977-1978 :

$$\delta^{15}\text{N} = 4,1 + 0,021.(\text{Flux N-NO}_3^-)^{-1} ; r = 0,88 \pm 0,20$$

n = 25 couples

1978-1979 :

$$\delta^{15}\text{N} = 4,7 + 0,013.(\text{Flux N-NO}_3^-)^{-1} ; r = 0,74 \pm 0,25$$

n = 20 couples

*L'année 1976-1977 se caractérise par un abaissement plus faible des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  avec l'augmentation du flux de N, que pour les deux années hydrologiques suivantes.*

Ces résultats sont en tous points semblables à ceux obtenus sur le bassin de Mélarchez. Ils sont donc justiciables d'une interprétation identique.

Les reprises de drainage de la fin de l'automne, début de l'hiver correspondent à de très fortes concentrations, de faibles flux et des compositions isotopiques élevées : 6 à 7 ‰. On peut considérer que ces nitrates prennent leur source dans le lessivage d'une macroporosité ouverte pendant la période estivale sèche et sont interceptés *per descensum* par le réseau de drainage. Dans cette macroporosité, les nitrates d'origine biosynthétiques semblent dominer.

En hiver, les fortes pluies provoquent la remontée (voire la formation) de la nappe perchée ; la capacité au champ est atteinte, la dispersion hydrodynamique assure alors un mélange de toute l'eau du sol, eau gravitaire et eau des micropores, mélange qui assure celui des nitrates, biosynthétiques ou de



synthèse industrielle. Ce mélange est drainé par l'intermédiaire de la frange supérieure de la nappe dont le niveau piézométrique peut se trouver, sur une grande partie de la surface étudiée, au-dessus du réseau de drains. Les compositions isotopiques asymptotiques moyennes pendant les deux années "normales" 1977-78 et 1978-79, respectivement 4,1 et 4,7 % correspondent à la composition isotopique moyenne des nitrates contenus dans cette nappe, zone de mélange pour des nitrates d'origine et de compositions isotopiques différentes : essentiellement, sur ce périmètre, des nitrates d'origine biosynthétique naturelle à  $\delta^{15}\text{N}$  voisin de 7 % et des nitrates des engrais à bas  $\delta^{15}\text{N}$ .

Les drainages de décembre montrent que, bien avant l'application des engrais de l'année agronomique en cours, des nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$  sont présents dans les écoulements, ce que nous avons déjà rencontré lors de l'étude du bassin de Mélarchez. Ces nitrates, dans notre modèle, doivent obligatoirement se trouver au sein de la microporosité du sol et ne sont donc pas susceptibles d'être entraînés par les lessivages estivaux ou de début de saison pluvieuse qui n'intéressent qu'une macroporosité ouverte en saison sèche.

Les écoulements de l'année hydrologique 1976-77 se caractérisent, on l'a vu, par des interruptions fréquentes et par des reprises de drainage associées à des comportements particuliers des compositions isotopiques de l'azote des nitrates. Cette année hydrologique mérite un examen particulier. Du 11 février au 18 mars 1977, le  $\delta^{15}\text{N}$  des nitrates présente de faibles variations autour d'une moyenne, pondérée par les flux de nitrates, de 5,3 %. Quand s'amorce la décrue, puis lors de l'étiage prolongé de fin février début mars, ces  $\delta^{15}\text{N}$  augmentent pour atteindre 6,5 % (cf. figure 3-39a) au tarissement du 18 mars. Les eaux drainées le 16 mars juste avant ce tarissement ont une teneur en tritium comprise entre 110 et 130 U.T. et un  $\delta^{18}\text{O}$  de - 6,1 %. Les engrais ont été épandus entre la mi-février et la mi-avril.

#### Reprise de drainage et crue du 28 mars 1977.

L'évolution des paramètres débit liquide, flux et concentration en  $\text{N-NO}_3^-$ , flux et concentration en potassium,  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  et teneur en  $^3\text{H}$  de l'eau drainée est reportée sur la figure 3-42. La reprise de drainage est provoquée par un épisode pluvieux de 24 mm en 24 heures, le 28 mars : elle est répertoriée "pluie 20" sur la figure 3-42. L'eau de cette pluie a un  $\delta^{18}\text{O}$  de - 7,84 % et une teneur en  $^3\text{H}$  de 29 U.T. Le premier nitrate drainé le 28 mars a un  $\delta^{15}\text{N}$  de 2,5 %. Cette composition isotopique remonte ensuite régulièrement vers une valeur de 5,5 %. Le début de cet écoulement est caractérisé par un contenu en  $^3\text{H}$  de 99 U.T. et un  $\delta^{18}\text{O}$  de - 7,0 %. Ces deux valeurs sont significativement plus basses que celles obtenues le 16 mars au cours du tarissement

précédent (respectivement 110-130 U.T. et - 6,1 %). Ces teneurs vont remonter progressivement (cf. figure 3-42) à des valeurs voisines de celles de l'étiage précédent, c'est-à-dire à 120 U.T. environ et  $\delta^{18}\text{O}$  de - 6,0 ‰, valeurs atteintes le 29 et 30 mars. L'augmentation des valeurs de ces deux paramètres est parallèle à l'augmentation du  $\delta^{15}\text{N}$  des nitrates.

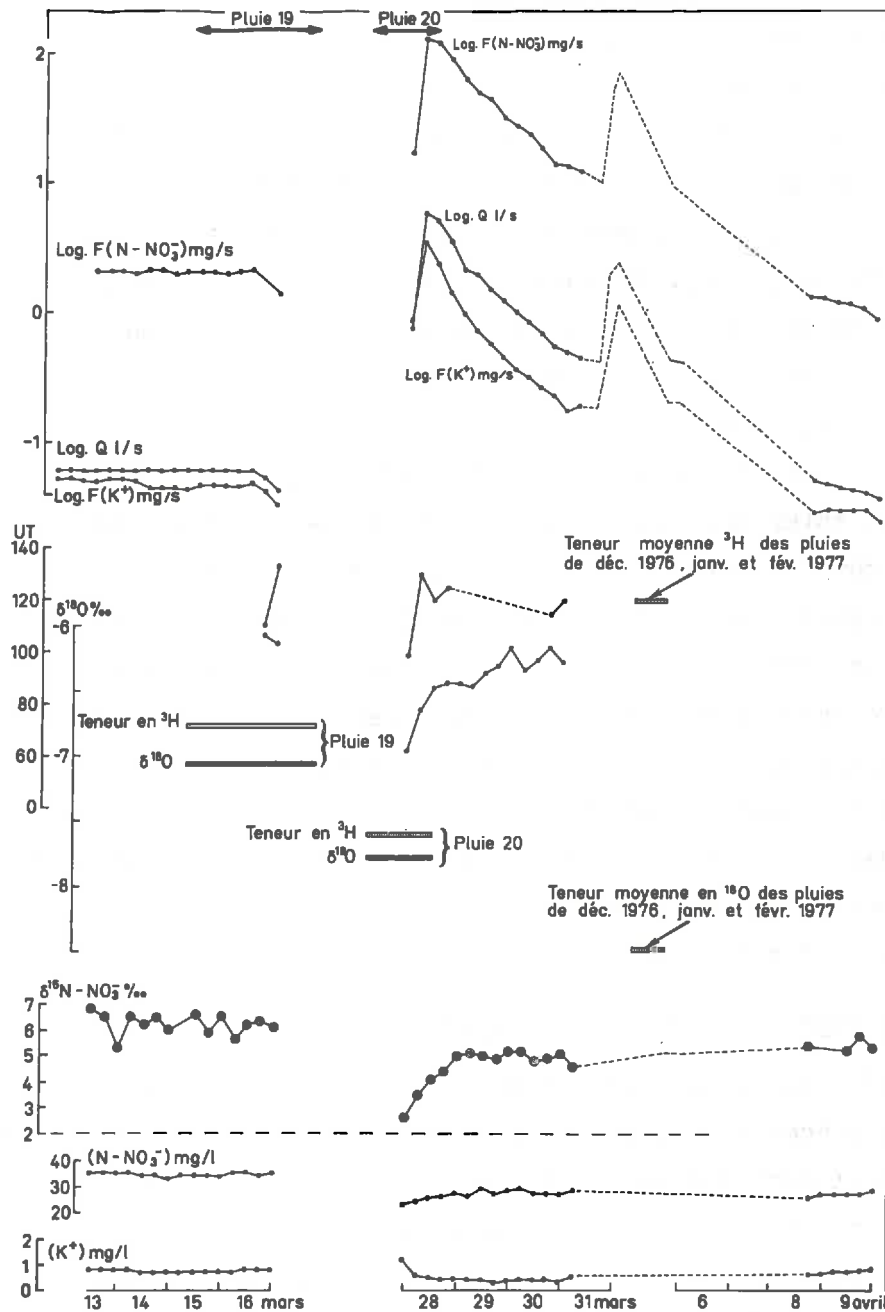


Figure 3-42 : Caractéristiques chimiques et isotopiques de la crue du 28 mars 1977 (DUTRIAUX, 1980).

L'étiage prolongé de fin février début mars, suivi du tarissement du 18 au 28 mars nous permet d'assimiler l'écoulement correspondant à celui de l'eau du sol, au sens large c'est-à-dire l'eau du sol et/ou l'eau de la nappe perchée.

L'examen de la figure 3-42 nous apprend que les caractéristiques isotopiques de l'eau drainée en fin d'étiage le 16 mars (110-130 U.T.,  $\delta^{18}O$  - 6,1 %) ne correspondent pas à celles des eaux de pluie du 11 au 21 mars ("pluie 19" de la figure 3-42), dont les teneurs moyennes en  $^3H$  et  $^{18}O$  sont 71 U.T. et  $\delta^{18}O$  - 7,1 %.

Les résultats obtenus par BLAVOUX (1978) sur le bassin de Mèlarchez, précédemment évoqués, permettent de proposer l'hypothèse interprétative suivante : pendant l'année hydrologique 1976-77, la surface hydrostatique de la nappe perchée passe alternativement au-dessus et en-dessous du niveau des drains, expliquant l'écoulement intermittent durant cette période.

L'écoulement d'étiage de fin février début mars peut être considéré comme l'écrêtage de la partie superficielle de cette nappe, qui voit le mélange, en proportion variable, de nitrates naturels biosynthétiques et de nitrates de synthèse ; la partie superficielle de cette nappe se caractérise par une teneur en  $^3H$  de 120 U.T. environ, par un  $\delta^{18}O$  de - 6 % et un  $\delta^{15}N-NO_3^-$  moyen, cette année là de 5,5 %. Du 18 au 28 mars le tarissement s'explique par le fait du passage de la surface de la nappe sous le niveau des drains.

Au début de la reprise de drainage du 28 mars, on peut constater que les eaux drainées ont des compositions isotopiques ( $^3H$ ,  $^{18}O$ ) *très différentes de celles de cette nappe mais très proches de celles de la pluie 19* (11 au 21 mars) : en moyenne 71 U.T. et  $\delta^{18}O$  - 7,08 %. Tout se passe comme si les eaux de cette pluie, en cours de percolation dans le sol pendant l'étiage puis le tarissement du 18 au 28 mars, étaient *chassées rapidement* jusqu'au drain par l'averse de 24 mm du 28 mars ("pluie 20") aux compositions isotopiques de 29 U.T. et  $\delta^{18}O$  - 7,84 %. Cette pluie chasse devant elle une partie de l'eau de la pluie 19 jusqu'au drain, sans participer elle-même de façon notable au drainage. Cette eau solubilise au cours de son passage dans le sol *les engrais fraîchement épandus* : les tous premiers nitrates drainés ont un  $\delta^{15}N$  (2,5 %) très proche de celui des engrais (2,1 % en moyenne). Ces engrais seraient donc lessivés par la pluie du 11 au 21 mars et chassés jusqu'à la profondeur du drainage par la pluie du 28 mars qui provoque la reprise du drainage. Les fortes concentrations en nitrates lors de cette reprise (cf. figure 3-42) *excluent la possibilité que ces nitrates soient ceux de la pluie*, eux aussi caractérisés, on l'a vu, par des  $\delta^{15}N$  bas. De même, la présence de fortes teneurs en  $K^+$  lors de cette reprise de drainage conforte l'hypothèse que les nitrates de cette période sont des nitrates d'engrais.

Bien évidemment ces eaux chargées en nitrates de synthèse sont interceptées *per descensum* par le réseau de drainage. Puis, sous l'effet des percolations hors drains, la nappe perchée est alimentée et sa surface remonte très rapidement au-dessus du niveau des drains : on assiste ainsi, au niveau des abondances isotopiques, au *mélange progressif de l'eau de la nappe avec l'eau des pluies* : les teneurs en  $^3\text{H}$  et  $^{18}\text{O}$  remontent vers celles de la nappe : 120 U.T. ;  $\delta^{18}\text{O} - 6\%$  environ ; la composition isotopique des nitrates passe de 2,5 à 5,5 % environ : le mélange des deux types d'eau s'accompagne du mélange des nitrates des engrais, lessivés par les pluies et des nitrates présents dans la nappe ( $\delta^{15}\text{N} \approx 5,5\%$ ).

Les reprises de drainage suivantes du 5 et du 10 mai montrent les mêmes phénomènes (cf. figure 3-43) : les premiers nitrates ont un  $\delta^{15}\text{N}$  de 2 % (5 mai) et 3 % (10 mai) puis ces valeurs remontent rapidement vers 5 à 5,5 %.

D'autres interruptions de drainage (cf. figure 3-39a) se produisent mais les reprises de drainage qui les suivent (10 juin) ne font plus apparaître une évolution du  $\delta^{15}\text{N}$  du type précédent : ces compositions isotopiques restent stables autour de 4,5 %. Les nitrates des engrais, alors largement consommés par la végétation, se sont dispersés et mélangés de façon homogène dans la solution du sol et ont contribué à l'abaissement de la composition isotopique des nitrates de la nappe superficielle perchée, si c'est bien elle qui est encore drainée à cette époque, autour de la valeur de 4,5 % au lieu de 5,5 % pour la période de drainage située avant l'épandage de l'année, en février.

#### Composition isotopique des nitrates à la fin du drainage de printemps.

Les décrues, précédant le tarissement, de fin mars à fin avril en 1977-78 et de mi-mars à début mai en 1978-79 s'accompagnent, alors que les flux en nitrates diminuent, d'une augmentation des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  de 4,5 % environ à 6 % lors du tarissement de 1978 et à 8,5 % en 1979 (cf. figure 3-39b et 3-39c). Plusieurs interprétations peuvent être proposées :

Les engrais résiduels initialement présents dans le sol sont utilisés par les plantes ou lessivés et entraînés dans le réseau de drains : le sol s'épuise progressivement en nitrate de synthèse alors que la minéralisation et la nitrification tendent à devenir de plus en plus actives. Cette hypothèse ne peut expliquer en totalité ces résultats : on sait que chaque année, avant l'application des engrais sont drainés des nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$  dont on peut penser qu'ils peuvent provenir des épandages de l'année précédente.

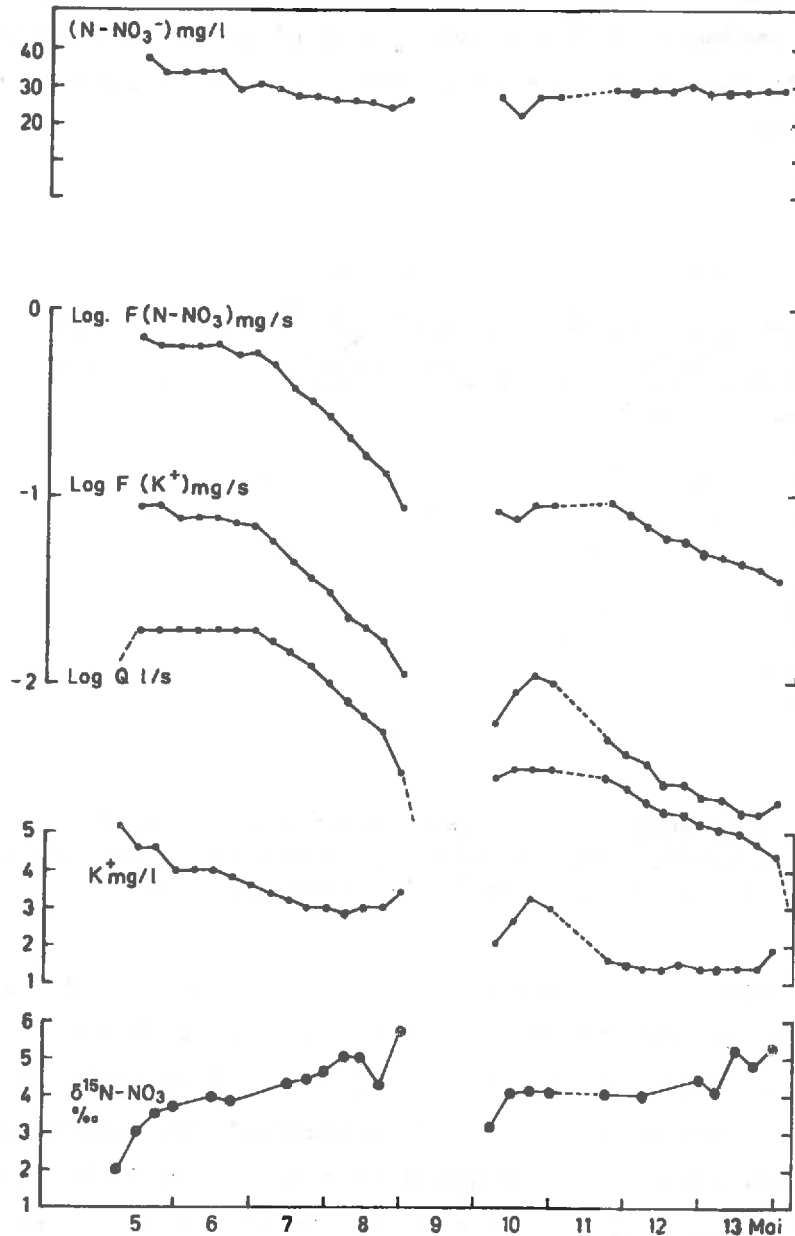


Figure 3-43 : Caractéristiques chimiques et isotopiques des reprises de drainage du 5 mai et du 10 mai 1977 (DUTRIAUX, 1980).

- Les engrais ne sont pas lessivés pendant cette période parce qu'ils se trouvent dans des sites moins accessibles au lessivage que les nitrates biosynthétiques qui sont en phase de production intense. Il se peut que la vidange de la nappe d'hiver corresponde à une diminution de la dispersion hydrodynamique de l'eau du sol. Dans ce cas, les échanges chimiques avec l'eau de rétention doivent être faibles. Si les nitrates de synthèse se trouvent concentrés, à cette période, dans de tels sites, leur part au lessivage sera extrêmement réduite.

Une troisième hypothèse peut être proposée. Après l'implantation des piézomètres sur le périmètre d'étude, nous avons effectué deux prélèvements dans ces dispositifs les 26 janvier et 31 mars 1978. Les résultats figurent sur le tableau 3-XXXI.

PROFONDEUR PIEZOMETRE EN METRES	BATTERIE PIEZOMETRES (1)								BATTERIE PIEZOMETRES (2)								BATTERIE PIEZOMETRES (3)									
	N - NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l		N - NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l		N - NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/l		δ <sup>15</sup> N-(NO <sub>3</sub> +NO <sub>2</sub> ) ‰		N - NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l		N - NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l		N - NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/l		δ <sup>15</sup> N-(NO <sub>3</sub> +NO <sub>2</sub> ) ‰		N - NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l		N - NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l		N - NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/l		δ <sup>15</sup> N-(NO <sub>3</sub> +NO <sub>2</sub> ) ‰			
	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3	26-1	31-3
	0,8	Piézomètre sans eau								4,5	7,6	4,7	1,5	0,2	1,0	9	13,2	1,5	1,2	traces	traces	3,6	6,8			
1,3	7,2	tr.	9,1	tr.	traces	mesure non faite	4,4	7,7	0,4	tr.	0,2	tr.	13,9	9,0	1,6	3,0	traces	traces								
1,8	14,4	tr.	0,6	tr.	traces	mesure non faite	6,3	5,0	traces	traces	traces	traces	12,0	11,3	0,5	7,7	traces	traces								
2,3	15,8	tr.	3,6	tr.	traces	mesure non faite	4,7	6,4	5,0	tr.	0,2	tr.	9,4	9,1	0,7	8,7	traces	traces								
6	14,3	16,2	1,5	tr.	traces	11,2	6,4																			

Tableau 3-XXXI : Concentration et composition isotopique de l'azote minéral contenu dans les eaux prélevées dans les piézomètres le 26.01.79 et le 31.03.79 (DUTRIAUX, 1980).

On y constate que les concentrations en nitrates sont toujours plus faibles que celles des eaux de drainage prélevées aux mêmes dates : respectivement pour le 26.01.1978 27 mg/l et le 31.03 16 mg/l en moyenne. De plus, certaines des batteries de piézomètres (1 et 2) présentent des teneurs notables d'ammonium ou de nitrites qui s'accompagnent toujours de δ<sup>15</sup>N élevés, supérieurs à 9 ‰, allant jusqu'à 13,9 ‰, valeurs qui ne s'observent jamais dans les eaux de drainage.

Ceci suggère fortement l'existence dans ces piézomètres, où l'eau stagne, d'une dénitrification (ou d'une réduction des nitrates) expliquant les basses teneurs en nitrates, la présence de nitrites et les δ<sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> élevés. Au niveau du drainage, lorsque la vitesse d'écoulement de la nappe diminue au moment de sa vidange en fin d'écoulement de printemps, on peut penser que de telles conditions de stagnation, entraînant une anaérobiose, sont susceptibles d'induire une dénitrification. Un tel comportement peut être invoqué pour expliquer les δ<sup>15</sup>N de 12 à 14 ‰ enregistrés au cours de l'été 1978 dans les dispositifs d'incubation au champ (cf. tableau 3-XXVIII). Nous y avons fait appel précédemment (cf. chapitre 2-3) à propos des cases lysimétriques de Châlons ; il reste que ce phénomène, s'il peut réellement être invoqué ici,



est de portée limitée : l'élévation des compositions isotopiques est faible alors que le facteur d'enrichissement isotopique est élevé et les concentrations de  $\text{N-NO}_3^-$  ne marquent pas de tendance bien marquée à la baisse au cours du tarissement. Il est toutefois très surprenant que l'élévation des  $\delta^{15}\text{N}$  au cours du tarissement ne dépasse pas 7 à 8,5 % dans le cadre de cette hypothèse de dénitrification. Ces valeurs peuvent caractériser, on l'a vu, des nitrates d'origine biogénique. Sans que la 3ème hypothèse puisse être *a priori* rejetée, nos faveurs vont plutôt à la deuxième.

#### Les drainages estivaux.

En 1977 ils se caractérisent par un  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  moyen pondéré par le flux de nitrate, de 8,5 %. Nous interprétons ces résultats par l'existence de transferts rapides de nitrates biosynthétiques dans une macroporosité ouverte en saison sèche : l'explication est semblable à celle proposée pour le bassin de Mélarchez.

En 1978 ces écoulements sont caractérisés par un  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$  moyen pondéré de 4,1 % du 30 juillet au 8 août, 4,6 % le 27 août et 5,1 % du 30 août au 1er septembre. Or, l'un des exploitants a épandu le 30 juin, sur 3 ha, 22 kg N/ha (nitrate de chaux). De plus une partie importante (12,80 ha) de la parcelle expérimentale a été *irriguée* :

- fin juillet par deux applications de 45 mm,
- fin août par une application de 90 mm. Cette irrigation s'effectue par aéroaspersion à partir des *eaux de la nappe des calcaires de Beauce caractérisée localement par des compositions isotopiques en azote de l'ordre de 4,3 à 5,3 %*, et des teneurs en azote nitrique de 7 à 10 mg/l. La conjonction de ces deux pratiques culturales, application tardive d'engrais et irrigation avec l'eau de la nappe de Beauce chargée en nitrate explique les compositions isotopiques de l'azote au drainage estival de la parcelle de Chaussy en 1978.

#### F) Bilans.

Sur le tableau 3-XXXII, nous avons fait figurer successivement :

- les pertes azotées au réseau de drainage en kg/N/an,
- les pertes réelles estimées supérieures aux précédentes du fait de la possibilité de drainage "hors drains" ; ce drainage "hors drains" est estimé par comparaison entre l'écoulement réel et l'écoulement théorique aux moyens de profils hydriques (DUTRIAUX, 1980),

- les compositions isotopiques moyennes pondérées par le flux en nitrates.

	ANNEES HYDROLOGIQUES		
	1976-77	1977-78	1978-79 <sup>1</sup>
Pertes mesurées kgN/ha	7.7	17.0	16.6
Pertes totales estimées kgN/ha	10	21	20
$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ moyen pondéré	5.0	3.9	4.1
Pluviométrie mm	572	714.5	439
Volume drainé m <sup>3</sup>	4098	20197	20539

1 : jusqu'au mois de mai

Tableau 3-XXXII : Essai de bilan (azoté, isotopique, hydrique) sur la parcelle expérimentale de Chaussy.

On peut donc constater que, à la suite de l'année d'exceptionnelle sécheresse 1975-76, l'année 1976-77 se caractérise par des pertes en nitrates relativement peu importantes, corrélatives d'un volume drainé faible.

Ces nitrates sont caractérisés par une composition isotopique moyenne élevée : 5 % : on peut penser que la part des nitrates d'origine biosynthétique est importante. Par contre, les deux années suivantes s'accompagnent de pertes deux fois plus importantes, pertes où les nitrates de synthèse industrielle prennent une part nettement plus importante qu'en 1976-77 : les  $\delta^{15}\text{N}$  moyens pondérés sont de 3,9 % en 1977-78 et de 4,1 % en 1978-79. Il semble que l'année 1977-78 est celle qui voit le départ le plus important de ces nitrates des engrais. Tout se passe comme si l'année précédente (1976-77) où les départs d'engrais semblaient faibles avaient permis la réalisation d'un stock dans le sol, lessivé l'année suivante (où le volume drainé est 5 fois plus important).

Nous observons donc que l'étude du drainage de cette parcelle expérimentale nous conduit à des conclusions qui vont dans le même sens que celles retenues lors de l'étude du bassin de Mèlarchez. Les nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$ , probablement d'origine industrielle, sont entraînés préférentiellement en hiver et au printemps, lors des plus forts rejets en nitrates. Les très fortes concentrations en nitrates de début de drainage paraissent essentiellement imputables au phénomène naturel de minéralisation. Les pertes annuelles des engrais par le réseau de drainage sont le fait de l'application de l'année en cours et de celles des années précédentes.



Nous avons mis en évidence la possibilité de transits rapides de nitrates dans le sol au cours d'épisodes hydriques particuliers :

- transit rapide et exclusif de nitrates biosynthétiques par l'intermédiaire d'une macroporosité ouverte en saison sèche,
- transit rapide de nitrates de synthèse d'engrais récemment appliqués lors d'années exceptionnelles (1976-1977), caractérisées par un régime hydrique discontinu avec arrêts et reprises de drainage successifs. Ce transit rapide semble exceptionnel et quantitativement faible en proportion du transit sous forme de mélange avec les nitrates du sol par l'intermédiaire d'une nappe perchée dans le cas de sols drainés comme ceux de Chaussy et de Mèlarchez. Un tel transit peut également contribuer à expliquer le résultat obtenu en date du 12.4.1972 sur le bassin de Mèlarchez (cf. figures 3-18 et 3-20) où l'on voit apparaître dans la rivière, lors de la première crue suivant l'application des engrais, un nitrate à  $\delta^{15}\text{N}$  aussi bas que 1,4 ‰.

Sous la parcelle de Chaussy, le niveau hydrostatique de la nappe des calcaires de Beauce est situé à 20 m environ sous la surface du sol. Il serait intéressant de connaître l'impact des pratiques agricoles sur la qualité des eaux souterraines, et en particulier d'examiner quel peut être l'apport de la géochimie isotopique de l'azote à la connaissance des sources de pollution de ces eaux par les nitrates.

Cette technique sera testée sur le cas des nappes de Brie et de Beauce.



II. - APPLICATION DU TRACAGE ISOTOPIQUE NATUREL PAR  $^{15}\text{N}$  A LA CONNAISSANCE DES SOURCES DE LA POLLUTION NITRIQUE DES AQUIFERES SOUTERRAINS DE LA REGION PARISIENNE\* .

Elle a été effectuée sur deux grandes régions naturelles proches de Paris : la Brie et la Beauce. Les raisons de ce choix sont :

- l'existence dans ces régions de nappes dont les réserves se comptent parmi les plus importantes de France,
- le fait que ces nappes sont en danger de contamination par les nitrates, dont les teneurs n'ont cessé d'augmenter au cours des deux ou trois dernières décennies,
- l'existence, enfin, d'une action concertée de recherche entre l'Agence de Bassin Seine-Normandie, la Chambre régionale d'Agriculture du Centre et le Ministère de l'Industrie et de la Recherche qui, inquiets de l'évolution des teneurs en nitrates de ces nappes, ont demandé en 1976 au Service Géologique National, en collaboration avec le Laboratoire de Géologie Dynamique de l'Université Pierre et Marie Curie, d'entreprendre une étude chimique et isotopique de ces nappes en vue de tenter d'élucider le problème de l'origine de ces nitrates.

A) Situation géographique.

La figure 3-44 situe le cadre géographique de l'étude et rappelle la position des principaux sites déjà étudiés (bassin de Mëlarchez, parcelle de Chaussy...).

La Beauce est une unité morphologique de 8000 km<sup>2</sup> environ, constituée d'une surface structurale tabulaire située entre le bassin de la Seine et celui de la Loire. Composée de terrains tertiaires, essentiellement des calcaires lacustres, cette région est drainée radialement par les rivières des bassins de la Seine et de la Loire. Le plateau lui-même présente un réseau hydrographique extrêmement pauvre : le ruissellement est un phénomène exceptionnel. Cette région présente une vocation agricole essentiellement céréalière.

---

\* MARIOTTI *et al.*, 1976.

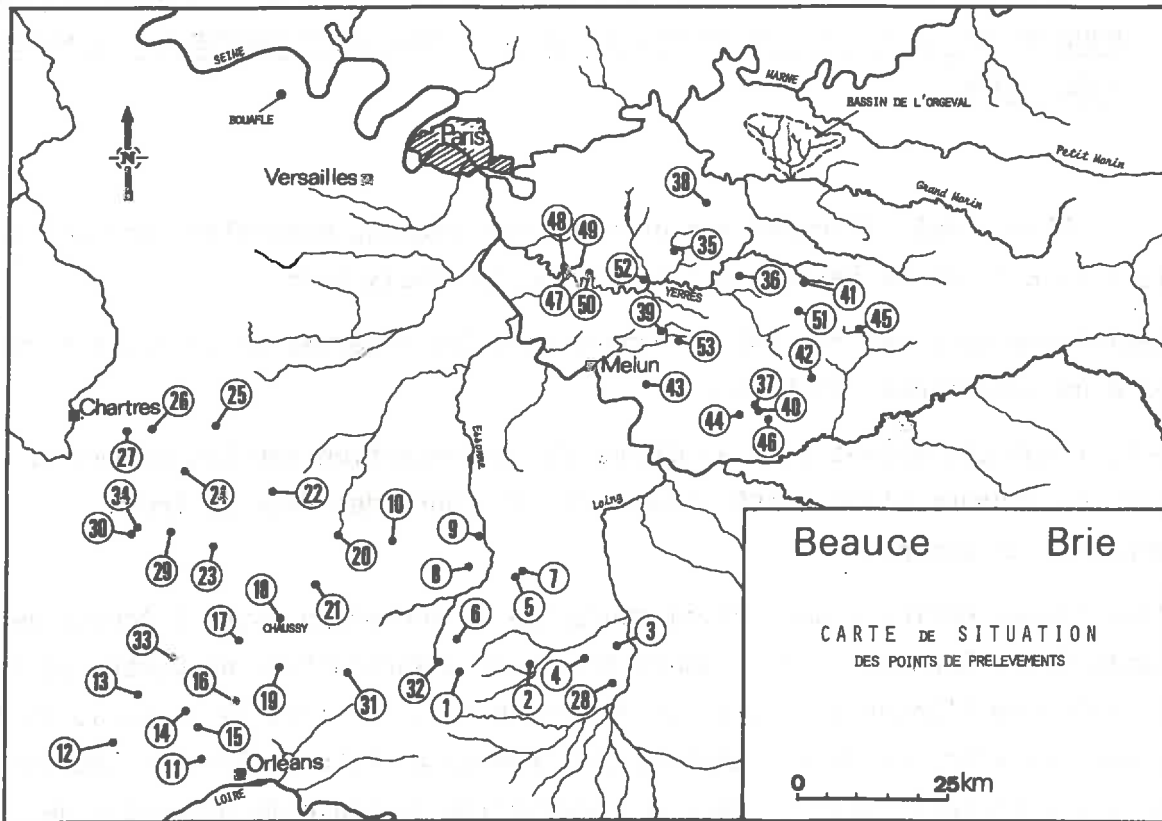


Figure 3-44 : Cadre de l'étude. Situation des points de prélèvement sur les nappes de Beauce et de Brie, du bassin de l'Orgeval, de l'Yverres, de la parcelle expérimentale de Chaussy et du site de Bouafle.

La Brie est un plateau compris entre Marne et Seine. Le Petit Morin sépare la Brie champenoise au NE de la Brie française au SW qui, seule, fera l'objet de notre étude.

Ce plateau, incliné vers l'Ouest, de 4000 km<sup>2</sup>, possède un réseau hydrographique au chevelu dense. L'un des plus importants bassins est celui de l'Yverres dont nous avons déjà parlé. Le bassin de l'Orgeval appartient au bassin du Grand Morin.

La vocation agricole de la Brie, elle aussi est essentiellement céréalière.

L'apparition des engrais azotés artificiels synthétisés par le procédé de HABER et BOSCH a profondément modifié la vocation agricole de ces régions, qui ont peu à peu abandonné leurs activités d'élevage au profit de la culture intensive. Ceci s'est accompagné d'un emploi sans cesse croissant de ces engrais : alors que la moyenne française de consommation d'azote sur les terres

fertilisées est de 48,5 kg N/ha/an en 1971 (COYNE et BELLIER, 1972).

M. de SOUMAGNAT (1975) la situe en 1972, pour la Beauce, autour de 162 kg N/ha/an sur blé et 141 kg N/ha/an sur maïs. Entre 1960 et 1970, le facteur d'augmentation de l'utilisation de l'azote a été de 2,5 pour les départements de Seine-et-Marne, d'Eure-et-Loir et du Loiret (Syndicat Professionnel des Engrais Azotés ; *in* MEGNIEN, 1976).

B) Données hydrogéologiques et hydrochimiques.

Elles résumeront très succinctement les ouvrages-références suivants : thèse de C. MEGNIEN (1976), Atlas hydrogéologique de la Beauce (DESPREZ et MEGNIEN, 1975), Atlas des nappes aquifères de la région parisienne (MEGNIEN *et al.*, 1970).

On peut distinguer classiquement : la nappe de l'Oligocène dite Nappe de Beauce et la nappe de l'Eocène supérieur constituant l'aquifère dit des calcaires de Champigny.

La figure 3-45 présente une coupe schématique SSW-NNE situant ces nappes entre Loire et Marne.

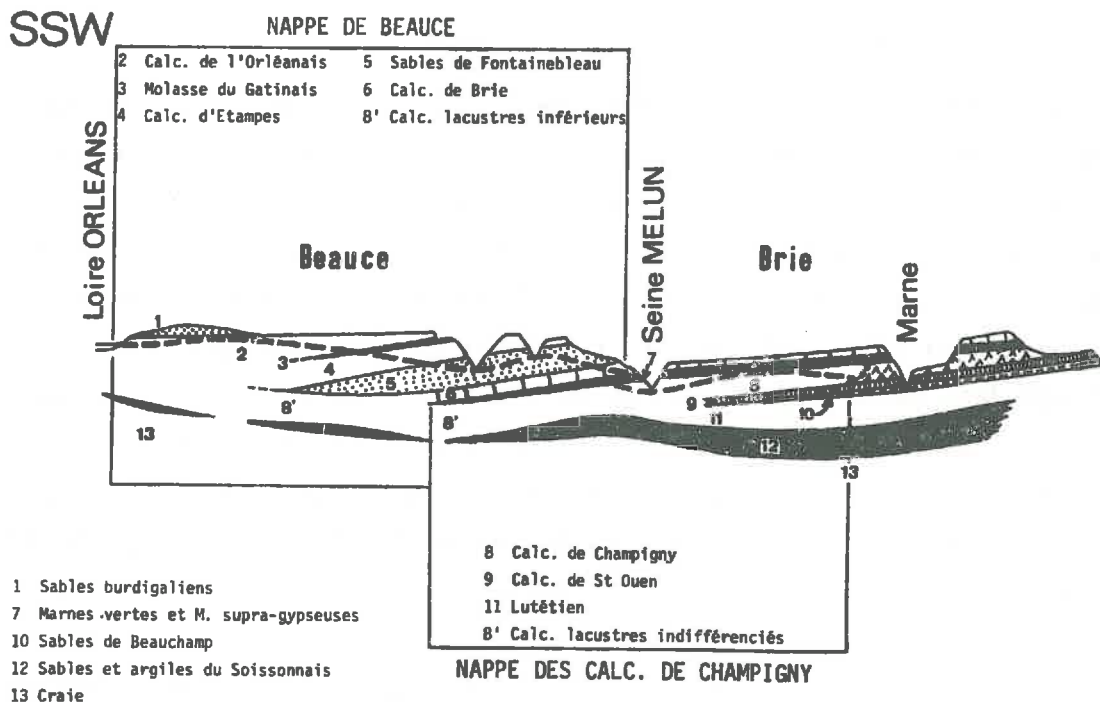


Figure 3-45 : Schéma de position des nappes principales de Brie et de Beauce (simplifié d'après MEGNIEN).

1) Nappe de Beauce.

Il s'agit de l'une des plus grandes nappes libres de France. Elle s'étend sur plus de 7500 km<sup>2</sup> et ses réserves sont estimées à 10 milliards de m<sup>3</sup>. Le substratum imperméable de cette nappe est constitué par le niveau des Marnes à Huîtres puis Marnes vertes vers le SW. En dehors des limites d'extension de ce faciès, cette nappe n'a pas de substratum défini et communique avec les nappes sous-jacentes et la Craie.

a. - En Beauce.

La nappe baigne indistinctement des formations déposées depuis le Lutétien jusqu'à l'Aquitanién (Calcaire de Morancez, Lutétien ; Calcaire de Champigny, Bartonien-Ludien ; Calcaire de Brie, Stampien inférieur ; Sables de Fontainebleau, Stampien ; Calcaires d'Etampes ou de Beauce inférieurs, Stampien supérieur ; Molasse du Gâtinais, Aquitanién inférieur ; Calcaire de l'Orléanais ou Calcaires de Beauce supérieurs, Aquitanién supérieur). Cette nappe est captée par des forages d'une cinquantaine de mètres de profondeur. On y prélève environ 50 millions de m<sup>3</sup>/an (eau potable ; irrigation).

b. - En Brie.

La nappe oligocène en Brie baigne la formation des calcaires de Brie, son plancher étant constitué par le niveau imperméable des Marnes vertes. Elle constitue un réservoir étendu mais pelliculaire (5 à 6 m de puissance). La surface piézométrique est ainsi très proche du sol : on comprend qu'en hiver elle puisse atteindre la surface topographique, dans les régions basses, provoquant des inondations. On comprend également le développement très important du drainage dans cette région, tel qu'on l'a vu sur le bassin de Mélarchez par exemple. On consultera à cet égard la carte de densité de drainage par canton en 1970 pour le bassin Seine-Normandie, éditée par l'Agence de Bassin (Hydraulique agricole pl.1). Rappelons que étymologiquement Brie (ou Bray) signifie marais (en bas latin, *Braium* veut dire boue).

2) La nappe de l'Eocène supérieur dite "des calcaires de Champigny".

a. - En Brie.

Cet aquifère baigne les calcaires lacustres de Champigny et les calcaires de St-Ouen (Marinésien-Ludien). Le substratum en est constitué par les sables de Beauchamp dont les faciès sont argileux sous la Brie. Ce complexe

Calcaires de Champigny - Calcaires de St-Ouen constitue un réservoir à perméabilité de fissures caractérisé par des phénomènes karstiques : gouffres, pertes de rivières qui alimentent la nappe dans leur cours amont et la drainent en aval : un exemple typique, déjà évoqué, est l'Yerres. D'une façon générale, des circulations préférentielles longues (jusqu'à 20 km) et rapides (7 km/jour) ont été mises en évidence. Cette nappe subit de nombreux prélèvements : les sources de la région de Provins contribuent à l'alimentation de la Ville de Paris, cette nappe alimente également les grandes villes régionales : Melun, Fontainebleau, Brie-Comte-Robert.

b. - En Beauce.

Cette nappe se distingue de la Nappe des calcaires de Beauce dans la limite du développement du faciès des Marnes vertes (cf. figure 3-45).

3) Hydrochimie de ces nappes.

Elle est bien connue grâce au dépouillement par le B.R.G.M. des analyses chimiques effectuées par les différents laboratoires de contrôle des eaux. On en trouvera l'essentiel dans l'ouvrage de C. MEGNIEN (1976), nous en présenterons ici les grands traits pour ce qui concerne les nitrates.

a. - En Beauce.

Sur 30 analyses récentes et complètes, on peut constater que les eaux présentent une minéralisation normale pour un aquifère calcaire, à l'exception de fortes teneurs en nitrates : médiane 40 mg/l, quartile inférieur 31 mg/l, quartile supérieur 44 mg/l. Les concentrations en nitrates sont supérieures à 30 mg/l sur la plus grande partie de la Haute et Basse Beauce. Sur la figure 3-46, extraite de MEGNIEN (1976) on peut observer que de nombreux points de la Nappe de Beauce présentent des teneurs en nitrates supérieures à la norme de potabilité (44 mg/l), et apparemment en nette augmentation, pour tous les points analysés, entre juin 1974 et février 1975, ce qui correspond à une recharge de la nappe après 3 années assez sèches.



