

TH-020  
ID23

# THESE

DE DOCTORAT D'ETAT ES SCIENCES NATURELLES

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE

PARIS 6

par

**Gérard GUIRAUD**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ES SCIENCES

**CONTRIBUTION DU MARQUAGE ISOTOPIQUE A L'EVALUATION  
DES TRANSFERTS D'AZOTE ENTRE LES COMPARTIMENTS  
ORGANIQUES ET MINERAUX DANS LES SYSTEMES SOL-PLANTE.**

Soutenu le 6 décembre 1984 devant le jury composé de :

**MM. R. LETOLLE**

**Président**

**J.C. FARDEAU**

**A. MARIOTTI**

**H.J. VAN PRAAG**

**G. BOCQUIER**

**J. BOULEGUE**

**Rapporteurs**

**Examineurs**

Pour Yvonne,  
Cécile, Geneviève, Yves.

## AVANT-PROPOS

La rédaction d'une thèse est toujours une tâche longue et souvent difficile. Il est pourtant une page facile à écrire : ce n'est pas la dernière avec le mot fin car il est rare que le travail accompli soit considéré comme achevé mais bien la première où il est possible de rendre justice à tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué peu ou prou à l'élaboration d'un tel document.

Le temps du chercheur (j'ai failli écrire savant, mais existe-t-il des savants ?) solitaire est bien révolu et c'est grâce à de multiples collaborations, à tous les niveaux, qu'il est possible actuellement de faire progresser nos connaissances. Ces collaborations sont d'autant plus nombreuses et efficaces que le temps a passé ; aussi, quand une bonne vingtaine d'années ont été nécessaires pour apporter cette contribution à l'étude du Cycle de l'Azote, il est bien certain que derrière le nom de l'auteur se dessine celui de tous ceux qui l'ont aidé. Il m'est agréable de les remercier ici en priant ceux que la distraction aura écartés de ma plume de bien vouloir excuser cet oubli qui n'est pas celui de la mémoire.

Sans les encouragements de Monsieur le Professeur R. LETOLLE je n'aurai jamais osé me lancer dans cette aventure. Il a su me convaincre de l'utilité d'entreprendre ce travail ; j'ose espérer que l'avenir lui donnera raison. Durant toute cette période rédactionnelle il n'a cessé de me soutenir tout en corrigeant de façon constructive. Je lui en suis profondément reconnaissant.

Malgré des occupations multiples, souvent éloignées des problèmes isotopiques, Messieurs les Professeurs G. BOCQUIER et J. BOULEGUE se sont intéressés à ce travail. Ils ont accepté de lire ce manuscrit et de participer à ce jury. Je tiens à leur témoigner toute ma gratitude.

C'est grâce à Monsieur A. RIGA que j'ai pu, il y a quinze ans de cela, rencontrer pour la première fois le Docteur H. VAN PRAAG. Seul ce dernier est présent dans ce jury mais il m'est impossible de les dissocier dans mes remerciements tant leur action conjointe a été efficace aussi bien dans l'examen de ce travail que dans la réalisation d'autres publications.

Les nombreuses discussions entretenues avec A. MARIOTTI ont parfois été contradictoires ; elles ont toujours été positives car ses argumentations sont toutes basées sur des données précises. Ses exigences analytiques m'ont conduit à observer davantage de rigueur lors des analyses isotopiques et à vérifier sans cesse les résultats obtenus. Il n'a pas épargné son temps pour lire et relire ce document ; ses critiques ne peuvent être qu'acceptées car elles sont fondées et, surtout, profondément amicales.

Depuis vingt ans j'ai la chance de travailler à côté de J.C. FARDEAU ; certes nos opinions sont différentes sur bien des points mais elles s'accordent toutefois pour l'essentiel. La part qu'il a prise dans l'élaboration de ce mémoire est primordiale car il a supporté journalièrement mes demandes concernant l'interprétation précise de mes résultats. Il a lu et corrigé on ne peut plus attentivement tous mes documents et son intervention, après la première version, a été particulièrement décisive. Même si ses remarques sont parfois un peu traumatisantes il a réussi à me faire transformer un texte informel en un document, je l'espère, lisible et cohérent.

C'est G. BARBIER qui a eu la rude tâche de m'initier aux techniques agronomiques. Sa haute compétence, son enthousiasme et sa largeur de vue resteront pour moi, comme pour bien d'autres, un modèle. J'exprime aussi ma reconnaissance à mes maîtres de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier et, principalement, à Messieurs les Professeurs M. MOUSSERON et R. JACQUIER et au Docteur J. ELGUERO qui m'a conseillé et guidé lors de la préparation de ma thèse de doctorat de spécialité.

A mon arrivée au Commissariat à l'Energie Atomique j'ai été accueilli dans le Service de Radioagronomie par Monsieur P. GUERIN de MONTGAREUIL. Je l'en remercie ainsi que les agents du Service qui, tous, à un moment ou à un autre, m'ont apporté leur soutien. Je pense particulièrement à P. PELEGRIN et Y.M. BERLIER avec qui j'ai collaboré de longues années, L.A. BUSCARLET qui m'a souvent prêté ses compétences mathématiques et linguistiques et P. MARINI qui m'a fait profiter de son expérience et de sa connaissance du pays africain.

Je n'aurai garde d'oublier les chercheurs du Groupe Sol et Fertilisation : J.M. HETIER avec qui de longues discussions ont permis de rapprocher le point de vue du pédologue et du chimiste aussi têtus l'un que l'autre et M.C. THIBAUD qui m'a fourni, à un moment décisif, une vision nouvelle sur des questions trop souvent rabâchées pour pouvoir évoluer sans cela.

La mise en place des essais et la réalisation technique des nombreuses analyses chimiques et isotopiques ont été assurées avec tout le soin nécessaire par Jacqueline SAUBIN, Jocelyne JAPPE, Edmonde CHEVALLIER, Michèle BONJEAN, Marie-Claire BLOT, Françoise SEGUIN, Gisèle LLIMOUS, Jean-José ROMERO, Fatou GUEYE sans compter de nombreux stagiaires tant français qu'étrangers ; parmi ces derniers le travail accompli en une année par Alain PUJOL-REY a été on ne peut plus efficace.

Enfin il m'est particulièrement agréable de remercier Christine MAROL pour son aide depuis bientôt 6 ans. Son action a été déterminante dans la conduite des essais au laboratoire et dans la constitution de l'épais dossier analytique nécessaire pour cette rédaction. Sans parler de la part prépondérante qu'elle a prise dans la mise en forme pratique de cette thèse, ses questions et critiques toujours pertinentes m'ont permis de clarifier bien des problèmes.

Les multiples facettes de l'outil isotopique nous ont conduits à travailler avec de nombreux chercheurs appartenant à des organismes extérieurs au CEA. Une des plus anciennes collaborations est celle nouée avec Y. LINDEMANN de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon. Nos discussions, parfois vives, nous ont été profitables à tous deux et les nombreux essais mis en place depuis 15 ans n'auraient jamais été réalisés sans son amicale complicité. Malgré des difficultés de tous ordres, j'espère qu'il suivra bientôt mon exemple pour compléter les résultats exposés ici. Je remercie aussi l'équipe de Grignon : Messieurs les Professeurs R. MOREL et R. CALVET, Catherine CHABOUI, S. FOURBET, Thérèse LASNIER et Claudette de SAINT-TEBAN. Toute cette expérimentation au champ a pu être réalisée grâce au concours de l'Institut Technique de la Betterave en la personne de son directeur technique Monsieur J. PICHENEZ et de Monsieur J. CHRISTMANN et grâce à l'appui de la Générale des Engrais en la personne de Messieurs P. GAUTIER, J.C. IGNAZI, G. AUGÉ et P. DUGAST sans oublier D. PIERRE de la Société Azote et Produits Chimiques.

Avec le soutien financier de la DGRST il a été possible de réussir une action coordonnée qui fut la première en France sur le thème Azote 15. Ce fut une expérience fort enrichissante grâce à P.F. CHABALIER et J. PICHOT (IRAT) et J.C. REMY actuellement chef du Département d'Agronomie de l'INRA.

En 1972 c'est par une mission au Sénégal demandée par l'Agence Internationale de l'Energie Atomique qu'a commencé la collaboration avec F. GANRY. Celle-ci ne s'est jamais démentie et dure encore, toujours encouragée et étayée par l'action bienveillante de Y. DOMMERGUES.