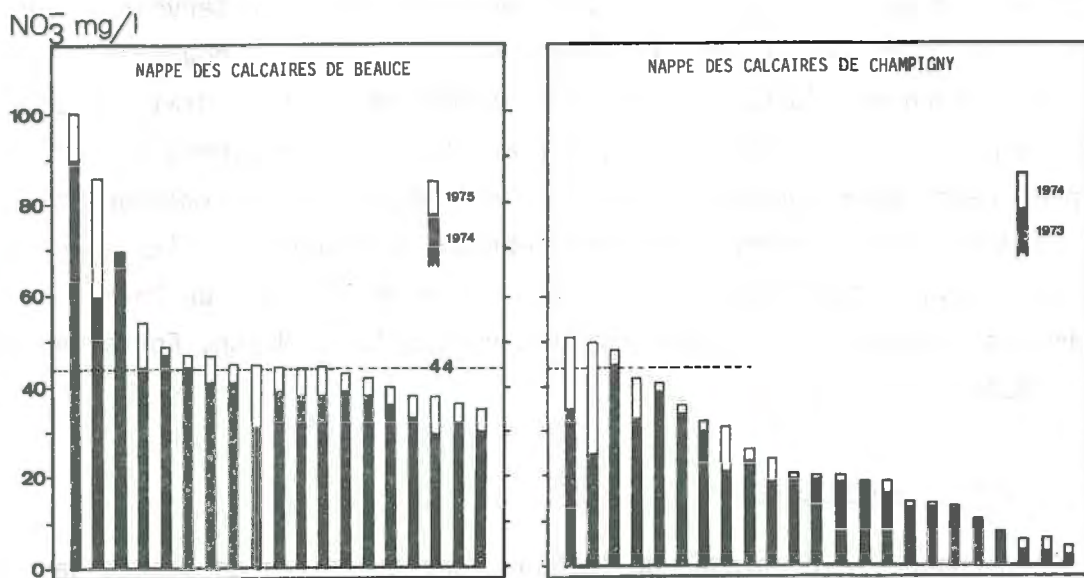


Figure 3-46 : Classement par ordre décroissant des concentrations en nitrates observées sur :

- 19 captages publics (A.E.P.) captant la nappe des calcaires de Beauce (en Eure-et-Loir) ; valeurs de juin 1974 et février 1975.
- 23 captages publics (A.E.P.) captant la nappe des calcaires de Champigny ; valeurs de décembre 1973 et octobre 1974.

Repris de MEGNIEN (1976).

Dans l'Atlas hydrogéologique de la Beauce, DESPREZ et MEGNIEN (1975) présentent une carte de répartition des nitrates dans la nappe, reproduite de façon simplifiée sur la figure 3-47. Les plateaux semblent plus affectés par cette pollution que les vallées où le taux de renouvellement de l'eau est plus élevé (N. DESPREZ). De plus, cette nappe semble protégée de la pollution en nitrates par le recouvrement des sables burdigaliens (cf. figures 3-45 et 3-47), ce qui permet à MEGNIEN (1976) de conclure que "la minéralisation en nitrates est liée à une circulation verticale des eaux et qu'elle est d'origine superficielle". De plus cet auteur met en évidence une certaine stratification chimique des nitrates dans la nappe, avec décroissance des teneurs avec la profondeur. Rappelons enfin qu'en certains points de la Beauce, des réseaux de drainage assainissant des parcelles sont collectés dans un forage absorbant : c'était le cas de la parcelle de Chaussy. Le transfert des nitrates à la nappe peut être alors direct et rapide.



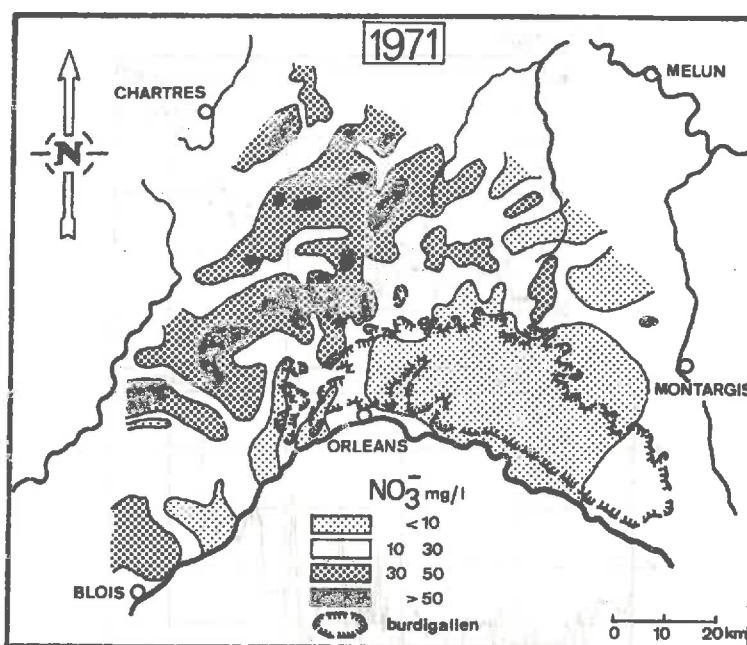


Figure 3-47 : Concentrations en nitrate de la nappe des calcaires de Beauce en 1971. Position schématique des dépôts du burdigalien. Simplifié d'après N. DESPREZ (1975).

b. - En Brie.

La nappe du calcaire de Champigny présente de très grandes irrégularités de répartition géographique et une grande variabilité dans le temps de la concentration en nitrates. Ceci est probablement en rapport avec la complexité de l'alimentation de la nappe, notamment l'alimentation de type karstique et les communications préférentielles eaux de la nappe - eaux de surface. La minéralisation en nitrates est moins importante que celle de la nappe de Beauce, ainsi que le révèle la figure 3-46 : peu d'ouvrages dépassent la norme actuelle de potabilité ( $44 \text{ mg/l } NO_3^-$ ). Dans la région de Provins, la nappe des calcaires de Champigny a montré, au cours des dernières décennies, une très nette tendance à l'augmentation de sa teneur en nitrates ; un exemple est démonstratif (MEGNIEN, 1976) : la source St-Martin à Rouilly, dans la vallée du Durteint et les sources de la Voulzie captées par la Ville de Paris\* (cf. figure 3-48).

\* Il s'agit là de la conduite principale qui intègre les sources de la Voulzie sensu stricto, du Durteint et du Dragon.

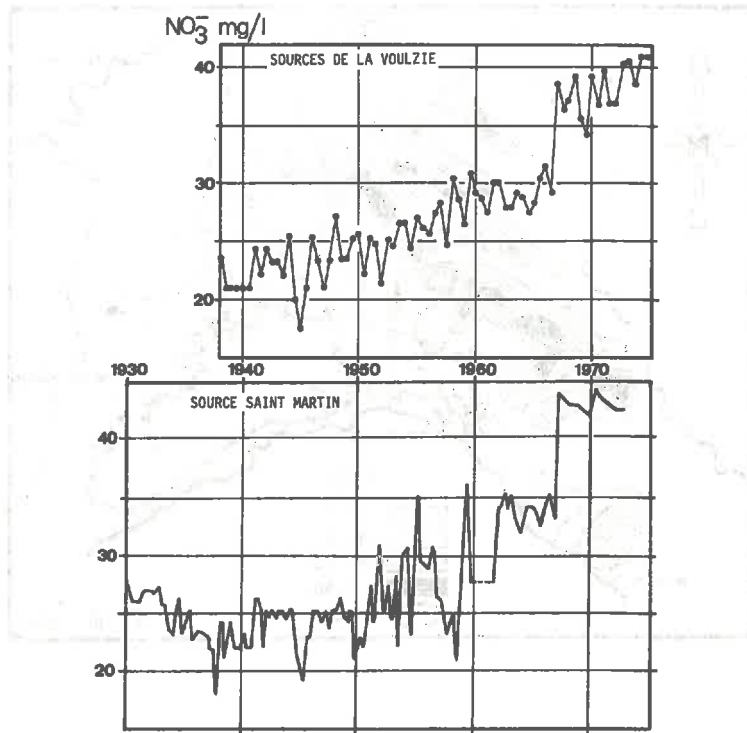


Figure 3-48 : Evolution de la teneur en nitrates :

- sur la source St-Martin à Chalautre-la-Petite (nappe des calcaires de Champigny, graphique établi d'après les bulletins d'analyses de la Station Agronomique de Melun (1931 à 1972).
- sur l'ensemble des sources de La Voulzie, captées pour l'alimentation en eau potable de la Ville de Paris, d'après les analyses du Service de Contrôle des Eaux de la Ville de Paris (1938 à 1974).

Repris de MEGNIEN (1976).

Les teneurs en nitrates commencent à croître de façon sensible et régulière dès 1950 ; vers 1966 on note une brutale augmentation qui porte ces eaux au voisinage de la limite de potabilité. L'examen rapide de ces courbes suggère que la contamination en nitrates relève, dans ce cas précis, d'un phénomène régulier auquel se superpose une brutale accélération du processus (vers 1966) : on peut donc penser que, dans ce cas, plusieurs sources de nitrates peuvent se superposer. Nous allons voir sur l'exemple de la Brie et de la Beauce quel peut être l'apport de la géochimie isotopique de l'azote à la résolution du problème de l'origine de ces nitrates.

C) Choix des sites de prélèvement.

La figure 3-44 les situe, les numéros renvoyant au tableau de l'annexe A II.

Pour la Beauce, nous avons analysé 34 points de captage de la nappe sur des forages assurant l'alimentation en eau potable (A.E.P.) des communes. Ces points sont répartis régulièrement sur l'ensemble de la Beauce, et les profondeurs de ces forages permettent d'obtenir un large éventail de situations : nappe libre ou semi-captive, éventuels mélanges de tranches d'eau d'un même aquifère (formation de Beauce, des Sables de Fontainebleau, du Calcaire de Brie) ou d'aquifères superposés (Morancez + Craie). Sur ces 34 points, 27 ont été analysés une seule fois (en mars et avril 1976) (cf. tableau de l'annexe A II) et 7 ont fait l'objet d'un suivi plus ou moins régulier au cours des années 1975 et 1976.

Pour la Brie, 19 sites ont été retenus dont les caractéristiques figurent sur le tableau 3-XXXIII. Certains de ces points ont fait l'objet d'un suivi, d'autres ont été analysés une seule fois.

Situation hydrogéologique	Point analysé	Nature de l'ouvrage	Numérotation de la figure 3-44
Nappe des Calcaires de Brie	Fontenay-Trésigny	source	35
	Rosay Vilpré	source	36
	Maigneux A.E.P.	puits A.E.P.	37
	Mortcerf	puits A.E.P.	38
	Champeaux	source	39
Nappe des Calcaires de Champigny	Maigneux St Jules	source	40
	Jouy le Châtel	puits A.E.P.	41
	St Loup de Naud	source captée	42
	Le Châtelet	puits A.E.P.	43
	Villeneuve lès Bordes	puits A.E.P.	44
	Rouilly	source	45
	Bécherelles	source	46
	Brie Comte Robert A.E.P.	puits A.E.P.	47
	Brie Comte Robert SNCF	source captée	48
	Brie Comte Robert Rosiériste	source captée	49
	Brie Comte Robert Sansalle	puits A.E.P.	50
	St Just	puits A.E.P.	51
	Ozouer le Voulgis	puits A.E.P.	52
	Bombon	source	53

Tableau 3-XXXIII : Répertoire et caractéristiques des points de prélèvements sur les nappes de Brie.

### Critères du choix.

Le choix a été guidé par le souci d'obtenir un éventail représentatif de l'activité agricole de ces régions. Dans cette optique, la majorité des points ont été choisis en milieu rural, le plus souvent en rase campagne : ceci est notamment le cas pour la Beauce ; dans quelques cas cependant, pour cette région, le captage se situe dans une agglomération dont l'influence peut être sensible. En Brie le guide du choix a été le même, l'éventail étant toutefois plus large, en particulier :

- certains points, proches du Val de l'Yerres sont influencés par les pertes karstiques de cette dernière : ce sont les points de Brie (A.E.P., S.N.C.F., Rosiériste, Sansalle),
- un point (Mortcerf) a été prélevé sous une forêt (forêt de Crécy).

Enfin, pour les deux régions, deux captages ont été choisis comme point témoin de la référence géochimique naturelle :

- en Beauce : Chilleurs aux Bois, au Nord de la forêt d'Orléans, est protégé naturellement par les assises de surface constituées par les Marnes de l'Orléanais,
- en Brie : Jouy-le-Château, captage où on prélève la partie profonde de la nappe, caractérisée en ce point par une faible minéralisation, (Villeneuve-lès-Bordes occupe une position semblable).

### D) Résultats et interprétation.

Ils figurent sur le tableau général de l'annexe A II. Divers paramètres chimiques et isotopiques ont été mesurés :

- chimiques :  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{=}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{O}_2$  dissous,
- isotopiques :  $\delta^{15}\text{N}$ , Tritium, ce dernier élément ayant été analysé dans les Laboratoires du B.R.G.M. (Section géologie isotopique) par A. MARCE. Pour l'interprétation des données relatives aux mesures de  $^3\text{H}$ , nous ne ferons aucun rappel, renvoyant les lecteurs à des ouvrages tels que OLIVE (1970), FONTES (1976), MARCE et MEGNIEN (1977), BLAVOUX (1978).

### Beauce.

Si on considère les résultats obtenus au cours de la campagne de prélèvements des mois de mars et avril 1976, on peut noter qu'il existe une corrélation positive entre l'activité tritium et la minéralisation non carbonatée de l'eau (figure 3-49) de même qu'entre l'activité tritium et la concentration en nitrate (figure 3-50). A cette époque de prélèvement, une

eau sur trois présente une activité  $^3\text{H}$  inférieure ou égale à l'unité, deux eaux sur trois sont inférieures à 5 U.T.

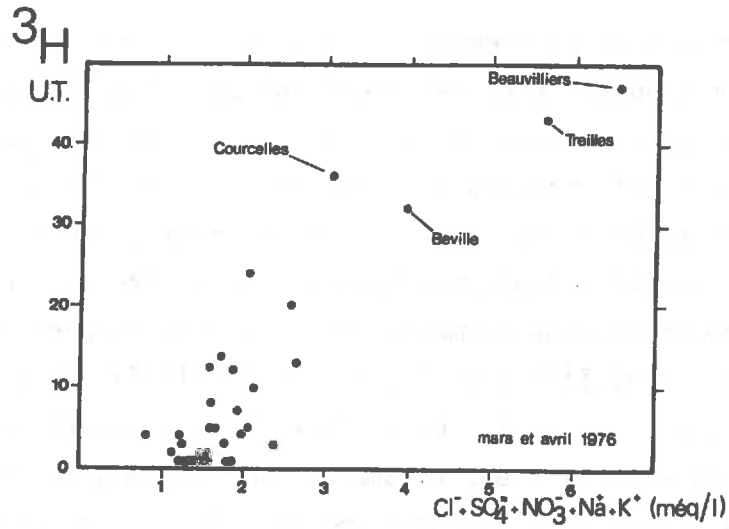


Figure 3-49 : Relation entre l'activité tritium et la minéralisation non carbonatée dans les eaux souterraines de la Beauce en mars et avril 1976 (MEGNIEN, 1976).

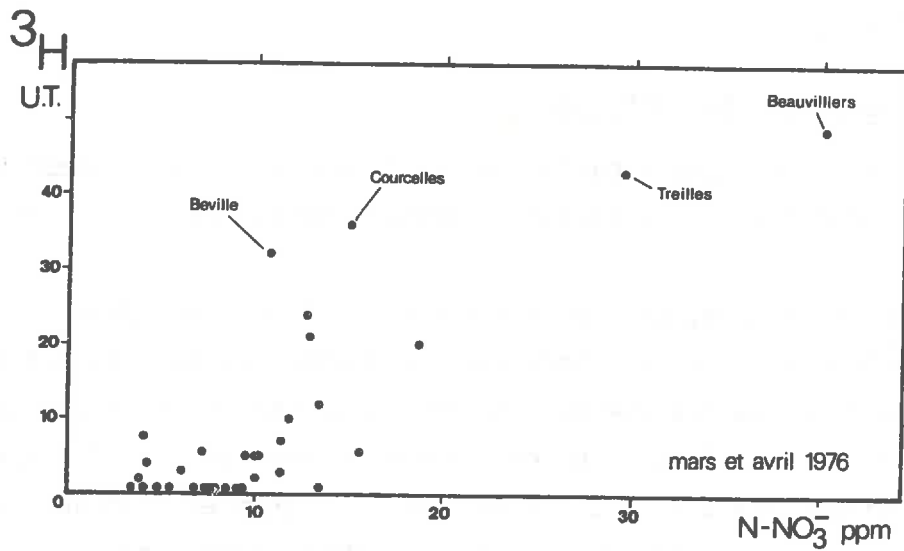


Figure 3-50 : Relation entre l'activité tritium et la concentration en nitrate dans les eaux souterraines de Beauce en mars et avril 1976.

Il semble donc que la minéralisation non carbonatée de ces eaux soit, pour l'essentiel, due à l'arrivée dans l'aquifère d'eaux récentes, riches en  $^3\text{H}$ . Plus les eaux sont récentes plus elles sont minéralisées, notamment en nitrates.

Deux points particulièrement pollués en nitrates, Treilles et Beauvilliers, se distinguent très nettement sur ces diagrammes, ainsi qu'à un degré moindre deux autres points, Beville et Courcelles. Ces points se caractérisent par ailleurs (cf. tableau de l'annexe A II) par leurs teneurs en  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , nettement supérieures aux moyennes des eaux souterraines de Beauce. Ceci est particulièrement valable pour Beauvilliers, Treilles et Beville.

Cette idée de mélange de masses d'eau s'intègre bien dans le schéma général d'aquifères stratifiés avancé par MEGNIEN (1976). Pour la Beauce, cet auteur propose le schéma suivant : en surface de la nappe des eaux récentes, riches en  $^3\text{H}$  et très minéralisées, notamment en nitrates, qui peuvent s'écouler vers les exutoires ; plus en profondeur des eaux à taux de renouvellement faible ( $^3\text{H} < 1 \text{ U.T.}$ ). Ceci nous a conduit à distinguer deux groupes :

- des eaux à teneur en tritium supérieure à 5 UT : la proportion d'eau récente, postérieure à 1952 (premières explosions thermonucléaires), est notable,
- des eaux à teneur en tritium inférieure à 5 UT où la proportion d'eau récente est faible ; la plupart de ces points ont en fait des teneurs inférieures à une unité tritium.

#### Composition isotopique des nitrates.

Les résultats sont reportés sur la figure 3-51, à l'exception de ceux concernant les prélèvements effectués à Beauvilliers, Treilles et Beville-le-Comte.

Sur cette figure, on s'aperçoit que l'ensemble des points s'ordonnent selon une courbe pouvant être interprétée en terme d'un mélange entre des nitrates à composition isotopique voisine de 8 ‰ (à Chilleurs, notre point référence naturelle pour la Beauce) et des nitrates correspondant à l'asymptote inférieure, estimée ici à  $\delta^{15}\text{N}$  1,9 ‰ environ. L'interprétation susceptible d'être donnée à ces résultats est l'existence d'un mélange bipolaire de nitrates naturels, caractérisés par une relativement basse concentration (dans un secteur où la nappe est protégée, en surface, par les Marnes de l'Orléanais) et un  $\delta^{15}\text{N}$  de l'ordre de 8 ‰ (proche des valeurs reconnues pour des nitrates naturels de sols cultivés) et des nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$  qui pourraient être les nitrates de synthèse des engrais artificiels.

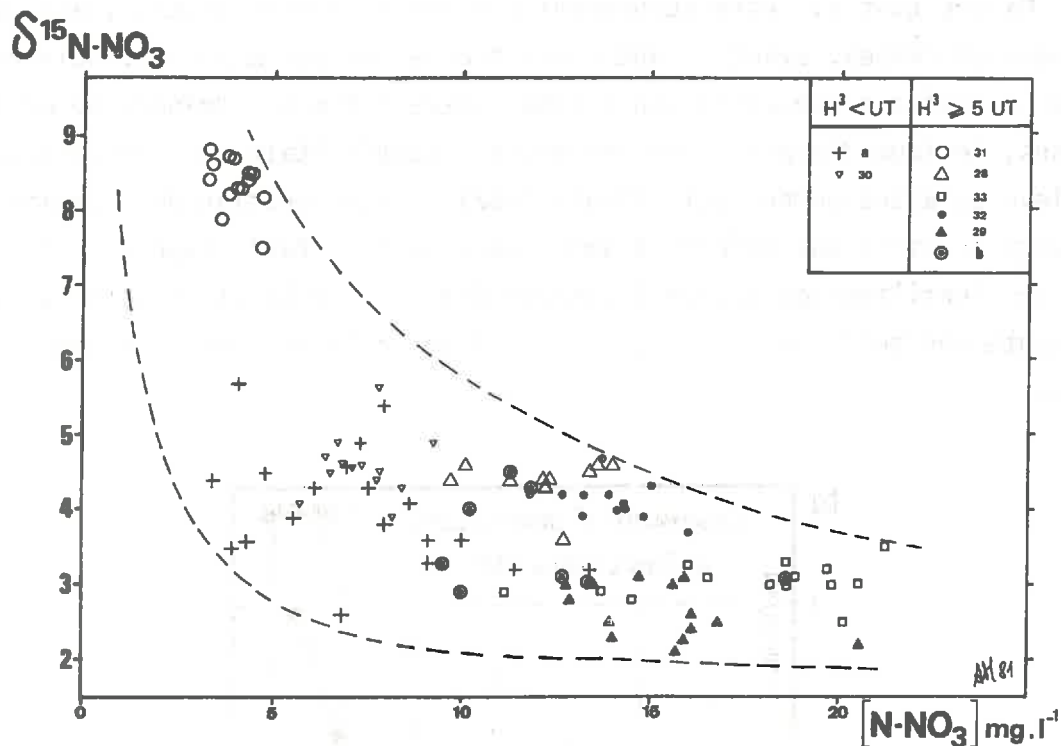


Figure 3-51 : Nappe de Beauce. Diagramme  $\delta^{15}N - N-NO_3$ . Les numéros renvoient à la figure 3-44 et au tableau en annexe A II).

- a - Ensemble des points ayant fait l'objet d'une analyse unique et où U.T. < 5.
- b - Ensemble des points ayant fait l'objet d'une analyse unique et où U.T. > 5.

L'examen de la figure 3-51 montre, bien évidemment, que les eaux à  $^3H > 5$  U.T. sont plus riches en nitrates que celles à  $^3H < 5$  U.T. mais que les points représentatifs de ces dernières s'ordonnent également grossièrement de sorte que l'augmentation de concentration en nitrate s'accompagne d'une baisse de  $\delta^{15}N$ .

Il reste qu'il n'y a pas, dans ce diagramme, de différence fondamentale, entre des eaux anciennes et des eaux où la composante récente est importante. De plus, l'examen du tableau de l'annexe A II montre que les activités tritium des eaux souterraines de Beauce peuvent subir d'importantes variations lorsque l'on effectue un suivi dans le temps sur un même forage. Ainsi, le captage de Girolles varie de  $1 \pm 3$  à  $37 \pm 4$  U.T. ; à Voves, les teneurs varient de  $< 1$  U.T. à  $13 \pm 2$  U.T. : une mesure instantanée de l'activité tritium n'a donc pas la signification absolue de non contamination locale de la nappe par des eaux récentes.



Malgré tout il reste surprenant que des eaux sans tritium, aux réserves très ci-dessus émises, ayant un âge moyen très supérieur à 30 ans, puissent contenir des nitrates à concentration élevée, susceptible d'atteindre 40 mg/l : il y a 30 ans, le taux d'application des engrais azotés était considérablement moins élevé qu'actuellement (cf. figure 3-52), l'accélération de l'utilisation de ces engrais étant postérieure à 1950. Cependant il faut rappeler qu'à cette époque, une fertilisation azotée d'automne était la règle et on sait les dangers que présente une telle pratique, juste au début de la période de pluies les-ivantes.

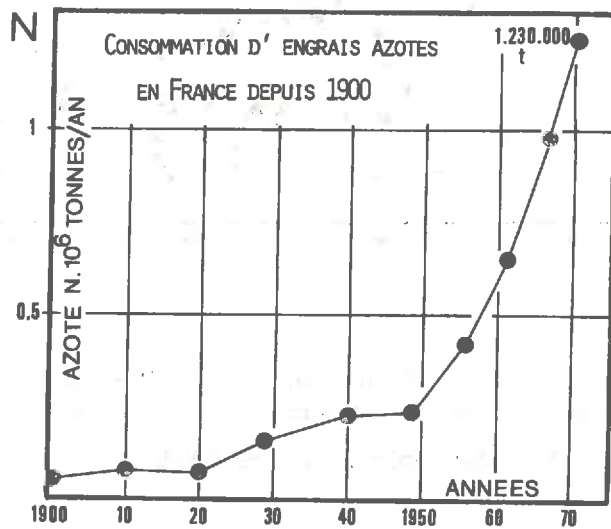


Figure 3-52 : Evolution de la consommation d'engrais azotés en France depuis 1900, d'après les données de PONTAILLER et GERVY (1971), in MEGNIEN (1976).

Sur la figure 3-53, nous avons situé l'ensemble des points mesurés dans un diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration. On constate que certains captages s'éloignent nettement du modèle de mélange ci-dessus présenté : il s'agit de Beauvilliers et Treilles et, dans une moindre mesure, Beville-le-Comte. Ces points se singularisaient déjà nettement dans les diagrammes des figures 3-49 et 3-50. Ces points sont, rappelons-le riches en  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ .

Nous examinerons en détail le captage de Beauvilliers, situé dans l'agglomération où, d'une façon générale, l'absence d'un réseau complet de collecte des eaux usées impose leur rejet dans des puits "perdus". Le captage est effectué dans l'aquifère indifférencié des Calcaires de Morancez et de la Craie. A 3 km de Beauvilliers, le captage de Voves atteint la craie.



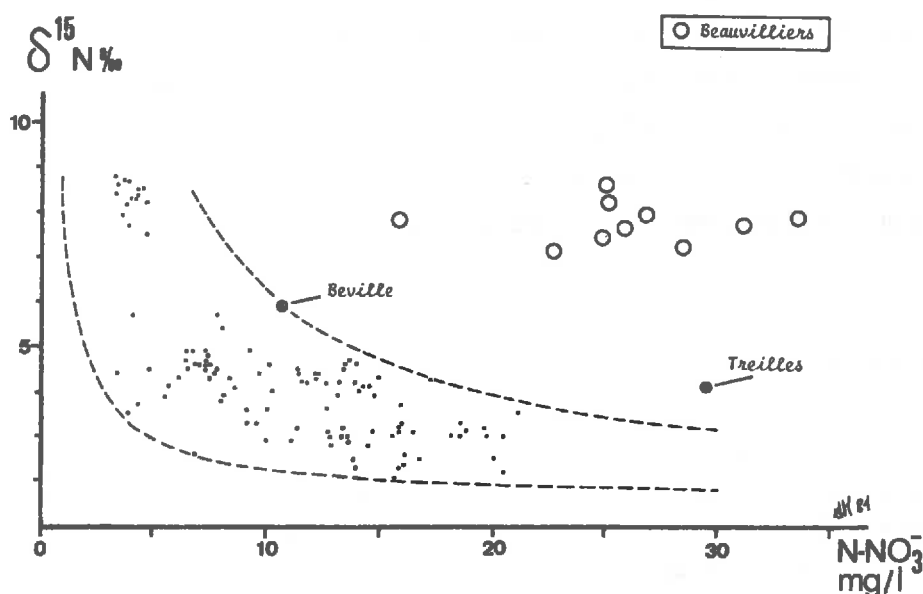


Figure 3-53 : Nappe de Beauce. Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration  $\text{N-NO}_3^-$ .  
*Les points atteints de façon caractéristique par une pollution de "type organique" sont distingués.*

Ainsi qu'on peut le constater sur le tableau 3-XXXIV, le chimisme de ces eaux est très différent, Beauvilliers étant particulièrement contaminé en nitrates, chlorures, sodium et potassium. Si on considère Voves comme point référence auquel se surimpose une pollution azotée (et en autres éléments) à Beauvilliers, on peut calculer la composition isotopique de cet apport théorique sur ce dernier captage : il est le plus souvent de l'ordre de 9 % et atteint 11,6 %. Cette composition isotopique élevée, associée à la présence de très fortes teneurs en  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  fait fortement soupçonner à Beauvilliers l'existence d'une contamination azotée ayant une origine organique, probablement liée à une pollution due aux rejets domestiques. Une confirmation de cette hypothèse nous est donnée par l'examen des teneurs en bore dans quelques captages en Beauce. Cet élément est un excellent traçeur des effluents urbains (GUIOLLOT, 1978 ; GUIOLLOT, LETOLLE et PINTA, 1978 et 1980), il est en effet présent dans les formulations des lessives en poudre (les perborates, par leur pouvoir oxydant ayant une action blanchissante), alors que la fourniture en bore à partir des activités agricoles (présence dans des désherbants et insecticides) paraît très faible. La teneur moyenne en bore des aquifères du bassin parisien est de 0,020 à 0,030 ppm B, notamment pour les aquifères des calcaires de Brie, de Beauce, des calcaires de Champigny et de la Craie, ces teneurs pouvant être mises en relation avec les teneurs en bore des roches encaissantes (liaison avec les argiles). Sur le tableau 3-XXXV, on constate que

notre référence naturelle pour la Beauce ne contient pas cet élément (Chilleurs-aux-Bois), trois autres captages (Girolles, Courcelles, Terminiers) présentent des teneurs proches des moyennes enregistrées, mais Beauvilliers se caractérise par une concentration très élevée en bore. La contamination locale de l'aquifère par des eaux usées urbaines est ainsi clairement mise en évidence. Elle s'accompagne de fortes teneurs en nitrates, à composition isotopique élevée.

Captage	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (‰)	Na <sup>+</sup> (mg/l)	K <sup>+</sup> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (mg/l)
Beauvilliers	25.1 ± 5.6	7.8 ± 0.5	32.6 ± 2.4	41.9 ± 6.0	41.4 ± 7.1
Voves	7.3 ± 0.8	4.6 ± 0.2	8.6 ± 0.7	1.3 ± 0.3	15.0 ± 6.8

Tableau 3-XXXIV : Comparaison des paramètres chimiques et isotopiques sur les captages voisins de Voves et Beauvilliers en Beauce.  
Les valeurs correspondent aux moyennes ± écart-type de 9 (ou 10 selon les éléments) prélèvements effectués le même jour sur les deux captages (cf. tableau de l'annexe A II).

Captage (commune)	Numéro de la figure 3-44	Date de prélèvement	Teneur en Bore (mg/l)
Chilleurs-aux-Bois	31	21.04.1977	0.000
Girolles	28	19.01.1977	0.010
Courcelles	32	21.04.1977	0.030
Terminiers	33	19.01.1977	0.010
"	33	16.03.1977	0.030
Beauvilliers	34	16.03.1977	0.130
"	34	21.04.1977	0.130

Tableau 3-XXXV : Teneurs en Bore de quelques captages des eaux souterraines de Beauce.

Dans le cadre du modèle retenu, on peut donc considérer que sur les points exceptionnels à Beauvilliers, Treilles et dans une moindre mesure Beville, se superposent aux nitrates naturels (dont Chilleurs représenterait le pôle) des nitrates d'origine organique domestique et des nitrates à bas δ<sup>15</sup>N, probablement d'origine synthétique.

Enfin nous noterons que pour tous les captages analysés, les teneurs en oxygène dissous sont élevées (cf. tableau de l'annexe A II) *excluant*

a priori la potentialité d'une activité dénitrifiante dans les aquifères et les transformations isotopiques associées (enrichissement en  $^{15}\text{N}$ ).

Brie.

La plupart des points retenus se situent en zone agricole, à l'exception de Mortcerf, sous forêt et d'un certain nombre de sources ou captages de l'aquifère du calcaire de Champigny, situés dans le Val de l'Yerres et qui, on l'a vu, sont susceptibles d'être alimentés directement par les eaux de la rivière, au travers d'un réseau karstique. Deux sources, sur les communes de Bombon et Champeaux, alimentées respectivement par les aquifères des calcaires de Champigny et de Brie, présentent des comportements particuliers : nous les évoquerons à part. Comme pour la Beauce, nous constatons sur la figure 3-54 que nous retrouvons une liaison logique  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en nitrates, de type courbe de mélange, l'asymptote inférieure étant ici estimée à 2,5 ‰, très proche donc du résultat obtenu pour la Beauce.

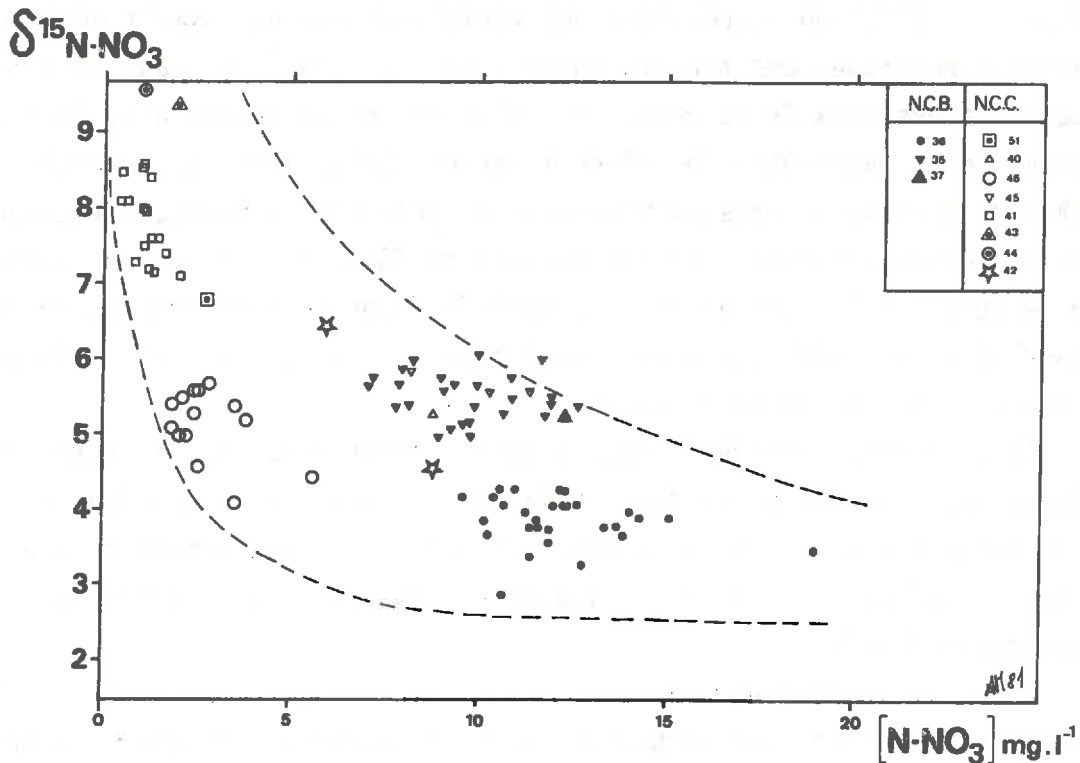


Figure 3-54 : Brie. Diagramme  $\delta^{15}\text{N} - \text{N-NO}_3$  pour les aquifères des calcaires de Brie (N.C.B.) et des calcaires de Champigny (N.C.C.).

Les numéros renvoient à la figure 3-44 et au tableau de l'annexe A II .

Le point référence naturelle, Jouy-le-Châtel, présente une composition isotopique comprise entre 7 et 8 ‰, associée aux plus basses teneurs en nitrates : ceci est caractéristique de nitrates naturels de sols cultivés. Il en est de même pour le captage de Villeneuve-les-Bordes, naturellement protégé par la forêt (BERGER *et al.*, 1975). Quand les concentrations augmentent, on assiste au mélange avec des nitrates de synthèse industrielle à bas  $\delta^{15}\text{N}$ .

Si on reporte sur un même diagramme toutes les valeurs obtenues en Brie, on obtient la figure 3-55. On y note l'existence de valeurs très élevées de  $\delta^{15}\text{N}$ , supérieures la plupart du temps à 10 ‰ : il s'agit de l'ensemble des sources et captages de la nappe des calcaires de Champigny dans le Val de l'Yerres. On note un net regroupement de valeurs autour de 12-13 ‰, valeurs fréquemment observées sur le cours de la rivière (cf. figure 3-30). Les relations entre les eaux superficielles et la nappe des calcaires de Champigny sont ici très clairement illustrées par le traçage isotopique naturel  $^{15}\text{N}$ . Deux valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  voisines de 20 ‰ paraissent exceptionnelles.

Ce résultat confirme les observations effectuées par le B.R.G.M. (BERGER *et al.*, 1975) qui enregistre des variations presque simultanées de la résistivité électrique, des teneurs en  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  des eaux de l'Yerres à Courtomer et des eaux de la nappe des calcaires de Champigny dans la région d'émergence de la nappe dans le Val de l'Yerres. Cette même étude montre que le captage de Brie Rosiériste, à proximité de Brie-Comte-Robert, est caractérisé par de fortes activités tritium variant de 70 à 150 U.T. autour d'une moyenne de 80-120 U.T., activités croissant de façon continue depuis le début de l'observation en 1972. Les eaux superficielles sont clairement impliquées dans l'augmentation en  $^3\text{H}$  de la nappe.

On peut donc considérer que la source essentielle des nitrates de la nappe du calcaire de Champigny dans le Val de l'Yerres se trouve dans les pertes de cette rivière : ces nitrates sont donc, pour une grande partie, d'origine "organique" liée à une pollution par des eaux usées domestiques (cf. paragraphe 3-2-2-II).

Les deux sources de Champeaux et Bombon seraient, *pro parte*, justifiables d'une interprétation semblable. On peut en effet constater sur les figures 3-56 et 3-57 une nette liaison entre composition isotopique et concentration des nitrates montrant un mélange avec des nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  élevé, nitrates contenus dans des eaux récentes ainsi que le montre la relation entre  $^3\text{H}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  pour Champeaux, sur la figure 3-57. Cette source de Champeaux est également caractérisée par des teneurs élevées en  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  (tableau 3-XXXVI) évoluant en phase avec les teneurs en nitrate, leur  $\delta^{15}\text{N}$  et l'activité  $^3\text{H}$ .

Enfin, quelques dosages de Bore dans les eaux souterraines de Brie montrent (cf. tableau 3-XXXVII) que les teneurs les plus élevées se trouvent dans les ouvrages situés dans le Val de l'Yerres (Brie) et sur la source de Champeaux. Ces résultats ne sont pas toutefois aussi probants que ceux obtenus pour les aquifères de Beauce.

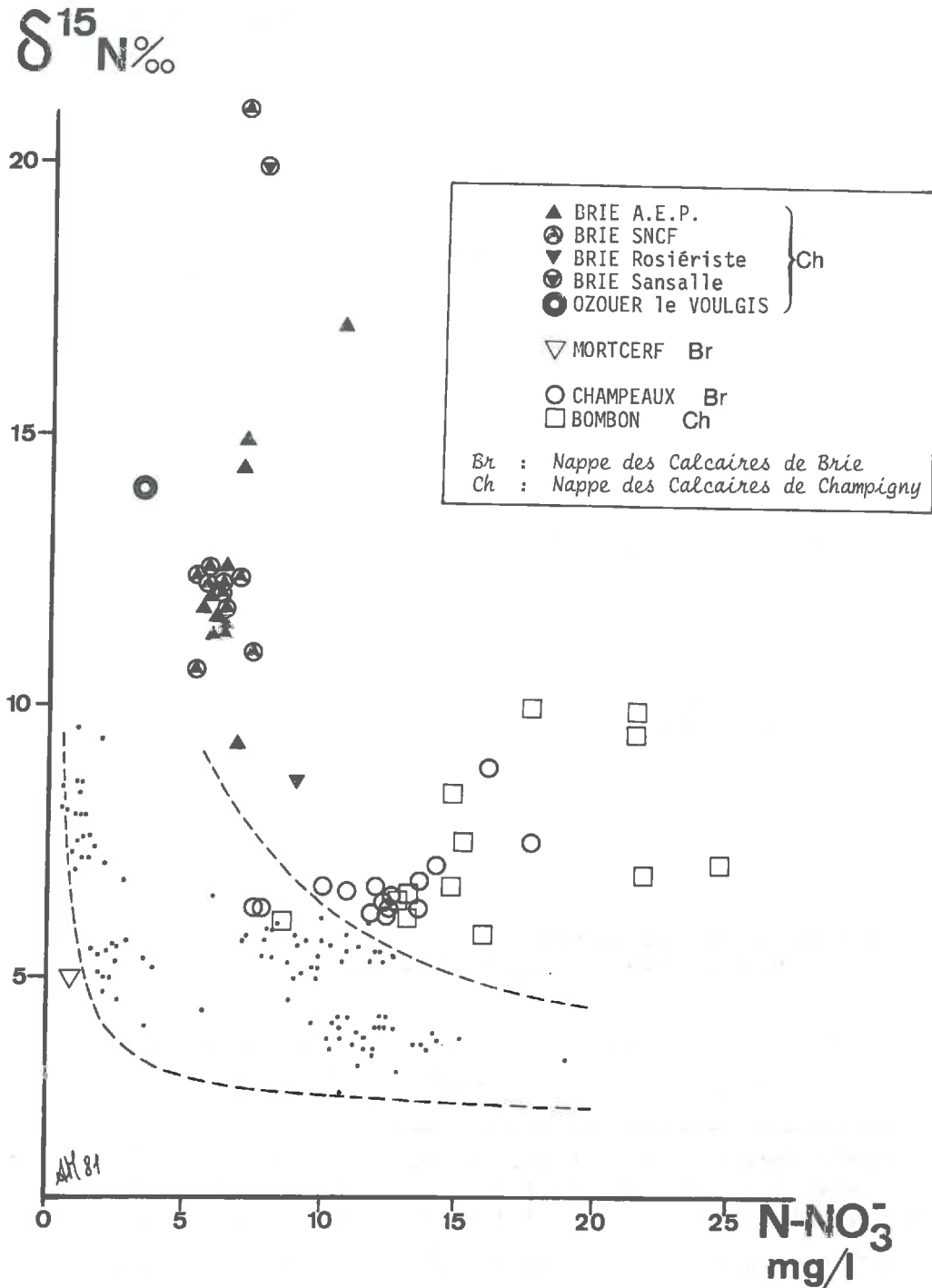


Figure 3-55 : Nappes de Brie. Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration  $\text{N-NO}_3^-$  pour l'ensemble des points de prélèvement.