Parmi toutes les actions entreprises avec l'INRA celles réalisées avec Madame R. BONIFACE sont à mettre à part. Son sens agronomique a suppléé à mes lacunes et le travail considérable qu'elle a accompli sur les cases lysimétriques de Versailles nous a permis d'obtenir de nombreux résultats publiés ici sous mon seul nom. Je lui suis profondément reconnaissant de cette abnégation, rare dans la communauté scientifique actuelle. Nous avons aussi été aidés par Monsieur le Professeur P. ADMONT de la Compagnie Française de l'Azote et conseillés, toujours discrètement mais efficacement, par S. TROCME.

Mes relations avec l'équipe de G. CATROUX à Dijon ont toujours été positives et sont à la source de plusieurs essais communs réalisés avec Noelle AMARGER, R. CHAUSSOD, J.C. GERMON et B. NICOLARDOT. Enfin la gentillesse alliée à une profonde connaissance agronomique et scientifique font de J.C. MULLER un partenaire on ne peut plus agréable.

J'ai eu la chance de traduire sur un plan individuel les relations officielles du Service de Radioagronomie et de l'ORSTOM qui sont matérialisées à Cadarache par une antenne ORSTOM dirigée par M. VALLERIE. Commencées au Sénégal, continuées et poursuivies

actuellement à la Martinique les études menées conjointement avec C. FELLER l'ont toujours été dans un esprit parfaitement coopératif. J'espère qu'elles se concrétiseront prochainement sous la forme d'une thèse de spécialité soutenue par M.J. VALONY. Je remercie S. DOULBEAU qui a assuré les nombreuses analyses isotopiques de ce travail. Dans la mise au point de la spectroscopie optique le dynamisme et l'efficacité de l'équipe J. PAGES et L. LEMASSON m'a permis de parfaire la technologie. Enfin j'ai contacté une dette toute particulière auprès de J. DEJARDIN qui a bien voulu assurer la majorité des analyses statistiques nécessaires à l'interprétation de mes résultats. Sa patience a supporté mes incompétences en la matière et il a non seulement guidé la mise en place des essais mais aussi, bien souvent, réalisé lui-même les calculs ultérieurs.

Avec l'appui technique de l'ITCF nous avons pu récemment mettre en place des essais en plein champ à Cadarache. Je remercie P. VIAUX et F. BARET ainsi que J.L. CHOTTE qui en assure avec toute la conscience nécessaire le suivi analytique.

Notre travail a aussi bénéficié des échanges de vue les plus variés avec toute l'équipe de Monsieur le Professeur R. BARDIN de l'Université Claude Bernard (Lyon I): Geneviève FAURIE, A. CHALAMET et Anne-Marie DOMENACH.

Il m'a été donné d'aborder de nombreux problèmes, qui n'entrent pas dans le cadre de ce mémoire ; leur étude m'a cependant permis d'approfondir mes connaissances sur l'emploi de l'azote 15. Les collaborations avec Monsieur le Professeur A. MOYSE et Marie-Louise CHAMPIGNY de l'Université Paris-Sud (Centre d'Orsay) et avec Monsieur le Professeur J.P. REYNIER et A. RAGON de l'Assistance Publique de Marseille ont été particulièrement productives.

Le spectromètre optique GS1 a été construit par J.L. STEHLE de la Société SOPRA. J'ai grandement apprécié sa haute compétence et son esprit d'initiative lors de l'élaboration et des essais de l'appareil.

Enfin je remercie toutes les personnes qui ont participé à la réalisation technique de ce document : la Société Manosquine de Dactylographie et de Polycopie et le secrétariat du Service de Radioagronomie pour la frappe du manuscrit, la Société Aix Audio Visuel pour l'iconographie et la Section Documentation du CEN Cadarache pour l'édition.

# INTRODUCTION

L'azote tient une place primordiale parmi tous les éléments indispensables à la croissance des végétaux : une carence des éléments azotés se traduit immédiatement par un dépérissement de la végétation. Pourtant cette substance fut désignée sous le vocable peu flatteur de *mofette atmosphérique* ou *air méphitique* après les travaux de CAVENDISH en 1784 et de LAVOISIER en 1786, avant que ce dernier ne la dénomme "*sans vie*" ou "*azote*" (*a* : privatif ; *ζ ω η* : vie), terme par lequel cet élément est désigné actuellement.

Cette apparente contradiction résulte de la stabilité de la molécule  $N_2$  qui, pendant longtemps, est apparue comme dénuée de toute activité chimique. Ainsi à la pression normale et à  $3000^\circ K$ , alors que l'oxygène et l'hydrogène moléculaires sont déjà dissociés pour plus du dixième, l'azote dissocié a tout juste dépassé le seuil du millième (PASCAL 1956). C'est précisément sous cette forme moléculaire qu'il est le plus souvent présent, puisque (Tableau 1) l'azote combiné dans la biosphère représente moins de 1 % de l'azote atmosphérique qui constitue, comme on l'a dit souvent, une réserve inépuisable.