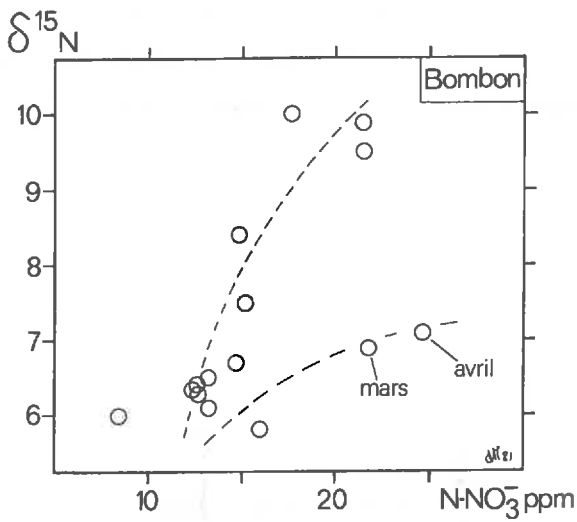


Figure 3-56 : Nappe des calcaires de Champigny. Source de Bombon. Relation  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en nitrate.

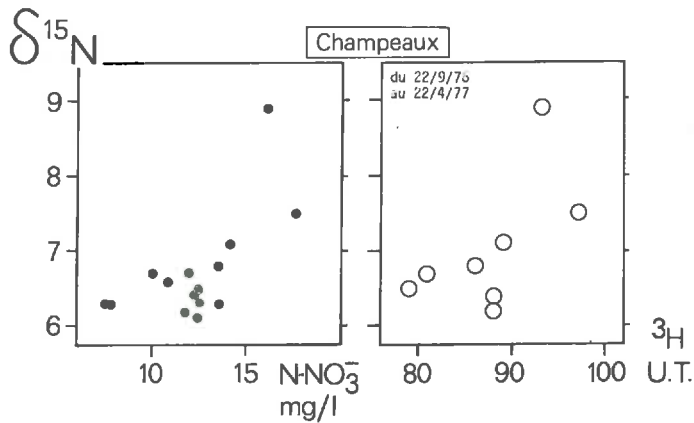


Figure 3-57 : Nappe des calcaires de Brie. Source de Champeaux. Relation  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en nitrate et  $\delta^{15}\text{N}$  -  $^3\text{H}$ .

Commune	$\text{Cl}^-$ (mg/l)	$\text{K}^+$ (mg/l)	$\text{Na}^+$ (mg/l)
Jouy-le-Châtel (Ch)	$10.8 \pm 5.7$	$1.1 \pm 0.2$	$5.8 \pm 0.4$
Fontenay Trésigny (Br)	$23.3 \pm 5.5$	$1.6 \pm 0.3$	$16.2 \pm 0.9$
Rosay Vilpré (Br)	$44.7 \pm 7.0$	$1.7 \pm 0.3$	$11.3 \pm 0.6$
Champeaux (Br)	$58.3 \pm 10.2$	$6.3 \pm 2.9^1$	$17.8 \pm 1.6$

P tableau 3-XXXVI : Brie. Teneurs moyennes et écart-types des teneurs en chlorure, potassium et sodium sur quelques points de prélèvement des eaux souterraines.

(Ch : aquifère des calcaires de Champigny ;  
Br : aquifère des calcaires de Brie).

<sup>1</sup> : valeur maximale atteinte : 14,2

Aquifère	Commune	Date de prélèvement	Teneur en Bore (mg/l)
Calcaires de Brie	Rosay Vilpré	10.03.1977	0.000
	Mortcerf	22.01.1975	0.010
Calcaires de Champigny	St Loup de Naud	26.02.1975	0.030
	Champeaux	13.03.1977	0.040
	Brie Cte Robert Rosiériste	22.01.1975	0.040
	" " " Sansalle	26.02.1975	0.060
Rivière YERRES : prélèvement en aval d'une station d'épuration			0.100

Tableau 3-XXXVII : Teneurs en bore dans les eaux souterraines de Brie et sur un prélèvement effectué sur la rivière Yerres.

Le captage de Mortcerf est situé en zone forestière (forêt de Crécy) : sa teneur en nitrate est la plus faible des sites étudiés. L'implantation de l'ouvrage, cette teneur en nitrates, indiquent que l'on est là dans un "bruit de fond géochimique". La composition isotopique de l'azote de ces nitrates, 5 ‰, est plus basse que celle retenue pour des nitrates naturels de sols cultivés. On se rappelle (cf. chapitre 2-7) que la composition isotopique de l'azote organique de sols vierges est inférieure à celle de sols cultivés : ces nitrates de Mortcerf peuvent être interprétés comme des nitrates naturels de sols vierges forestiers. Pour illustrer ceci nous présenterons très rapidement quelques résultats obtenus sur un site étudié par l'Institut National Agronomique pour l'A.B.S.N. Il n'est pas situé en Brie mais, très démonstratif, il a valeur d'exemple.

Le site dit des "Fonds de Cayenne" se trouve dans le Bassin parisien près du village de Bouafle (Yvelines) (cf. figure 3-44), sur le versant Nord de la butte tertiaire des Alluets le Roi. A la limite de la forêt, qui couvre le revers Nord de cette butte, se trouvent 5 captages qui correspondent à un réseau de drains établi en 1906 afin d'améliorer le captage de la nappe stampienne des Sables de Fontainebleau. Le réseau de drains est installé à une profondeur de 3 à 4 m ; le captage n° 5 (cf. figure 3-58) est installé sous couvert forestier, les quatre autres sont aménagés en zone cultivée, entre des cultures de céréales, le long de la pente, (6 ‰ environ), alignés perpendiculairement à la limite de la forêt.



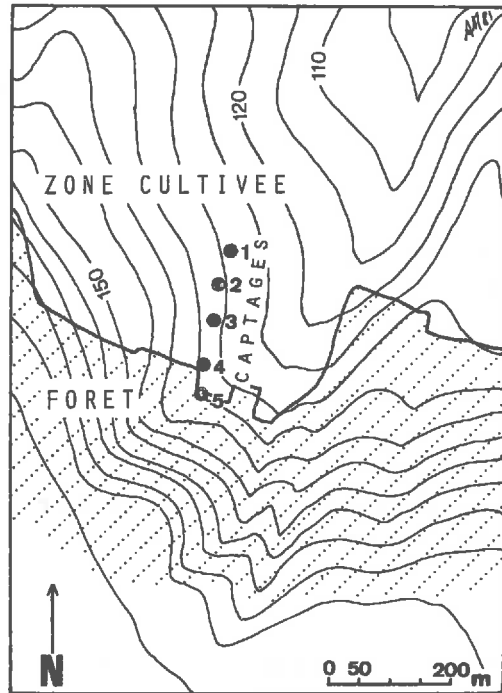


Figure 3-58 : Esquisse topographique du site de Fonds de Cayenne (Bouafle).

Le bassin d'influence potentielle est de 50 ha environ sur sables stampiens, dont 40 ha de bois (chêne et bouleau), le reste est cultivé (blé, orge, pommes de terre, maïs) avec une fertilisation à base d'ammonitrate (150 à 200 kg N/ha/an). Dans ce dispositif on a pu constater une élévation marquée des teneurs en  $\text{NO}_3^-$  au cours du temps, comme l'indique le tableau ci-dessous.

Année	$\text{NO}_3^-$ (mg/l)
1948	2
1972	23
1974	25 à 30
1976	28
1977	30 à 35

D'une façon générale, les teneurs en nitrates augmentent du captage 5, en forêt, vers le captage 1 c'est-à-dire d'amont en aval, ainsi qu'il est présenté sur le tableau 3-XXXVIII à différentes dates.



Date \ Captage	5	4	3	2	1
Octobre 1974	2	5	15	33	29
Janvier 1976	5	5	13	27	58
Octobre 1977	1.9	5	14.4	32.9	29.1
Janvier 1977	5.2	4.2	11.8	19.8	32.2
Février 1977	8.6	9.9	14.9	32.5	43.5
Mars 1978	3.2	12.4	10.8	50.2	39.1

Tableau 3-XXXVIII : Teneurs en nitrate des captages de Bouafle, d'amont (bois des Fonds de Cayenne) en aval (zone cultivée).

Date de prélèvement	Captage	$\rho$ $\Omega / \text{cm}$ 20°C	pH	$\text{N-NO}_3^-$ mg/l	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ %
20.10.1977	5	4635	5.90	0.42	5.0
	4	3860	6.10	1.12	6.4
	3	3060	6.30	3.25	4.1
	2	2545	6.35	7.42	3.6
	1	2580	6.50	6.58	3.8
30.01.1978	5	4965	5.90	1.16	0.7
	4	3715	6.05	0.94	6.7
	3	3005	6.00	2.66	4.7
	2	2825	6.10	4.48	3.8
	1	2430	6.35	7.28	3.9
28.02.1978	5	3640	5.70	1.93	0.6
	4	3820	5.80	2.23	5.9
	3	2920	5.95	3.36	5.4
	2	2590	6.00	7.35	5.1
	1	2110	6.20	9.80	4.4
13.03.1978	5	3680	5.85	0.73	4.4
	4	2920	6.10	2.80	6.7
	3	3235	6.05	2.45	5.4
	2	2230	6.15	11.30	3.9
	1	2195	6.30	8.82	4.6

Tableau 3-XXXIX : Résistivité, pH, concentration en nitrate et composition isotopique sur les 5 captages de Bouafle.

Sur les parcelles cultivées, le sens de labour est tel que les eaux de ruissellement se dirigent vers les captages et s'infiltrent sur une surface réduite le long de la parcelle sur laquelle ces captages sont alignés : l'impact de l'entraînement par les eaux de ruissellement des éléments épandus sur le sol, notamment les engrais, s'en trouve certainement largement accru. D'octobre 1977 à mars 1978 nous avons effectué 4 prélèvements dont les résultats figurent sur le tableau 3-XXXIX et la figure 3-59. On constate une forte opposition entre le point 5 et les quatre suivants. Ces derniers présentent, d'amont en aval, une augmentation des teneurs en nitrate, corrélative d'une baisse de  $\delta^{15}\text{N}$ , ces variations obéissant de façon évidente à une loi hyperbolique de mélange, maintenant classique (cf. figure 3-59). On peut penser que, du haut au bas de la pente, on a une augmentation de la contribution des engrais à un mélange avec des nitrates naturels, de sols cultivés, à  $\delta^{15}\text{N}$  voisin de 7 ‰. Cette augmentation semble due à des phénomènes de ruissellement, avec concentration des éléments, notamment fertilisants, en bas de pente. Par contre, le captage 5 présente, associées à des teneurs en nitrates faibles, des compositions isotopiques très variables dans le temps mais toujours basses, inférieures à celles du captage 4 : elles caractérisent donc les nitrates naturels de sols vierges, forestiers en l'occurrence (cf. chapitre 2-7, conclusions).

Comme dans le cas de Mortcerf en Brie, la différence entre des nitrates naturels de sols vierges et nitrates de synthèse, tous deux caractérisés par des  $\delta^{15}\text{N}$  bas, ne peut être établie que par la considération des teneurs en azote nitrique. Ainsi, dans le cas d'une défriche importante qui se traduit par une production temporaire exacerbée de nitrates comme l'ont montré LIKENS, BORMAN *et al.* (1970) sur l'exemple d'une déforestation volontaire d'un bassin versant expérimental du New Hampshire (U.S.A.) on peut penser que ce grand flux de nitrates naturels, entraînant des concentrations élevées dans les eaux de surface ou souterraines, sera caractérisé par des compositions isotopiques basses, conduisant à une ambiguïté et une confusion avec des nitrates de synthèse. Ainsi avons-nous pu proposer (BERGER *et al.*, 1976, Rapport B.R.G.M., 76 SGN 444 BDP), l'hypothèse que les eaux "anciennes" de Beauce, dont la teneur en  $^3\text{H}$  est inférieure à 5 U.T. et les teneurs en nitrates élevées, ont pu être contaminées par les nitrates libérés pendant les phases successives de défrichement de la Beauce. Cette hypothèse n'est toutefois pas applicable à l'ensemble de la Beauce : même à l'époque néolithique où la forêt, favorisée par une période de climat plus humide, se généralise et fait reculer la prairie, subsistent dans le Bassin Parisien, pourtant humide, des steppes notamment en Beauce et Champagne crayeuses, où s'installèrent des civilisations néolithiques (Campigniens) cultivant les céréales, (DEVEZE, 1965). On se rappellera également les observations que nous avons faites concernant les variations d'activité Tritium sur les

captages suivis régulièrement en Beauce, qui montrent la possibilité de contribution, à certaines périodes de l'année, d'eaux récentes sur des captages où les teneurs en  $^3\text{H}$  peuvent être, à d'autres périodes inférieures à 1 U.T.

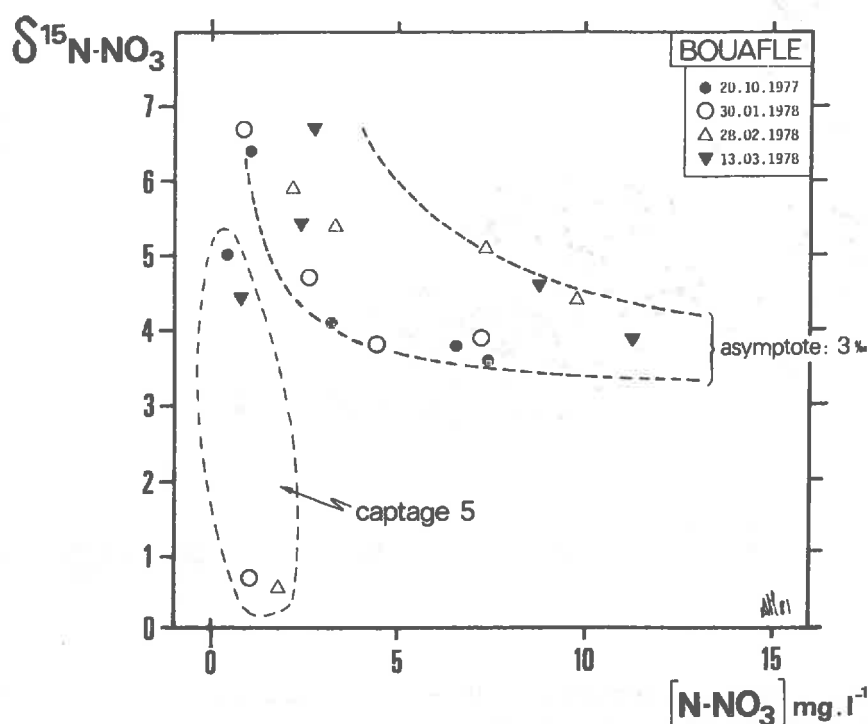


Figure 3-59 : Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en nitrate pour les captages de Bouafle.

On note la différence entre le captage 5, situé sous forêt, caractérisé par de faibles teneurs en  $\text{NO}_3^-$  et des  $\delta^{15}\text{N}$  bas et les quatre autres captages pour lesquels on met clairement en évidence une répartition des points de type asymptotique, caractérisant un mélange (abaissement des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  avec l'augmentation de la concentration en nitrate).

Ainsi, sur l'exemple de la Brie, on peut dans une certaine mesure faire la part des diverses sources de nitrates. Si on reporte sur un diagramme composition isotopique - concentration en nitrates, tous les points représentatifs des prélèvements de Brie et de Beauce à l'exclusion de ceux où on peut constater une évidence de pollution de type organique, domestique, on obtient (cf. figure 3-60) une répartition très homogène, logique dans l'hypothèse de simple mélange entre nitrates naturels de sols cultivés de deux régions naturelles où les types de sols sont voisins, et nitrates de synthèse, eux aussi de même composition isotopique en Brie et Beauce.

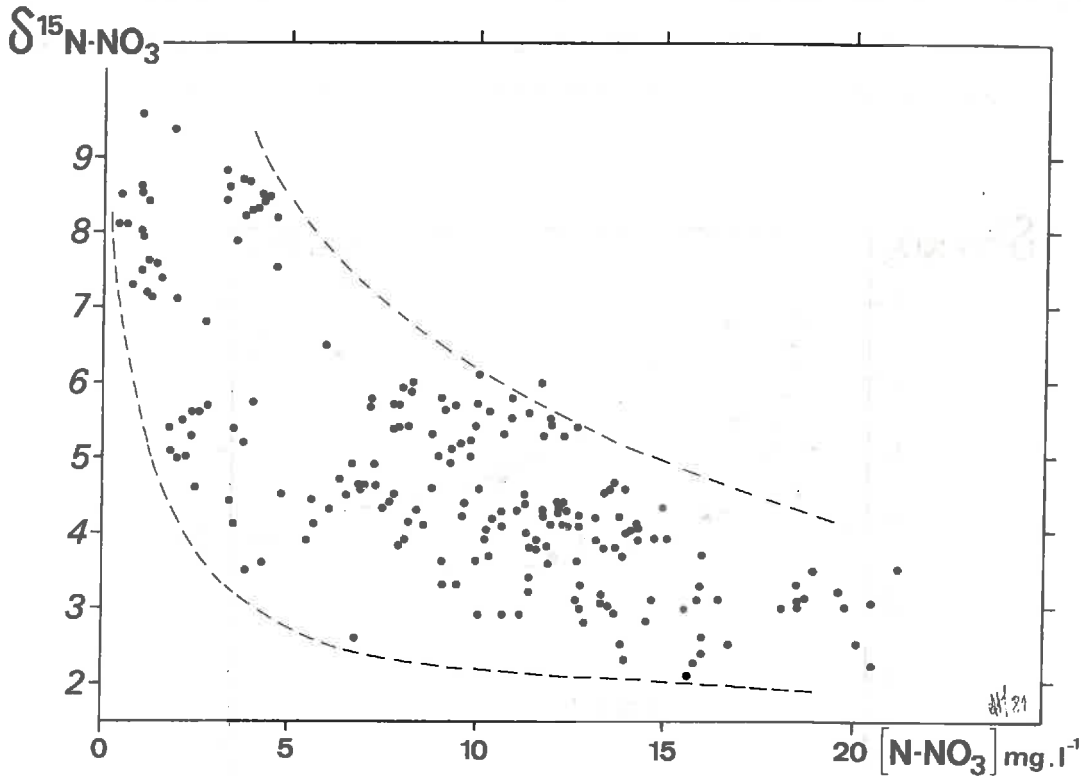


Figure 3-60 : Brie-Beauce. Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en nitrate pour l'ensemble des sites étudiés ne présentant pas d'évidence de "pollution organique".

*On comparera cette figure avec la figure 3-12.*

Par contre, comme l'a mis en évidence MEGNIEN (1976), la contamination de la nappe de Brie s'effectue de façon différente de la nappe de Beauce. La nappe des calcaires de Brie, sub-affleurante sera caractérisée par des variations annuelles des teneurs en nitrates avec augmentation à la fin de l'automne dès la reprise de l'écoulement souterrain puis à la fin de l'hiver, probablement due à l'épandage des engrais, et diminution en allant vers l'été avec un minimum en juillet (vidange rapide de la nappe, démarrage de la végétation).

Malgré la faible puissance de cet aquifère (5 à 6 m) la concentration en nitrate reste relativement faible : on évoquera à ce propos l'effet du ruissellement qui permet à une grande partie du flux en azote de rejoindre les eaux superficielles (cf. paragraphe 3-2-2-I), avec toutefois le danger, dans le cas de la Brie de pouvoir atteindre la nappe inférieure des calcaires de Champigny (zones d'absorption de la Vallée de l'Yerres et du bassin de Provins).

En Beauce la nappe est profonde mais le ruissellement inexistant ; le flux azoté, quelle que soit son origine, pourra atteindre les nappes de façon plus ou moins rapide. Ceci, associé à des taux de renouvellement plus faible de ces nappes les conduiront à des charges en nitrates plus élevées que celles du calcaire de Brie. Seule la dilution avec les eaux profondes, plus anciennes, permet l'abaissement du taux d'azote.

Des résultats très comparables à ceux décrits ici ont été présentés dans des publications récentes aux U.S.A. (GORMLY et SPALDING, 1979) : dans la partie centrale du Nebraska (Central Platte region) une région de 2000 km<sup>2</sup>, cultivée et fertilisée, où de nombreux puits dépassent la norme en nitrate, a fait l'objet d'une étude isotopique. Ces auteurs obtiennent une corrélation entre  $\delta^{15}\text{N}$  et concentration en azote nitrique du même type que celle de Brie et de Beauce (cf. figure 3-61) et ils l'interprètent en terme d'une pollution généralisée par des engrais de synthèse à bas  $\delta^{15}\text{N}$  suivie d'une perte de nitrates par dénitrification, expliquant l'enrichissement en  $^{15}\text{N}$  avec la baisse des teneurs en  $\text{N-NO}_3^-$ .

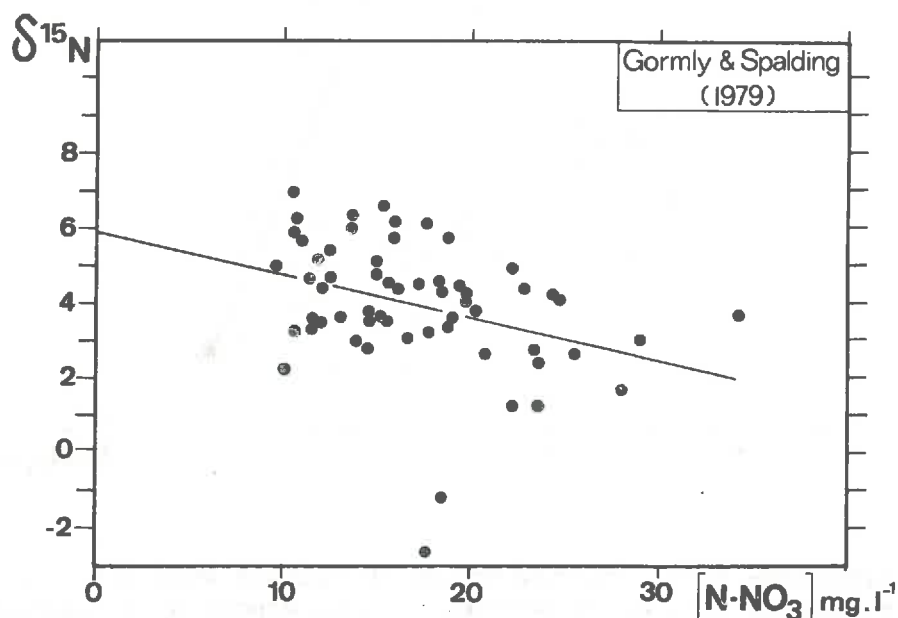


Figure 3-61 : Résultats obtenus par GORMLY et SPALDING (1979) dans des aquifères souterrains du Nebraska (Central Platte Region).

Nous avons testé une telle hypothèse sur nos résultats : à partir du diagramme général de la figure 3-60, nous avons déterminé le sens d'évolution d'un tel système, soumis à dénitrification avec différentes valeurs du facteur d'enrichissement isotopique  $\epsilon$  (de - 5 à - 30 %), une concentration en N nitrique de départ de 19 mg/l environ et un  $\delta^{15}\text{N}$  de 2,5 % ; ces résultats figurent sur la figure 3-62 qui montre très clairement qu'il faudrait envisager des facteurs d'enrichissement isotopique cinétique supérieurs à - 5 % pour expliquer la répartition des points expérimentaux dans un tel diagramme par un processus de dénitrification. Ceci est en total désaccord avec nos observations du paragraphe 2-3 consacré à la mesure des fractionnements isotopiques à la dénitrification,  $\epsilon$  étant toujours nettement inférieur à - 5 %\*. De plus nous avons vu, sur l'exemple de la Beauce, que les teneurs élevées en  $\text{O}_2$  dissous dans la nappe pouvaient exclure a priori ce phénomène.

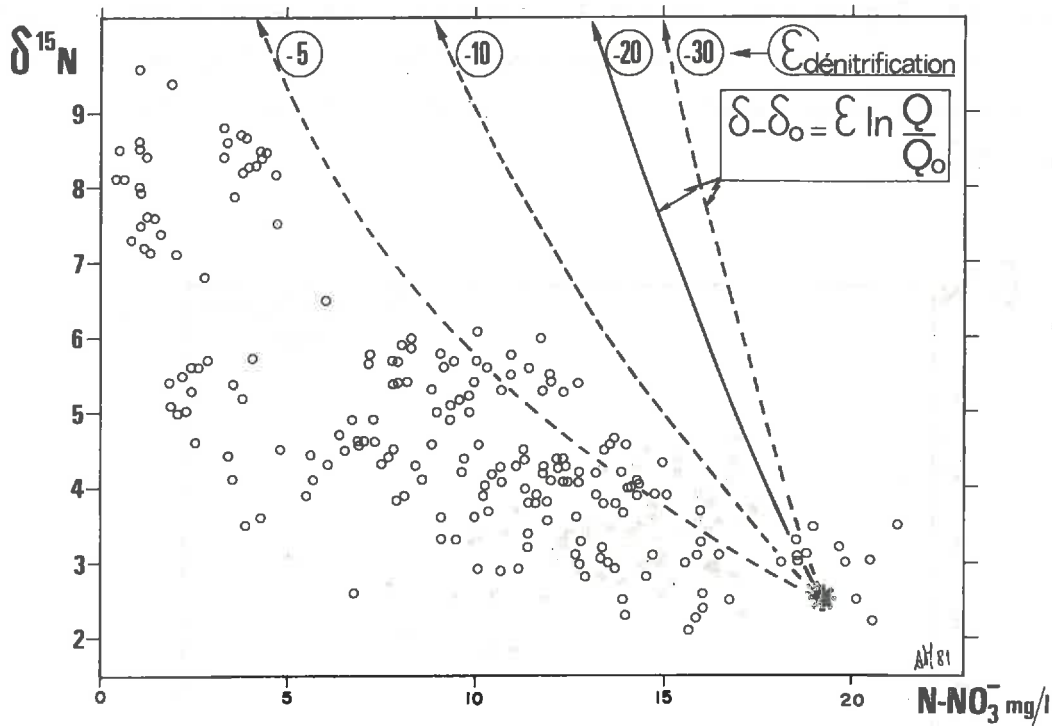


Figure 3-62 : Diagramme  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en nitrate pour les eaux souterraines de Brie et de Beauce. On a superposé à ce diagramme l'évolution isotopique théorique que produirait une dénitrification ( $\epsilon$  variant de - 5 à - 30 %).

A l'évidence le phénomène de dénitrification ne peut expliquer la répartition des points dans le diagramme.

\* La valeur de - 20 % semblant la plus probable en conditions naturelles (cf. paragraphe 2-3).

Le test de la figure 3-62 s'applique, avec les mêmes conclusions, aux résultats de GORMLY et SPALDING, comme à l'ensemble de nos résultats en eaux superficielles (Mélarchez, cf. figures 3-20 et 3-21). *La dénitrification ne saurait en aucun cas expliquer la relation  $\delta^{15}\text{N}$  - concentration en  $\text{NO}_3^-$  généralement observée dans le Bassin Parisien ou la Conn Belt de l'Illinois (KOHL et al., 1971).*

En conclusion, il apparaît que les sources de nitrate contaminant les nappes des régions naturelles étudiées sont multiples.

Sur ces exemples régionaux, l'apport du marquage isotopique est essentiel : en effet la composition isotopique des nitrates naturels est suffisamment différente de celle des nitrates de synthèse comme de celle des nitrates d'origine "organique" (domestique sur nos exemples). D'autres régions naturelles, voisines de la Brie, ne se prêtent pas à un tel traçage : nous ne citerons que le cas de la Champagne où les sols cultivés sur craie produisent des nitrates naturels dont la composition isotopique, voisine de 2 ‰, ne se différencie pas de celle des nitrates des engrais (cf. chapitre 2-2).

Le traçage le plus clair est celui des nitrates "organiques" enrichis en  $^{15}\text{N}$  et accompagnés d'un cortège d'autres traceurs, non spécifiques ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  qui peuvent, pour certains, provenir également des apports fertilisants) ou spécifiques (Bore) d'une pollution de type domestique. Le traçage de l'azote de synthèse des engrais impose d'admettre que la composition isotopique de cet azote ne subit que peu de modifications dans le sol, soit parce qu'il n'est pas métabolisé, soit parce que ces produits, entrés dans le cycle de l'azote en ont subi les transformations chimiques de façon quantitative, ce qui, bien évidemment, ne modifie pas leur composition isotopique.

Enfin on retiendra que ces résultats ne peuvent caractériser objectivement l'origine de la pollution azotée en Brie et Beauce : les critères du choix des points de prélèvement impliquent que l'accent est mis sur les pollutions de type agricole. On peut toutefois observer l'impact, certes local, que peut présenter, en Brie comme en Beauce, l'urbanisation sur la qualité des eaux souterraines, notamment pour ce qui concerne les nitrates.



### 3.2.4. - CONCLUSIONS.

La pollution des eaux naturelles par les nitrates, outre le problème scientifique qu'elle pose et qui retient notre attention ici, présente des implications économiques et politiques dont on mesure la portée et dont on doit tenir le plus grand compte : en l'état actuel de nos connaissances, l'utilisation d'engrais en Agriculture est une nécessité absolue et la démonstration que ces produits peuvent contribuer à une détérioration partielle du milieu naturel ne saurait contenir en elle leur condamnation : elle doit être incitative de recherches tendant, au travers d'une meilleure connaissance du cycle de l'azote, à trouver les moyens de limiter ces pertes, nuisibles à l'environnement mais aussi à l'Economie de l'Agriculture puisque ces produits par leurs prix sans cesse croissants contribuent à l'augmentation du prix de revient de la production agricole.

De l'ensemble des observations faites dans ce chapitre, il ressort que le traçage isotopique naturel par  $^{15}\text{N}$  peut se révéler utile pour la détermination des sources de contamination des eaux superficielles et souterraines par les nitrates, détermination dont la connaissance est essentielle pour la mise sur pied d'une stratégie tendant à la réduction de ces pertes.

Les conditions nécessaires à la détermination de l'origine des nitrates dans les systèmes aquifères par les abondances naturelles en  $^{15}\text{N}$  sont, rappelons-le :

- 1) l'existence d'une différence mesurable de  $\delta^{15}\text{N}$  entre les deux sources ;
- 2) le maintien de cette différence au cours des transformations subies par les atomes d'azote au cours du cycle.

Sur un grand nombre d'exemples, nous avons observé l'existence d'une corrélation hyperbolique entre  $\text{N}$ , concentration (ou flux) en nitrate et  $\delta^{15}\text{N}$ , composition isotopique de ce nitrate :

$$\delta^{15}\text{N} = a + \frac{b}{\text{N}} ,$$

corrélation susceptible d'être interprétée en terme de mélange bipolaire.

La source d'azote nitrique responsable des concentrations élevées en azote est caractérisée par un  $\delta^{15}\text{N}$  significativement inférieur à celui de la source responsable des concentrations minimales en nitrate. Sur les exemples ici étudiés, (voir également MARIOTTI *et al.*, 1975 ; MARIOTTI *et al.*, 1976 ; MARIOTTI *et LETOLLE*, 1977), ainsi que sur celui étudié par KOHL *et al.*, 1971,



Les mesures montrent que la composition isotopique de l'azote des engrais de synthèse est inférieure à celle des nitrates dérivant du sol : *a priori* ces résultats suggèrent fortement que la source responsable des fortes concentrations est celle des engrais artificiels.

+ La première condition est-elle toujours remplie ? Dans de nombreux cas, la matière organique des sols cultivés est en moyenne caractérisée par des  $\delta^{15}\text{N}$  élevés (6 à 9 % environ, cf. figure 2-79), la mise en culture étant, on l'a vu au chapitre 2-7, elle-même responsable de cette élévation du contenu en  $^{15}\text{N}$ . Mais on peut objecter que la composition isotopique de l'azote organique du sol ne représente pas nécessairement l'abondance en  $^{15}\text{N}$  de la fraction de l'azote du sol disponible pour produire le nitrate. Au cours de l'étude des fractionnements isotopiques, deux observations ont été faites qui tendent à s'inscrire en faux contre cette objection :

- on sait que la matière organique du sol est très hétérogène : ses diverses composantes sont notamment caractérisées par des  $\delta^{15}\text{N}$  très différents ; or la fraction hydrolysable de cet azote organique, c'est-à-dire celle dont on pense qu'elle est potentiellement la plus minéralisable est caractérisée par des  $\delta^{15}\text{N}$  plus élevés que la fraction non hydrolysable (cf. figure 2-69), voir aussi CHENG *et al.* (1964),
- d'autre part, d'après nos résultats et ceux de la littérature, on constate très souvent que la composition isotopique de l'azote nitrique minéralisé dans le sol est, à l'équilibre, très voisine de celle de l'azote total du sol (cf. chapitre 2-2, figure 2-17). Ces compositions isotopiques sont donc, le plus souvent, élevées.

Au contraire, les engrais azotés de synthèse ont des  $\delta^{15}\text{N}$  proches de zéro, valeur liée au processus de fabrication qui fait appel à la source d'azote atmosphérique : ce processus étant d'un emploi général on peut donc penser, ce qui est vérifié par la mesure, que les valeurs de composition isotopique des engrais sont quasi-universelles.

Ainsi, dans de nombreuses situations on peut observer une différence de composition isotopique entre ces deux sources : *ceci n'est toutefois pas général* : certaines circonstances pédologiques sont telles, par exemple par le rôle de séquestration que joue le carbonate de calcium vis-à-vis de la matière organique, que les nitrates dérivant du sol, apparus dans des sols de type rendzine sur craie du Bassin Parisien (chapitre 2-2, figure 2-14) présentent des  $\delta^{15}\text{N}$  très proches de ceux des engrais, rendant inefficace le traçage isotopique naturel.

+ La deuxième condition, ci-dessus rappelée, pose problème. L'influence des fractionnements isotopiques attachés à de nombreux processus élémentaires du cycle de l'azote (chapitre 2) peut provoquer *a priori* de très fortes variations de composition isotopique de l'azote minéral dans le sol.

Ainsi, FOCHT (1973) interprète-t-il les résultats de KOHL *et al.* (1971) montrant, pour la première fois, dans des eaux de surface, une diminution du contenu en  $^{15}\text{N}$  corrélative d'une augmentation de teneur en nitrate (figure 3-28), en terme d'une *dénitrification* : les basses concentrations de nitrate dans les eaux seraient alors dues à un processus de dénitrification qui aurait fait disparaître une partie des nitrates qui aurait dû "normalement" s'y trouver. GORMLY et SPALDING (1979) proposent une interprétation semblable pour interpréter leurs résultats, semblables à ceux de KOHL *et al.*, et aux nôtres (cf. figure 3-61).

Nous avons objecté à cette hypothèse que la simple comparaison des pentes obtenues par nous-mêmes sur les diagrammes concentration en  $\text{N-NO}_3^-$  vs.  $\delta^{15}\text{N-NO}_3$  des figures 3-19, 3-20, 3-41, 3-51, 3-54 ou par d'autres auteurs (figures 3-28 et 3-61), avec les valeurs des facteurs d'enrichissement isotopique associés à la dénitrification (voir figure 3-62), suffit à infirmer cette hypothèse\*.

Nous devons toutefois nous interroger sur l'influence des fractionnements isotopiques sur l'évolution isotopique de l'azote dans le sol.

Dans le cas où la fertilisation azotée se limiterait à l'application de nitrate, le problème est relativement simple : si on admet que le devenir du nitrate dérivant du sol et du nitrate de l'engrais est le même, ils doivent subir tous deux les mêmes variations de compositions isotopiques et leur différence originelle se maintient.

Cependant, dans la majorité des cas les engrais contiennent une fraction, parfois prépondérante, de forme ammoniacale. On sait (paragraphe 2-2) que la nitrification de cet ammonium va s'accompagner d'un fort effet isotopique enrichissant en  $^{14}\text{N}$  le nitrate apparu par oxydation biologique. Bien évidemment, quand la transformation est totale il n'y a pas de différence de contenu isotopique entre les deux termes de la réaction, de plus on peut observer (chapitre 2-2, tableau 2-VII) que pendant le déroulement du processus de nitrification, l'identité isotopique de l'engrais ammoniacal apporté ne varie pas, à condition de

---

\* Par ailleurs très pessimiste quant à l'état de pollution réelle des systèmes aquifères étudiés puisque les concentrations "normales" en l'absence du phénomène de dénitrification, seraient les concentrations les plus élevées !

prendre en compte  $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ . Dans l'expérience décrite sur le tableau 2-VIII, dès le 35ème jour d'incubation à 14°C, la composition isotopique du nitrate apparu par oxydation de l'ammonium apporté, est très proche de celle de ce dernier. Le nitrate apparu peut être assimilé par les plantes, sans effet isotopique notable : en dehors de conditions où la dénitrification peut s'amorcer, son  $\delta^{15}\text{N}$  reste stable. L'ammonium résiduel, en dehors de conditions de pH telles que la volatilisation puisse débiter, peut être adsorbé ou fixé : ceci peut s'effectuer (chapitre 2-6-2) sans enrichissement isotopique ; il peut être également réorganisé : le comportement isotopique est alors plus difficile à prévoir, il semble toutefois qu'à des concentrations pas trop élevées de substrat ammoniacal, l'effet isotopique accompagnant la réorganisation (surtout celle provoquée par les champignons) puisse être faible. Ainsi, qualitativement, peut-on penser que l'influence des effets isotopiques ne sera pas forcément très importante.

Bien évidemment le processus d'enrichissement isotopique accompagnant la nitrification va faire apparaître dans le sol, immédiatement après l'apport de l'engrais, des nitrates à  $\delta^{15}\text{N}$  très bas, peut-être même négatifs (cf. figures 2-4 et 2-8). Si un lessivage important se produit à cette période on peut assister, par exemple au drainage d'une parcelle cultivée, à l'apparition de nitrates à bas  $\delta^{15}\text{N}$  pour lesquels *on aurait tendance à surestimer la contribution des engrais*. Par contre si les nitrates produits par nitrification de l'ammonium des engrais ne sont pas lessivés au fur et à mesure de leur formation, l'oxydation complète de l'ammonium produira des nitrates sans important enrichissement isotopique. Les variations introduites par de tels lessivages sont limitées par l'effet tampon du premier mètre de sol (dans le cas, défavorable, de l'étude d'un réseau de drainage) ou par l'effet tampon du temps, à l'échelle d'un cycle hydrologique complet.

En tout état de cause, l'influence des fractionnements isotopiques, même si elle n'oblitére pas la différence de composition isotopique existant à l'origine entre les sources d'azote dans les systèmes tels que ceux décrits dans ce chapitre, est telle qu'elle *rende illusoire toute estimation quantitative de la contribution de l'une de ces sources*.

Au contraire, dans des études à très grande échelle, sur de petites surfaces, cette estimation quantitative est permise par l'emploi de produits artificiellement enrichis (ou appauvris) en  $^{15}\text{N}$ .

Il peut donc être intéressant, à cette échelle, de comparer les résultats donnés par l'emploi du marquage isotopique naturel à ceux, pris alors comme référence, donnés par le marquage artificiel.

FEIGIN *et al.* (1974) réalisent une expérience de laboratoire où quatre types de sol, représentatifs d'une large gamme de pratiques culturales de l'Illinois, sont incubés (6 semaines) en conditions aérobies, avec différents taux d'application d'engrais ammoniacal  $\{(NH_4)_2 SO_4\}$ , soit enrichi artificiellement en  $^{15}N$ , soit en abondance isotopique naturelle. Ainsi, l'estimation de la contribution de l'engrais au nitrate apparu dans le sol pourra-t-elle être effectuée par la méthode des abondances naturelles et comparée à la méthode "absolue" du traçage artificiel. Les résultats sont les suivants :

a. - Les nitrates apparus dans le sol fertilisé avec un engrais ammoniacal non marqué, présentent un  $\delta^{15}N$  inférieur à celui des nitrates apparus dans le sol non fertilisé (différence significative à  $p < 0,01$ ).

La composition isotopique du nitrate apparu dans le sol fertilisé est comprise entre celle du nitrate dérivant de la matière organique du sol (incubation sans engrais) et celle de l'azote ammoniacal apporté\*.

b. - Il existe une corrélation négative entre le taux d'application d'azote-engrais et le contenu en  $^{15}N$  du nitrate apparu.

c. - La comparaison de l'estimation basée sur l'expérimentation avec l'engrais enrichi en  $^{15}N$  et celle avec l'engrais ayant une abondance isotopique naturelle montre que cette dernière :

- est moins précise (l'erreur est de l'ordre du pour cent sur l'estimation avec le marquage artificiel, elle varie de 0,9 à 15,5 % pour le marquage naturel),
- tend à sous-estimer la contribution de l'engrais\*.

On peut en conclure :

- que l'effet de l'engrais sur le  $\delta^{15}N$  du nitrate dérivant d'un mélange de sources (matière organique et engrais) est mesurable et significatif.
- En dépit du fait que l'estimation de la contribution des engrais basée sur les mesures d'abondance naturelle est beaucoup moins précise que celle basée sur le traçage par enrichissement en  $^{15}N$ , elle donne, sur cet exemple de sols de l'Illinois, une indication du degré de mélange des nitrates dérivant du sol et de ceux dérivant de l'engrais. Ce résultat est par ailleurs confirmé par les travaux récents de KARAMANOS et RENNIE (1981) qui concluent, dans le

---

\* A l'exception d'un sol très particulier, à pH très bas, cultivé en blé depuis un siècle sans aucun amendement et dont la capacité de nitrification est très faible comparée à celle des autres sols étudiés.

résumé de leur publication la plus récente concernant les abondances naturelles en  $^{15}\text{N}$  : "Le calcul du devenir de l'azote de fumure basé sur le principe de la dilution isotopique a fourni des estimées (sic) semi-quantitatives du N engrais trouvé dans les plantes, le sol et le percolat",

- Le fait que les mesures d'abondance naturelle conduisent à une sous-estimation de cette contribution est interprété par FEIGIN *et al.*, par l'existence d'un "priming effect" significatif.

Un test tout à fait similaire, destiné à déterminer la contribution de l'azote de l'engrais à la nutrition des plantes a été effectué par MEINTS *et al.*, (1975). Les résultats sont identiques :

- il existe une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre le  $\delta^{15}\text{N}$  des plantes fertilisées et non fertilisées,
- la précision de l'estimation de la contribution des engrais est faible par la méthode des abondances naturelles (écart-type de 6,6 à 16,9 %) alors que le traçage artificiel permet des précisions meilleures de l'ordre de 1 %,
- les abondances naturelles donnent une sous-estimation de la contribution de l'engrais, liée semble-t-il à l'existence du "priming effect".

Ces résultats sont opposés à ceux de EDWARDS (1973) qui ne réussit pas, dans une expérimentation comparable à celle de FEIGIN *et al.* (1974), à détecter de différence significative, par la méthode des abondances naturelles, dans le contenu en  $^{15}\text{N}$  des nitrates produits dans un sol fertilisé ou non. Cet échec est dû à la grande variabilité entre répétitions\*. EDWARDS en conclut à l'impossibilité de détecter la contribution de l'azote des engrais à l'azote apparu dans le sol, par la méthode des abondances naturelles.

Le commentaire de cette différence sera emprunté à SHEARER, KOHL et COMMONER (1975) :

*"It is not profitable to speculate on the reasons for the differences between Edwards' poor replicability when using untagged nitrogen and the acceptable replicability in our study\*\*". It is sufficient to say that in the case of some soils and given proper care and proper instrumentation, the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  may be used to detect the presence of nitrate derived from fertilizer nitrogen in nitrate of mixed soil and fertilizer origin".*

---

\* La gamme de variation de  $\delta^{15}\text{N}$  obtenue par EDWARDS pour les nitrates dérivant de la matière organique des sols va de - 5,2 à + 9,8 % (écart-type : 13 %) ; dans l'expérience de FEIGIN *et al.*, les valeurs varient de + 9,6 à + 13,4 % (écart-type : 3,9 %).

\*\* Il s'agit là du travail de FEIGIN *et al.*, (1974) dont KOHL, SHEARER et COMMONER sont co-auteurs.



En conclusion, nous pensons pouvoir affirmer que si les estimations par les abondances naturelles en  $^{15}\text{N}$  du taux d'azote de synthèse des engrais contribuant à la contamination en nitrate des eaux superficielles, ne sont *ni précises ni très discriminantes*, elles permettent d'obtenir une indication du degré de cette contribution. Cette méthode peut être, dans ce cas *considérée comme qualitative ou semi-quantitative* (HAUCK, 1973). Elle s'oppose en cela à la méthode de traçage artificiel, quantitative. De plus elle nécessite un grand nombre de mesures. Enfin, il existe des circonstances où elle est *rigoureusement inapplicable* : on rappellera ici les résultats obtenus sur les sols sur craie de Champagne où les nitrates dérivant du sol ont des compositions isotopiques très proches de celles des engrais.

Malgré cela, les difficultés rencontrées dans l'étude du cycle de l'azote dans les conditions du champ sont telles qu'il est essentiel *d'exploiter toutes les voies d'accès à une meilleure connaissance de ce cycle*. Certes le traçage isotopique artificiel paraît à de multiples égards beaucoup plus efficace que le traçage naturel mais il ne peut raisonnablement qu'être appliqué à de *petites surfaces d'expérimentation* lui rendant inaccessibles les problèmes qui se posent à l'échelle du champ ou de la région agricole : il est exclus de résoudre ainsi les problèmes de pollution se posant à l'échelle du bassin de Mélarchez ou du bassin supérieur de la rivière Sangamon en Illinois (2300 km<sup>2</sup>, cf. KOHL *et al.*, 1971).

Les exemples traités dans ce chapitre mettent l'accent sur la contribution des nitrates des engrais à la pollution des aquifères de Brie et de Beauce. Nous noterons que la méthode du traçage naturel ne peut mettre en évidence que les pertes d'azote des engrais d'application récente, relativement peu métabolisé, et ne saurait prendre en compte la fraction de cet azote intégrée de façon intime à la matière organique évoluée du sol.

Nous rappellerons également que la contribution de la pollution organique domestique, si elle est clairement mise en évidence par cette méthode\* n'est pas, en Brie et Beauce, située à sa juste valeur par la "non objectivité" de l'échantillonnage, conçu au départ pour étudier l'impact de l'Agriculture sur la pollution nitrique.

---

\* Et devrait pouvoir être aisément distinguée de la pollution organique d'origine agricole par exemple par le couplage du traçage isotopique aux mesures du contenu en bore des eaux.

Enfin, nous nous rappellerons que l'étude de la parcelle de Chaussy montre que les pertes en nitrate d'une année moyenne vis-à-vis de ses caractéristiques thermiques et pluviométriques s'élèvent à environ 20 kg N/ha/an. Ces pertes correspondent à peine au double de la quantité d'azote apportée par les précipitations !. Sur cette quantité, l'étude isotopique situe très grossièrement la part des engrais à la moitié de la quantité drainée. Si on retient un tel chiffre, il est clair que *la proportion d'azote des engrais lessivée n'est que de l'ordre de 6 % de la quantité appliquée* : on conçoit la difficulté de pouvoir exercer un contrôle sur d'aussi faibles pertes, malheureusement responsables d'un important enrichissement des eaux de drainage en nitrate, au-delà le plus souvent des normes actuelles de potabilité.

D'autre part, la variabilité pluri-annuelle de ces pertes risque de rendre très délicates les interprétations d'expérimentations sur parcelles témoins où on fera varier des pratiques agricoles en vue de la diminution de ces pertes.

La pollution des aquifères par les nitrates est donc un problème important, aux conséquences graves, mais aussi un problème difficile. Gageons que la méthode des abondances isotopiques naturelles, associée aux méthodes de la chimie classique pourra contribuer à sa résolution, au moins localement, et sans prétentions quantitatives, dans l'état actuel de nos connaissances et de notre expérience.

S'il est aisé d'établir des constats de pollution, il est parfois malcommode d'en trouver la ou les sources et il peut être très difficile d'y apporter un remède : pour ce qui concerne les nitrates, cette tâche incombera aux collectivités locales en milieu urbain et aux Agronomes en territoire rural. Ces derniers, qui doivent par ailleurs assurer et si possible améliorer la production agricole, voient leur tâche singulièrement se compliquer.

Une des armes dont on peut espérer qu'ils puissent bénéficier un jour pour les aider à résoudre harmonieusement ce double problème sera l'amélioration de la nutrition azotée végétale par voie de *fixation aérienne*. Un certain nombre de chercheurs ont en effet la conviction que cette fixation biologique peut être largement stimulée et peut-être induite chez d'autres groupes végétaux que les légumineuses : durant le 11ème Congrès Botanique International, en 1969, J. VAN OVERBEEK, président du Symposium "World Food Supply" déclarait (cité *in* : QUISPEL, 1974) :

*"I would urge botanists to tackle the problem of nitrogen deficiencies that exist in the living world with boldness. We need to devise more efficient ecosystems, put root nodules on cereal crops, and put nitrogen fixing chloroplasts in their leaves... If we do succeed in developing cereal grains that are fed from nitrogen of the air rather than from nitrogen of fertilizer, we shall have achieved a whole new step in sophistication in food production".*

On conçoit comment de telles perspectives, même si elles paraissent encore lointaines (si elles sont accessibles !) puissent contribuer à résoudre le double problème posé quelques lignes plus haut.

En tout état de cause, toutes les recherches ayant comme objectif l'amélioration du rendement de la fixation biologique, actuellement pour l'essentiel chez les légumineuses, se verront confrontées au problème de sa mesure, en conditions agronomiques naturelles. Le prochain chapitre nous montrera quel peut être, en ce domaine, l'apport de la Géochimie isotopique de l'azote.



## CHAPITRE 3

3.3. - UTILISATION DU TRACAGE ISOTOPIQUE NATUREL PAR  $^{15}\text{N}$  POUR  
L'ESTIMATION DU TAUX D'AZOTE FIXE SYMBIOTIQUEMENT PAR  
LES LEGUMINEUSES.



### 3.3. - UTILISATION DU TRACAGE ISOTOPIQUE NATUREL PAR $^{15}\text{N}$ POUR L'ESTIMATION DU TAUX D'AZOTE FIXE SYMBIOTIQUEMENT PAR LES LEGUMINEUSES\*.

#### 3.3.1. - INTRODUCTION.

Bien que les ressources en azote de la planète soient pratiquement illimitées, le réservoir principal étant l'azote atmosphérique, cet élément est, après l'eau, le *facteur limitant principal de la croissance des végétaux* car, pour être utilisable, il doit être apporté sous forme combinée, ce qui peut se réaliser par deux voies : la fixation biologique et la fixation industrielle par le biais de la synthèse des engrais azotés.

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est le fait de micro-organismes qui, agissant seuls ou en association avec des végétaux, sont capables de réduire l'azote gazeux en ammoniac.

Jusqu'au développement de processus industriels de fixation, développés vers 1914\*\* par Fritz HABER et Karl BOSCH, elle a représenté le seul apport d'azote à l'Agriculture, essentiellement par les Légumineuses. Ces processus industriels nécessitent un important apport d'énergie fossile. L'augmentation du coût de cette énergie et le problème général de l'approvisionnement en protéines ont provoqué, dans les dix dernières années, un essor considérable des recherches dans le domaine de la biofixation : la synthèse d'un kilo d'azote -  $\text{NH}_3$  plaide largement en faveur de la fixation biologique avec des coûts de 5000 à 10.000 kcal/kg N- $\text{NH}_3$  contre 11.000 à 20.000 kcal/kg N-engrais pour la synthèse industrielle et l'utilisation d'engrais ; de plus cette fixation biologique utilise l'énergie solaire via la photosynthèse au lieu de l'énergie tirée du pétrole.

Les recherches en cours dans ce domaine visent à une meilleure utilisation du phénomène par amélioration des systèmes fixateurs existant ou création de nouveaux systèmes. Pour les organismes symbiotiques, à la fois capable d'absorber et assimiler l'azote du sol et de fixer l'azote atmosphérique, il est nécessaire si l'on veut diriger la nutrition azotée vers une utilisation plus importante de l'azote de l'air, de mesurer avec précision la quantité d'azote réellement fixée au champ et de connaître les relations entre l'absorption de l'azote minéral et la fixation.

---

\* AMARGER, MARIOTTI, MARIOTTI : 1977 ; AMARGER, MARIOTTI *et al.*, 1979.

\*\* Par la stimulation de la demande de nitrates par les usines d'armement, lors de la Première Guerre Mondiale.

Quelles sont les méthodes actuellement à la disposition des chercheurs pour estimer la fixation dans des conditions réelles de culture au champ ? On peut en distinguer plusieurs :

(i) La méthode que l'on pourrait appeler des *rendements* : c'est une méthode indirecte qui consiste à estimer la différence de rendement azoté entre une Légumineuse utilisant à la fois l'azote de l'air et celui du sol et une plante non fixatrice. Cette plante de contrôle peut être, dans le meilleur des cas, une légumineuse pour laquelle il n'existe pas dans le sol de l'étude de *Rhizobium* spécifique ou une isoligne non nodulante, ou encore une plante non fixatrice, une graminée par exemple. Cette méthode implique que l'absorption de l'azote combiné du sol est la même pour la plante étudiée et la plante référence. Cette absence d'interaction entre fixation et absorption d'azote minéral n'est pas prouvée et peut conduire, on le verra, à une sous-estimation de la fixation.

(ii) La mesure de l'*activité nitrogénase* : l'enzyme nitrogénase, qui réduit  $N_2$  ( $N \equiv N$ ) en  $NH_3$ , peut également réduire l'acétylène ( $H-C \equiv C-H$ ) en éthylène,  $C_2H_4$  (HARDY *et al.*, 1973). L'activité réductrice de l'enzyme peut donc s'apprécier en détectant et en dosant l'éthylène formé après avoir placé des plantes entières, racines ou nodules de Légumineuses sous atmosphère contenant de l'acétylène. Cette mesure permet de comparer entre eux des traitements menés simultanément mais on conçoit qu'il reste difficile de déduire de ces mesures d'activités enzymatiques les quantités d'azote fixées pendant une période de végétation donnée. En effet outre le fait que cette mesure est basée sur l'estimation de la production d'un gaz sans rapport avec le phénomène physiologique étudié, elle implique d'établir une proportion entre l'activité de réduction de l'acétylène et la fixation de l'azote (réduction de  $N_2$ ) : on constate notamment (BERGERSEN, 1970) que le rapport azote réduit sur acétylène réduit n'est pas toujours équivalent au rapport théorique 1:3. Enfin, l'estimation de la fixation est effectuée à partir de mesures *instantanées* qui nécessitent d'*extrapoler* les mesures de quantités réduites pendant le temps de la mesure (de l'ordre d'une heure) à la quantité réduite pendant l'intervalle entre deux mesures (de l'ordre de la semaine), sans oublier que cette activité nitrogénasique varie au cours d'une journée et d'une journée à l'autre, sous l'influence des variations des paramètres du milieu (température, ensoleillement, etc...).

(iii) La mesure de l'*activité nitrate réductase (NR)* : elle renseigne sur le "niveau" d'absorption des nitrates mais ne permet pas d'en déduire les quantités absorbées car, outre le fait que cette mesure instantanée d'activité enzymatique potentielle présente les mêmes inconvénients que ceux donnés précédemment, les relations entre activité NR et nitrate absorbé méritent d'être précisées.

(iii) La mesure de *métabolites spécifiques* : on l'a vu (chapitre 2-1), certaines Légumineuses forment des uréïdes quand elles fixent (soja, haricot, légumineuses tropicales). Leur dosage au cours de la croissance permettra peut être d'estimer la quantité d'azote fixé. Bien évidemment cette méthode serait restrictive à ces Légumineuses à métabolisme particulier.

(iiii) La méthode isotopique : on peut réaliser, en enrichissant l'azote du sol en  $^{15}\text{N}$  par ajout d'un engrais marqué, une dilution isotopique au sein de la Légumineuse. La détermination du rapport du contenu en  $^{15}\text{N}$  d'une légumineuse fixatrice à une plante référence, (cf. supra : i) permet l'estimation de l'azote provenant du sol et, par voie de conséquence celle de l'azote fixé. Cette méthode intègre la totalité de la saison de croissance. Elle est toutefois limitée, par le prix d'achat élevé de produits marqués en  $^{15}\text{N}$ , à des expérimentations peu nombreuses sur faible superficie qui peuvent ne pas être représentatives.

En 1970, DELWICHE et STEYN, observant des différences dans les abondances naturelles en  $^{15}\text{N}$  entre plantes fixatrices et non fixatrices, suggèrent la possibilité d'utilisation de ces différences pour la mesure de la fixation symbiotique.

Depuis cette date, cette prévision s'est en partie réalisée, nous présenterons donc le principe, la portée et les limites de l'utilisation des abondances naturelles en azote  $^{15}$  à la détermination de la quantité d'azote fixé par des couples diazotrophes symbiotiques.

### 3.3.2. - PRINCIPE DE LA METHODE.

Pour une plante fixatrice dont la source d'azote est un mélange :

- 1) d'azote fixé symbiotiquement,
- 2) d'azote absorbé sous forme minérale combinée ( $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ ) dans le sol,

le bilan isotopique peut s'écrire, en ramenant à 100 la quantité d'azote de la plante :

$$100 \cdot \delta^{15}\text{N}_t = x \cdot \delta^{15}\text{N}_{pa} + (100-x) \cdot \delta^{15}\text{N}_{ps} \quad (1)$$

où :  $\delta^{15}\text{N}_t$  est la composition isotopique de la plante (plante entière ou, plus raisonnablement pour des applications au champ, parties aériennes).

$\delta^{15}\text{N}_{\text{pa}}$  est la composition isotopique de la fraction x % de l'azote fixé par la plante.

$\delta^{15}\text{N}_{\text{ps}}$  la composition isotopique de la fraction (100-x) de l'azote absorbé.

Le terme  $\delta^{15}\text{N}_{\text{pa}}$  peut également s'écrire :

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{pa}} = \delta^{15}\text{N}_{\text{air}} + \epsilon_{\text{fix}} \quad (2)$$

où  $\delta^{15}\text{N}_{\text{air}}$  est la composition isotopique de l'azote atmosphérique, nulle par définition et  $\epsilon_{\text{fix}}$  le facteur d'enrichissement isotopique associé à la fixation de l'azote de l'air (passage  $\text{N}-\text{N}_2$  atm. à N-protéines de la plante). La relation (2) est valide puisque l'azote de l'air est un réservoir infini (cf. paragraphe 2-1). Ainsi,

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{pa}} = \epsilon_{\text{fix}}$$

La connaissance du terme  $\delta^{15}\text{N}_{\text{ps}}$  du bilan n'est pas accessible directement : elle nécessiterait la mesure en continu et l'intégration, tout au long de la période de culture, de la composition isotopique de l'azote minéral combiné de la solution rhizosphérique du sol, susceptible de connaître d'importantes variations d'une saison à l'autre, et la correction de composition isotopique de cet azote liée à l'effet réservoir (le pool azote minéral du sol n'étant pas infini) dû au fractionnement isotopique à l'absorption (cette correction devant elle aussi être intégrée en fonction de la variation de taille de ce pool !). On objectera toutefois que le fractionnement isotopique à l'absorption étant très voisin de 1 ( $\epsilon_{\text{abs}} \approx 0$ ) cette correction n'a pas lieu d'être. Toutefois la seule connaissance de la composition isotopique intégrée de l'azote minéral rhizosphérique est parfaitement illusoire à atteindre, ne serait-ce que parce que cette mesure est destructive du système étudié.

La connaissance de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{ps}}$  doit donc être indirecte : elle s'obtiendra par la mesure de composition isotopique d'une plante référence, non fixatrice, cultivée dans les mêmes conditions : cette composition isotopique sera le reflet, à la correction près du fractionnement isotopique à l'absorption ( $\epsilon_{\text{abs}}$ ), de la composition isotopique moyenne pondérée de la solution azotée minérale du sol.

Cette plante référence peut être :

(i) Une légumineuse, de même variété que celle en étude, non nodulée parce que le partenaire microbien spécifique de cette espèce n'est pas présent naturellement dans le sol de l'essai : ceci est le cas en France du soja dans tous les sols, du lupin dans les sols basiques et de la luzerne en sol acide.

(ii) Une légumineuse non nodulante génétiquement, isoligne de la légumineuse étudiée.

(iii) Hormis ces deux cas, les plus favorables, on peut envisager d'utiliser une plante non fixatrice (graminée par exemple). Cette plante doit cependant présenter les critères suivants :

- elle doit avoir un fractionnement isotopique à l'absorption de l'azote minéral le plus proche possible de la Légumineuse étudiée : il sera déterminé expérimentalement ;
- les phases de croissance, donc d'absorption, l'extension du système racinaire, le taux d'absorption de l'azote du sol doivent calquer au plus près ceux de la Légumineuse, afin que la plante témoin absorbe l'azote du sol au même moment et dans les mêmes sites que la légumineuse. La recherche d'une telle plante n'est pas, *a priori*, aisée.

De (1) et (2) on déduit le pourcentage d'azote fixé :

$$N \text{ fixé } \% = \frac{\delta^{15}N_t - \delta^{15}N_{ps}}{\epsilon_{fix} - \delta^{15}N_{ps}} \cdot 100 \quad (3)$$

$\delta^{15}N_{ps}$  et  $\delta^{15}N_t$  sont accessibles par la mesure des plantes de l'essai,  $\epsilon_{fix}$  doit être mesuré en laboratoire ou en serre selon un protocole décrit dans le chapitre 2 paragraphe 1.

### 3.3.3. - PORTEE ET LIMITES DE LA METHODE.

Les avantages de cette méthode résident dans les faits suivants :

- il s'agit d'une mesure intégrée dans le temps de l'estimation de la fixation, pendant toute la vie de la plante : toutes les variations journalières et saisonnières du taux de fixation sont prises en compte : c'est là un avantage essentiel sur les méthodes utilisant des mesures d'activité enzymatique;

- la mesure globale de la fixation ne nécessite la destruction de l'échantillon qu'en fin d'expérimentation, contrairement à la méthode à l'acétylène qui impose de sacrifier un certain nombre de plantes (toutes les deux semaines par exemple) ;
- elle ne nécessite pas d'apport de produits marqués ce qui diminue le prix de revient des études et permet de travailler à grande échelle, sur des expérimentations significatives agronomiquement.

#### Les limites :

Par principe, cette méthode postule l'existence d'une *différence entre la composition isotopique de l'azote minéral du sol, faiblement modifiée par le fractionnement isotopique à l'absorption, et la composition isotopique de l'azote atmosphérique, modifiée par l'effet isotopique associé à la fixation.* La précision de l'estimation de la fixation augmente avec cette différence de  $\delta^{15}\text{N}$ , à la limite cette estimation devient impossible si cette différence est proche de zéro.

Un signe encourageant de l'existence de cette différence est la constatation que l'azote total des sols cultivés est toujours caractérisé par des  $\delta^{15}\text{N}$  élevés et que l'azote minéralisé à partir de ces sols suit cette tendance (cf. chapitres 2-2 et 2-7 ; figures 2-18 et 2-79).

Un autre problème réside dans l'homogénéité isotopique de l'azote minéral du sol : si cette méthode permet, et ce n'est pas là le moindre de ses avantages, de travailler sur de grandes superficies, la signification des résultats risque d'être altérée par des variations spatiales dans le champ d'essai, de la composition isotopique de l'azote minéralisé. On peut limiter cet effet en s'assurant préalablement à l'expérimentation de l'homogénéité du  $\delta^{15}\text{N}$  de l'azote organique du sol (plus aisée à appréhender que celle de l'azote minéral). On a vu, sur l'exemple de la parcelle de Chaussy que ces variations de  $\delta^{15}\text{N}$ -organique sont très faibles (cf. figure 3-37) pour une même unité pédologique : toutes choses égales par ailleurs, on peut penser que l'homogénéité de  $\delta^{15}\text{N}$ -organique s'accompagnera d'une homogénéité de composition isotopique de l'azote minéral apparue. D'autre part, une implantation judicieuse de l'association plante fixatrice - plante référence peut très largement contribuer à minimiser les conséquences d'une éventuelle hétérogénéité.



Erreurs :

Les écarts maximaux sur la mesure de  $\delta^{15}\text{N}$  de végétaux sont de l'ordre de 0,2 à 0,4 %.

L'écart-type de l'estimation du pourcentage d'azote fixé  $\sigma$  (N fixé) se déduit de l'équation (3), qui est de la forme :

$$r = \frac{v - u}{w - u}$$

Il vient :

$$\frac{dr}{r} = \frac{d(v - u)}{(v - u)} - \frac{d(w - u)}{(w - u)}$$

Soit :

$$dr = dv \left( \frac{1}{w - u} \right) + dw \left[ \frac{u - v}{(w - u)^2} \right] + du \left[ \frac{v - w}{(w - u)^2} \right]$$

On peut admettre, pour des erreurs de mesures que du, dv et dw sont des variables aléatoires, de moyenne nulle et d'écart-type  $\sigma u$ ,  $\sigma v$ ,  $\sigma w$ . En négligeant le fait que les coefficients du, dv, dw sont eux-mêmes des variables aléatoires, on peut dire que dr est une variable aléatoire de moyenne nulle et d'écart-type  $\sigma r$  tel que :

$$\sigma r^2 = \left( \frac{1}{w - u} \right)^2 (\sigma v)^2 + \frac{(u - v)^2}{(w - u)^4} (\sigma w)^2 + \frac{(v - w)^2}{(w - u)^4} (\sigma u)^2$$

Ainsi l'écart-type sur l'estimation du pourcentage d'azote fixé sera donné par l'équation :

$$\sigma (\text{N fixé}) = \sqrt{\frac{(\sigma \delta^{15}\text{N}_t)^2}{(\epsilon_{\text{fix}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{ps}})^2} + \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{ps}} - \delta^{15}\text{N}_t)^2 (\sigma \epsilon_{\text{fix}})^2}{(\epsilon_{\text{fix}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{ps}})^4} + \frac{(\delta^{15}\text{N}_t - \epsilon_{\text{fix}})^2 (\sigma \delta^{15}\text{N}_{\text{ps}})^2}{(\epsilon_{\text{fix}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{ps}})^4}} \quad (4)$$

La précision sur la mesure de N fixé est, bien évidemment, fonction, entre autre, de l'écart de composition isotopique entre l'azote minéral de la solution du sol et de l'azote de l'air qui s'exprime par l'apparition dans (4) du terme  $\epsilon_{\text{fix}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{ps}}$ .

Sur la figure 3-63, nous avons reporté l'écart-type de l'estimation de N fixé en fonction de  $\delta^{15}N_{ps}$  dans le cas théorique où N fixé = 40 %,  $\sigma\delta^{15}N = 0,2$  ,  $\epsilon_{fix} = -1$  %. Cette figure, sans aucune valeur générale, illustre clairement la diminution de l'erreur sur l'estimation avec l'augmentation de la composition isotopique de l'azote minéral du sol, modifiée par le fractionnement isotopique à l'absorption, soit  $\delta^{15}N_{ps}$ .

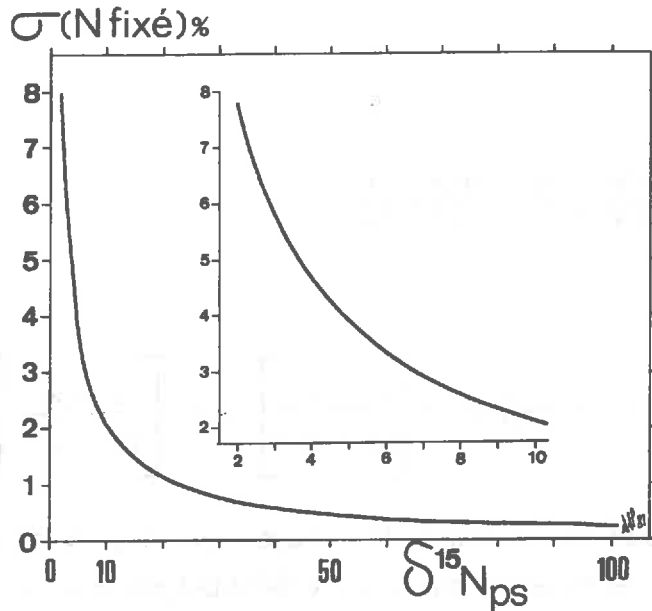


Figure 3-63 : Variation de l'écart-type sur l'estimation de la quantité d'azote fixé en fonction de la composition isotopique de la plante référence.

Cas théorique où  $N_{fixé} = 40$  % ;  $\sigma\delta^{15}N = 0,2$  % ;  $\epsilon_{fix} = -1$  %.

Nous présentons maintenant quelques applications de cette technique, dans un premier temps lors d'un essai en laboratoire qui nous permettra de mettre en oeuvre et de comparer plusieurs méthodes d'estimation, puis lors des essais au champ.

#### 3.3.4. - APPLICATIONS.

##### - ESSAI EN SERRE SUR LE LUPIN.

L'expérience a été réalisée avec *Lupinus luteus* var. *sulfa* (culture en serre climatisée ; période de jour : 16 h à 22°C, intensité lumineuse de 10000 ergs.  $cm^{-2}.s^{-1}$  ; période de nuit de 8 h à 18°C). Les plantes ont poussé sur sable stérilisé avec un large excès de liquide nutritif azoté (nitrate très

légèrement enrichi en  $^{15}\text{N}$  : excès isotopique de 0,01175 atome  $^{15}\text{N}$  %) renouvelé hebdomadairement pour s'affranchir des effets réservoirs. Quatre doses d'azote ont été utilisées (0,35,70,105 mg/l : cf. tableau 3-XL). Les pots inoculés (A,B,C) ont reçu  $10^{10}$  *Rhizobium lupini*, souche LB28. Dans les expériences B, C et D, l'azote nitrique est dosé après chaque renouvellement du liquide nutritif, afin de déterminer la quantité d'azote absorbée et d'en déduire le pourcentage d'azote fixé.

Culture	Inoculation	Concentration en azote dans le liquide nutritif (mg/l)	$\delta^{15}\text{N} \%$ $\bar{m} \pm \sigma$
A <sub>1</sub>	+	0	- 0.9 ± 0.1
A <sub>2</sub>	+	0	- 0.9 ± 0.1
B <sub>1</sub>	+	35	14.0 ± 0.03
B <sub>2</sub>	+	35	14.7 ± 0.1
C <sub>1</sub>	+	70	20.5 ± 0.2
C <sub>2</sub>	+	70	21.4 ± 0.2
D <sub>1</sub>	-	105	32.1 ± 0.3
D <sub>2</sub>	-	105	32.1 ± 0.3
Solution nutritive ( $\text{NO}_3^-$ )			32.2 ± 0.06

Tableau 3-XL : Lupin en serre. Conditions expérimentales et résultats analytiques.

Dans les expérimentations B et C la fixation a été estimée également par la mesure de l'activité nitrogénase des plantes *in situ* (FISHBECK *et al.*, 1973).

Pour les analyses isotopiques, seules les parties aériennes sont prises en compte.

#### RESULTATS :

Telles qu'elles sont décrites on comprend que l'expérimentation

- A donne  $\epsilon_{\text{fix}}$
- D donne  $\delta^{15}\text{N}_{\text{ps}}$
- B et C donnent  $\delta^{15}\text{N}_t$  pour deux doses d'azote. Les résultats figurent, pour les 3 méthodes utilisées, sur le tableau 3-XLI. Ils sont très proches : les écarts maximaux ne dépassent pas 6. %.

Estimation de N fixé symbiotiquement par :			
Culture	Méthode chimique	Méthode isotopique	Méthode à la nitrogénase
Inoculée sur milieu à 70 mg/l d'azote nitrique	C <sub>1</sub> 32 ± 10	35 ± 1.8	}38 ± 12
	C <sub>2</sub> 35 ± 10	32 ± 1.8	
Inoculée sur milieu à 35 mg/l d'azote nitrique	B <sub>1</sub> 52 ± 10	55 ± 1.0	}53 ± 12
	B <sub>2</sub> 50 ± 10	53 ± 1.0	

Tableau 3-XLI : Estimation du taux d'azote fixé par les trois méthodes utilisées.  
Pour la méthode isotopique on donne  $\bar{m} \pm 2 \sigma$ .

Pour la méthode isotopique le calcul de l'écart-type, de l'estimation donne des valeurs comprises entre 0,5 et 0,9 % ; dans le tableau 3-XLI on donne  $\bar{m} \pm 2 \sigma$ . Un calcul d'erreur "pessimiste" obtenu en donnant à chaque mesure sa valeur maximale ou minimale afin d'être dans le cas le plus défavorable, donne une barre d'erreur non supérieure à 3 à 4 %.

Pour la méthode chimique, les erreurs de dosage sont de l'ordre de 2 % sur chaque mesure. A chaque renouvellement du liquide nutritif (11 en tout) on effectue deux analyses (une au début, une à la fin de la semaine). On peut estimer la précision du pourcentage d'azote fixé ainsi déterminé à environ 10 %, sous réserve qu'il n'y ait ni réorganisation ni dénitrification dans les pots.

Pour la méthode à l'activité nitrogénase, ce pourcentage est déduit de la comparaison de courbes d'activités fixatrices établies à partir de 10 mesures faites au cours de la croissance de la plante, mesures dont la précision varie de 2 à 4 % selon l'âge des plantes : la précision du pourcentage d'azote fixé ainsi calculé sur trois répétitions est de l'ordre de 12 %.

La méthode isotopique se trouve donc, en serre, en parfait accord avec les autres méthodes d'estimation, avec toutefois une précision supérieure. Bien évidemment, dans ce cas d'espèce, cette précision est artificielle, pour l'essentiel due à la grande différence de composition isotopique entre l'azote de l'air et l'azote du substrat (32,2 %). Cette méthode mérite donc d'être testée en conditions naturelles, au champ.

## I. - ESTIMATION DE LA FIXATION SYMBIOTIQUE CHEZ LE SOJA CULTIVE AU CHAMP.

### 1) Matériel et méthodes.

L'expérience a été conduite à Montoisson (Drôme) en 1976 sur un sol préparé de *Rhizobium japonicum*. Le détail des conditions de culture et des

méthodes analytiques employées figure dans la publication AMARGER, MARIOTTI et al. (1979).

Les traitements sont les suivants :

- non inoculation ( $I_0$ ) ou inoculation ( $I_1$ ) par *R. japonicum* (souche G3 = 31 1 B 138, U.S.D.A.),
- sans azote ( $N_0$ ) ou apport de 80 kg N/ha (ammonitrate) ( $N_1$ ),
- 4 variétés de soja : Amsoy 71, Chippewa 64, Hodgson, Wells.

Une partie du champ d'essai ayant été inondée, nous n'avons pu étudier que deux des trois répétitions prévues.

## 2) Résultats.

	Traitement	AMSOY	CHIPPEWA	HODGSON	WELLS
Graines poids sec (g/12m)	$N_0 I_0$	1399 ± 16	1415 ± 27	1306 ± 204	1431 ± 103
	$N_0 I_1$	1335 ± 6	1610 ± 40	1781 ± 62	1674 ± 265
	$N_1 I_0$	1579 ± 16	1475 ± 94	1560 ± 8	1506 ± 186
	$N_1 I_1$	1429 ± 216	1543 ± 258	1696 ± 86	1620 ± 128
Graines contenu en azote %	$N_0 I_0$	5.95 ± 0.56	5.97 ± 0.12	5.47 ± 0.43	5.57 ± 0.19
	$N_0 I_1$	6.30 ± 0.07	6.01 ± 0.10	6.08 ± 0.01	6.37 ± 0.19
	$N_1 I_0$	5.99 ± 0.15	6.08 ± 0.07	5.74 ± 0.50	6.01 ± 0.13
	$N_1 I_1$	6.20 ± 0.18	6.35 ± 0.09	5.88 ± 0.08	6.38 ± 0.04
Parties aériennes teneurs en azote (g/12m)	$N_0 I_0$	94.2 ± 9.1	94.6 ± 2.1	80.2 ± 18.7	92.5 ± 8.1
	$N_0 I_1$	97.3 ± 1.8	107.6 ± 3.3	119.2 ± 4.5	119.7 ± 15.1
	$N_1 I_0$	104.1 ± 2.8	100.3 ± 9.1	97.8 ± 8.7	102.1 ± 15.3
	$N_1 I_1$	100.8 ± 12.8	108.6 ± 18.1	111.4 ± 0.1	118.5 ± 8.9

Tableau 3-XLII : Poids sec, teneurs en azote des graines et teneurs en azote de l'ensemble des parties aériennes à la récolte.

*g/12 m* : grammes par rangée de plantes de 12 m de longueur ;  
 $I_0$  : non inoculé ;  $I_1$  : inoculé ;  $N_0$  : sans azote ;  
 $N_1$  : + 80 kg N/ha (ammonitrate).

Le tableau 3-XLII présente les rendements et le contenu en azote des grains et le rendement azoté du total des parties aériennes à la récolte. L'analyse de variance du rendement et du contenu en azote des graines montre l'existence d'une interaction significative ( $p < 0,05$ ) azote x inoculation. Cette inoculation augmente à la fois le poids sec et la teneur en azote, seulement en absence d'engrais. L'analyse du contenu en azote des parties aériennes montre un effet hautement significatif ( $p < 0,01$ ) de l'inoculation qui augmente ce contenu. L'estimation du pourcentage d'azote fixé,  $x_1$ , basée sur le contenu en N total des plantes figure sur le tableau 3-XLIII.

Traitement	Amsoy	Chippewa	Hodgson	Wells
N <sub>0</sub>	3.20	12.1	32.7	22.7
N <sub>1</sub>	- 3.0	7.6	11.4	13.8

Tableau 3-XLIII : Pourcentage d'azote fixé chez le soja inoculé (N<sub>1</sub>) estimé par différence de contenu en azote avec les sojas non inoculés (N<sub>0</sub>).

x<sub>1</sub> est donné par :

$$x_1 = \frac{N_f}{N_t} = \frac{N_t - N_s}{N_t}$$

N<sub>t</sub> = azote total des plantes inoculées ; N<sub>s</sub> = azote total des plantes non inoculées ; N<sub>f</sub> = azote fixé.

Sur le tableau 3-XLIII, on observe l'effet inhibiteur, bien connu, de l'azote combiné sur la fixation.

Les valeurs de δ<sup>15</sup>N des parties aériennes 91 jours après le semis et sur les graines à la récolte sont données sur le tableau 3-XLIV. Sur ce même tableau figurent les valeurs du facteur d'enrichissement isotopique associé à la fixation, ε<sub>fix</sub>, pour les quatre variétés de soja étudiées. La composition isotopique de l'azote total du sol des parcelles est 4,4 ‰. La composition isotopique des graines à la récolte, pour les plantes non inoculées est proche de cette valeur.

	Traitement	AMSOY	CHIPPEWA	HODGSON	WELLS
<i>Parties aériennes 91 jours après semis</i>	N <sub>0</sub> I <sub>0</sub>	5.2 ± 0.6	5.9 ± 0.6	5.0 ± 0.2	5.8 ± 1.0
	N <sub>0</sub> I <sub>1</sub>	4.2 ± 1.5	4.2 ± 0.0	4.0 ± 1.2	3.4 ± 0.4
	N <sub>1</sub> I <sub>0</sub>	5.7 ± 1.0	6.6 ± 1.0	4.7 ± 0.2	5.9 ± 1.4
	N <sub>1</sub> I <sub>1</sub>	5.8 ± 0.3	5.1 ± 0.5	4.8 ± 0.4	4.9 ± 0.6
<i>Graines à la récolte</i>	N <sub>0</sub> I <sub>0</sub>	4.6 ± 0.4	4.9 ± 0.2	5.0 ± 0.6	4.4 ± 0.2
	N <sub>0</sub> I <sub>1</sub>	3.1 ± 0.8	3.1 ± 0.3	3.3 ± 0.7	2.2 ± 0.1
	N <sub>1</sub> I <sub>0</sub>	4.6 ± 0.1	5.9 ± 1.0	4.9 ± 0.6	5.3 ± 0.3
	N <sub>1</sub> I <sub>1</sub>	4.1 ± 0.4	4.6 ± 0.1	3.7 ± 1.0	3.7 ± 0.3
ε <sub>fix</sub>		-1.2 ± 0.2	-1.5 ± 0.4	-1.6 ± 0.2	-1.3 ± 0.1

Tableau 3-XLIV : Soja : composition isotopique (m ± écart-type) :

N<sub>0</sub> : sans engrais ; N<sub>1</sub> : 80 kg N/ha

I<sub>0</sub> : parcelles non inoculées (δ<sup>15</sup>N<sub>ps</sub>) ; I<sub>1</sub> : parcelles inoculées (δ<sup>15</sup>N<sub>t</sub>).

L'analyse de variance des données montre :

- une différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) entre le  $\delta^{15}\text{N}$  des plantes à 91 jours et le  $\delta^{15}\text{N}$  des graines à la récolte : cette différence pourrait être due à des fractionnements isotopiques intervenant au cours de la maturation des graines,
- une interaction significative ( $p < 0,05$ ) inoculation x azote : l'inoculation produit un abaissement des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  pour les deux doses d'azote-engrais utilisées mais l'interaction inoculation x azote montre que les différences entre plantes non inoculées et inoculées sont significativement plus élevées pour les plantes cultivées sans engrais.

Les  $\delta^{15}\text{N}$  des sojas fixateurs sont inférieurs aux  $\delta^{15}\text{N}$  des non fixateurs et, comme l'azote combiné inhibe la fixation, les  $\delta^{15}\text{N}$  des plantes fixatrices cultivées avec 80 kg N/ha ( $N_1$ ) sont plus élevés que les  $\delta^{15}\text{N}$  des plantes fixatrices cultivées sans engrais ( $N_0$ ).

Il est donc possible d'estimer l'azote fixé avec les mesures de  $\delta^{15}\text{N}$ , soit  $x_2$  %, comme nous l'avons fait précédemment pour le lupin, en utilisant l'équation (3). Le traitement  $N_0$  donne  $\delta^{15}\text{N}_{ps}$ ,  $N_1$  donne  $\delta^{15}\text{N}_t$ . Les résultats figurent sur le tableau 3-XLV.

	Traitement	Amsoy	Chippewa	Hodgson	Wells
Plantes entières à 91 jours	$N_0$	15.6	23.0	15.2	33.8
	$N_1$	- 1.4	18.5	- 1.6	13.9
Graines à la récolte	$N_0$	25.9 ± 14.7	28.1 ± 5.5	25.8 ± 12.6	38.6 ± 2.9
	$N_1$	8.6 ± 7.1	17.6 ± 11.3	18.5 ± 17.1	24.2 ± 5.7

Tableau 3-XLV : Pourcentage d'azote fixé chez le soja inoculé, estimé par le  $\delta^{15}\text{N}$ .

*L'erreur sur l'estimation a été calculée d'après la formule (4), page 448.*

L'activité de réduction de l'acétylène a été mesurée régulièrement de fin juin jusqu'à septembre, où elle devient égale à zéro. Nous disposons ainsi de 6 mesures (toutes les 2 semaines), exprimées en  $10^{-6}\text{M C}_2\text{H}_4$  produit/h/plante. Sur le tableau 3-XLVI nous avons reporté le total des 4 premières mesures (activité jusqu'à 92 jours de croissance) et le total des 6 mesures (totalité de la période de croissance).

	Traitement	Amsoy	Chippewa	Hodgson	Wells
Jusqu'à 92 jours	N <sub>0</sub>	71.9 ± 19.0 <sup>a</sup>	71.7 ± 38.2	57.0 ± 33.4	107.4 ± 11.9
	N <sub>1</sub>	40.0 ± 3.2	30.5 ± 2.3	9.0 ± 3.2	44.1 ± 22.0
Jusqu'à la récolte	N <sub>0</sub>	119.1 ± 53.9	86.0 ± 40.7	82.3 ± 41.0	132.7 ± 25.8
	N <sub>1</sub>	65.8 ± 3.4	35.6 ± 3.3	43.5 ± 22.2	72.7 ± 38.5

Tableau 3-XLVI : a :  $\Sigma$  des activités de réduction de l'acétylène mesurées à intervalles de 14 jours, en  $10^{-6}$  M C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h/plante  $\pm$  écart-type.