	QN en $10^{20}$ g	% N
Atmosphère	38	2
Biosphère :		
Organismes vivants	0,00028	Négligeable
Humus	0,0082	
Sédiments marins	0,0054	
Lithosphère	1934	98

TABLEAU 1 - Répartition géochimique de l'azote d'après

STEVENSON F.J. in *Soil Nitrogen* (1965)

QN : quantité d'azote

% N : % d'azote par rapport à l'N total



En réalité, la véritable réserve est la lithosphère mais l'azote qu'elle contient est difficilement accessible : l'altération des roches, surtout dans les couches profondes, est extrêmement lente. Aussi, malgré le petit nombre de micro-organismes capables de fixer symbiotiquement ou non l'azote, c'est la fixation de  $N_2$  atmosphérique qui est le principal facteur du maintien de l'équilibre de la teneur en azote des sols dans les conditions naturelles où l'homme n'intervient pas.

Dans le sol, l'azote est pour plus de 95 % sous forme organique. Cet azote, sous l'action des micro-organismes, peut se transformer en azote ammoniacal, nitreux ou nitrique. C'est la *minéralisation*.

Inversement, l'azote minéral peut évoluer vers une forme organique, le processus étant l'*organisation* ou *immobilisation biologique conditionnée* par les micro-organismes du sol. Ces transformations ne sont pas uniques : dans le sol, l'azote ammoniacal peut être fixé sur les argiles ou s'échapper dans l'atmosphère sous forme de  $NH_3$  ; l'azote nitrique peut être lixivié vers les nappes phréatiques, et de là passer dans les mers et les océans ou bien, par dénitrification biologique ou chimique, gazéifié sous forme de  $N_2O$  ou  $N_2$ .

Ces mouvements divers se trouvent impliqués dans le "*Cycle de l'azote*". Son importance a amené de nombreux chercheurs à proposer des schémas de synthèse de ces transferts (JANSSON S.L. 1958 ; DEMOLON A. 1960 ; DOMMERGUES Y. et MANGENOT F. 1970 ; BONNEAU M. ET SOUCHIER B. 1979 ; CAMPBELL C.A. 1978 ; FAURIE G. 1980 ; LENSIS R. 1981 ; MARIOTTI A. 1982).

Nous en donnons un simplifié dans la figure 1.