L'addition d'azote-engrais abaisse significativement ( $p < 0,05$ ) l'activité enzymatique de réduction mais les variations entre variétés ne sont pas significatives. On admet que la quantité d'azote fixée par une légumineuse est proportionnelle à son activité nitrogénase (Nase).

$$N_f = k \cdot \text{Nase}$$

Afin de déterminer exactement la quantité d'azote fixé,  $N_f$ , il est nécessaire de connaître le rapport entre la quantité d'azote réduit et la quantité de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> réduit, et de pouvoir extrapoler la quantité réduite au cours des 6 mesures (6 x 1 heure) à la quantité réduite en 12 semaines. Ce type de mesure ne permet pas, bien sûr, cette extrapolation. La constante k demeure indéterminée, et la proportion  $x_3$  d'azote fixé peut s'écrire :

$$x_3 = \frac{N_f}{N_t} = \frac{k \text{ Nase}}{N_t} = \frac{k \cdot \Sigma \text{C}_2\text{H}_4 \text{ produit}}{N_t}$$

Le rapport C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> : N<sub>t</sub> a été calculé pour les différents traitements, les valeurs figurent sur le tableau 3-XLVII.



	Traitement	Amsoy	Chippewa	Hodgson	Wells
91 jours	N <sub>o</sub>	122	117	136	205
	N <sub>1</sub>	73	44	17	69
à la récolte	N <sub>o</sub>	167	127	128	168
	N <sub>1</sub>	96	64	67	96

Tableau 3-XLVII : Valeurs du rapport de l'activité de réduction de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> sur N total par plante (10<sup>-6</sup>M/h/g).

Pour chaque traitement, nous avons deux estimations indirectes, x<sub>1</sub> et x<sub>2</sub>, de la quantité d'azote fixé, et une estimation directe, x<sub>3</sub>, connue à une constante près. L'analyse de corrélation entre x<sub>1</sub>, x<sub>2</sub> et x<sub>3</sub> donne les coefficients de corrélation suivants :

entre x<sub>1</sub> et x<sub>3</sub> , r = 0,273 non significatif

entre x<sub>2</sub> et x<sub>3</sub> , r = 0,748 significatif à p < 0,01

La relation entre x<sub>3</sub> et Σ C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> produit/N<sub>t</sub> s'écrit :

$$\% \text{ N fixé} = 1,461 + 0,166 (\pm 0,084) \cdot \frac{\Sigma \text{ C}_2\text{H}_4 \text{ produit}}{N_t}$$

elle est représentée sur la figure 3-64.

Ainsi, seule l'estimation basée sur la mesure de δ<sup>15</sup>N est corrélée à l'estimation directe.

On peut déduire, pour cette expérience la valeur du coefficient k :

$$k = 0,166 \pm 0,084 \text{ (à } p = 0,05)$$

La régression entre x<sub>1</sub> et x<sub>3</sub> est donc hautement significative (p < 0,01). L'ordonnée à l'origine de la droite, représentée sur la figure 3-64, n'est pas significativement différente de zéro, la droite peut donc passer l'origine.

*Le pourcentage d'azote fixé, déterminé à partir des mesures de composition isotopique naturelle est donc directement proportionnel aux mesures d'activité de réduction.*

De plus, il n'y a pas de différence significative entre les régressions obtenues pour l'estimation sur la plante entière à 91 jours et les graines à la récolte : cette proportionnalité est donc indépendante de l'époque de mesure.

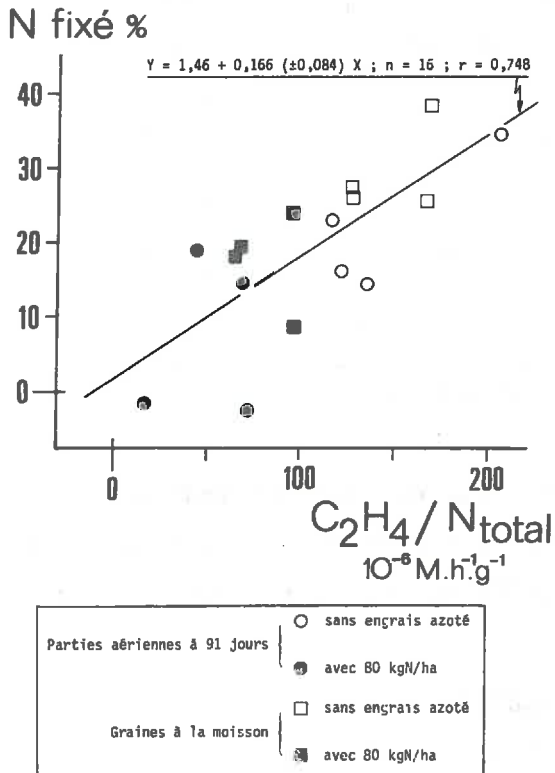


Figure 3-64.: Relation entre l'estimation du pourcentage d'azote fixé, basée sur le contenu en  $^{15}\text{N}$  et l'activité de réduction de l'acétylène (par g. de N total).

Ces résultats montrent que l'estimation du taux de fixation, déduite de la mesure des abondances isotopiques naturelles en  $^{15}\text{N}$  est donc directement dépendante des quantités d'azote réduites par les plantes, et ceci pour différents niveaux de l'activité réductrice. Ceci souligne donc la validité de cette méthode d'estimation de la fixation, au champ. A cet égard, on observera également, sur la figure 3-65, la corrélation significative ( $p < 0,01$ ) entre activité  $\text{Nase}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  mesuré, sur les graines à la récolte.

Au contraire, l'estimation faite par différence de rendement en azote n'est pas corrélée à l'activité de réduction de  $\text{C}_2\text{H}_2$ . Ceci peut vouloir dire que l'hypothèse sur laquelle est basée cette méthode, à savoir que la quantité d'azote absorbée dans le sol est la même que la plante soit ou non fixatrice, est peut-être fautive.

L'estimation du pourcentage d'azote absorbé à partir de l'azote combiné du sol est permise par les mesures de  $\delta^{15}\text{N}$  : elle est  $100 - x_2$ . Nous pouvons donc comparer la quantité d'azote du sol absorbée par les soja inoculés à celle absorbée par les soja non inoculés.

L'analyse de variance de ces résultats montre l'existence d'un effet azote significatif ( $p < 0,05$ ) : les plantes ayant subi une fertilisation azotée ont absorbé plus d'azote, ce qui est logique.

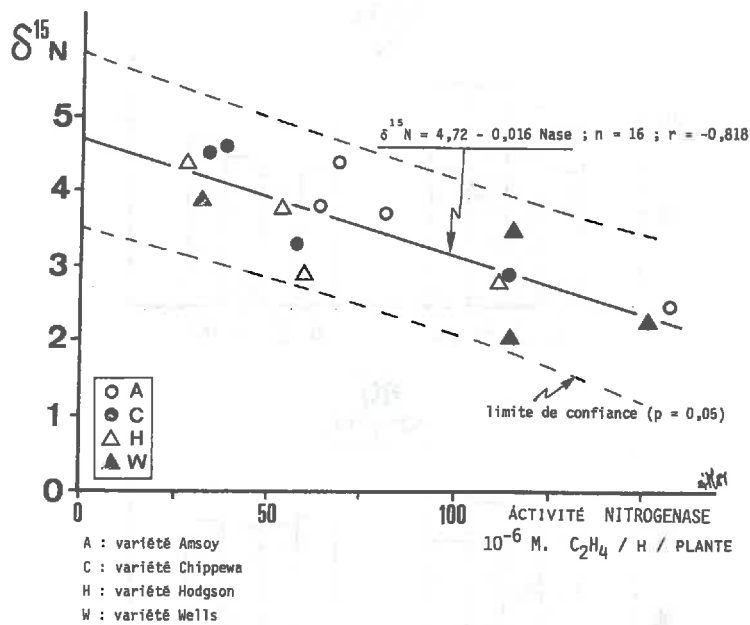


Figure 3-65 : Soja : relation entre la composition isotopique des graines à la récolte et l'activité nitrogénase (somme des activités mesurées pendant toute la croissance pour chacune des répétitions).

Il y a aussi une différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) entre les quantités d'azote absorbées par les plantes inoculées et les non inoculées : il semble que l'inoculation et la fixation, inhibent, dans une certaine mesure, l'absorption de l'azote combiné du sol (cf. figure 3-66).

Cette observation confirme les observations de N. AMARGER (communication personnelle) sur des lupins cultivés en serre sur nitrate : les plantes inoculées absorbent moins d'azote que les mêmes plantes non inoculées, poussant sur la même solution nutritive, avec la même concentration en  $\text{N-NO}_3^-$ .

On peut donc tenter d'expliquer ainsi pourquoi l'estimation par différence de rendement en azote sous-estime la quantité d'azote fixée, cette sous-estimation n'étant pas proportionnelle à cette quantité.

Si nous considérons les rendements en azote des 4 variétés inoculées de soja étudiées, avec ou sans engrais (cf. figure 3-66), il semble que la quantité d'azote fixé varie avec la variété alors que la quantité d'azote absorbé varie très peu. L'analyse des données montre un effet variété significatif à  $p < 0,1$  pour N total et N fixé.

Cette tendance peut être prise en compte si on considère la relativement faible précision des mesures due à un trop petit nombre de répétitions.

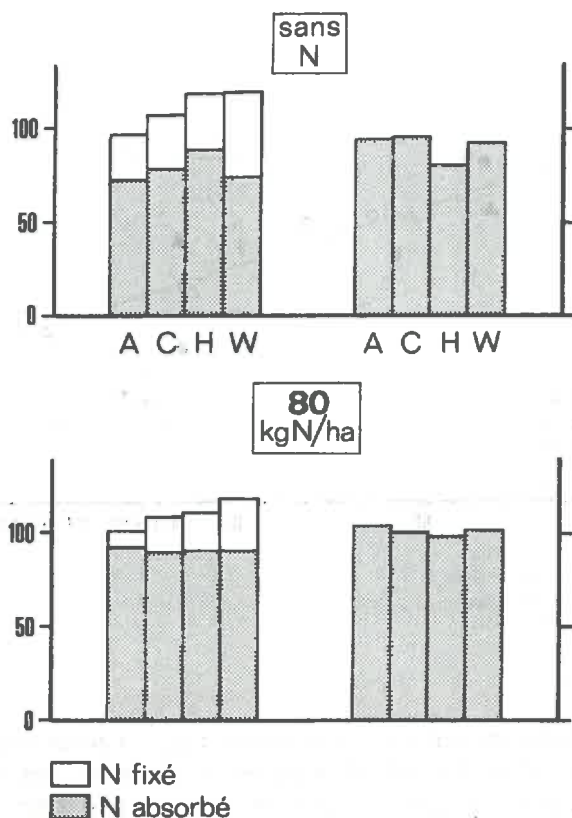


Figure 3-66 : Rendement azoté et contribution de l'azote fixé et de l'azote dérivant du sol à l'azote total de quatre variétés de sojas : A = Amsoy ; C = Chippewa ; H = Hodgson ; W = Wells.

*On notera le fait que les plantes inoculées absorbent moins d'azote combiné du sol que les plantes non fixatrices.*

D'autre part, il existe une corrélation positive significative ( $p < 0,05$ ) entre azote fixé et azote total ( $r = 0,58$ ) alors que le coefficient de corrélation entre azote absorbé et azote total,  $r = 0,31$  n'est pas significatif.

La quantité d'azote absorbé ne varierait pas avec les diverses variétés, ce qui serait le cas avec l'azote fixé, provoquant une variation proportionnelle avec N total. Ceci, outre le fait que le taux d'azote absorbé par les plantes nodulées est inférieur à celui absorbé par les plantes non fixatrices, explique que les différences de rendement en azote entre plantes nodulées et non-nodulées ne soient pas corrélées avec la quantité fixée.

### 3) Conclusion.

Cette étude nous permet de montrer sans ambiguïté puisque les plantes comparées sont génétiquement identiques, que même un très faible taux de

fixation symbiotique s'accompagne d'une réduction significative de l'abondance naturelle en  $^{15}\text{N}$  chez des sojas au champ.

Elle montre également que la variation de cette composition isotopique est proportionnelle à l'activité fixatrice mesurée par l'activité  $\text{Nase}$  : l'utilisation des variations d'abondance isotopique naturelle pour la mesure du taux de fixation est ainsi totalement justifiée.

L'emploi de cette technique remet en cause la méthode basée sur la comparaison des rendements en azote de plantes inoculées ou non inoculées car elle infirme l'hypothèse selon laquelle ces plantes absorbent d'égales quantités d'azote du sol. Cette expérimentation montre en fait que l'inoculation des sojas entraîne une inhibition partielle du taux d'absorption des nitrates combinés du sol. Ceci méritera d'être étudié dans d'autres conditions : si cela devait se confirmer, on pourrait en tirer la conclusion que, dans bon nombre d'expérimentations, l'estimation de l'azote fixé par comparaison de rendement a été notablement sous-estimée.

Pour cette étude, l'absence de *R. japonicum*, partenaire microbien de la légumineuse dans le sol, est un élément très favorable qui permet de disposer d'une plante référence non inoculée idéale.

L'essai suivant porte sur la compétition vis-à-vis de la nutrition azotée dans une association graminée-légumineuse.

### III. - FIXATION D'AZOTE PAR UN MELANGE TREFLE VIOLET - RAY GRASS.

Cette expérience a été réalisée par J.P. MAITRE (ENITA - Dijon) pour étudier les composantes du rendement du trèfle violet en association ou non à un ray grass. Nous avons tenté d'estimer, sur un traitement et pour une coupe, la fixation de  $\text{N}_2$  à l'aide des abondances isotopiques naturelles.

L'expérimentation a été conduite dans les conditions suivantes :

- densité au semis : 400 plantes/m<sup>2</sup>
- fumure : 80 unités  $\text{P}_2\text{O}_5$  ; 80 unités  $\text{K}_2\text{O}$  ; 33 unités N
- niveaux de composition du mélange :

trèfle violet :	0	25	50	75	100
ray grass :	100	75	50	25	0

Les analyses ont été faites sur la troisième coupe.

Résultats :

Le tableau 3-XLVIII donne les teneurs en azote des plantes.

	Pourcentage de trèfle dans le mélange				
	0	25	50	75	100
Trèfle	-	3.30 a	3.35 a	3.31 a	3.64 b
Ray grass	2.25 a	2.56 a,b	3.12 c	3.06 b,c	-

Tableau 3-XLVIII : Teneurs en azote (%). Deux chiffres dans la même ligne suivis de la même lettre ne diffèrent pas significativement.

Le tableau 3-XLIX donne les valeurs des compositions isotopiques des plantes. Le facteur d'enrichissement isotopique du trèfle au cours de la fixation,  $\epsilon_{fix}$ , a été pris égal à 0,88 % (cf. tableau 2-I, paragraphe 2-1).

	Trèfle (T)	Ray grass (RG)
$T_0$ : 0 % T - 100 % RG	- - -	1.9 2.4 2.6
$T_1$ : 25 % T - 75 % RG	- 0.6 - 0.6 - 1.0	2.5 3.3 2.1
$T_2$ : 50 % T - 50 % RG	- 1.1 - 1.0 - 1.0	2.9 2.7 1.6
$T_3$ : 75 % T - 25 % RG	- 0.7 - 1.0 - 1.1	2.4 1.6 1.5
$T_4$ : 100 % T - 0 % RG	- 0.1 0.5 1.0	- - -
moyenne ± écart-type	$T_0$ - 0.73 ± 0.23 $T_1$ - 1.03 ± 0.06 $T_2$ - 0.93 ± 0.21 $T_3$ 0.47 ± 0.55 $T_4$	2.29 ± 0.56

Tableau 3-XLIX :  $\delta^{15}N$  des plantes de l'association ray grass - trèfle violet.

Interprétation :

La teneur en azote du trèfle poussant seul est significativement plus élevée que celle du trèfle poussant en association avec le ray grass. De plus, la teneur en azote du ray grass augmente quand il est associé au trèfle.

Les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  des trèfles en association au ray grass ne diffèrent pas significativement les uns des autres ni de la valeur du facteur d'enrichissement isotopique associé à la fixation chez le trèfle, -  $0,88 \pm 0,08 \%$ . Par ailleurs, ces valeurs sont différentes de celles trouvées pour le ray grass qui pousse, lui, uniquement à partir de l'azote minéral du sol.

*On peut donc considérer que la totalité de l'azote contenu dans les trèfles poussant en mélange avec le ray grass provient de l'azote atmosphérique.*

D'autre part, on peut observer que les compositions isotopiques des ray grass poussant seul ou en association au trèfle ne diffèrent pas significativement les uns des autres.

Si on émet l'hypothèse que ce ray grass est une bonne plante référence c'est-à-dire que son  $\delta^{15}\text{N}$  est représentatif de la composition isotopique de la fraction de l'azote absorbé dans le sol par le trèfle, on pourra calculer, selon les principes ci-dessus établis, le pourcentage de fixation dans la nutrition azotée de la légumineuse poussant seule. En effet, la valeur de  $\delta^{15}\text{N}$  de ce trèfle poussant dans ces conditions est intermédiaire entre celle du trèfle en association et celles du ray grass. Ce calcul a été fait en prenant comme valeur de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{ps}}$  la valeur moyenne trouvée pour le ray grass :  $2,29 \%$ . Les résultats figurent, pour les traitements  $T_1, T_2, T_3, T_4$ , sur le tableau 3-L.

Traitement	Pourcentage de fixation ± écart-type
Trèfle en association $\left[ \begin{array}{l} T_1 \\ T_2 \\ T_3 \end{array} \right.$	$94 \pm 7.7$ $103 \pm 3.4$ $100 \pm 7.1$
Trèfle seul : $T_4$	$56 \pm 18.9$

Tableau 3-L : Estimation du pourcentage d'azote fixé symbiotiquement chez le trèfle en association ou non avec du ray grass, cette dernière plante étant supposée remplir les conditions d'une plante référence.



Dans le cadre de cette hypothèse, on peut considérer que le trèfle poussant seul a fixé environ 55 % de son azote total pour cette coupe.

L'erreur sur cette estimation n'est pas trop importante, malgré la faible différence entre  $\delta^{15}\text{N}_t$  et  $\delta^{15}\text{N}_{ps}$ .

On conçoit l'intérêt des mesures d'abondances isotopiques naturelles pour les études de compétition légumineuses - non légumineuses, au champ.

Tant que l'on n'aura pas démontré que la plante non légumineuse présente les *qualités requises pour une plante référence*, la valeur du pourcentage d'azote fixé déterminée comme ci-dessus *n'est pas une détermination absolue* ; elle permettra toutefois de fructueuses comparaisons relatives.

### 3.3.5. - CONCLUSIONS.

La méthode d'estimation du taux d'azote fixé symbiotiquement basée sur la mesure des abondances isotopiques naturelles s'ajoute à celles qui sont déjà à la disposition des chercheurs pour résoudre ce problème capital.

La validité de cette méthode ressort clairement de la dépendance qui existe entre le taux d'azote fixé estimé par ce moyen et l'activité physiologique de réduction commandée par l'enzyme nitrogénase.

Elle donne une mesure intégrée dans le temps de cette fixation avec une précision supérieure à celle des autres méthodes. Cette dernière affirmation est confirmée par KOHL *et al.* (1980) qui observent également que l'hétérogénéité du sol semble affecter davantage la précision de la méthode des rendements que celle basée sur les mesures de  $\delta^{15}\text{N}$ .

Un problème se pose aux utilisateurs de cette méthode : la nécessité de se référer à la composition isotopique d'une plante non fixatrice (ce problème n'est d'ailleurs pas spécifique à cette seule méthode) : on peut espérer que la création d'isolignes génétiquement non nodulantes pour un grand nombre de légumineuses contribuera au développement de cette technique et à l'amélioration des résultats.

Les perspectives ouvertes sont nombreuses :

- la mesure du taux de fixation avec une précision accrue devrait permettre d'envisager la sélection de nouvelles plantes, de nouvelles souches bactériennes et d'associations symbiotiques plus aptes à la nutrition azotée par voie de fixation, et moins sensible à l'effet dépressif de cette fixation pour l'azote du sol, elle devrait également permettre d'aborder les problèmes de compétition ;



- la limitation de consommation d'engrais entraînée par l'amélioration du taux de fixation pourrait avoir de notables conséquences économiques. L'impact de cette limitation dans le domaine de la protection de l'environnement n'est pas aussi évident : on ne connaît pas avec précision le devenir des résidus des légumineuses restant ou retournant au sol après culture : ces résidus, riches en azote peuvent contribuer pour une part non négligeable à des pollutions azotées. On peut espérer que des méthodes basées sur les abondances naturelles  $^{15}\text{N}$  puissent contribuer à estimer un tel impact.
- Pour les plantes à métabolisme enrichissant en  $^{15}\text{N}$  les nodules par rapport au reste de la plante (les légumineuses "à uréides"), la voie ouverte par KOHL *et al.* (1981) qui observent une étroite relation entre la composition isotopique du nodule exprimée par rapport à celle de la plante entière ( $\Delta\delta^{15}\text{N}$ ) et l'efficacité de la fixation symbiotique, semble une voie très prometteuse (cf. figure 2-2 et tableau 2-VI).
- Au-delà de la mesure du taux de fixation, la méthode des abondances naturelles permet la recherche de nouvelles plantes fixatrices : nous citerons un exemple, très démonstratif : une étude à caractère général et statistique de l'abondance naturelle en  $^{15}\text{N}$  de plantes de Californie a montré que la moyenne de  $\delta^{15}\text{N}$  des espèces dont l'activité fixatrice est reconnue, est significativement inférieure à celle des plantes présumées non fixatrices (VIRGINIA, 1980). La composition isotopique de l'une des plantes de ce dernier groupe, *Chaemaebatia foliolosa* paraît toutefois anormalement basse (- 1,1 ‰) ce qui conduit des physiologistes à étudier le métabolisme de cette plante : des expériences ont été conduites qui ont montré, par des techniques plus conventionnelles, que cette plante, de la famille des Rosacées, pouvait fixer l'azote atmosphérique (HEISY *et al.*, 1980).

On saisit ainsi l'intérêt de l'emploi à grande échelle des mesures d'abondance isotopique dans les écosystèmes naturels.

Enfin, nous pensons qu'une voie très fructueuse réside dans l'emploi sur des systèmes culturaux d'engrais très faiblement marqués en  $^{15}\text{N}$  qui permettront d'augmenter de façon artificielle la différence de  $\delta^{15}\text{N}$  entre l'azote minéral combiné du sol et l'azote atmosphérique augmentant ainsi la précision de la dilution isotopique. Cette augmentation peut être acquise avec une quantité minimale de produits marqués en  $^{15}\text{N}$  qui ne saurait affecter de façon redhibitoire le prix de revient d'expérimentations en plein champ, même sur

de grandes superficies. Actuellement en France, une expérimentation sur lupin, utilisant ce marquage à "bas niveau" est effectuée sur un champ d'expérimentation de 5000 m<sup>2</sup>, par N. AMARGER et C. DUTHION (INRA Dijon) en collaboration avec F. MARIOTTI. Les résultats, prometteurs, seront développés par ailleurs.

#### 4. - CONCLUSIONS



#### 4. - CONCLUSIONS.

La complexité des processus déterminant le fonctionnement des grands cycles biogéochimiques a rendu nécessaire la recherche d'outils analytiques qui puissent aider à caractériser certaines étapes de ces cycles : une voie très fructueuse est l'utilisation de traceurs parmi lesquels les traceurs isotopiques, stables ou radioactifs, prennent une place de choix.

Le marquage isotopique artificiel consiste à introduire une variété isotopique de l'élément étudié dans un milieu où elle était absente ou présente seulement à l'état de traces, puis de suivre le devenir de cet isotope dans le système étudié, en postulant qu'il présente un comportement en tous points identiques à l'élément dont on étudie le cycle.

Le traçage isotopique naturel, lui, se borne aux mesures des concentrations d'une variété isotopique rare du composé choisi dans le milieu, naturel ou modifié par les actions anthropiques : il permet donc l'étude d'un milieu quelconque, s'affranchit des limitations de taille et de durée des expérimentations et, accessoirement, de l'achat du traçeur, toujours onéreux. D'autre part, et ce n'est pas là le moindre de leur intérêt, les traceurs isotopiques du milieu sont généralement en régime permanent à chaque étape de leur cycle : à cet égard, le marquage artificiel ne peut décrire que des états transitoires. Les différences de concentration de la variété isotopique rare entre les divers compartiments du système étudié sont dues à l'existence de légères différences de réactivité des isotopes de masses différentes : ceci n'est qu'apparemment en contradiction avec les principes de base du marquage artificiel, les variations introduites étant mesurées avec une précision d'un ordre de grandeur fort différent de celui retenu pour le marquage artificiel.

Du marquage isotopique artificiel, il n'a point été fait état dans ce travail : en France, un groupe comme celui du Service Radio-Agronomie du C.E.A. à Cadarache, animé par J.C. FARDEAU et G. GUIRAUD, a contribué depuis de nombreuses années à définir, pour ce qui concerne entre autre le cycle de l'azote, les protocoles, domaines et conditions de son emploi.

Cette présentation volontairement didactique ne doit pas masquer le fait que ces deux méthodes d'étude isotopique du cycle de l'azote peuvent et devront de plus en plus être appliquées simultanément : un exemple d'application conjointe et complémentaire sera proposé un peu plus avant dans cette conclusion.

L'objectif de cette étude résidait donc dans une évaluation de l'apport des mesures d'abondance isotopique naturelle à la connaissance générale ou détaillée du cycle biogéochimique de l'azote : la Géochimie isotopique donne une image qui, superposée à celle du cycle de cet élément, doit permettre une analyse plus complète des processus élémentaires et contribuer à l'élaboration d'un diagnostic sur le fonctionnement de ce cycle dans les conditions naturelles ; par exemple : déterminer des origines, préciser dans un intervalle de temps donné, des sens d'évolution dominants des processus ; l'acquisition de ces résultats pouvant se situer à un niveau qualitatif ou, dans le meilleur des cas, quantitatif.

Les variations de répartition des isotopes entre différents composés ou différentes phases ainsi que les variations du contenu isotopique d'un réactif en cours de transformation, sont liées à des spécificités thermodynamiques des espèces contenant l'une ou l'autre des variétés isotopiques élémentaires,  $^{15}\text{N}$  ou  $^{14}\text{N}$  : le premier objectif à atteindre dans cette étude résidait donc obligatoirement dans une estimation des ordres de grandeur des effets isotopiques marquant les transformations de l'azote : cette connaissance est nécessaire à toute analyse de système et elle a guidé la présentation de ce travail.

Après un bref rappel consacré à définir le cadre de l'étude, préciser les conditions d'acquisition du dossier analytique et son degré de fiabilité, nous avons donc successivement :

- (i) procédé à une étude à caractère analytique, pour l'essentiel en laboratoire, d'un certain nombre de phénomènes élémentaires constituant les étapes principales du cycle de l'azote, pour examiner dans quelle mesure le jeu de ces processus entraînait un effet isotopique. Le but de cette étude est de pouvoir obtenir un système de références nécessaire à l'interprétation de phénomènes plus complexes se déroulant dans le milieu naturel. Dans ce dessein, nous nous sommes particulièrement attachés à l'étude des mécanismes, à l'influence des variations des paramètres du milieu sur les fractionnements isotopiques et parmi ces paramètres nous avons essayé de dégager ceux présentant une influence dominante.
- (ii) Puis, nous avons présenté quelques applications du traçage isotopique naturel : parmi ceux-ci, se posaient tout particulièrement des problèmes de diagnostic d'origine. Les exemples sont choisis dans des systèmes sédimentologiques, hydrogéologiques et agronomiques.

Nous concluerons successivement sur ces deux aspects :

- (i) Etude des processus élémentaires du cycle de l'azote ; acquisition d'un système de référence.

Les transformations élémentaires du cycle de l'azote sont pour la plupart sous contrôle microbiologique, multiséquentielles et atteignent rarement l'état d'équilibre. Ce degré élevé de complexité rend difficile l'interprétation des résultats isotopiques et obligatoire la recherche des paramètres dominants influant sur les valeurs des effets isotopiques.

Cette étude a établi le fait général que les variations d'amplitude des fractionnements isotopiques associés à des réactions catalysées biologiquement résultent de variations du taux de contribution relative et, partant, de la vitesse relative des étapes élémentaires successives du processus global multiréactionnel.

Ainsi l'étude des effets des paramètres du milieu, tels que température, concentration du substrat, concentration en carbone organique, intensité lumineuse montre qu'ils sont dûs de façon prépondérante à l'action que les variations de ces paramètres ont sur les vitesses relatives des différentes réactions des processus. Pour la température en particulier, les variations de l'effet isotopique associé à un processus simple peuvent être calculées et sont observées, par exemple lors de la dissolution de  $N_2$  dans l'eau ou de la volatilisation de l'ammoniac : ces variations sont très faibles dans la gamme de variation biologique de la température (cf. figures 2-48 et 2-55 : variation de 2,2 % pour une variation de  $28^\circ C$  de la température dans ce dernier cas), considérablement plus faibles que celles observées dans les systèmes biologiques : elles peuvent atteindre, pour le processus de dénitrification, 12,5 % pour une élévation de  $20^\circ C$  de la température (cf. tableau 2-XIX) : cette forte dépendance de l'effet isotopique à la température est plus probablement le résultat de variation thermo-dépendantes des taux de vitesse relatif des diverses étapes d'une réaction complexe. Il en va de même, pour l'ensemble des processus où intervient une réduction de l'ion nitrate, pour la fourniture de source d'énergie telle que le carbone organique pour les organismes hétérotrophes ou de lumière pour les organismes photosynthétiques qui contrôle le niveau de concentration intracellulaire de réducteur dans le système de transport d'électrons (N.A.D.P.H.).



Ceci souligne la possibilité d'utiliser les variations des effets isotopiques apparents pour étudier et comprendre le fonctionnement intime de processus microbiologiques ou, au moins, de révéler des présomptions quant au fonctionnement de ces systèmes, présomptions qui devraient être testées par des méthodes plus classiques.

Ces possibilités ont été soulignées depuis quelques années par des auteurs travaillant sur la dénitrification biologique (COOK, WELLMAN et KROUSE, 1973) :

*"by (a) conducting analogous chemical reactions, (b) simultaneously applying conventional kinetics, and (c) theoretically calculating the expected isotope effects during the postulated steps, one can elucidate much of the overall mechanisms".*

On peut par exemple considérer qu'une étude très détaillée du processus général de réduction des nitrates devrait apporter de nombreuses informations sur le mécanisme intime des phénomènes de dénitrification, assimilation et réorganisation dont on a vu que le comportement isotopique, s'il obéissait à un schéma théorique commun, posé en hypothèse, présentait de notables différences par exemple concernant les conditions d'acquisition de la saturation pour l'étape de réduction (avec rupture d'une liaison N-O). Pour ces diverses étapes du cycle, les paramètres dominant les variations des effets isotopiques devront être recherchés avec plus d'attention : ils semblent, d'après l'information acquise dans ce travail, qu'ils puissent être différents. Ainsi, dans le milieu naturel, alors que ces trois étapes du cycle sont chimiquement comparables (réduction de  $\text{NO}_3^-$ ), elles pourront être caractérisées, toutes choses égales par ailleurs, par des effets isotopiques très différents, ce qui permettra de les reconnaître voire de les quantifier.

De même l'étude du fractionnement isotopique associé à la fixation biologique a pu permettre de caractériser des processus métaboliques : on sait que le transport de l'azote fixé dans les nodules de Légumineuses s'effectue par des composés qui sont de deux natures différentes : uréides ou amides. Or nous avons mis en évidence le fait que le métabolisme aboutissant à la synthèse de produits de transport de type uréide s'accompagne d'un net enrichissement en  $^{15}\text{N}$  des nodules relativement au reste de la plante, enrichissement qui n'existe pas pour les plantes synthétisant des composés de type amide. Ainsi peut-on constater qu'une simple mesure de composition isotopique peut permettre de caractériser un type de métabolisme de l'azote chez ces végétaux. Un objectif de recherche particulièrement prometteur sera d'essayer de mettre en évidence chez ces plantes "à uréides" un lien entre l'enrichissement isotopique des nodules et le taux de fixation de l'azote de l'air.



(ii) Traceurs internes du fonctionnement des systèmes, les abondances isotopiques naturelles de l'azote sont un outil efficace pour l'étude des milieux naturels, jouant le rôle de traceur de sens d'évolution des systèmes ou de traceur d'origine.

La première partie de ce travail a fait ressortir la complexité des phénomènes de fractionnement isotopique associés aux processus biologiques ou physico-chimiques. La connaissance non encore suffisamment approfondie de leur dépendance vis-à-vis des paramètres du milieu souligne la difficulté de l'emploi de cette méthode dans le milieu naturel.

Cette difficulté limite l'emploi de la méthode à certains maillons du cycle de l'azote où un processus dominant à une période donnée détermine l'apparition de "singularités" dans le milieu naturel, singularités dans une évolution au cours du temps ou dans une évolution dans l'espace des teneurs en azote par exemple. Ces particularités de l'évolution du cycle sont soumises à l'expertise isotopique pour en préciser la nature.

On peut ainsi, dans certaines situations espérer par le suivi de la composition isotopique d'une espèce azotée dans un système caractérisé, pouvoir définir dans un intervalle de temps le processus majeur ayant guidé l'évolution de ce composé. Le suivi, par exemple, de la composition isotopique de l'ion nitrate dans le sol devrait pouvoir définir le rôle respectif du phénomène de nitrification, appauvrissant en  $^{15}\text{N}$  le nitrate, ou de la dénitrification, l'enrichissant en  $^{15}\text{N}$ .

Dans les cas les plus complexes ces résultats ne pourront être acquis que par le biais de la réalisation de modèles devant expliquer à la fois l'évolution quantitative des espèces et, avec quelques hypothèses sur les effets isotopiques dans des conditions naturelles, l'évolution isotopique.

De plus, l'estimation quantitative des flux de transfert dans un système en évolution ne pourra être possible, dans l'avenir immédiat, que pour des transformations simples pour lesquelles on aura parfaitement défini, dans les conditions du milieu naturel, les ordres de grandeur des effets isotopiques.

S'il paraît par exemple illusoire de vouloir utiliser les mesures d'abondance isotopique pour estimer la dénitrification au champ\* en surface, on peut concevoir que cette méthode puisse être appliquée par le suivi de la composition isotopique du nitrate dans les nappes ou dans les parties profondes de la

---

\* Estimation essentielle : la méconnaissance de ce paramètre est selon toute évidence une des causes essentielles d'incertitude dans les tentatives de recherche d'un équilibre du bilan du cycle de l'azote.

zone non saturée où des diminutions brutales des teneurs de ces nitrates sont quelquefois observées, en liaison avec des conditions hydrodynamiques particulières. Dans de tels milieux, les variations de température, de teneur en carbone, de teneur en eau, réduites au minimum, permettront une bonne connaissance des effets isotopiques associés à la dénitrification et à la réorganisation par les micro-organismes : la connaissance de ces paramètres ouvre la possibilité d'une caractérisation des phénomènes.

En outre, dans des milieux où le cycle de l'azote s'oriente, pendant une période donnée, selon un processus dominant, on peut s'attendre à voir apparaître une espèce azotée suffisamment marquée naturellement par son contenu en  $^{15}\text{N}$  pour que l'on puisse espérer, par exemple, suivre sa dynamique de transfert dans le sol puis le sous-sol. Ainsi, a-t-on pu obtenir des données quantitatives précises concernant la vitesse de transfert des nitrates en profondeur, dans la zone non saturée située sous des sols subissant des apports de composés organiques labiles, dont la minéralisation est à l'origine de nitrates isotopiquement marqués par le phénomène de nitrification.

Le troisième chapitre de cette thèse était consacré, toujours dans le milieu naturel, à des études plus globales, donc plus complexes, concernant des diagnostics d'origine et des estimations du taux de contribution relative de composés à un système de mélange.

Lorsque les sources potentielles du mélange ne sont pas trop nombreuses, que le système étudié correspond à un nombre limité d'étapes du cycle de l'azote et que les effets isotopiques affectant les transformations de ce système sont parfaitement prévisibles, on peut penser que la part quantitative des sources peut être faite avec une précision qui dépend pour l'essentiel de leur différence de composition isotopique, cette précision augmentant avec celle-ci. A cet égard nous retiendrons le rôle qu'est appelée à tenir la méthode des abondances isotopiques naturelles dans la mesure de la fixation au champ, en conditions agronomiques réelles, par les plantes diazotrophes et les corollaires nombreux : sélection, travaux sur la compétition etc...

Si on s'adresse à des systèmes plus complexes, où les transformations sont nombreuses et simultanées, toutes marquées par des effets isotopiques dont l'intensité est affectée par la variation des paramètres du milieu, le traçage isotopique ne peut plus alors être utilisé que comme l'un des paramètres chimiques contribuant à caractériser l'état naturel. C'est l'un des symptômes

concourant à définir un syndrome et établir un diagnostic. Son efficacité est variable selon les systèmes étudiés mais en tout état de cause il ne peut au mieux qu'aider à apporter des estimations qualitatives de la contribution d'une source à un mélange.

Il en va ainsi pour la détermination de l'origine des nitrates dans les systèmes aquifères. Si le traçage isotopique semble bien permettre, sur les quelques exemples étudiés (France : Brie, Beauce ; U.S.A. : Bassin de la Sangamon, Illinois ; Nebraska) de caractériser localement la cause majeure de contamination des aquifères par les nitrates, il faut se garder d'en généraliser, certes les conclusions, mais également l'application a priori :

- il sera nécessaire de caractériser avant toute étude, les paramètres isotopiques du mélange : composition isotopique des nitrates naturels, des nitrates introduits dans le cycle etc...
- L'existence de conditions particulières locales pouvant entraîner des fractionnements isotopiques susceptibles de masquer le phénomène original doit être recherchée : par exemple la mesure de l'oxygène dissous et de  $Fe^{++}$  dans une recherche sur l'origine des nitrates dans les aquifères profonds s'impose afin de pouvoir faire la part, par exemple dans le cas où l'on mesure des nitrates à fort contenu en  $^{15}N$ , entre une origine "organique" et une évolution *in situ* dans la nappe, par dénitrification en milieu anoxique.
- La parfaite connaissance du fonctionnement hydrologique et hydrogéologique du système étudié est également requise et on ne saurait trop rappeler à cet égard l'utilité de certains paramètres susceptibles d'apporter des informations sur "l'âge" et le taux de renouvellement de l'eau :  $^3H$ ,  $^{14}C$ ,  $^{36}Cl$ ,  $^{32}Si$ ,  $^{22}Na$ ...
- Dès que l'on dépasse deux sources potentielles de contamination, la détermination, même qualitative, de l'origine peut devenir impossible : si le traçage isotopique seul est inefficace, il peut s'aider de la mesure d'autres paramètres chimiques :  $Cl^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $B$ ,  $^3H$ , etc... qui peuvent permettre localement de valider une interprétation.

On aboutit ainsi à un schéma où l'abondance isotopique en  $^{15}N$  s'intègre à un dossier analytique général, chimique, isotopique, à des observations et des mesures de terrain, pour contribuer à résoudre un problème d'origine : à cet égard, loin d'une panacée, il ne s'agit que d'un paramètre chimique nouveau dont la connaissance peut, en certaines circonstances, se révéler des plus précieuses.

Dans le cadre spécifique du problème de la pollution, cette conjonction de paramètres au rang desquels le traçage isotopique naturel prend toute sa place, permet de remonter du cadre géochimique et hydrogéologique, au cadre humain par la recherche des processus à l'origine des pollutions.

Enfin on mesure également quel peut être l'apport du traçage isotopique naturel à l'étude de la matière organique. Cet apport est double : il concerne d'une part l'étude des processus liés à l'évolution de la matière organique dans le phénomène pédogénétique : l'influence des conditions d'acquisition de la stabilité physico-chimique, sous contrôle de l'activité biologique, sur la composition isotopique de l'azote organique a été soulignée dans le deuxième chapitre : l'évolution du contenu en  $^{15}\text{N}$  est susceptible de fournir des informations sur la nature et sur l'intensité des processus de transformation des molécules organiques. D'autre part, les mesures d'abondance en  $^{15}\text{N}$  peuvent jouer le rôle de traçeur naturel d'origine de l'azote par exemple dans les sédiments océaniques, pour ce qui concerne les environnements côtiers : ceci ressort clairement de l'étude de l'estuaire de l'Escaut comme de celle réalisée par SWEENEY et al. (1978 et 1980) en Californie.

Comme nous l'avons rappelé au début de cette conclusion, si les objets de leur étude séparent sans ambiguïté le marquage artificiel et le traçage naturel par  $^{15}\text{N}$ , ces deux approches isotopiques du cycle de l'azote sont en fait parfaitement complémentaires. Un exemple révélateur de cette complémentarité est l'utilisation du traçage naturel sur des expérimentations dont la conception fait appel à un marquage par  $^{15}\text{N}$ . En effet, la grande précision analytique requise pour suivre et interpréter les variations naturelles d'abondance en  $^{15}\text{N}$ , peut en outre permettre :

d'une part d'envisager un marquage artificiel à bas niveau ou très peu de produits marqués en  $^{15}\text{N}$  (enrichissement ou appauvrissement) est appliqué sur de grandes surfaces qui deviennent représentatives,

d'autre part peut permettre, dans des expériences de marquage artificiel classique, une analyse fine du marqueur dans un compartiment de très grande taille où son taux de dilution est tel que la précision dans l'analyse est seule accessible aux spectromètres de masse adaptés aux mesures d'abondances naturelles.



Ce dernier aspect sera illustré sur un exemple concret. Dans le cadre d'une étude sur le bilan des transferts de l'azote minéral dans le sol, effectuée en collaboration avec G. GUIRAUD et M. LINDEMANN, un apport d'engrais marqué en  $^{15}\text{N}$ , appliqué au taux de  $173 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$  a été effectué sur des parcelles de grande culture en Brie dont la nécessaire représentativité spatiale a imposé un marquage limité à  $1,816$  atome  $^{15}\text{N} \%$ . Les transferts de l'azote minéral dans le sol et de l'azote minéral à la plante ont été suivis, et estimés avec une précision suffisante grâce à la spectrométrie de masse classique mesurant les abondances absolues (précision comprise entre  $0,005$  et  $0,01$  atome  $^{15}\text{N} \%$ ).

La quantité d'engrais marquée réorganisée, introduite donc dans le très vaste compartiment de l'azote organique du sol, a été estimée au contraire par la méthode de mesure mise au point pour les abondances naturelles. Les résultats figurent sur le tableau 4-I, dont l'examen montre que l'excès isotopique dans la matière organique du sol, imputable à la fraction réorganisée de l'azote nitrique de l'engrais marqué, d'une valeur moyenne de  $0,025$  atome  $^{15}\text{N} \%$  aurait certes pu être mis en évidence par la mesure classique de l'abondance absolue mais que l'estimation quantitative de cette réorganisation aurait été affectée d'une incertitude inadmissible.

Parcelle	Niveau (cm)	Azote organique %	$\delta^{15}\text{N} \%$	Excès isotopique <sup>1</sup> %	Taux d'engrais immobilisé %	N engrais immobilisé kg/ha
Sans végétation Sans N nitrique	0 - 30	0.83	6.0	0.0022	-	-
	30 - 60	0.51	7.1	0.0026	-	-
	60 - 90	0.46	6.6	0.0024	-	-
Sans végétation Avec N nitrique marqué	0 - 30	0.80	79.2	0.0289	1.47	26
	30 - 60	0.54	68.2	0.0249	1.23	15
	60 - 90	0.48	12.9	0.0047	0.12	1
					total	42
Avec végétation Avec N nitrique marqué	0 - 30	0.82	50.7	0.0185	0.90	16
	30 - 60	0.61	185.3	0.0679	3.60	49
	60 - 90	0.45	25.5	0.0093	0.38	4
					total	69

<sup>1</sup> : abondance isotopique de l'azote atmosphérique :  $0,3663 \%$

Tableau 4-I : Estimation, au jour de la récolte, des quantités d'azote nitrique provenant de l'engrais, immobilisées dans la matière organique du sol.

$\frac{1}{1}$   
L'équivalent en  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , pour une profondeur de  $10 \text{ cm}$ , d'un ppm de terre sèche :  $0,743$  (pour la discussion de cette valeur, on consultera LINDEMANN et GUIRAUD, 1981).

Les excès isotopiques sont connus à  $\pm 0,0001$  atome  $^{15}\text{N} \%$ .

Au contraire, la précision relative atteinte par la spectrométrie de masse pour mesure des abondances naturelles, sur de tels échantillons ( $\pm 0,0001$  atome  $^{15}\text{N}$  %) permet cette estimation avec une excellente précision. Dans le cadre de l'hypothèse faite par LINDEMANN (1981) sur la valeur de l'équivalent en kg/ha d'un p.p.m. de terre sèche (0,743) on peut estimer la réorganisation de l'engrais à 42 kg/ha sur le sol non cultivé, à 69 kg/ha sur le sol cultivé, soit respectivement 24 et 40 % de l'azote apporté. Une grande précision sur la connaissance de ce terme du bilan est donc fondamentale. Avec l'excès isotopique initial choisi elle eut été inaccessible aux méthodes classiques de la spectrométrie de masse pour mesure des excès isotopiques.

On apprécie sur cet exemple l'intérêt et la puissance de l'outil analytique mis au point pour les études des variations d'abondances isotopiques naturelles, les perspectives ouvertes par l'utilisation de cette grande discrimination dans l'analyse sont nombreuses et fort différentes de celles présentées dans ce travail. Mais ceci est une autre histoire...

En utilisant une présentation volontairement très analytique, nous avons fait le point de nos travaux et de nos connaissances sur le cycle isotopique de l'azote. Si on peut mesurer le chemin parcouru dans les huit dernières années à la re-lecture de la synthèse bibliographique réalisée en 1974 par René LETOLLE ("Etat actuel des connaissances relatives à la géochimie isotopique de l'azote"), si les espoirs contenus dans la phrase de R.D. HAUCK, en 1973 :

"One is tempted to believe that more detailed knowledge of natural N isotope concentrations can be useful in understanding the relative magnitude of N cycle transformations"

se sont en grande partie concrétisés, il est clair que le chemin à parcourir avant d'espérer voir se dégager une vue très synthétique du sujet, est encore long. En tout état de cause les premiers résultats montrent la nécessité de continuer à exploiter cette voie.

Même si le traçage isotopique naturel dans les domaines et conditions actuels de son emploi ne donne que très rarement accès à des résultats dont la précision soit comparable à celle du marquage artificiel, il est évident qu'en se dégageant des contingences de taille et de durée des expérimentations, les objets de son étude sont considérablement plus vastes. L'importance que présente

une meilleure connaissance du cycle de l'azote et le niveau élevé de difficulté rencontré dans son étude justifie l'emploi de toutes les méthodes d'approche de cette étude : celle des abondances isotopiques naturelles en devient une à part entière.

On peut la considérer comme un outil analytique pour l'étude de processus simples en laboratoire ou dans le milieu naturel ; c'est un repère pour l'analyse de phénomènes plus complexes. Dans le premier cas elle permet des interprétations, dans le deuxième, sa contribution à l'interprétation des processus prend une importance plus ou moins grande par rapport aux informations d'autres origines.

La démarche isotopiste doit donc toujours être abordée avec humilité, ~~bien que l'on sache dès à présent qu'elle puisse souvent être d'un apport~~ essentiel à la compréhension du fonctionnement du cycle biogéochimique de l'azote.





## BIBLIOGRAPHIE



## B I B L I O G R A P H I E

- ALEXANDER M. (1961). - Introduction to soil microbiology. *John Wiley and Sons Inc., N.Y.*
- AMARGER N., MARIOTTI A., MARIOTTI F. (1977). - Essai d'estimation du taux d'azote fixé symbiotiquement chez le Lupin par le traçage isotopique naturel ( $^{15}\text{N}$ ). *C.R.Acad.Sci.Paris*, 284 : 2179-2182.
- AMARGER N., MARIOTTI A., MARIOTTI F., DURR J.C., BOURGUIGNON C., LAGACHERIE B. (1979). - Estimate of symbiotically fixed nitrogen in field grown soybeans using variations in  $^{15}\text{N}$  natural abundance. *Plant and Soil*, 52 : 269-280.
- ANDREUX F., CORREA A. (1979). - Migrations organo-minérales dans les sols tempérés. *Coll.Internat.C.N.R.S.*, Nancy, Sept.1979.
- ANDREUX F., BRUCKERT S., CORREA A., SOUCHIER B. (1980). - Sur une méthode de fractionnement physique et chimique des agrégats des sols : origines possibles de la matière organique des fractions obtenues. *C.R.Acad.Sci.Paris*, 291 : 381-384.
- ATKINS C.A. (1981). - Metabolism of purine nucleotides to form ureides in nitrogen-fixing nodules of cowpea. (*Vigna unguiculata* L.Walp.). *F.E.B.S.Letters*, 125, (1) : 89-93.
- BALLIF J.L., DURAND R., DUTIL P., MULLER J.C. (1975). - Résultats des études en cases lysimétriques. Campagnes 1973-74, 1974-75. *Travaux Station Science du Sol, I.N.R.A., Châlons-sur-Marne*. Public. n°37.
- BARDIN R., DOMENACH A.M., CHALAMET A. (1977). - Rapports isotopiques naturels de l'azote. II. Application à la mesure de la fixation symbiotique de l'azote *in situ*. *Rev.Ecol.Biol.Sol*, 14 : 395-402.
- BARNES M., FOLKARD A.R. (1951). - The determination of nitrite. *Analyst*, 76 : 599-603.
- BECKER R.H., CLAYTON R.N. (1977). - Nitrogen isotopes in igneous rocks. *Annu.Meet.Am.Geol.Soc., Abstr.* 5, (137) : 536.
- BEGUN G.M., FLETCHER W.H. (1960). - Partition function ratios for molecules containing nitrogen isotopes. *J.Chem.Phys.*, 33 : 1083-1084.
- BELAMIE R. (1978). - Transfert des fertilisants vers les eaux de surface dans un petit bassin versant agricole. *Verh.Internat.Verein.Limnol.*, 20 : 1503-1508.
- BELAMIE R. (1980). - Influence of cropping practices and hydrological factors on the variation of nitrates in the discharges from a representative basin in the Paris basin (France). *Proceedings of the Helsinki Symposium June 1980. I.A.M.S.-A.I.S.M. Pub. n°130* : "L'influence de l'Homme sur le régime hydrologique avec référence particulière aux études sur les bassins représentatifs et expérimentaux.
- BEN HALIMA A. (1977). - Apport de la géochimie isotopique de l'azote à la connaissance des sources de pollution des eaux par les nitrates sur l'exemple de la Brie (France). *Thèse de 3ème Cycle, Univ.P.& M. Curie, PARIS VI* : 76 p.

## II

- BENSON B.B., PARKER P.D.M. (1961). - Nitrogen/argon and nitrogen isotope ratios in aerobic sea water. *Deep-Sea Res.*, 7 : 237-253.
- BERGER G. (1975). - Observations chimiques des eaux de la Brie. Résultats complémentaires. B.R.G.M., Note technique n°17.
- BERGER G., BOSCH B., MARCE A., MEGNIEN C. (1975). - Observations chimiques des eaux de la Brie. B.R.G.M., Note technique n°15, 75 B.D.P.006.
- BERGER G., BOSCH B., DESPREZ N., LETOLLE R., MARCE A., MARIOTTI A., MEGNIEN C. (1976). - Recherches sur l'origine des nitrates dans les eaux souterraines de la Beauce. *Rapport B.R.G.M.*, 76 S.G.N. 444 B.D.P.
- BERGERSÉN F.J. (1970). - The quantitative relationships between nitrogen fixation and the acetylene-reduction assay. *Aust.J.Biol.Sci.*, 23 : 1015-1025.
- BIGELEISEN J. (1965). - Chemistry of isotopes. *Science*, 147 : 463-471.
- BILLEN G. (1976). - Etude écologique des transformations de l'azote dans les sédiments marins. *Thèse Doct. d'Etat, Univ. libre de Bruxelles*, 266 p.
- BLACK A.D., WARING S.A. (1977). - The natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in the soil-water system of a small catchment area. *Aust.J.Soil.Res.*, 15 : 51-57.
- BLACKMER A.M., BREMNER J.M. (1977). - Nitrogen isotope discrimination in denitrification of nitrate in soils. *Soil.Biol.Biochem.*, 9 : 73-77.
- BLAVOUX B. (1978). - Etude du cycle de l'eau au moyen de l'oxygène 18 et du Tritium. Possibilités et limites de la méthode des isotopes du milieu en hydrologie de la zone tempérée. *Thèse Doct. d'Etat, Univ. P. & M. Curie, PARIS VI*, 333 p.
- BOATO G. (1960). - Isotope fractionation processes in nature. *Summer course on Nucl. Geol. Lab. Geol. Nucl. Pise edit.*
- BOKHOVEN C., THEUWEN H.J. (1966). - Determination of the abundance of carbon and nitrogen isotopes in Dutch coal and natural gas. *Nature*, 211 : 927-929.
- BONNEAU M., SOUCHIER B. (1979). - Pédologie (DUCHAUFOUR P., SOUCHIER B., directeurs). 2 : Constituants et propriétés du sol. *Masson, Paris*, 459 p.
- BOUDOU J.P. (1981). - Diagenèse organique de sédiments deltaïques (delta de la Mahakam - Indonésie). *Thèse Doct. d'Etat, Univ. Orléans*, 196 p.
- BOWMAN R.A., FOCHT D.D. (1974). - The influence of glucose and nitrate concentrations upon denitrification rates in sandy soils. *Soil.Biol.Biochem.*, 6 : 297-301.
- BREMNER J.M. (1949). - Studies on soil organic matter. Part I : The chemical nature of soil organic matter. *J. Ag. Sci.*, 39 : 183-193.
- BREMNER J.M. (1965). - Method of soil analysis. BLACK C.A., EVANS D.D., WHITE J.L., ENSMINGER L.E., CLARK F.E., eds., *Agronomy n°9, part.2. Amer. Soc. Agron. Madison Wisc.*, 1149-1286.

- BREMNER J.M., SHAW K. (1958). - Denitrification in soil. II. Factors affecting denitrification. *J.Ag.Sci.*, 51 : 40-52.
- BREMNER J.M., EDWARDS A.P. (1965). - Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils. I. Apparatus and procedure for distillation and determination of ammonium. *Soil.Sci.Soc. of America Proceed.*, 29, 5 : 504-507.
- BREMNER J.M., KEENEY D.R. (1965). - Steam distillation methods for determination of ammonium nitrate and nitrite. *Anal.Chim.Acta*, 32 : 485-495.
- BREMNER J.M., TABATABAI M.A. (1973). - Nitrogen-15 enrichment of soils and soil-derived nitrates. *J.Environ. Qual.*, 2, (3) : 363-365.
- BROADBENT F.E. (1959). - Denitrification in some California soils. *Soil.Sci.*, 72 : 129-137.
- BROADBENT F.E., RAUSCHKOLB R.S., LEWIS K.A., CHANG G.Y. (1980). - Spatial variability of nitrogen-15 and total nitrogen in some virgin and cultivated soils. *Soil.Sci.Soc.Am.J.*, 44 : 524-527.
- BROWN L.L., DRURY J.A. (1968). - Exchange and fractionation of nitrogen isotopes between  $\text{NO}_2^-$  and  $\text{NO}_3^-$ . *J.Chem.Phys.*, 48 : 1399-1400.
- BROWN L.L., DRURY J.S. (1969). - Nitrogen isotope effects. II. The MgO and Cu SO<sub>4</sub> systems. *J.Chem.Phys.*, 51 : 3771-3775.
- BRUCKERT S. (1979). - Analyse des complexes organo-minéraux des sols. In DUCHAUFOR et SOUCHIER. *Pédologie*, t.II, chap.IX. Masson éd.
- BRUCKERT S., ANDREUX F., CORREA A., AMBOUTA K.J.M., SOUCHIER B. (1979). - *Note technique C.P.B. n°22*, 13 p.
- BRUNEL A. (1948). - *Traité de chimie végétale. George Frères, éd., Tourcoing, France.*
- CAMPBELL N.E.R., DULAR R., LEES H. (1967). - The production of  $^{15}\text{N}_2$  by 50 MeV protons for use in biological nitrogen fixation. *Can.J.Micro.*, 13 : 587-599.
- CANIPELLE A. (1964). - *Géologie du bassin versant de l'Orgeval. Introduction à son étude hydrogéologique. Thèse 3ème cycle, Paris.*
- CAPINDALE J.B., TOMLIN D.H. (1957). - Mass-spectrometric assay of elementary nitrogen. *Nature*, 180 : 701-702.
- CATROUX G., GERMON J.C. (1981). - Les pertes d'azote par voie gazeuse. *C.R.Acad.Agric.*, 67 : 875-887.
- CHALAMET A. (1973). - Réduction sous atmosphère inerte de l'acide nitreux par les ions ferreux. *Ann.Chim.*, 8 : 353-358.
- CHALAMET A., BARDIN R. (1977). - Action des ions ferreux sur la réduction de l'acide nitreux dans les sols hydromorphes. *Soil.Biol.Bioch.*, 9 : 281-285.
- CHENG H.H., BREMNER J.M., EDWARDS A.P. (1964). - Variations in nitrogen-15 abundance in soils. *Science*, 146 : 1574-1575.

- CHIEN S.H., SHEARER G., KOHL D.H. (1977). - The nitrogen isotope effect associated with nitrate and nitrite loss from waterlogged soils. *Soil.Sci.Soc.Am.J.*, 41 : 63-69.
- CLINE J.D., KAPLAN I.R. (1975). - Isotopic fractionation of dissolved nitrate during denitrification in the Eastern Tropical North Pacific Ocean. *Marine chemistry*, 3 : 271-299.
- CLUSIUS K., RECHNITZ G. (1953). - Die Bildung von Distickoxyd bei der Oxydation von Ammoniumsalzen mit Natriumhypobromit. *Helv.Chim.Acta*, 36 : 59-65.
- CODISPOTI L. (1973). - Denitrification in the Eastern Tropical North Pacific Ocean. *Ph.D.Thesis Univ.of Washington, Seattle, Washington*, 118 p.
- COOK F.D., WELLMAN R.P., KROUSE H.R. (1970). - Nitrogen isotope fractionation in the nitrogen cycle. *Paper B-1.6 Intern.Symposium on hydrogeochemistry and biogeochemistry, Tokyo, Sept.6-12, 1970.*
- COOPER G.S., SMITH R.L. (1963). - Sequence of products formed during denitrification in some diverse western soils. *Soil.Sci.Soc.of America Proceed.*, 27 : 659-662.
- COYNE et BELLIER (1972). - Impact des produits utilisés en agriculture sur la pollution des eaux. *Rapport Agence de Bassin Seine-Normandie.*
- CRAIG H. (1968). - Isotope separation by carrier diffusion. *Science*, 159 : 93-96.
- DELWICHE C.C. (1970). - The nitrogen cycle. *Scientific American*, 223 : 136-147.
- DELWICHE C.C., STEYN P.L. (1970). - Nitrogen isotope fractionation in soils and microbial reactions. *Environmental Sci.Technol.*, 4 : 929-935.
- DELWICHE C.C., ZINKE P.J., JOHNSON C.M., VIRGINIA R.A. (1979). - Nitrogen isotope distribution as a presumptive indicator of nitrogen fixation. *Bot.Gaz.*, 140 : 65-69.
- DENARIE J., TRUCHET G. (1979). - La symbiose *Rhizobium*-légumineuses : rôles respectifs des partenaires. *Physiol.Vég.*, 17, (3) : 643-667.
- DE SOUMAGNAT M. (1975). - Quelques réflexions sur l'utilisation des engrais en Beauce. *Rapport D.D.A. Loiret*
- DESPREZ N., MEGNIEN C. et coll. (1975). - Atlas hydrogéologique de la Beauce. *B.R.G.M.-S.G.N. Orléans-La Source.*
- DEVER L. (1978). - Teneurs ioniques et isotopiques des eaux de surface en période d'hydraulicité exceptionnelle et mécanismes de décharge des nappes : cas du Bassin de la Seine en 1976-1977. *Thèse 3ème cycle Univ.P.& M.Curie, PARIS VI*, 105 p.
- DEVEZE M. (1965). - Histoire des forêts. *Que sais-je?*, n°1135, P.U.F.éd., 128 p.
- DOLE M. (1935). - The relative atomic weight of oxygen in water and air. *J.Amer.Chem.Soc.*, 57 : 2731.
- DOMENACH A.M., CHALAMET A. (1977). - Rapports isotopiques naturels de l'azote. I. Premiers résultats. Sols des Dombes. *Rev.Ecol.Biol.Sol.*, 14, (2) : 279-287.

- DUCHAUFOR P. (1977). - Pédologie (DUCHAUFOR P., SOUCHIER B., directeurs). 1 : Pédogenèse et classification. Masson, Paris, 477 p.
- DURAND B., OUDIN J.L. (1979). - Exemple de migration des hydrocarbures dans une série deltaïque : le delta de la Mahakam, Indonésie. *Communication au 10<sup>ème</sup> Congrès Mondial du Pétrole*, Bucarest, 9-14 sept.1979.
- DUTIL P., MULLER J.C. (1979). - L'épandage des eaux résiduaires des Industries agricoles en Champagne crayeuse. *C.R.Acad.Agric.de France*, 65, (12) : 989-1005.
- DUTRIAX M.C. (1980). - Essai sur l'origine des nitrates dans les eaux souterraines : application du traçage isotopique naturel de l'azote 15 à l'étude d'un périmètre de drainage en région cultivée (Beauce). *Thèse 3<sup>ème</sup> cycle, Univ.P.& M.Curie, PARIS VI*, 151 p.
- DUVIGNEAUD P. (1974). - La synthèse écologique. *Doïn édit., Paris*, 296 p.
- EDWARDS A.P. (1973). - Isotopic tracer techniques for identification of sources of nitrate pollution. *J.Environ.Quality*, 2, (3) : 382-387.
- EL ALLAM M. (1975). - Une séquence de sols sur flysch dans le Chablais (Haute-Savoie). *D.E.A. Pédologie I.N.A. Paris-Grignon*.
- EMERY K.O., ORR W.L., RITTENBERG S.C. (1955). - Nutrient budget in the Ocean. In "Essays in the natural Sciences in Honor of Captain A.Hancock". *University Press, Berkeley, California*, 299-310.
- FAURIE G. (1980). - Devenir de l'ammonium en sol calcaire : nitrification et volatilisation de l'ammoniac. *Thèse Doct.d'Etat, Univ.Lyon I*.
- FEDEROVA R.I., MILEKHINA E.I., IL'YUKHINA N.I. (1973). - Evaluation of the method of "gas metabolism" for detecting extraterrestrial life. Identification of nitrogen fixing microorganisms. *Izv.Akad.Nauk.SSSR. Ser.Biol.*, 6 : 797-806.
- FEIGIN A., KOHL D.H., SHEARER G., COMMONER B. (1974). - Variation in the natural nitrogen 15 abundance in nitrate mineralized during incubation of several Illinois soils. *Soil Sci. Soc. of America Proceed.*, 38, (1) : 90-95.
- FEIGIN A., SHEARER G., KOHL D.H., COMMONER B. (1974). - The amount and nitrogen 15 content of nitrate in soil profiles from two central Illinois fields in a corn-soybean rotation. *Soil.Sci.Soc.of America Proceed.*, 38 : 465-471.
- FEIGIN A., VAUGHAN W.M., KOHL D.H., SMITH R., SHEARER G., COMMONER B. (1974). - A comparison of <sup>15</sup>N-enriched vs. unenriched fertilizer nitrogen as a tracer in laboratory experiments. *J.Environ.Quality*, 3 : 417-423.
- FERNANDEZ V.L.B. (1977). - Contribution à l'étude de la dynamique de l'azote dans le sol et dans les végétaux par l'utilisation des rapports isotopiques naturels. *I.N.A. Paris-Grignon, Univ.P.& M.Curie*.
- FIEDLER R., PROKSH G. (1975). - The determination of nitrogen-15 by emission and mass spectrometry in biochemical analysis : a review. *Anal.Chim.Acta*, 78 : 1-62.
- FILIZ S. (1973). - Etude du ruissellement et de l'infiltration sur le bassin versant expérimental de l'Orgeval à l'aide de l'oxygène-18. *Thèse 3<sup>ème</sup> cycle, Paris*, 82 p.

- FISHBECK K., EVANS H.J., BOERSMA L.L. (1973). - Measurements of nitrogen activity of intact legume symbionts *in situ* using the acetylene reduction assay. *Agro.J.*, 65 : 429-433.
- FOCHT D.D. (1973). - Isotope fractionation of  $^{15}\text{N}$  and  $^{14}\text{N}$  in microbiological nitrogen transformations : a theoretical model. *J.Environ.Quality*, 2, (2) : 247-252.
- FOCHT D.D., CHANG A.C. (1975). - Nitrification and denitrification processes related to waste water treatment. *Adv.appl.Microbiol.*, 19 : 153-186.
- FONTES J.C. (1976). - Isotopes du milieu et cycle des eaux naturelles : quelques aspects. *Thèse Doct.d'Etat, Univ.P.& M.Curie, PARIS VI*, 208 p.
- FRENEY J.R., SIMPSON J.R. (1969). - The mineralisation of nitrogen from some organic fractions in soil. *Soil.Biol.Biochem.*, 1 : 241-251.
- FREYER D.H., ALY A.I.M. (1974). - Nitrogen-15 variations in fertilizer Nitrogen. *J.Environ.Quality*, 3, (4) : 405-406.
- FREYER H.D., ALY A.I.M. (1975). - Nitrogen-15 studies on identifying fertilizer excess in environmental systems. In "Isotope ratios as pollutant source and behaviour indicators". Proc.of a joint. I.A.E.A./ F.A.O. Symp., SM 191/9 : 21-33.
- FRIEDMAN I., O'NEIL J.R. (1977). - Compilation of stable isotope fractionation factors of geochemical interest. In M.FLEISCHER (edit.), *Data of Geochemistry U.S.Geol.Surv., Prof.Paper 440-KK*, 1-12 (6ème édition).
- FRITZ P., FONTES J.Ch. (1980). - Handbook of Environmental Isotope Geochemistry. vol.I. The terrestrial environment, A. Elsevier, 545 p.
- FRY A. (1970). - Heavy atom isotope effects in organic reactions mechanism studies. In "Isotope effects in chemical reactions", A.S.C.Monograph 169. Eds : C.J.COLLINS et N.S.BOWMAN. Van Nostrand, Reinhold Company, 364-414.
- FURASAKA C. (1961). - Sulfate transport and metabolism by *Desulphovibrio desulfuricans*. *Nature*, 192 : 427-429.
- GARCIA J.L. (1975). - La dénitrification dans les sols. *Bull.Inst.Pasteur*, 73 : 167-193.
- GERMON J.C. (1980). - Etude quantitative de la dénitrification biologique dans le sol à l'aide de l'acétylène. *Ann.Microbiol.(Inst.Pasteur)*, 131 B : 69-80 et 81-90.
- GERMON J.C., POCHET M., CHAUSSOD R., CATROUX G. (1981). - Relations entre l'activité dénitrifiante potentielle et les différentes formes de carbone du sol. *Colloque Humus-Azote. A.I.S.S., 7-10 juill.1981, Reims, France*, 256-262.
- GONFIANTINI R. (1965). - Some results on oxygen isotope stratigraphy in the deep drilling at King Baudouin Station, Antarctica. *J.Geophys.Res.*, 70 : 1815-1819.
- GORMLY J.R., SPALDING R.F. (1979). - Sources and concentrations of nitrate-nitrogen in ground water of the Central Platte region, Nebraska. *Ground Water*, 17 : 291-301.



## VII

- GREENWOOD D.J., LEES H. (1960). - Studies on the decomposition of amino-acids in soils. III : the process of amino-acids aerobic decomposition and some properties of amino-acid oxidizing organism. *Plant and Soil*, 12, 2 : 175-194.
- GUIOLLOT B. (1978). - Contribution à l'étude du Bore dans les eaux du Bassin parisien. *Thèse 3ème cycle, Univ. P. & M. Curie, PARIS VI*, 85 p.
- GUIOLLOT B., LETOLLE R., PINTA M. (1978). - Le Bore dans les eaux du Bassin de Paris. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 287 : 779-782.
- GUIOLLOT B., LETOLLE R., PINTA M. (1980). - Le Bore dans les effluents urbains : essai d'interprétation en termes de bilan éco-sociologique. *T.S.M., l'Eau, Oct. 1980*, 511-515.
- GUIRAUD G., BUSCARLET L.A. (1975). - Comparaison entre spectrométrie de masse et spectrométrie d'émission pour les analyses isotopiques d'azote. *Intern. Journ. of applied Radiation and Isotopes*, 26 : 187.
- GUIRAUD G., FARDEAU J.C. (1980). - Détermination isotopique par spectrométrie optique de composés faiblement enrichis en azote 15. *Analisis*, 8 : 148-152.
- HARDY R.W.F., BURNS R.C. (1968). - Biological nitrogen fixation. *Ann. Rev. Biochem.*, 37 : 331-356.
- HARDY R.W.F., BURNS R.C., HOLSTEN R.O. (1973). - Applications of the acetylene-ethylene assay for the measurement of nitrogen fixation. *Soil. Biol. Biochem.*, 5 : 47-81.
- HARRISON A.G., THODE H.G. (1958). - Mechanism of the bacterial reduction of sulphate from isotope fractionation studies. *Trans. Faraday Soc.*, 54 : 84-92.
- HAUCK R.D. (1973). - Nitrogen tracers in nitrogen cycle studies - past use and future needs. *J. Environ. Quality*, 2 : 317-327.
- HAUCK R.D., BYSTROM M. (1970). -  $^{15}\text{N}$  : a selected bibliography for agricultural scientist. *The Iowa State University Press, Ames, Iowa*.
- HAUCK R.D., BARTHOLOMEW V.W., BREMNER J.M., BROADBENT F.E., CHENG H.M., EDWARDS A.P., KEENEY D.R., LEGG J.O., OLSEN S.R., PORTER L.K. (1972). - Use of variations in the natural nitrogen abundance for environmental studies : a questionable approach. Reply by KOHL D.H., SHEARER G.B., COMMONER B. *Science*, 177, 453-456.
- HAUCK R.D., BREMNER J.M. (1976). - Use of tracers for soil and fertilizer nitrogen research. *Adv. in Agronomy*, 28 : 219-266.
- HEISY R.M., DELWICHE C.C., VIRGINIA R.A., WRONA A.F., BRYAN B.A. (1980). - A new nitrogen-fixing non legume : *Chaenactis foliolosa* (Rosaceae). *Am. J. Bot.*, 67 : 429-431.
- HENIN S. (1980). - Rapport du Groupe de travail : activités agricoles et qualité des eaux. *Minist. Agriculture et Minist. Environnement et du Cadre de vie, oct. 1980, document dactylographié*, 58 p.
- HENIN S. (1981). - Le cycle de l'azote, les problèmes de fertilisation et de pollution. *C.R. Ac. Agric.*, 67 : 840-872.

## VIII

- HENIN S., GRAS P., MONNIER G. (1969). - Le profil cultural, 2ème édition. *Masson, Paris*, 332 p.
- Hlavek R. (1967). - Les bassins versants représentatifs de l'Orgeval : généralités. *Bull.Tech.Génie Rural*, 89, CERA FER.
- HOEFS J. (1973). - Stable Isotope Geochemistry. *Springer-Verlag*, 140 p.
- HOERING T. (1957). - The isotopic composition of the ammonia and the nitrate ion in rain. *Geoch.Cosmoch. Acta*, 12 : 97-102.
- HOERING T., FORD H.T. (1960). - The isotope effect in the fixation of nitrogen by *Azotobacter*. *J.Amer.Chem. Soc.*, 82 : 376-378.
- HOLLAND M.D. (1970). - Ocean water, nutrients and atmospheric oxygen. *Proceeding of the International Symposium on Hydrogeochemistry and Biogeochemistry, Tokyo, 1970*, 68-81.
- HOREMANS P. (1978). - Etude pédologique du périmètre de Chaussy (45). *Rapport effectué dans le cadre de l'étude de la pollution de la nappe de Beauce. A.F.B. Loire, Bretagne*.
- HUNTJENS J.L.M. (1972). - Availability of microbial and soil organic nitrogen to a *Pseudomonas* strain and effect of soil organic matter. *Soil.Biol.Biochem.*, 4 : 347-358.
- ISRAEL D.W., McKLURE P.R. (1980). - In *Proceedings of the World Soybean Research Conference II (CORBIN F.T. Ed.)*, Westview Press, Granada, 111.
- JANEL P. (1978). - Etude saisonnière des formes de l'azote organique dans trois types d'humus sous hêtraie : moder, mull acide, mull calcaire. *Thèse Doct.Spéc.Pédologie, Nancy I*, 63 p.
- JUNK G., SVEC H.J. (1958). - The absolute abundance of the nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources. *Geoch.Cosmoch.Acta*, 14 : 234-243.
- KAI H. (1975). - The immobilization and release of nitrogen in soil and the chemical characteristics of nitrogen in those process. *J.I.P.B. Synthesis vol.12 : Nitrogen fixation and nitrogen cycle, Tokyo*, 95-105.
- KAPLAN I.R., RITTENBERG S.C. (1964). - Microbiological fractionation of sulphur isotopes. *J.Gen.Microbiol.*, 34 : 195-212.
- KARAMANOS R.E., RENNIE D.A. (1978). - Nitrogen isotope fractionation during ammonium exchange reactions with soil clay. *Can.J.Soil.Sci.*, 58 : 53-60.
- KARAMANOS R.E., RENNIE D.A. (1980). - Changes in natural  $^{15}\text{N}$  abundance associated with pedogenic processes in soil. I.Changes associated with saline seeps. *Can.J.Soil.Sci.*, 60 : 337-344.
- KARAMANOS R.E., RENNIE D.A. (1980). - Changes in natural  $^{15}\text{N}$  abundance associated with pedogenic processes in soil. II.Changes of different slope positions. *Can.J.Soil.Sci.*, 60 : 365-372.
- KARAMANOS R.E., RENNIE D.A. (1980). - Variations in natural nitrogen-15 abundance as an aid in tracing fertilizer nitrogen transformations. *Soil.Sci.Soc.Am.J.*, 44 (1) : 57-62.

- KARAMANOS R.E., RENNIE D.A. (1981). - Changes and significance in natural  $^{15}\text{N}$  abundance in residual nitrogen fertilizer studies. *Can.J.Soil.Sci.*, 61 : 553-559.
- KARAMANOS R.E., VORONEY R.P., RENNIE D.A. (1981). - Variation in natural  $^{15}\text{N}$  abundance of central Saskatchewan soils. *Soil.Sci.Soc.Am.J.*, 45 : 826-828.
- KARKI A.B., KAISER P. (1979). - Etude de l'action du chlorate de soude sur des souches de bactéries du sol réductrices du nitrate. *Ann.Microbiol.Inst.Pasteur*, 130 A : 213-230.
- KEENEY D.R., BREMNER J.M. (1966). - Characterization of mineralisable nitrogen in soils. *J.Soil.Sc.Soc.Am. Proc.*, 30 : 714-719.
- KEMP A.L.W., THODE H.G. (1968). - The mechanism of the bacterial reduction of sulphate and of sulphite from isotope fractionation studies. *Geoch.Cosmoch.Acta*, 32 : 71-91.
- KLOTS C.E., BENSON B.B. (1963). - Isotope effect in the solution of oxygen and nitrogen in distilled water. *J.Chem.Phys.*, 38 : 890-892.
- KOHL D.H., SHEARER G.B., COMMONER B. (1971). - Fertilizer nitrogen : contribution to nitrate in surface water in a corn belt watershed. *Science*, 174 : 1331-1334.
- KOHL D.H., SHEARER G.B., COMMONER B. (1972). - A reply to : "Use of variations in natural nitrogen isotope abundance for environmental studies : a questionable approach". *Science*, 177 : 453.
- KOHL D.H., SHEARER G.B., COMMONER B. (1973). - Variation of  $^{15}\text{N}$  in corn and soil following application of fertilizer nitrogen. *Soil.Sci.Soc. of America Proceed.*, 37, 6 : 888-892.
- KOHL D.H., VITHAYATHIL F., WHITLOW P., SHEARER G., CHIEN S.H. (1976). - Denitrification kinetics in soil systems : the significance of good fits of data to mathematical forms. *Soil.Sci.Soc.Amer.Journ.*, 40, 2 : 249-253.
- KOHL D.H., SHEARER G. (1978). - Isotope effects in metabolic studies. In "Recent developments in mass spectrometry in Biochemistry and medicine. vol.1. Alberto Frigerio (Ed.), Plenum Press, N.Y.
- KOHL D.H., SHEARER G., HARPER J.E. (1979). - The natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in nodulating and non nodulating and non nodulating isolines of soybeans. In E.R.KLEIN, P.KLEIN, Eds, *Stable Isotopes. Proc.3rd Int. Conf.Academic Press, N.Y.*, 317-325.
- KOHL D.H., SHEARER G. (1980). - Isotopic fractionation associated with symbiotic  $\text{N}_2$  fixation and uptake of  $\text{NO}_3^-$  by plants. *Plant.Physiol.*, 66 : 51-56.
- KOHL D.H., SHEARER G., HARPER J.E. (1980). - Estimates of  $\text{N}_2$  fixation based on differences in the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in nodulating and non nodulating isolines of soybeans. *Plant.Physiol.*, 66 : 61-65.
- KOHL D.H., BRYAN B., FELDMAN L., BROWN P.H., SHEARER G. (1981). - Isotopic fractionation in soybeans nodules. *Fourth Intern.Conf.on Stable Isotopes. Jülich (KFA), March 23-27.*
- KREITLER C.W. (1974). - Determining the source of nitrate in ground-water by nitrogen isotope studies. *Thèse, University of Texas, Austin*, 150 p.

- KREITLER C.W. (1979). - Nitrogen isotope ratio studies of soil and ground-water nitrate from alluvial fan aquifers in Texas. *J. Hydrology*, 42 : 147-170.
- KREITLER C.W., JONES D.C. (1975). - Natural soil nitrate : the cause of nitrate contamination of ground-water in Runnels Co., Texas. *Groundwater*, 13 : 53-61.
- LANCELOT-Van BEVEREN Ch. (1980). - A statistical method to estimate the biochemical composition of phytoplankton in the southern bight of the North Sea. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 10 : 467-478.
- LE TACON F., TOUTAIN F. (1973). - Variations saisonnières et stationnelles de la teneur en éléments minéraux des feuilles de hêtre (*Fagus sylvatica*) dans l'Est de la France. *Ann. Sci. forest.*, 30 : 1-29.
- LETEY J., HADAS A., VALORAS N., FOCHT D.D. (1980). - Effect of pre-incubation treatments on the ratio of  $N_2O/N_2$  evolution. *J. Environ. Quality*, 9, (2) : 232-235.
- LEROY P. (1968). - Variations saisonnières des teneurs en eau et en éléments minéraux des feuilles de chêne (*Quercus pedunculata*). *Ann. Sci. forest.*, 25 : 83-117.
- LETOLLE R. (1974). - Etat actuel des connaissances relatives à la géochimie isotopique de l'azote. *Rev. Géogr. phys. et Géol. dyn.*, 16 : 131-138.
- LETOLLE R., MARTIN J.M. (1970). - Carbon isotope composition of suspended organic matter in two European estuaries. *Modern Geol.*, 1 : 275-278.
- LEWIS R.F., PRAMER D. (1958). - Isolation of *Nitrosomonas* in pure culture. *J. Bact.*, 76 : 524-528.
- LIKENS G.E., BORMANN F.H., FISHER D.W., PIERCE R.S. (1970). - The effect of forest cutting and herbicide treatment on nutrient budgets. The Hubbard Brook Watershed Ecosystem. *Ecol. Monog.*, 40, 1 : 23-47.
- LIKENS G.E., BORMANN F.M. (1974). - Effects of forest clearing on the Northern Hardwood forest ecosystem and its biogeochemistry. In Proceedings of the first International Congress of Ecology. The Hague. The Netherlands, Sept. 8-14, 1974. Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 330-335.
- INDEMANN M. (1981). - Bilan des transferts de l'azote minéral dans le sol. *Sols (I.N.A. Paris-Grignon)*, 1 : 33-39.
- INDEMANN M., GUIRAUD G. (1981). - Evaluation en  $kg \cdot ha^{-1}$  de la quantité d'un élément présent dans le sol, étude au moyen de  $^{15}N$ . (à paraître).
- INDON M. (1961). - Separation of isotopes. *Newnes, London*, 489 p.
- IAHENC J. (1965). - Influence de la composition de la phase gazeuse sur la séparation isotopique de l'azote  $^{15}N$  par échange chimique entre solution nitrique et vapeurs nitreuses. *J. Chem. Phys.*, 62 : 1399-1403.
- BARCE A., MEGNIEN C. (1977). - Augmentation des teneurs en Tritium des pluies de la région parisienne, transfert dans les rivières et dans les nappes aquifères. Colloque National Service Géologique National "Protection des Eaux Souterraines Captées pour l'Alimentation humaine", Orléans, 1-2 mars 1977, thème 2, 243-251.

- MARIOTTI A., LETOLLE R., BLAVOUX B., CHASSAING B. (1975). - Détermination par les teneurs naturelles en  $^{15}\text{N}$ , de l'origine des nitrates : résultats préliminaires sur le bassin de Mëlarchez (Seine-et-Marne). *C.R.Acad.Sci., Paris*, 280 : 423-426.
- MARIOTTI A., BEN HALIMA A., BERGER G. (1976). - Apport de l'étude isotopique de l'azote à la connaissance de la pollution des aquifères souterrains par les nitrates, en milieu agricole (Brie, Beauce - France). *Rev.Géogr.phys.et Géol.dyn.*, 18 : 375-384.
- MARIOTTI A., LETOLLE R. (1977). - Application de l'étude isotopique de l'azote en hydrologie et en hydrogéologie - Analyse des résultats obtenus sur un exemple précis : le bassin de Mëlarchez (Seine-et-Marne, France). *J.Hydrology*, 33 : 157-172.
- MARIOTTI A., LETOLLE R. (1978). - Analyse isotopique de l'azote au niveau des abondances naturelles. *Analisis*, 6 : 421-425.
- MARIOTTI A., MARIOTTI F., AMARGER N., PIZELLE G., NGAMBI J.M., CHAMPIGNY M.L., MOYSE A. (1980). - Fractionnements isotopiques de l'azote lors des processus d'absorption des nitrates et de fixation de l'azote atmosphérique par les plantes. *Physiol.végét.*, 18 : 163-181.
- MARIOTTI A., MULLER J.C., GUILLEMOT J., MARNE E. (1980). - Variations de la composition isotopique naturelle ( $^{15}\text{N}$ ) de l'azote minéral de sols carbonatés, suivies en incubation et au champ. *Science du sol.*, 2 : 141-159.
- MARIOTTI A., PIERRE D., VEDY J.C., BRUCKERT S. (1980). - The abundance of natural nitrogen 15 in the organic matter of soils along an altitudinal gradient (Chablais, Haute-Savoie, France). *Catena*, 7 : 293-300.
- MARIOTTI A., GERMON J.C., HUBERT P., KAISER P., LETOLLE R., TARDIEUX A., TARDIEUX P. (1981). - Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fractionation. Some principles; illustration for the denitrification and nitrification processes. *Plant and Soil.*, 62 : 413-430.
- MARIOTTI A., GERMON J.C., LECLERC A., CATROUX G., LETOLLE R. (1981). - Experimental determination of kinetic isotope fractionation of nitrogen isotopes during denitrification. *Fourth Internat.Conf.on Stable Isotopes. Jülich (KFA), March 23-27, 1981.*
- MARIOTTI A., MARIOTTI F., CHAMPIGNY M.L., AMARGER N., MOYSE A. (1982). - Nitrogen isotope fractionation associated with nitrate reductase activity and uptake of  $\text{NO}_3^-$  by Pearl Millet. *Plant.Physiol.*, accepté pour publication (volume 69).
- MARTIN G. (1979). - Le problème de l'azote dans les eaux. *Technique et Documentation ed.*, 279 p.
- MARY B. (1978). - Essai d'appréciation du pouvoir alimentaire du sol en azote. *Diplôme d'Agronomie Approfondie. Inst.Nat.Agronom., Paris-Grignon.*
- MARY B., REMY J.C. (1979). - Essai d'appréciation de la capacité de minéralisation de l'azote des sols de grande culture. I.Signification des cinétiques de minéralisation de la matière organique humifiée. *Ann.Agron.*, 30 : 513-527.
- McELROY M.B. (1975). - Sources and sinks for atmospheric  $\text{N}_2\text{O}$  (en préparation : cité in SWEENEY et al., 1978).
- McELROY M.B., YUNG Y.L., NIER A.O. (1976). - Isotopic composition of nitrogen : implication for the past history of Mars atmosphere. *Science*, 194 : 70-72.

- McKINNEY C.R., McCREA J.M., EPSTEIN S., ALLEN M.A., UREY M.C. (1950). - Improvements in mass spectrometers for the measurements of small differences in isotope abundance ratios. *Rev.Sci., Instrum.*, 21 : 724-730.
- MEGNIEN C. et coll. (1970). - Atlas des nappes aquifères de la région parisienne. Ed. : Préfecture de la région parisienne et B.R.G.M., 60 cartes, notice 152 p., 38 fig.
- MEGNIEN C. (1976). - Hydrogéologie du centre du Bassin de Paris. Contribution à l'étude de quelques aquifères principaux. Thèse Doct.d'Etat, Univ.P.& M.Curie (Mémoire du B.R.G.M., n°98, 1979, 532 p.).
- MEINTS V.W., BOONE L.V., KURTZ L.T. (1975). - Natural  $^{15}\text{N}$  in soil, leaves, and grain as influenced by long term additions of fertilizer N at several rates. *J.Environ.Quality*, 4 : 486-490.
- MEINTS V.W., SHEARER G., KOHL D.H., KURTZ L.T. (1975). - A comparison of unenriched versus  $^{15}\text{N}$ -enriched fertilizer as a tracer for N fertilizer uptake. *Soil Science*, 119 : 421-425.
- MELANDER L. (1960). - Isotope effects on reaction rates. *New-York : Ronald Press Co.*, 181 p.
- MIDDELBOE V. (1977). - Advantages and limitations of mass and photo-spectrometry in nitrogen-15 - aided studies. In Soil organic matter studies. *Proc.of a Symposium I.A.E.A./F.A.O., Braunschweig, 1976*, 2 : 205-211.
- MIN SRENG (1977). - Etude écologique des champignons filamenteux des litières de hêtre en milieu calcaire et acide de l'Est de la France. Thèse Doct.Ingénieur, Univ.Nancy I, 61 p.
- MIYAKE Y., WADA E. (1967). - The abundance ratio of  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in marine environments. *Records of Oceanographic works in Japan*, 9 : 37-53.
- MIYAKE Y., WADA E. (1971). - The isotope effect on the nitrogen in biochemical, oxidation - reduction reactions. *Records of Oceanographic works in Japan*, 11 : 1-6.
- MONNIER G. (1971). - Etude en case lysimétrique de l'influence de la profondeur du sol sur le rendement des cultures. *Ann.Agron.*, 22 : 183-195.
- MULLER E.G. (1964). - Iron bacteria, particularly those of the *Sphaerotilus-Leptothrix* group and industrial problems. *J.Appl.Bact.*, 27 : 151-172.
- MULLER J.C. (1972). - Identification des formes de la matière organique dans les sols de la Champagne craieuse. *Ann.Agron.*, 23 : 587-610.
- MULLER J.C. (1977). - Minéralisation, en sol de craie, de l'azote organique des eaux résiduaires de féculerie. *Ann.Agron.*, 28 : 95-111.
- MULLER J.C., VEDY J.C. (1978). - Morphoscopie et fractionnement des matières organiques des rendzines sur craie. *Science du Sol*, 2 : 129-144.
- MULLER J.C., BALLIF J.L. (1981). - Sur la teneur en azote nitrique des sols et des couches superficielles de la craie en relation avec les pratiques culturales. *C.R.Acad.Agric.France*, 67 : 404-419.
- MURRAY N., JENSEN M.L. (1960). - Biogeochemistry of sulfur isotopes. *J.Earth Sci.*, 8 : 181-196.

### XIII

- NELSON D.W., BREMNER J.P. (1969). - Factors affecting chemical transformation of nitrite in soils. *Soil. Biol. Biochem.*, 1 : 229-239.
- NGAMBI-NDJAMA J.M. (1979). - Métabolisme des nitrates chez deux géotypes de Mil, *Pennisetum mollissimum*, *Pennisetum americanum* et leur hybride *P.mollissimum*, *P.americanum*. Thèse Doct. Ingénieur, Univ. Paris-Sud, Orsay.
- NICHOLAS D.J.D., SILVESTER D.J., FOWLER J.F. (1961). - Use of radio-active nitrogen in studying nitrogen fixation in bacterial cells and their extracts. *Nature*, 169 : 634-636.
- NIER A.O.C., GULBRANSON E.A. (1939). - Variations in the relative abundance of carbon isotopes. *J. Amer. Chem. Soc.*, 61 : 697-698.
- NIHOUL J.C.J., POLK P. (1977). - Dynamiek van het ecosysteem Noordzee. In "Modèle mathématique de la Mer du Nord", Rapport final vol. VII, Ministère de la Politique scientifique, Bruxelles.
- NOMMICK H. (1956). - Investigation on denitrification in soil. *Acta agricul. Scand.*, 13, 56002 : 195-228.
- NORMAN A.G., WERKMAN C.H. (1943). - The use of  $^{15}\text{N}$  in determining N recovery for plant materials decomposing in soil. *J. Am. Soc. Agron.*, 35 : 1023-1025.
- OBERLIN G. (1974). - Résumé des recherches menées sur le Bassin de l'Orgeval. *Cah. Hydrol. O.R.S.T.O.M.*, XI, 2 : 85-89.
- OLIVE P. (1970). - Contribution à l'étude géodynamique du cycle de l'eau dans l'hémisphère nord par la méthode du tritium. Thèse Doct. d'Etat, Paris, 138 p.
- OLIVE P. (1979). - Eléments de Climatologie. Centre de Recherches géodynamiques. Thonon-les-Bains. Publication n° 205.
- PANG P.C., NRIAGU J.O. (1976). - Distribution and isotope composition of nitrogen in Bay of Quinte (Lake Ontario) sediments. *Chem. Geol.*, 18 : 93-105.
- PANG P.C., NRIAGU J.O. (1977). - Isotopic variations of the nitrogen in Lake Superior. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 41 : 811-814.
- PARWEL A., RYHAGE R., WICKMAN F.E. (1957). - Natural variations in the relative abundances of the nitrogen isotopes. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 11 : 165-170.
- PATE J.C. (1980). - Transport and partitioning of nitrogenous solutes. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 31 : 313-340.
- PATTEN D.K., BREMNER J.M., BLACKMER A.M. (1980). - Effects of drying and air-dry storage of soils on their capacity for denitrification of nitrate. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 44 : 67-70.
- PAUL E.A. (1976). - Nitrogen cycling in terrestrial ecosystems. In "Environmental Biogeochemistry, vol. 1, Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur and Selenium cycles". J.O. NRIAGU, Ed., An Arbor Science, 225-243.
- PAYNE W.J. (1976). - Denitrification. *Trends in biochemical Sciences*, 1, 10 : 220-222.



- PIERRE D. (1979). - Variation de l'abondance naturelle de l'isotope  $^{15}\text{N}$  dans le sol au cours de l'humification de la matière organique. *Thèse 3ème cycle, Univ.P.& M.Curie, PARIS VI*, 85 p.
- PILOT J. (1974). - Les isotopes en géologie (méthodes et applications). *Doin éd., Paris*, 176 p. (traduction R.LETOLLE).
- POCHET M. (1980). - La dénitrification dans les sols cultivés. Etude préliminaire. *Mémoire de fin d'étude E.N.I.T.A. Dijon*, 56 p.
- POCHON J., DE BARJAC H. (1954). - Une espèce nouvelle de *Sporovibrio* : *Sp.ferroxydans*. *C.R.Acad.Sci.Paris*, 238 : 627-628.
- POCHON J., DE BARJAC H. (1958). - Traité de Microbiologie des sols. Applications agronomiques. *Dunod éd., Paris*, 685 p.
- POWLSON D.S., JENKINSON D.S. (1976). - The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. II. Gamma irradiation, autoclaving, air drying and fumigation. *Soil.Biol.Biochem.*, 8 : 179-188.
- QUISPEL A. (1974). - The biology of nitrogen fixation. *North Holland Publishing Co., Amsterdam, Oxford*, 769 p.
- RAFIDISON Z., ANDREUX F., TOUTAIN F. (1981). - Etude des premiers stades de l'humification des feuilles de hêtre. Aspects chimiques et morphologiques (à paraître).
- REES C.E. (1973). - A steady state model for sulfur isotope fractionation in bacterial reduction processes. *Geochim.Cosmochim.Acta*, 37 : 1141-1162.
- REMY J.C. (1975). - Etude du devenir des engrais azotés en sol de limon du Bassin parisien. In "Evolution de l'azote des engrais dans les sols cultivés. Utilisation de l'azote-15". *C.R.de fin d'étude. Recherche financée par la D.G.R.S.T. (Décision d'aide n° 7270674)*.
- RENNIE D.A., PAUL E.A. (1974). - Nitrogen Isotope Ratios in surface and sub-surface Soil Horizons. *I.A.E.A. SM-191/31* : "Isotope ratios as pollutant source and behaviour indicators", 441-453.
- RENNIE D.A., PAUL E.A., JOHNS L.E. (1974). - Isotope tracer-aided Research on the nitrogen cycle in selected Saskatchewan soil. *I.A.E.A. PL-539/9* : "Effects of agricultural production on nitrates in food and water with particular reference to isotope studies", 77-90.
- RENNIE D.A., PAUL E.A., JOHNS L.E. (1976). - Natural nitrogen -15 abundance of soil and plant samples. *Can. J.Soil.Sci.*, 56 : 43-50.
- RENNIE D.A., PAUL E.A., KARAMANOS R.E., PANG P. (1977). - Factors affecting the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in soil and plant material. *3rd Res.Coord.Meeting N.Residues Programme. I.A.E.A. Vienna, 23-27 May 1977*.
- RICHET P. (1976). - Calcul des fractionnements isotopiques des molécules simples d'intérêt géochimique. Application à quelques systèmes naturels. *Thèse, Univ.PARIS VII, Paris*.
- RICHET P., BOTTINGA Y., JAVOY M. (1977). - A review of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, sulfur and chlorine stable isotope fractionation among gaseous molecules. *Annu.Rev.Earth.Planet.Sci.*, 5 : 65-110.



- RIGA A., VAN PRAAG H.J., BRIGODE N. (1971). - Rapport isotopique naturel de l'azote dans quelques sols forestiers et agricoles de Belgique soumis à divers traitements culturaux. *Geoderma*, 6 : 213-222.
- RITTENBERG D. (1948). - The preparation of gas samples for mass analysis. In WILSON D.W., NIER A.O.C., RIEMAN P.S. : Preparation and measurement of isotope tracers. *EDWARDS I.W. Ann.Arbor.Mich.*, 1948, 31-42.
- ROBIN A.M. (1979). - Genèse et évolution des sols podzolisés sur affleurements sableux du Bassin parisien. *Thèse Doct.d'Etat, Univ.Nancy I*, 173 p.
- RÜSLER H.J., LÄNGE H. (1972). - Geochemical tables. *Elsevier éd.*, 448 p.
- ROSS P.J., MARTIN A.E. (1970). - A rapid procedure for preparing gas samples for Nitrogen-15 determination. *Analyst.*, 95 : 817-822.
- ROSSWALL T. (1981). - The biogeochemical Nitrogen cycle. In "Some perspectives of the major biogeochemical cycles". G.E.LIKENS Ed., *SCOPE*, 25-49.
- SAINO T., HATTORI A. (1980). -  $^{15}\text{N}$  natural abundance in oceanic suspended particulate matter. *Nature*, 283 : 752-754.
- SCHOENHEIMER R., RITTENBERG D. (1939). - Studies in protein metabolism. I.General considerations in the application of isotopes to the study of protein metabolism. The normal abundance of nitrogen isotopes in amino-acids. *J.Biol.Chem.*, 127 : 285-290.
- SHEARER G.B., KOHL D.H., COMMONER B. (1974). - The precision of determinations of the natural abundance of nitrogen-15 in soils, fertilizers, and shelf chemicals. *Soil.Science*, 118 : 308-316.
- SHEARER G., DUFFY J., KOHL D.H., COMMONER B. (1974). - A steady state model of isotopic fractionation accompanying nitrogen transformations in soil. *Soil.Sci., Soc.Amer.Proc.*, 38, (2), : 315-322.
- SHEARER G., KOHL D.H., COMMONER B. (1975). - Use of variations in the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  to study sources transformations and movements of nitrogen in a plant-soil-water system. I.A.E.A. "Origin and fate of chemical Residues in Food, agriculture and fisheries, 77-104.
- SHEARER G., LEGG J.O. (1975). - Variations in the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  of wheat plants in relation to fertilizer nitrogen applications. *Soil.Sci.Soc.Amer.Proc.*, 39 : 896.
- SHEARER G., KOHL D.H. (1978). -  $^{15}\text{N}$  abundance in N-fixing and non N-fixing plants. *Recent developments in "Mass spectrometry in Biochemistry and medicine"*, vol.1, Edited by A.Frigerio Plenum Press, N.Y.
- SHEARER G., KOHL D.H., CHIEN S.H. (1978). - The Nitrogen 15 abundance in a wide variety of soils. *Soil.Sci. Soc.Am.J.*, 42 : 899-902.
- SHEARER G., KOHL D.H., HARPER J.E. (1980). - Distribution of  $^{15}\text{N}$  among plant parts of nodulating and nonnodulating isolines of soybeans. *Plant.Physiol.*, 66 : 57-60.
- SMITH B.N., EPSTEIN S. (1971). - Two categories of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios for higher plants. *Plant.Physiol.*, 47 : 380-384.
- SOEDERLUNG R., SVENSSON B.H. (1975). - The global nitrogen cycle. In "Nitrogen, Phosphorus and Sulfur - global cycles". SVENSSON B.H. and SOEDERLUNG Eds.Rep.from a SCOPE Works., Oesundsö.Sweden, 15-19 Dec.

- SPEDDING F.M., POWELL J.E., SVEC H.J. (1955). - A laboratory method for separating nitrogen isotopes by ion exchange. *J.Amer.Chem.Soc.*, 77 : 6125-6132.
- SPINDEL W. (1954). - The calculation of equilibrium constants for several exchange reactions of nitrogen 15 between oxy-compounds of nitrogen. *J.Chem.Phys.*, 23 : 1271-1272.
- S.R.A.E. (1973). - Etude de la qualité des eaux de l'Yerres. Ministère de l'Agriculture et du Développement rural. Service d'aménagement des eaux de la Région parisienne, centralisateur du Bassin "Seine-Normandie". 17-21 rue de Javel, 75015 Paris.
- SPRINSON D.B., RITTENBERG D. (1948). - Preparation of gas samples for mass-spectrometer analysis of isotopic abundance. *Suppl.to U.S.Naval Medical.Bull.*, March-April 1948, 82-93.
- STAHL W., WOLLANKE G., BOIGK H. (1975). - Carbon and nitrogen isotope data of upper Carboniferous and Rotliegende natural gases from North Germany and their relationship to the maturity of the organic source material. *7th Int.Meet.Org.Chem.Madrid*, sept.1975.
- STANFORD G. (1968). - Effect of partial removal of soil organic nitrogen with sodium pyrophosphate or sulfuric acid solutions on subsequent mineralisation of nitrogen. *Soil.Sci.Soc.Am.Proc.*, 32 : 679-682.
- STANFORD G., SMITH S.J. (1972) Nitrogen mineralisation potentials of soils. *Soil.Sci.Soc.Am.Proc.*, 32 : 465-472.
- STANFORD G., LEGG J.O., DZIENIA S., SIMPSON E.C. (1975). - Denitrification and associated nitrogen transformations in soils. *Soil.Science*, 120 : 147.
- STERN M.J., KAUDER L.N., SPINDEL W. (1960). - Temperature dependence of the fractionation of nitrogen in the  $\text{NO}_2^-$  -  $\text{NO}_3^-$  system. *J.Chem.Phys.*, 34 : 333-334.
- STRANDBERG G.W., WILSON P.W. (1968). - Formation of the nitrogen fixing enzyme system in *Azotobacter vinelandii*. *Can.J.Microbiol.*, 14 : 25-31.
- SUZUKI I., DULAR U., KWOK S.C. (1974). - Ammonia or ammonium as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *J.Bact.*, 120 : 556-558.
- SWEENEY R.E., LIU K.K., KAPLAN I.R. (1978). - Oceanic nitrogen isotopes and their use in determining the source of sedimentary nitrogen. ROBINSON B.W.(Ed.) : *Stable Isotopes in the Earth Sciences*. DSIR Bulletin 220. New Zealand Department of Scientific and Industrial Research, Wellington, New Zealand, 9-26.
- SWEENEY R.E., KAPLAN I.R. (1980). - Natural abundance of  $^{15}\text{N}$  as a source indicator for near-shore marine sedimentary and dissolved nitrogen. *Marine Chem.*, 9 : 81-94.
- THODE H.G., UREY H.C. (1939). - Further concentration of  $^{15}\text{N}$ . *J.Chem.Phys.*, 7 : 34-39.
- THOMAS R.J., SCHRADER L.E. (1981). - Review : Ureide metabolism in higher plants. *Phytochem.*, 20 : 361-371.
- TONG J.Y., YANKWICH P.E. (1957). - Calculation of experimental isotope effects for pseudo first-order irreversible reactions. *J.Phys.Chem.*, 61 : 540-543.
- TOUTAIN F. (1974). - Etude écologique de l'humification dans les hêtraies acidiphiles. *Thèse Doct.d'Etat*, Univ.Nancy I, 114 p.

- TURNER G.I., BERGERSEN F.J. (1980). - Evaluating methods for the determination of  $\delta^{15}\text{N}$  in nitrogen fixation studies. *Poster présentée au "Fourth International Symposium on Nitrogen Fixation", Canberra, Australie, Dec.1980.*
- UMBREIT W.W., BURRIS R.H., STAUFFER J.F. (1959). - *Manometric Methods. Burgess Publ.Co., Minneapolis, 338 p.*
- UREY H.C. (1947). - The thermodynamic properties of isotopic substances. *J.Chem.Soc.*, 562-581.
- VACCARO R.F. (1965). - Inorganic nitrogen in sea water. *In RILEY J.P. and SKIRROW G. : Chemical Oceanography. Acad.press. N.Y., 1 : 365-404.*
- VANDEBORGHT J.P., WOLLAST R., BILLEN G. (1977). - Kinetic models of diagenesis in disturbed sediments. Part 1 : Mass transfert properties and silica diagenesis. Part 2 : Nitrogen diagenesis. *Limnol.and Oceanog.*, 22, (5) : 788-793 et 794-803.
- VIRGINIA R.A. (1980). - Natural abundance of nitrogen-15 in selected ecosystems. *Ph.D.Thesis, Univ.California. Davis. Diss.Abstrs.Intern.*, 41, (3), 80 p.
- WADA E., HATTORI A. (1975). - Natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in particulate organic matter in the North Pacific Ocean. *Geochim.Cosmochim.Acta*, 40 : 249-251.
- WADA E., KADONAGA T., MATSUO S. (1975). -  $^{15}\text{N}$  abundance in nitrogen of naturally occurring substances and global assessment of denitrification from isotopic viewpoint. *Geochim.J.*, 9 : 139-148.
- WADA E., HATTORI A. (1976). - Natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in particulate organic matter in the North Pacific Ocean. *Geochim.Cosmochim.Acta*, 40 : 249-251.
- WADA E., HATTORI A. (1978). - Nitrogen isotope effects in the assimilation of inorganic nitrogenous compounds by marine diatoms. *Geomicrobiol.J.*, 1 : 85-101.
- WASHBURN E.R., UREY H.C. (1932). - Concentration of the  $^2\text{H}$  isotope of hydrogen by the fractional electrolysis of water. *Proc.Nat.Acad.Sci.*, 18 : 496.
- WELLMAN R.P., COOK E.D., KROUSE H.R. (1968). - Nitrogen-15 microbiological alteration of abundance. *Science*, 161 : 269-270.
- WIJLER J., DELWICHE C.C. (1954). - Investigations on the denitrifying process in soil. *Plant and Soil*, 5 : 155-169.
- WOLLANKE G., BEHRENS W., HÖRGANT T. (1974). - Stickstoffisotopen verhältnis von Erdgasen des Emslandes. *Erdöl Kohle*, 27 : 523.
- WOLLAST R. (1977). - Transport et accumulation de polluants dans l'estuaire de l'Escaut. *In "Modèle mathématique de la Mer du Nord". Rapport final, vol.X, Estuaire de l'Escaut. WOLLAST R., NIHOUL J.C.J. (eds.), Ministère de la Politique Scientifique, Bruxelles.*
- WULLSTEIN L.H., GILMOUR C.M. (1964). - Non enzymatic gaseous loss of nitrite from clay and soil system. *Soil Sci.*, 97 : 428-430.
- YOUNG C.P., HALL E.S., OAKES D.B. (1976). - Nitrate in ground-water. Studies on the chalk near Winchester, Hampshire. *Water Research Center, Technical report TR 31, sept.1976, 67 p.*

## XVIII

ZABLOTOWICZ R.M., ESKEW D.L., FOCHT D.D. (1978). - Denitrification in *Rhizobium*. *Can.J.Microbiol.*, 24 : 757-760.

ZABLOTOWICZ R.M., FOCHT D.D. (1979). - Denitrification and anaerobic nitrate dependent acetylene reduction in cowpea *Rhizobium*. *J.Gen.Microbiol.*, 111 : 445-448.

ZSCHIESCHE M. (1972). - Entwicklung probenchemischer Verfahren zur Bestimmung der isotopen Zusammensetzung des Stickstoffs aus Gasen, Gesteinen und Stickstofflieferanten für bakteriologische Modelluntersuchungen. *Dissertation. Math.-Natur.Fakultät - Karl Marx Universität - Leipzig*, 76 p.

ANNEXES



## BASSIN DE MELARCHEZ

ANALYSES CHIMIQUES ET ISOTOPIQUES DES PRELEVEMENTS A L'EXUTOIRE  
DU BASSIN

DATE	HEURE	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l	DEBIT l/s	FLUX N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %	DATE	HEURE	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l	DEBIT l/s	FLUX N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %
05.10.1971		3.4		0.25	0.85	10.4	05.12.1972		12.7				6.6
12.10		4.6		0.58	2.67	6.0	10.12		12.6				6.9
19.10		3.7		1.05	3.89	9.9	12.12		11.6				6.1
28.10		2.4		0.64	1.54	8.5	19.12		9.1				7.4
09.11		2.7		1.60	4.32	8.1	26.12		7.3				6.7
16.11		3.8		0.75	2.85	8.1	02.01.1973		7.0	8.55	59.85		6.7
23.11		18.5		10.40	192.40	6.8	09.01		6.9	8.40	57.96		7.6
30.11		8.1		6.30	51.03	8.4	16.01		6.7	9.40	62.98		7.9
07.12		4.9		4.03	19.75	8.0	23.01		7.6	14.70	111.72		6.6
14.12		4.7		4.03	18.94	7.1	30.01		15.6	58.50	912.60		6.0
21.12		5.3		5.20	27.56	8.3	06.02		11.4	25.00	285.00		7.3
28.12		5.4		5.20	28.08	8.5	13.02		18.3	600.00	10928.00		4.8
04.01.1972		7.8		8.70	67.86	7.2	20.02		15.0	65.50	982.50		6.5
11.01		6.1		6.43	39.22	7.2	27.02		13.2	33.60	443.52		6.2
18.01		7.3		6.43	46.94	7.0	06.03		6.9	17.70	122.13		7.0
20.01	19h45	46.4		197.00	9140.80	3.5	13.03		6.1	12.70	77.47		6.0
21.01	10h00	38.3		840.00	32172.00	3.7	20.03		4.8	9.60	46.08		6.2
25.01		23.6		54.40	1283.84	4.3	27.03		5.6	8.55	47.88		6.5
02.02		10.6		14.50	153.70	10.5	03.04		5.9	6.85	40.42		6.9
09.02		16.5		30.80	508.20	6.5	10.04		7.1	5.20	36.92		7.9
15.02		22.8		74.30	1694.04	4.7	17.04		6.3	6.00	37.80		7.6
22.02		9.6		15.40	147.84	6.0	24.04		6.0	6.55	39.30		7.7
29.02		7.8		12.20	95.16	8.3	01.05		6.5	11.60	75.40		7.4
07.03		15.7		38.90	610.73	7.0	08.05		9.6	14.70	141.40		7.3
14.03		6.9		9.55	65.90	8.4	15.05		6.4	6.80	43.52		8.1
21.03		5.6		7.10	39.76	8.5	22.05		6.6	12.90	85.14		6.4
28.03		6.2		14.10	87.42	9.3	29.05		7.5	7.35	55.13		8.5
04.04		6.7		9.55	63.99	7.9	05.06		13.7	15.50	213.35		5.4
11.04		13.7		43.60	597.32	4.9	12.06		8.3	5.65	42.90		6.8
12.04	17h00	30.0		280.00	840.00	1.4	19.06		7.2	3.65	26.28		7.1
18.04		10.4		24.80	257.92	8.3							
02.05		5.6		5.80	32.48	7.7	04.08.1975		4.8	0.31	0.42	2.03	11.2
09.05		5.6		3.52	19.71	8.1	05.08		4.8	0.31	0.90	4.28	12.0
16.05		5.4		4.60	24.84	7.0	06.08		5.3	0.23	0.51	2.67	11.3
23.05		5.6		3.52	19.71	6.9	07.08		4.5	0.43	0.44	1.98	12.4
06.06		5.5		7.40	40.70	8.8	08.08		4.0	0.23	0.40	1.60	13.7
13.06		6.3		5.80	36.54	5.9	09.08		4.5	0.97	0.86	3.87	11.9
20.06		5.3		2.63	13.94	8.2	10.08		5.3	0.47	1.40	7.35	9.8
27.06		4.8		1.60	7.68	8.1	11.08		5.0	0.12	0.89	4.45	8.9
04.07		5.6		2.25	12.60	14.1	09.09		5.2	0.08	0.78	4.07	8.2
11.07		3.7		1.05	3.89	7.7	10.09		4.8	0.08	0.87	4.15	8.1
19.07		2.7		1.42	3.83	10.6	11.09		5.7	0.08	1.18	6.70	8.0
25.07		3.7		1.30	4.81	8.9	12.09		4.4	0.08	1.60	7.08	7.0
01.08		3.6		1.42	5.11	10.0	13.09		4.8	0.19	1.74	8.30	7.1
02.08	14h45	4.8		34.90	167.52	20.7	14.09		4.0	0.08	3.34	13.26	6.3
08.08		4.6		4.03	18.54	8.1	15.09		3.6	0.16	1.44	5.23	7.7
15.08		4.4		6.43	28.29	9.0	16.09		5.2	0.08	1.95	10.18	7.4
22.08		3.7		2.25	8.33	13.8	19.09		6.3	0.00	2.96	18.50	8.9
29.08		4.6		1.90	8.74	8.4	21.09		6.1	0.00	1.93	11.83	7.9
05.09		4.8		1.42	6.82	8.3	22.09		5.5	0.00	1.56	8.50	7.9
12.09		4.5		1.90	8.55	8.8	23.09		5.7	0.00	1.54	8.75	8.2
28.09		4.7		1.19	5.59	24.0	24.09		5.2	0.00	1.50	7.83	7.4
03.10		4.8		0.83	3.98	8.2	25.09		4.4	0.00	1.62	7.10	7.8
17.10		3.6		0.87	3.13	9.3	26.09		6.3	0.06	11.14	69.63	7.3
24.10		3.7		0.91	3.37	8.6	27.09		2.7	0.06	3.68	10.01	9.1
31.10		4.0		1.30	5.20	8.5	28.09		5.3	0.06	2.83	15.11	8.6
14.11		16.8		56.30	945.84	6.7	29.09		3.8	0.12	6.56	24.60	7.9
17.11		29.2		1440.00	42048.00	4.5	30.09		9.8	0.00	174.50	1710.10	5.7
21.11		20.8		106.00	2204.80	5.7	01.10		9.3	0.00	22.90	212.97	7.4
28.11		10.9		1.30	14.17	8.5	06.10		5.1	0.47	4.25	21.59	8.0
							07.10		5.3	0.16	4.21	22.10	7.7

DATE	HEURE	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/ℓ	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/ℓ	DEBIT ℓ/s	FLUX N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ‰
08.10.1975		5.6	0.19	3.88	21.73	7.1
09.10		5.6	0.00	3.83	21.45	7.3
10.10		5.6	0.00	3.71	20.78	7.1
11.10		5.6	0.00	3.46	19.38	6.6
12.10		5.6	0.00	3.46	19.38	6.3
13.10		4.8	0.70	7.44	35.34	6.5
14.10		4.0	0.55	5.80	22.91	7.7
15.10		4.1	0.32	5.64	22.84	8.9
16.10		4.5	0.32	5.72	25.91	8.4
17.10		4.7	0.16	4.88	22.94	8.5
18.10		4.8	0.47	5.52	26.72	7.5
19.10		6.0	0.39	5.08	30.48	7.9
20.10		4.8	0.55	4.64	22.27	8.1
21.10		5.1	0.32	5.08	25.91	7.4
22.10		5.1	0.24	5.00	25.50	7.2
23.10		5.0	0.95	4.80	24.00	6.7
24.10		5.0	0.00	4.64	24.00	7.0
25.10		5.0	0.16	4.40	23.20	7.1
26.10		5.1	0.08	4.46	22.00	7.0
27.10		5.1	0.08	4.60	23.46	7.0
28.10		5.1	0.47	4.60	23.46	6.5
04.11		4.7	0.39	2.89	13.64	7.5
05.11		4.8	0.16	2.98	14.42	7.0
06.11		4.8	0.47	3.07	14.86	7.4
07.11		4.4	0.47	3.63	15.83	7.2
08.11		3.8	0.23	4.75	18.00	8.4
09.11		4.3	0.08	3.81	16.38	7.5
10.11		4.6	0.08	3.85	17.71	7.4
11.11		4.8	0.08	3.34	16.07	7.1
12.11		5.0	0.08	3.29	16.35	7.3
13.11		5.0	0.08	3.34	16.70	7.0
14.11	0-16	4.7	<0.08	3.25	15.28	7.4
14.11	16-24	4.8	<0.08	3.16	15.17	7.8
15.11	0-8	4.7	0.16	3.16	14.85	7.7
15.11	8-16	4.1	0.51	3.43	14.06	7.4
15.11	16-24	4.7	<0.08	4.48	20.83	7.8
16.11	0-8	5.5	<0.08	124.00	682.00	7.3
16.11	8-16	10.8	0.08	135.00	1458.00	6.2
16.11	16-24	11.2	0.28	180.00	2016.00	6.6
17.11	0-8	11.8	0.16	88.40	1043.12	6.6
17.11	8-16	11.0	0.24	68.00	748.00	6.9
17.11	16-24	10.4	0.28	55.90	581.36	7.3
18.11	0-8	9.5	0.32	49.70	472.15	7.8
18.11	8-16	9.1	0.32	58.90	535.99	7.8
18.11	16-24	10.0	0.08	51.10	511.00	8.1
19.11	0-8	9.4	0.16	39.00	336.60	7.8
19.11	8-16	7.9	0.16	33.20	262.28	8.8
19.11	16-24	7.4	0.43	84.00	621.60	8.9
20.11	0-8	8.8	0.08	128.00	1126.40	8.7
20.11	8-16	11.2	0.12	117.00	1310.40	6.6
20.11	16-24	10.3	0.24	92.20	949.66	7.7
21.11		11.2	0.47	65.00	728.00	7.4
25.11		6.5	0.47	14.50	93.81	6.3
26.11		8.7	0.27	199.90	1745.12	6.4
27.11		12.0	0.31	108.70	1304.40	6.5
28.11		11.0	0.31	198.30	2181.30	6.4
29.11		11.3	0.31	110.00	1243.00	6.6
30.11		10.5	0.31	206.30	2166.15	6.9
01.12		13.0	0.16	52.50	682.50	7.0
02.12	8-16	8.0	0.16	345.00	2749.65	6.7
02.12	16-24	10.0	0.16	336.00	3360.00	6.0
03.12	0-8	11.0	0.39	239.00	2629.00	6.4
03.12	8-16	11.5	0.12	158.00	1817.00	6.6
03.12	16-24	11.5	0.23	122.00	1403.00	6.3
04.12	0-8	11.5	0.16	101.00	1161.50	6.4
04.12	16-24	10.5	0.27	80.00	840.00	6.4
05.12		10.0	0.08	67.50	675.00	5.8
06.12		9.0	0.19	56.60	509.40	6.7
07.12		9.0	0.19	49.10	441.90	7.2
08.12		8.7	0.23	40.60	353.22	8.8
09.12		7.1	0.12	28.60	201.63	7.2
10.12		6.2	0.16	24.10	149.42	7.5
11.12		6.2	0.08	22.30	137.14	7.7
12.12		5.2	0.08	20.50	106.60	7.8
13.12		5.7	0.08	19.10	108.87	8.0
14.12		5.5	0.08	17.40	95.70	8.0
15.12		5.5	0.08	15.95	87.72	7.7

DATE	HEURE	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/ℓ	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/ℓ	DEBIT ℓ/s	FLUX N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ‰
20.12.1975		4.7	0.12	8.04	37.94	7.5
21.12		4.6	0.12	8.04	36.90	7.3
22.12		4.4	0.12	8.62	38.27	7.0
23.12		4.5	0.23	8.92	39.78	8.5
24.12		4.4	0.12	9.49	42.04	7.6
25.12		4.7	0.47	13.48	62.95	8.1
26.12		4.1	0.39	17.56	71.29	9.0
27.12		4.6	0.08	19.70	91.01	8.7
28.12		5.3	0.00	22.20	117.88	8.4
29.12		5.7	0.12	21.40	121.98	8.1
30.12		6.8	0.12	19.40	131.14	8.1
31.12		6.3	0.00	18.60	116.25	7.6
01.01.1976		6.5	0.16	29.80	193.10	7.2
02.01		9.2	0.16	52.90	435.62	6.8
03.01		8.2	0.12	42.70	349.26	7.0
04.01		8.0	0.00	28.00	223.44	7.2
05.01		7.7	0.00	26.40	202.75	7.4
06.01		7.2	0.16	23.70	170.17	7.4
07.01		7.0	0.00	21.80	152.38	8.3
08.01		6.8	<0.08	20.30	137.43	8.2
09.01		6.2	0.39	17.90	111.52	8.0
10.01		6.2	<0.08	19.70	122.93	8.0
11.01		6.8	<0.08	35.80	242.00	7.9
12.01		8.0	0.51	39.20	312.82	7.2
13.01		9.2	<0.04	34.60	319.70	7.1
14.01		8.8	0.08	29.30	256.38	7.2
15.01		8.2	0.12	23.00	189.29	7.1
16.01		7.7	0.12	20.60	159.44	7.5
17.01		7.7	0.08	20.00	154.80	7.5
18.01		7.5	0.08	19.50	146.06	7.4
19.01		7.2	0.08	19.00	137.70	7.6
21.01		7.7	0.08	23.90	184.75	7.4
22.01		8.3	0.00	24.50	202.13	7.4
23.01		8.2	0.08	34.30	282.29	7.2
24.01		9.0	0.08	44.60	400.51	7.4
25.01		9.4	0.04	35.80	335.80	7.0
26.01		8.2	0.08	28.70	234.77	7.3
27.01		8.4	0.16	29.80	249.72	7.0
28.01		7.8	0.04	26.80	210.11	7.4
29.01		7.9	0.54	24.20	190.21	7.2
30.01		7.6	<0.04	18.90	143.26	7.2
31.01		7.2	0.12	16.90	121.17	7.5
01.02		6.8	0.08	14.30	96.67	7.9
02.02		6.6	0.20	12.10	79.38	7.5
03.02		6.4	0.00	11.03	70.04	7.5
04.02		6.4	0.08	11.36	73.05	7.8
05.02		6.3	0.54	11.77	74.15	8.1
06.02		6.3	0.43	11.53	72.99	6.6
07.02		6.0	0.12	10.70	64.52	7.6
08.02	0-8	5.9	0.43	10.20	60.28	8.4
08.02	8-16	5.8	0.31	11.50	66.47	8.0
08.02	16-24	5.8	1.50	16.20	94.45	7.7
09.02	0-8	5.7	1.30	17.90	101.85	8.0
09.02	8-16	5.9	0.79	16.90	99.03	8.7
09.02	16-24	6.3	0.40	18.90	119.45	8.6
10.02	0-8	7.1	0.00	21.10	149.18	8.1
10.02	8-16	7.6	0.16	23.90	182.36	7.5
10.02	16-24	8.0	0.51	32.10	257.12	7.8
11.02	0-8	9.0	0.12	36.20	324.71	7.3
11.02	8-16	8.9	0.87	35.20	313.28	8.2
11.02	16-24	9.3	0.00	36.20	337.38	7.1
12.02	0-8	9.4	0.00	35.90	338.54	7.7
12.02	8-16	9.5	0.67	34.20	325.58	7.2
12.02	16-24	10.5	1.15	435.00	4545.75	6.1
13.02	0-8	15.3	0.00	1440.00	22003.20	4.7
17.02		8.5	0.40	40.05	338.42	7.0
18.02		8.6	0.04	38.10	327.66	7.3
19.02		8.8	0.04	35.20	308.00	7.0
20.02		8.9	0.04	30.60	270.81	6.7
21.02		8.6	0.04	28.30	243.38	6.8
23.02		7.9	0.00	22.30	175.06	6.8
24.02	0-8	7.8	0.20	21.40	165.86	6.8
24.02	8-24	5.5	0.16	20.00	109.00	7.9
25.02		6.1	0.16	19.40	118.34	6.9
26.02		6.5	0.16	19.50	126.75	7.6
27.02		6.7	0.31	19.50	129.68	7.2
28.02		6.8	0.27	18.20	123.76	7.3
29.02		6.6	0.40	15.40	101.64	7.7



DATE	HEURE	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/ℓ	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/ℓ	DEBIT ℓ/s	FLUX N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %
01.03.1976		6.5	0.66	13.90	90.35	8.2
02.03		6.8	0.66	13.60	91.80	8.0
03.03		6.8	0.16	12.50	85.00	7.7
04.03		6.8	0.23	11.60	78.30	7.6
09.03		6.9	0.12	6.76	46.37	6.6
10.03		6.8	0.15	6.43	43.72	6.7
11.03		6.6	2.20	7.19	47.45	7.4
12.03		6.8	0.20	11.00	74.80	7.2
14.03		6.2	0.66	10.70	65.81	7.5
15.03		6.2	0.70	10.90	67.04	7.7
16.03		6.3	0.27	11.20	70.56	7.5
17.03		6.5	0.23	12.20	79.30	7.3
18.03		6.6	0.14	19.63	129.75	8.2
19.03		6.1	0.18	16.23	99.33	8.0
20.03		6.2	0.12	13.60	83.78	8.2
21.03		6.6	0.12	12.60	82.91	8.0
22.03		6.4	0.27	12.70	80.90	7.7
23.03		6.2	0.31	11.20	69.44	7.7
24.03		6.2	0.08	8.81	54.36	7.8
25.03		6.0	1.10	9.72	57.93	7.4
26.03				10.80		7.5
27.03				11.20		8.0
28.03		5.8	0.31	10.23	59.64	7.8
29.03		6.0	0.35	10.70	63.77	8.2
30.03		5.6	0.27	10.23	57.60	8.2
31.03		5.7	0.19	9.86	56.60	7.9
01.04		5.9	0.12	9.15	53.53	7.7
02.04		5.9	1.25	8.87	51.89	7.6
03.04		5.5	0.16	8.21	48.77	7.5
04.04		6.1	1.63	8.31	51.02	7.4
05.04		5.2	1.25	7.41	38.83	7.4
06.04		5.0	0.00	7.10	35.50	7.6
07.04		5.7	0.00	6.96	39.53	7.5
08.04		5.8	0.00	5.93	34.10	7.0
09.04		5.6	0.62	5.68	31.75	7.0
10.04		5.8	0.00	5.68	32.72	7.3
11.04		5.4	0.62	6.17	33.07	7.2
03.02.1977	0h	10.15	0.86	6.50	65.98	7.7
03.02	1h	11.29	0.54	6.40	72.26	6.3
03.02	2h	10.61	0.39	6.40	67.90	7.0
04.02	22h30	10.61	0.23	11.50	122.02	7.3
04.02		9.41	0.27	14.00	131.74	7.7
05.02		9.66	4.36	17.70	170.98	7.1
05.02		9.55	3.97	21.00	200.55	6.1
05.02		12.42	2.25	27.00	335.34	6.4
05.02		17.25	0.51	41.50	715.88	5.6
05.02		22.37	0.31	55.10	1232.59	5.0
05.02		24.91	0.54	58.70	1462.22	4.5
05.02		26.33	0.75	61.90	1629.83	4.3
05.02		27.76	0.54	64.10	1779.42	3.8
05.02		28.90	0.35	65.10	1881.39	3.8
05.02		29.76	0.35	64.80	1928.45	4.3
05.02		30.61	0.31	63.90	1955.98	4.1
05.02		30.91	0.35	62.10	1919.51	4.3
05.02		31.61	0.12	60.30	1906.08	3.9
05.02		31.20	0.12	58.40	1822.08	4.2
05.02		31.89	0.08	56.60	1804.97	4.0
05.02		32.17	0.27	54.70	1759.70	4.2
05.02		32.46	0.00	52.90	1717.30	4.0
05.02		32.46	0.12	51.90	1684.67	4.6
05.02		32.60	0.12	49.20	1603.92	4.2
05.02		32.02	0.08	47.90	1533.76	4.0
05.02		31.90	0.04	46.90	1496.11	4.0
05.02		31.48	0.08	46.00	1448.08	4.2
05.02		31.61	0.16	45.10	1425.61	4.1
05.02		31.63	0.04	44.20	1398.05	4.2
06.02	0h30	31.07	0.00	43.20	1342.22	4.2
06.02		31.62	0.04	42.50	1343.85	4.3
06.02		31.62	0.08	41.40	1309.07	4.1
06.02		31.62	0.04	40.50	1280.61	4.1
06.02		31.21	0.08	39.70	1239.04	4.1
06.02		31.28	0.08	38.8	1229.18	4.3
06.02		31.22	0.08	38.00	1186.36	4.1
06.02		31.21	0.04	37.10	1157.89	4.1
06.02		31.22	0.04	36.20	1130.16	4.3

DATE	HEURE	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/ℓ	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/ℓ	DEBIT ℓ/s	FLUX N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/s	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %
06.02.1977		31.48	0.00	35.40	1114.39	4.0
06.02		31.34	0.04	34.50	1081.23	3.8
06.02		30.76	0.19	38.70	1190.41	4.4
06.02	12h20	29.35	2.26	47.90	1405.87	4.4
06.02		30.58	0.70	54.70	1672.73	4.9
06.02		32.10	0.08	89.20	2863.32	4.2
06.02	16h10	29.55	0.16	118.00	3486.90	3.8
06.02		30.58	0.12	114.00	3486.12	3.8
06.02		32.47	0.12	107.00	3474.29	4.2
06.02		32.95	0.12	101.00	3329.95	4.0
06.02		34.08	0.00	94.00	3203.52	4.0
06.02		34.87	0.16	88.60	3089.48	3.9
06.02		35.34	0.86	83.80	2961.49	4.1
06.02		34.00	0.16	79.40	2699.60	3.9
08.02	9h30	30.54	0.16	37.50	1145.25	4.5
08.02	11h30	30.40	0.12	36.30	1103.52	4.5
08.02	13h30	30.11	0.08	35.10	1056.86	4.5
08.02	15h30	29.97	0.16	33.90	1015.98	4.4
08.02	17h30	30.55	0.12	32.70	998.98	4.2
08.02	23h30	27.10	0.12	29.80	807.58	5.1
09.02	3h30	26.40	0.58	29.00	765.60	4.5
09.02	5h30	27.99	0.16	29.10	814.51	5.4
09.02	7h30	27.84	0.08	29.80	826.63	4.8
09.02	9h30	27.83	0.12	31.00	862.73	4.3
09.02	11h30	27.35	0.35	34.80	951.78	4.6
09.02	13h30	28.24	0.20	38.90	1098.53	4.6
01.03		18.72	0.00	68.80	1287.93	4.8
02.03		20.68	0.00	47.20	976.09	5.0
03.03		22.92	0.12	56.60	1297.27	4.5
04.03		22.47	0.12	50.80	1141.47	4.4
05.03		20.71	<0.04	35.20	728.99	5.1
06.03		20.12	0.04	29.70	597.56	5.2
07.03		20.27	0.04	25.50	516.88	5.3
08.03		13.80	0.02	16.90	233.22	6.6
09.03		13.80	0.03	21.10	291.15	6.5
10.03		13.87	0.02	16.90	234.40	5.7
10.03		12.85	0.07	16.60	213.47	6.9
10.03		11.03	0.10	18.40	202.95	5.4
11.03	9h	10.30	3.25	42.10	433.63	4.3
11.03	11h	16.40	1.75	87.20	1430.08	4.6
11.03	13h	20.80	2.33	120.00	2496.00	4.3
11.03	14h	22.40	1.36	115.00	2576.00	4.6
11.03	15h	23.58	0.31	108.00	2546.64	4.5
11.03	16h	24.55	0.20	102.00	2504.10	4.2
11.03	17h	25.75	0.26	98.70	2541.52	3.8
11.03	18h	25.09	0.33	95.70	2401.11	4.2
11.03	19h	25.92	0.28	91.90	2382.05	4.2
11.03	20h	26.32	0.15	88.40	2326.69	4.3
11.03	21h	26.87	1.80	85.00	2283.95	4.1
11.03	22h	27.41	0.07	81.90	2244.88	4.1
11.03	23h	27.70	0.03	78.80	2182.76	4.0
11.03	24h	27.80	0.10	76.50	2126.70	4.3
12.03	1h	28.00	0.27	73.40	2055.20	4.3
12.03	2h	27.50	0.16	71.10	1955.21	4.3
12.03	3h	28.37	0.12	69.20	1963.20	4.2
12.03	4h	31.10	0.97	67.40	2096.14	4.1
12.03	5h	31.26	0.08	66.30	2072.54	4.3
12.03	6h	31.11	0.39	65.20	2028.37	4.3
13.03	0-8	17.60	0.02	57.40	1010.24	5.1
13.03	8-16	17.60	0.00	68.80	1210.88	5.8
13.03	16-24	18.50	0.00	79.30	1467.05	5.4
14.03	0-8	18.04	0.02	102.80	1854.51	5.7
14.03	8-16	17.37	0.00	114.00	1980.18	5.5
14.03	16-24	18.30	0.05	99.20	1815.36	5.5



## ANALYSES CHIMIQUES ET ISOTOPIQUES DES EAUX SOUTERRAINES

## BEAUCE

N.S. : Niveau statique : profondeur en mètres du niveau de l'eau au repos ( # : niveau dynamique )

NAPPE CAPTEE : CB : Calcaires de Beauce  
Brie : Calcaires de Brie  
SF : Sables de Fontainebleau  
Ch : Calcaires de Champigny  
CM : Calcaires de Morancez

Le numéro d'ordre ( 1ère colonne ) renvoie à la figure 3-44 qui situe la localisation du prélèvement.

N° D'ORDRE	COMMUNE	NAPPE CAPTEE	DATE DU PRELEVEMENT	N.S. m	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	Cl <sup>-</sup> mg/l	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup> mg/l	Na <sup>+</sup> mg/l	K <sup>+</sup> mg/l	O <sub>2</sub> mg/l	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %	<sup>3</sup> H u.T.
1	BATILLY	CB captif	16.03.1976	7.8	<0.05	7.95	13	3.0	5.3	1.9	15	5.4	<1
2	CORBELLES	CB	16.03.1976		"	4.1	17	4.5	8.0	2.5	8	5.7	<1
3	NARGIS	Craie	16.03.1976	22.0	"	12.7	27	24.0	6.4	1.7	15	3.1	24 ± 3
4	TREILLES	CB (s.l.)	16.03.1976	12.9	"	29.5	49	39.0	22.4	13.6	14	4.1	43 ± 4
5	PUISEAUX	Ch captif	16.03.1976		"	7.3	16	23.0	8.3	1.8	9	4.9	<1
6	BOYNES	CB captif	16.03.1976		"	13.4	18	2.0	6.0	0.9	16	3.2	<1
7	DESMONTS	Ch captif	16.03.1976	62.0	"	4.8	25	4.0	5.6	1.8	14	4.5	<1
8	LA BROSSE	Brie captif	16.03.1976	51.0	"	6.1	12	6.0	6.2	2.7	11	4.3	3 ± 1
9	MALESHERBES	SF + Brie	16.03.1976		"	7.95	13	6.5	5.9	3.4	14	3.8	<1
10	SERMAISE	CB	16.03.1976		"	9.1	14	5.5	6.2	1.6	17	3.3	<1
11	ORMES	CB	05.04.1976	17.7	"	3.4	12	17.5	6.4	2.0	8	4.4	<1
12	EPIEDS	CB	05.04.1976		"	13.4	13	7.5	7.7	2.7	16	3.0	12 ± 2
13	VILLENEUVE sur CONIE	CB	05.04.1976	7.6	"	6.8	18	7.5	5.4	1.0	13	2.6	<1
14	COINCES	CB	05.04.1976	17.4	"	10.0	11	5.0	6.8	1.9	13	3.6	2 ± 1
15	BOULAY les BARRES	CB	05.04.1976	21.4	"	9.1	14	5.5	6.6	2.3	14	3.6	<1
16	CHEVILLY	CB - Craie	05.04.1976		"	5.5	14	7.5	6.0	1.9	8	3.9	<1
17	DAMBON	CB	05.04.1976	16.6	"	10.2	27	9.0	7.4	3.0	13	4.0	5 ± 2
18	CHAUSSY	CB	18.03.1976	20.8	"	7.5	13	7.0	6.5	2.5	16	4.3	<1
19	TRINAY	CB	18.03.1976	17.5	"	8.6	17	5.5	7.0	3.0	12	4.1	<1
20	AUTRUY	CB	17.03.1976	24.8	"	10.0	14	5.5	7.5	3.9	12	2.9	5 ± 2
21	OUTARVILLE	CB	17.03.1976	25.5	"	11.4	16	8.0	8.9	4.1	15	4.5	7 ± 2
22	GOMMENVILLE	CB	17.03.1976	23.0	"	9.5	14	7.0	7.5	2.6	16	3.3	5 ± 2
23	FRESNAY	CB	17.03.1976	23.0	"	11.4	15	5.0	6.7	2.1	17	3.2	3 ± 1
24	OUARVILLE	CB+SF+Craie	17.03.1976		"	11.8	20	9.0	10.0	4.1	9	4.2	10 ± 2
25	AUNAY	CB	17.03.1976		"	4.3	15	7.5	7.3	0.9	12	3.6	4 ± 1
26	BEVILLE le COMTE	Craie	18.03.1976		"	10.7	30	68.0	14.0	13.4	13	5.9	32 ± 4
27	SOURS	Craie	18.03.1976	23.5	"	3.9	11	9.5	7.4	0.6	15	3.5	2 ± 1

N° D'ORDRE	COMMUNE	NAPPE CAPTEE	DATE DU PRELEVEMENT	N.S.	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	O <sub>2</sub>	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	3H			
				m	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	‰	u.t.		
28	GIROLLES	Craie	11.02.1976	19.9	<0.05	12.3	26.0	25.0	6.6	0.6	15	4.4	22 ± 3			
			10.03	20.2	"	12.2	25.1	30.3	7.7	1.1	11	4.4	20 ± 3			
			07.04	"	"	13.4	35.0	25.0	8.3	1.4	12	4.5	22 ± 3			
			05.05	"	"	9.7	30.1	22.8	8.0	1.0	9	4.4	22 ± 3			
			02.06	"	"	10.1	26.6	28.0	7.4	1.0	8	4.6	1 ± 3			
			30.06	"	"	11.8	27.5	11.5	6.9	1.1	7	-	-			
			28.07	"	"	13.6	22.3	24.0	7.5	1.1	7	4.6	26 ± 3			
			25.08	"	"	12.9	18.9	20.0	7.5	1.2	8	-	-			
			22.09	"	"	12.7	37.8	17.7	7.5	1.2	10	3.6	37 ± 4			
			20.10	"	"	14.0	20.6	23.0	7.8	1.1	8	4.6	21 ± 3			
			17.11	"	"	12.2	35.5	25.0	8.1	1.1	8	4.3	20 ± 3			
			19.01.1977	"	"	11.4	28.4	24.8	8.3	1.3	5	4.4	11 ± 2			
			29	PRASVILLE	Craie	11.02.1976	24.9	<0.05	14.7	19.6	5.0	8.0	0.6	16	3.1	10 ± 2
						10.03	25.0	"	15.6	25.9	7.0	8.4	0.8	16	3.0	3 ± 1
						07.04	24.9	"	15.9	26.0	10.0	8.6	1.1	13	3.1	8 ± 2
05.05	-	"				13.5	25.5	3.2	8.6	0.7	10	3.0	3 ± 1			
02.06	25.5*	"				12.9	24.8	<2	8.0	0.7	10	2.8	8 ± 2			
30.06	25.8*	"				10.4	20.6	4.0	7.5	1.1	10	-	-			
28.07	26.1	"				16.1	18.2	1.0	7.8	0.7	10	2.6	9 ± 2			
25.08	26.5	"				13.4	25.8	3.5	7.4	0.8	9	-	-			
22.09	26.5	"				14.0	29.2	3.0	7.2	0.8	11	2.3	16 ± 3			
20.10	26.5	"				16.1	18.9	2.0	7.5	0.8	8	2.4	8 ± 2			
17.11	26.5	"				12.8	22.7	<0.4	8.1	0.4	9	3.0	7 ± 2			
23.12	26.2	"				16.8	14.4	1.4	8.1	0.5	9	2.5	8 ± 2			
19.01.1977	26.3	"				15.7	24.9	4.8	8.3	0.6	6	2.1	6 ± 2			
16.02	26.1*	"				13.9	26.3	0.8	6.2	1.0	7	2.5	9 ± 2			
16.03	26.4*	"				15.9	28.5	4.2	7.4	0.6	8	2.3	12 ± 2			
21.04	25.8	"				20.5	21.3	1.0	7.5	0.7	11	2.2	9 ± 2			
30	VOVES	Craie				03.11.1975			7.7						4.4	
			30.11			7.3							4.6			
			16.12			7.4							4.9			
			09.01.1976			7.3							4.7			
			21.01			7.4							4.6			
			11.02	24.72	<0.05	7.3	17.3	8.5	8.4	0.9	15		4.6	4 ± 1		
			21.02			7.4							4.6			
			24.02			6.5							4.9			
			10.03	24.80	<0.05	6.9	13.4	13.0	9.0	1.4	15		4.6	<1		
			07.04	24.36	"	7.7	17.0	9.5	9.5	1.8	13		4.4	6 ± 2		
			05.05	24.74	"	6.5	15.9	13.7	9.2	1.2	11		4.5	<1		
			30.06	25.44*	"	4.7	13.7	4.0	8.5	1.4	10		-	-		
			28.07	25.68*	"	7.8	17.9	4.0	8.8	1.3	5		5.7	6 ± 2		
			25.08	26.11	"	5.3	18.9	7.0	8.5	1.2	9		-	6 ± 2		
			22.09	26.00	"	7.0	29.2	6.3	8.3	1.2	4		4.6	13 ± 2		
			20.10	25.92	"	8.1	13.7	4.0	8.9	1.3	4		3.9	2 ± 1		
			17.11	25.93	"	5.7	8.2	3.2	9.1	0.8	3		4.1	2 ± 1		
16.12			7.4							4.8						
23.12	26.15	<0.05	7.8	8.4	5.6	8.9	0.8	7		4.5	2 ± 1					
19.01.1977	26.00	"	8.4	17.8	3.2	9.1	0.9	12		4.3	2 ± 1					
16.02	24.95	"	6.7	8.5	3.0	7.2	1.4	7		4.9	2 ± 1					
16.03	24.90	"	6.4	17.8	7.0	8.6	1.3	3		4.7	3 ± 1					
21.04	21.82	"	9.3	7.1	5.8	8.4	1.6	5		4.9	6 ± 2					
31	CHILLEURS aux BOTS	CB	25.02.1975			3.9						7.7	4 ± 1			
			11.02.1976	14.70	<0.05	3.3	17.6	30.5	8.0	2.0	12		8.8	6 ± 2		
			10.03	14.80	"	3.9	15.8	40.5	8.6	2.5	11		8.7	4 ± 1		
			07.04	14.60	"	4.3	20.0	30.5	8.5	3.4	10		8.5	6 ± 2		
			05.05	14.50	"	3.4	12.4	27.1	8.8	2.6	8		8.6	9 ± 2		
			02.06	14.75	"	3.8	14.2	38.0	8.2	2.4	6		8.7	7 ± 2		
			30.06	15.27**	"	3.4	17.2	26.0	7.7	2.7	7		-	-		
			28.07	14.51	"	4.3	8.6	34.0	8.2	2.4	8		8.4	13 ± 2		
			25.08	15.14	"	3.0	18.9	22.0	8.2	2.9	6		-	9 ± 2		
			22.09	15.19	"	3.3	27.5	34.0	8.0	2.9	5		8.4	32 ± 4		
			20.10	15.35	"	4.0	9.6	29.0	8.2	3.2	2		8.3	10 ± 2		
			17.11	15.30	"	4.1	13.6	28.0	8.6	1.8	3		8.3	10 ± 2		
			22.12	15.40**	"	3.8	9.4	28.0	8.1	2.1	3		8.2	9 ± 2		
			19.01.1977	15.01**	"	4.7	17.8	31.6	8.3	2.1	3		7.5	8 ± 2		
			11.02	15.15	"	3.6	8.5	22.0	8.0	2.7	5		7.9	12 ± 2		
			16.03	14.91	"	4.4	17.8	30.6	8.0	2.4	13		8.5	9 ± 2		
			21.04	14.81**	"	4.7	17.8	46.6	8.6	2.5	10		8.2	13 ± 2		
32	COURCELLES	CB	25.02.1975			17.3						4.3	47			
			11.02.1976	14.30	<0.05	13.7	19.6	22.0	11.9	9.3	12		4.7	29 ± 3		
			10.03	15.28	"	15.0	20.6	31.2	12.2	10.0	12		4.3	36 ± 4		
			07.04	15.36	"	14.8	27.0	27.0	11.4	13.1	11		3.9	36 ± 4		
			02.06	19.56**	"	11.8	18.8	15.0	9.6	7.0	8		4.2	21 ± 3		
			30.06	25.77**	"	9.7	22.3	8.5	8.4	8.1	7		-	-		
			28.07	25.91**	"	14.3	20.6	10.0	9.9	8.1	7		4.1	28 ± 3		
			25.08	22.74**	"	12.2	22.3	14.0	8.5	8.2	8		-	23 ± 3		

N° D'ORDRE	COMMUNE	NAPPE CAPTEE	DATE DU PRELEVEMENT	N.S. m	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/l	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	Cl <sup>-</sup> mg/l	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup> mg/l	Na <sup>+</sup> mg/l	K <sup>+</sup> mg/l	O <sub>2</sub> mg/l	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %	<sup>3</sup> H U.T.
32	COURCELLES (suite)	CB	22.10.1976	20.74*	<0,05	14.3	10.3	16.0	10.0	8.6	8	4.1	21 ± 3
			17.11	21.18*	"	13.2	11.8	10.8	9.9	5.4	6	4.2	24 ± 3
			23.12	23.45*	"	12.7	12.4	12.0	10.4	5.7	7	4.2	23 ± 3
			19.01.1977	20.89	"	13.9	21.3	16.0	10.6	6.7	7	4.2	25 ± 3
			15.02	19.75	"	13.2	15.6	18.4	8.7	10.2	8	3.9	27 ± 3
			16.03	-	"	14.1	24.9	20.0	9.2	7.4	9	4.0	15 ± 2
			21.04	18.95	"	16.0	17.8	27.0	10.0	7.0	11	3.7	23 ± 3
			33	TERMIERS	CB	25.02.1975			15.9				
11.02.1976		<0,05				16.5	28.0	6.0	8.4	0.3	15	3.1	21 ± 3
10.03		"				18.6	27.4	8.2	8.6	0.6	14	3.0	13 ± 2
07.04		"				18.6	32.0	8.5	9.5	0.8	12	3.3	28 ± 3
05.05		"				11.1	26.6	8.5	8.5	0.4	11	2.9	15 ± 2
02.06		"				13.7	22.3	2.0	7.6	0.4	10	2.9	16 ± 3
30.06		"				14.4	22.3	4.5	6.9	0.5	10	-	-
28.07		"				18.2	22.3	1.0	7.7	0.6	11	3.0	20 ± 3
25.08		"				10.4	18.9	4.5	7.0	0.5	8	-	-
22.09		"				16.0	29.2	5.6	7.5	0.5	7	3.3	31 ± 4
20.10		"				19.7	15.6	4.0	8.0	0.6	5	3.2	19 ± 4
17.11		"				21.2	13.6	1.2	8.6	0.4	10	3.5	28 ± 4
23.12		"				20.5	16.0	1.4	8.8	0.4	12	3.0	21 ± 4
19.01.1977		"				18.8	23.4	3.6	8.5	0.5	13	3.1	21 ± 4
16.02		"				14.5	22.7	0.8	6.5	0.8	9	2.8	29 ± 4
16.03		"				19.8	28.4	4.2	7.9	0.8	12	3.0	25 ± 4
21.04		"	20.1	24.8	6.4	7.5	0.5	6	2.5	12 ± 2			
34	BEAUVILLIERS	CM + Craie	21.01.1976			16.7						8.5	
			11.02		<0,05	25.0	43.7	42.0	37.4	38.0	12	8.6	54 ± 5
			10.03		"	25.1	40.8	53.0	34.6	38.0	15	8.2	47 ± 5
			07.04		"	26.8	45.0	43.0	34.0	43.0	13	7.9	50 ± 5
			05.05		"	15.8	44.3	31.7	31.8	48.0	11	7.8	47 ± 5
			02.06		"	24.9	42.6	42.0	28.6	42.0	8	7.4	47 ± 5
			22.09		"	22.7	51.6	44.0	29.9	41.6	3	7.1	47 ± 5
			23.12		"	25.9	25.0	42.0	32.0	31.0	5	7.6	47 ± 5
			16.02.1977		"	33.5	40.5	43.0	32.2	47.2	14	7.8	45 ± 5
			16.03		"	31.1	39.1	47.6	30.8	50.0	13	7.7	36 ± 5
			21.04		"	28.4	42.6	54.0	30.5	40.0	11	7.2	43 ± 5

ANALYSES CHIMIQUES ET ISOTOPIQUES DES EAUX SOUTERRAINES

**BRIE**

N.S. : Niveau statique

NAPPE CAPTEE : Brie : Calcaires de Brie

Ch : Calcaires de Champigny

Le numéro d'ordre ( 1ère colonne ) renvoie à la figure 3-44 qui situe la localisation du prélèvement.  
On consultera également le tableau 3-XXIII qui rappelle les caractéristiques des ouvrages où sont effectués les prélèvements.

N° D'ORDRE	COMMUNE	NAPPE CAPTEE	DATE DU PRELEVEMENT	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	<sup>3</sup> H
				mg/l	‰				
35	FONTENAY TRESIGNY	Brie	21.11.1974	12.7	5.4				
			19.12	9.8	5.0				
			19.01.1975	10.9	5.5				
			14.02	10.9	5.8				
			24.04	12.0	5.5				
			23.05	9.0	5.0				
			26.06	9.8	5.2				
			27.08	11.7	6.0				
			29.09	10.0	6.1				
			23.10	9.0	5.8				
			24.11	9.9	5.4				
			29.12	10.3	5.6				
			22.01.1976	9.6	5.2				
			11.02	7.9	5.7	24.9	1.2	16.0	37 ± 4
			24.02	8.0	5.9				
			11.03	7.1	5.7	24.8	1.5	16.7	39 ± 4
			08.04	9.1	5.6	27.0	2.2	16.7	40 ± 4
			06.05	7.8	5.4	23.7	1.5	17.2	33 ± 4
			03.06	7.2	5.8	23.1	1.5	15.8	38 ± 4
			01.07	5.8	-	25.8	2.0	16.2	-
			29.07	10.7	5.3	22.3	1.8	16.3	40 ± 4
			26.08	11.0	-	20.6	1.8	16.2	37 ± 4
			23.09	9.4	5.7	37.8	2.0	16.2	44 ± 4
			21.10	10.0	5.7	20.6	1.8	16.9	38 ± 4
			18.11	8.2	5.4	17.3	1.0	16.1	30 ± 4
			24.12	9.3	5.1	14.4	1.3	17.1	31 ± 4
			20.01.1977	11.4	5.6	24.9	1.4	17.0	35 ± 4
17.02	8.3	6.0	15.6	1.7	13.3	42 ± 4			
17.03	11.8	5.3	28.4	1.8	15.6	42 ± 4			
22.04	12.0	5.5	21.3	1.6	15.6	41 ± 4			
36	ROSAY - VILPRE	Brie	21.11.1974	12.3	4.1				
			19.12	13.4	3.8				
			19.01.1975	14.1	4.0				
			14.02	13.7	3.8				
			25.03	19.0	3.5				
			24.04	15.1	3.9				
			23.05	10.3	3.7				
			23.06	12.2	4.3				
			27.08	11.9	3.7				
			26.09	11.0	4.3				
			23.10	10.4	4.2				
			24.11	11.6	3.9				
			29.12	11.6	3.7				

N° D'ORDRE	COMMUNE	NAPPE CAPTEE	DATE DU PRELEVEMENT	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	3H			
				mg/l	‰	mg/l	mg/l	mg/l	U.T.			
36	ROSAY - VILPRE (suéve)	Brie	22.01.1976	11.3	4.0							
			11.02	10.6	4.3	47.9	1.6	10.4	75 ± 6			
			24.02	10.7	4.1							
			11.03	12.3	4.1	46.0	1.5	11.7	66 ± 6			
			08.04	12.3	4.3	48.0	2.3	11.5	75 ± 6			
			06.05	9.6	4.2	49.7	1.5	12.0	71 ± 6			
			03.06	10.2	3.9	47.5	1.5	11.2	69 ± 6			
			01.07	5.9	-	44.7	2.0	10.8	-			
			29.07	11.9	3.6	41.2	1.7	11.3	69 ± 6			
			26.08	9.5	-	36.1	1.9	11.1	65 ± 6			
			22.09	11.4	3.8	48.1	1.9	11.0	70 ± 6			
			21.10	12.7	4.1	35.4	1.8	11.6	72 ± 6			
			18.11	12.0	4.1	39.1	1.5	11.7	67 ± 6			
			24.12	11.4	3.4	27.4	1.3	11.8	65 ± 6			
			20.01	13.9	3.7	49.7	1.4	12.1	60 ± 6			
			17.02	10.7	2.9	51.1	1.9	9.7	86 ± 7			
			17.03	14.3	3.9	53.3	1.6	11.0	52 ± 5			
			22.04	12.8	3.3	49.7	1.6	11.1	69 ± 6			
			37	MEIGNEUX (A.E.P.)	Brie	22.01.1975	12.3	5.3				121 ± 10
			38	MORTCERF	Brie	21.01.1975	0.8	5.0				44 ± 4
39	CHAMPEAUX	Brie	22.01.1975	7.5	6.3							
			11.02.1976	10.9	6.6	65.2	4.0	16.0	103 ± 8			
			11.03	13.6	6.3	57.5	4.5	17.0	82 ± 7			
			08.04	12.5	6.3	68.0	5.2	16.6	90 ± 8			
			06.05	7.7	6.3	63.9	4.8	17.9	87 ± 7			
			03.06	10.0	6.7	65.6	4.2	16.2	89 ± 7			
			01.07	7.3	-	34.4	5.0	16.2	-			
			29.07	12.4	6.1	55.0	4.8	16.6	95 ± 8			
			26.08	11.4	-	53.3	5.4	16.9	84 ± 7			
			22.09	11.8	6.2	67.0	5.9	16.6	88 ± 7			
			21.10	13.6	6.8	51.6	7.0	17.7	86 ± 7			
			18.11	12.3	6.4	61.0	4.7	19.5	88 ± 7			
			24.12	12.5	6.5	36.4	5.4	18.6	79 ± 6			
			20.01.1977	14.2	7.1	63.9	6.4	19.0	89 ± 7			
			17.02	12.0	6.7	61.8	7.6	18.0	81 ± 7			
			17.03	16.1	8.9	63.9	14.2	20.8	93 ± 8			
22.04	17.7	7.5	63.9	12.2	21.0	97 ± 8						
40	MEIGNEUX Saint JULES	Ch	22.01.1975	8.8	5.3				114 ± 9			
41	JOUY le CHATEL	Ch (N.E. moyenn. ≈ 16 m)	22.01.1975	0.6	8.1				<1			
			26.02	1.0	8.6							
			25.03	1.0	8.6							
			11.02.1976	0.5	8.1	10.7	0.9	5.5	3 ± 1			
			11.03	0.5	8.5	7.8	1.2	5.9	3 ± 1			
			08.04	1.1	8.4	13.0	1.5	5.4	6 ± 2			
			06.05	1.0	8.0	11.7	1.1	6.0	<1			
			03.06	2.0	7.1	10.7	0.8	5.6	4 ± 1			
			01.07	1.1	-	12.0	1.4	5.5	-			
			29.07	1.0	7.5	6.2	1.1	5.8	6 ± 2			
			26.08	1.1	-	10.3	1.1	5.6	6 ± 2			
			23.09	0.8	7.3	25.8	1.1	5.5	7 ± 2			
			21.10	1.0	8.0	5.2	1.1	5.9	<1			
			18.11	1.2	8.0	2.7	0.8	6.2	<1			
			22.12	1.2	7.6	2.7	0.8	6.3	<1			
			20.01	1.6	7.4	14.1	1.0	6.4	<1			
			17.02	1.2	7.2	12.1	1.0	4.8	6 ± 2			
17.03	1.4	7.6	17.8	1.2	5.8	6 ± 2						
22.04	1.3	7.2	10.7	1.0	5.9	5 ± 2						
42	Saint LOUP de NAUD	Ch	22.01.1975	6.0	6.5							
			25.02	8.8	4.6							
43	Le CHÂTELET	Ch	22.01.1975	1.9	9.4				27 ± 3			
44	VILLENEUVE les BORDES	Ch	22.01.1975	1.0	9.6				28 ± 3			
45	ROUILLY	Ch	22.01.1975	8.2	5.9				25 ± 3			
46	BECHERELLES	Ch	21.11.1974	3.8	5.2							
			19.12	3.5	5.4							
			19.01.1975	3.5	4.1				18			
			25.03	5.6	4.4							
			24.04	2.0	5.0							

N° D'ORDRE	COMMUNE	NAPPE CAPTEE	DATE DU PRELEVEMENT	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	δ <sup>15</sup> N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> %	Cl <sup>-</sup> mg/l	K <sup>+</sup> mg/l	Na <sup>+</sup> mg/l	<sup>3</sup> H U.T.
46	BECHERELLES ( <i>suète</i> )	Ch	22.05	2.8	5.7				
			23.06	2.5	4.6				
			27.08	2.4	5.3				
			26.09	2.5	5.6				
			23.10	2.1	5.5				
			24.11	2.4	5.6				
			29.12	1.8	5.1				
			22.01.1976	2.2	5.0				
			24.02	1.8	5.4				
			47	BRIE COMTE ROBERT (A.E.P.)	Ch	21.11.1974	6.3	11.5	
19.12	7.0	14.9							
25.02.1975	5.9	12.0							
06.05	10.6	17.0							
22.05	6.9	9.3							
26.09	6.4	12.5							
23.10	5.9	11.3							
24.11	6.3	11.4							
29.12	6.1	11.6							
22.01	5.6	11.8							
24.02	7.0	14.4							
48	BRIE COMTE ROBERT (S.N.C.F.)	Ch	21.11.1974	6.3	11.6				
			19.12	5.3	10.7				
			19.01.1975	7.4	11.0				
			14.02	7.0	21.0				
			23.06	6.0	12.0				
			27.08	6.8	12.4				
			23.10	5.3	12.4				
			24.11	5.8	12.5				
			29.12	5.6	12.4				
			22.01.1976	6.2	12.3				
49	BRIE COMTE ROBERT <i>Rosieriste</i>	Ch	22.01.1975	9.0	8.6				
50	BRIE SANSALLE	Ch	25.02.1975	7.7	19.9				
51	<i>Saint JUST</i>	Ch	22.01.1975	2.7	6.8			7 ± 2	
52	OZOUER <i>le VOULGIS</i>	Ch	26.02.1975	3.3	14.0				
53	BOMBON	Ch	21.11.1974	14.8	8.4				
			19.12	17.6	10.0				
			19.01.1975	21.5	9.5				
			14.02	21.5	9.9				
			25.03	21.8	6.9				
			24.04	24.6	7.1				
			23.05	14.7	6.7				
			23.06	13.2	6.1				
			27.08	15.9	5.8				
			26.09	12.6	6.4				
			23.10	15.2	7.5				
			24.11	13.2	6.5				
			29.12	12.4	6.4				
			22.01.1976	12.6	6.3				
			24.02	8.4	6.0				

M.E.



## SOMMAIRE



# S O M M A I R E

	Pages
Avant - propos	
<b>CHAPITRE 1</b> : Le cycle de l'azote et le traçage isotopique naturel	
1.1. Introduction - Généralités.....	1
1.1.1. Caractéristiques chimiques de l'azote. Diagrammes de stabilité.....	3
1.1.2. Le cycle de l'azote.....	4
1.1.3. Introduction à la Géochimie isotopique de l'azote.....	16
1.1.4. Notation isotopique. Unités d'expression des abondances isotopiques naturelles.....	21
1.2. Les fractionnements isotopiques : considérations théoriques, définitions, mesure. Notion d'enrichissement isotopique.....	23
1.2.1. Introduction.....	23
1.2.2. Bref rappel théorique sur le fractionnement isotopique.....	23
1.2.3. Les processus.....	27
A. Les échanges isotopiques intermoléculaires.....	27
B. Les effets cinétiques.....	29
1.2.4. Expression des fractionnements et enrichissements isotopiques. Cas des processus unidirectionnels irréversibles simples.....	30
A. Evolution de la composition isotopique du substrat.....	31
B. Composition isotopique du produit accumulé (cas d'un système clos).....	33
C. Composition isotopique du produit instantané (cas d'un système ouvert)....	34
D. Relation avec la cinétique des réactions.....	36
1.2.5. Réflexion sur les fractionnements isotopiques associés à des processus complexes, par exemple des processus biologiques.....	37
1.2.6. Exemples concrets de mesures de fractionnement isotopique.....	38
1.2.7. Conclusions.....	45
1.3. Méthodes analytiques.....	47
1.3.1. Introduction.....	47
1.3.2. Préparation des échantillons.....	47
1.3.3. Mesures au spectromètre de masse.....	52
1.3.4. Préparation des étalons. Précision analytique.....	55
1.3.5. Conversion des unités $\delta^{15}\text{N}$ en abondance absolue.....	58
1.3.6. Corrections.....	61
<b>CHAPITRE 2</b> : Le comportement des isotopes dans le milieu naturel : les fractionnements isotopiques associés aux principaux processus du cycle de l'azote. Les abondances isotopiques naturelles de l'azote comme traceurs de fonctionnement et de sens d'évolution des systèmes.....	63
2.1. Fractionnement isotopique au cours de la fixation biologique de l'azote atmosphérique.....	65
2.1.1. Mesure des fractionnements isotopiques entre l'azote atmosphérique et les parties aériennes de diazotrophes symbiotiques.....	65
2.1.2. Mesure du fractionnement isotopique associé à la fixation de l'azote atmosphérique chez une bactérie libre.....	68
2.1.3. Considérations théoriques sur le fractionnement isotopique à la fixation..	69
2.1.4. Mesure du fractionnement isotopique à la fixation au cours de la croissance d'un couple diazotrophe symbiotique.....	70
2.1.5. Mesure des fractionnements isotopiques au cours de la fixation pour différents organes de légumineuses inoculées.....	72
2.1.6. Liaison entre le métabolisme de la fixation et l'enrichissement isotopique des nodules.....	74
2.1.7. Conclusions.....	82
2.2. Fractionnements isotopiques associés aux processus de minéralisation et de nitrification.....	85

	Pages
2.2.1. Mesure de l'effet isotopique associé à la nitrification.....	85
A. Effet isotopique au cours de la nitrification par <i>Nitrosomonas europaea</i> en culture pure.....	86
B. Fractionnement isotopique au cours de la nitrification dans un sol en incubation.....	88
C. Conclusions.....	95
2.2.2. Variations de la composition isotopique naturelle en azote-15 de l'azote minéral apparu dans les sols, en incubation et au champ.....	97
A. En sols carbonatés.....	97
B. Etude de la composition isotopique des nitrates au drainage d'un sol de limon en case lysimétrique.....	118
C. Discussion.....	120
2.2.3. Conclusions.....	127
2.2.4. Composition isotopique des nitrates issus de la minéralisation au champ de composés organiques aisément minéralisables : application à la mesure de la vitesse de transfert des nitrates dans la zone non saturée en mi- lieu crayeux.....	128
3. Les effets isotopiques associés aux processus de dénitrification dans les sols...	135
2.3.1. Introduction.....	135
2.3.2. Détermination expérimentale des fractionnements isotopiques cinétiques sur l'exemple d'un sol brun calcaire.....	137
2.3.3. Généralisation à différents types de sol.....	146
2.3.4. Conclusions.....	165
2.3.5. Mesure du fractionnement isotopique au cours du processus de dénitrification chimique.....	168
2.3.6. Exemples de mise en évidence de dénitrification <i>in situ</i> grâce au traçage isotopique naturel.....	171
A. Dénitrification au sein d'un puits.....	171
B. Dénitrification au drainage de cases lysimétriques.....	176
4. Fractionnement isotopique associé à l'absorption des nitrates par les végétaux chlorophylliens.....	179
2.4.1. Etude à caractère statistique : mesure du fractionnement isotopique à l'absorption sur des plantes à maturité.....	179
2.4.2. Etude cinétique : fractionnement isotopique d'une plante au cours de la première partie de sa croissance.....	184
2.4.3. Influence de la concentration en nitrate de la solution nutritive sur le fractionnement isotopique.....	190
2.4.4. Interprétation.....	192
2.4.5. Conclusions.....	199
5. Fractionnement isotopique associé au processus de réorganisation.....	201
2.5.1. Réorganisation par cultures pures de micro-organismes.....	201
2.5.2. Réorganisation dans le sol.....	208
2.5.3. Conclusions.....	212
6. Fractionnements isotopiques associés à quelques processus physico-chimiques du cycle de l'azote.....	214
2.6.1. Effet isotopique associé à la volatilisation de l'ammoniac.....	214
2.6.2. Fractionnement isotopique associé à la fixation de l'ammonium sur les colloïdes électronégatifs du sol.....	221
2.6.3. Données bibliographiques relatives à la diffusion et la dissolution de l'azote moléculaire.....	227
7. Enrichissement isotopique de l'azote de la matière organique des sols au cours de son évolution.....	230
2.7.1. Etude de la séquence de sols Morzine-Avoriaz.....	231
2.7.2. Généralisation à l'étude de quelques sols types.....	241

	Pages
2.7.3. Transformations isotopiques de l'azote dans les litières : exemple des litières de hêtre.....	246
2.7.4. Variations de l'abondance naturelle en <sup>15</sup> N dans différentes fractions organiques du sol.....	250
A. Fractionnement granulométrique.....	250
B. Composition isotopique de l'azote des fractions organiques hydrolysables et du résidu d'hydrolyse.....	258
C. Composition isotopique de l'azote des fractions organiques extractibles en milieu alcalin et de l'humine.....	261
D. Conclusions - Interprétations.....	269
2.7.5. Influence de la mise en culture des sols sur les teneurs en <sup>15</sup> N de la matière organique.....	272
2.7.6. Conclusions générales.....	285
2.8. Conclusions sur le chapitre.....	288
<b>CHAPITRE 3</b> : Les abondances isotopiques naturelles de l'azote, moyen de diagnostic de l'état du milieu naturel : applications sédimentologiques, hydro- géologiques et agronomiques. Apport de la Géochimie isotopique de l'azote à la détermination de l'origine et à l'estimation de la contribution relative de composés participant à un mélange.....	291
3.1. Utilisation des abondances isotopiques naturelles en <sup>15</sup> N comme traceur d'origine de la matière organique en milieu côtier. Application à l'estimation de la contribution relative de l'apport de matière organique d'origine marine et terrigène dans les vases de la zone côtière belge (estuaire de l'Escaut).....	294
3.1.1. Introduction.....	294
3.1.2. Résultats et discussion.....	295
A. Mesure de la composition isotopique de l'azote de la matière en suspension dans la partie amont de l'estuaire et en mer ouverte.....	295
B. Composition isotopique de l'azote de la matière en suspension dans l'estuaire de l'Escaut.....	301
C. Composition isotopique de l'azote dans la zone d'accumulation de vase.....	305
3.1.3. Généralisation et conclusion.....	308
A. Composition isotopique du plancton marin.....	309
B. Composition isotopique des apports continentaux.....	310
C. Etude de la composition isotopique de l'azote de sédiments deltaïques d'origine continentale (delta de la Mahakam, Indonésie).....	311
3.2. Utilisation des abondances isotopiques naturelles en <sup>15</sup> N comme traceur de l'origine des nitrates dans les systèmes aquifères. Application à l'exemple des aquifères superficiels et souterrains au sud et à l'est de Paris (Brie, Beauce).....	315
3.2.1. Introduction - Généralités.....	317
3.2.2. Le cas des eaux superficielles.....	320
I. Le bassin de Mélarchez.....	320
A. Présentation du bassin.....	320
B. Prélèvements - Echantillonnage.....	323
C. Caractérisation des sources d'azote.....	324
1) Composition isotopique des engrais artificiels.....	324
2) Composition isotopique de l'azote naturel provenant de la minéralisation de la matière organique des sols du bassin de Mélarchez.....	326
D. Résultats obtenus à l'exutoire.....	331
E. Modèle hydrodynamique.....	352
F. Conclusions.....	359
II. Le bassin de l'Yerres.....	361

	Pages
A. Situation géographique, géologique et occupation des sols.....	361
B. Etude de la composition isotopique des nitrates.....	363
1) Prélèvements.....	363
2) Etude des profils en long de la rivière Yerres.....	363
3) Etude du suivi de la rivière à Courtomer et Crosne.....	367
C. Conclusion.....	369
3.2.3. Le cas des eaux souterraines.....	371
I. Application du traçage isotopique naturel par <sup>15</sup> N à la détermination de l'origine des nitrates au drainage d'une parcelle expérimentale en Beauce.....	371
A. Choix de la parcelle , caractéristiques pédologiques et hydrologiques.....	371
B. Equipement de la parcelle.....	377
C. Caractérisation isotopique de l'azote entrant dans le système.....	377
1) Apport d'azote par les pluies.....	377
2) Apport d'azote par les eaux d'irrigation.....	378
3) Apport par les engrais azotés.....	378
4) Caractérisation de la composition isotopique de l'azote minéral biosynthétique provenant des processus de minéralisation-nitrification de la matière organique des sols.....	379
D. Résultats au drainage de la parcelle.....	386
1) Essais de bilans hydriques.....	386
2) Données piézométriques.....	387
3) Composition isotopique des nitrates.....	388
E. Interprétation.....	393
F. Bilans.....	401
II. Application du traçage isotopique naturel par <sup>15</sup> N à la connaissance des sources de la pollution nitrique des aquifères souterrains de la région parisienne.....	404
A. Situation géographique.....	404
B. Données hydrogéologiques et hydrochimiques.....	406
1) Nappe de Beauce.....	407
2) La nappe de l'Eocène supérieur dite "des Calcaires de Champigny".....	407
3) Hydrochimie de ces nappes.....	408
C. Choix des sites de prélèvement.....	412
D. Résultats et interprétation.....	413
3.2.4. Conclusions.....	433
3.3. Utilisation du traçage isotopique naturel par <sup>15</sup> N pour l'estimation du taux d'azote fixé symbiotiquement par les légumineuses.....	442
3.3.1. Introduction.....	442
3.3.2. Principe de la méthode.....	444
3.3.3. Portée et limite de la méthode.....	446
3.3.4. Applications.....	449
3.3.5. Conclusions.....	463
<u>4 - CONCLUSIONS</u> .....	466
Bibliographie.....	I à XVIII
Annexes	
Sommaire	