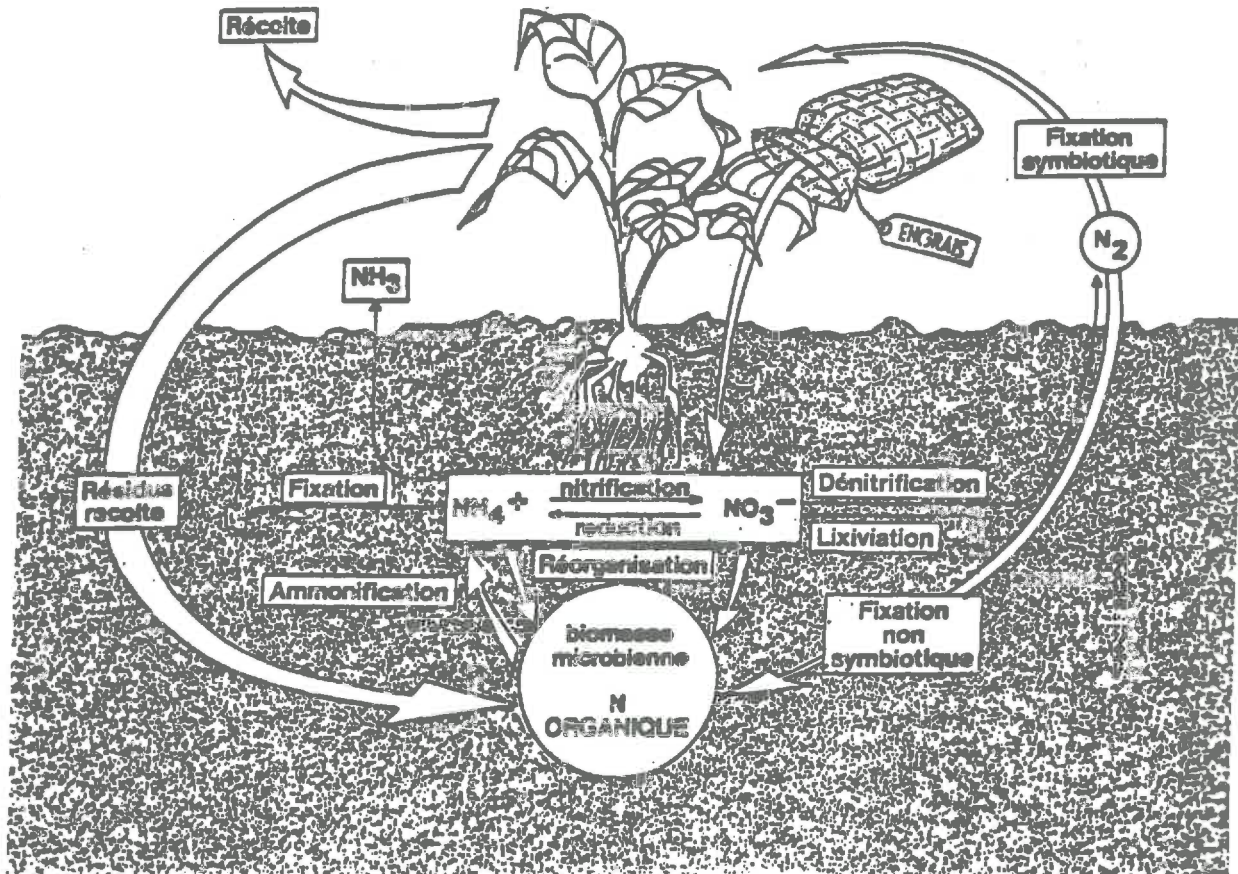


Figure 1 - Cycle de l'azote

Malgré cette simplification, il est hors de question de traiter toutes les étapes du cycle : en particulier nous n'aborderons pas la phase de fixation, symbiotique ou non. En revanche, nous privilégions deux phénomènes : l'absorption par les plantes, et les transferts entre les formes minérales et organiques dans le sol.

Les plantes absorbent principalement l'azote minéral, mais la quantité disponible dans le sol est insuffisante pour obtenir les hauts rendements actuellement exigés par les agriculteurs : le supplément doit être fourni par les engrais minéraux azotés qui sont parmi les plus coûteux. Par contre, un excédent d'engrais azoté peut se traduire non seulement par une pollution des nappes phréatiques, les nitrates étant entraînés par lixiviation, mais encore par une baisse de rendements.

Par ailleurs, JANSSON S.L. (1958) a démontré que les transferts d'azote entre les formes minérales et organiques se produisent, tout au moins en se rapportant à l'échelle de temps humaine, de façon concomitante. Le marquage isotopique artificiel est donc une des méthodologie les plus appropriées pour étudier et quantifier l'importance de ces diverses transformations intervenant dans le cycle de l'azote. Suite aux travaux de JANSSON, de nombreux auteurs ont souligné cette efficacité (HUNTER A.S. et CARTER J.L. 1965, ALLISON F.E. 1966, KORENKOV D.R. 1968, HAUCK R.D. 1973, BROESHART M. 1974, THENABADU M.V. 1979), tout en indiquant que de graves lacunes subsistaient et qu'il était indispensable d'intensifier les recherches (IAEA 1971 et 1977, PAUL E.A. 1970, HAUCK R.D. et BREMNER J.M. 1976, CAMPBELL C.A. 1978).

Ces considérations nous ont conduits à diviser notre travail en trois parties :

a) *Utilisation des traceurs.* Nous étudierons les conditions d'emploi et les techniques particulières à mettre en oeuvre.

b) *Utilisation des méthodes isotopiques pour l'étude de certains aspects du Cycle de l'azote.* Nous nous intéresserons essentiellement aux transferts d'azote entre les formes minérales et organiques en portant une attention toute particulière à la détermination des phénomènes bruts. Un chapitre sera consacré à la quantification des passages du traceur hors du système sol-plante, c'est-à-dire à la mesure des pertes.

c) *Influence d'apports d'engrais et de cultures sur le cycle de l'azote.* Nous aborderons différents problèmes d'assimilation par les plantes, aussi bien de l'azote venant de l'engrais que de l'azote provenant de la minéralisation de la matière organique du sol. Autant que faire se peut, un bilan précis sera établi.

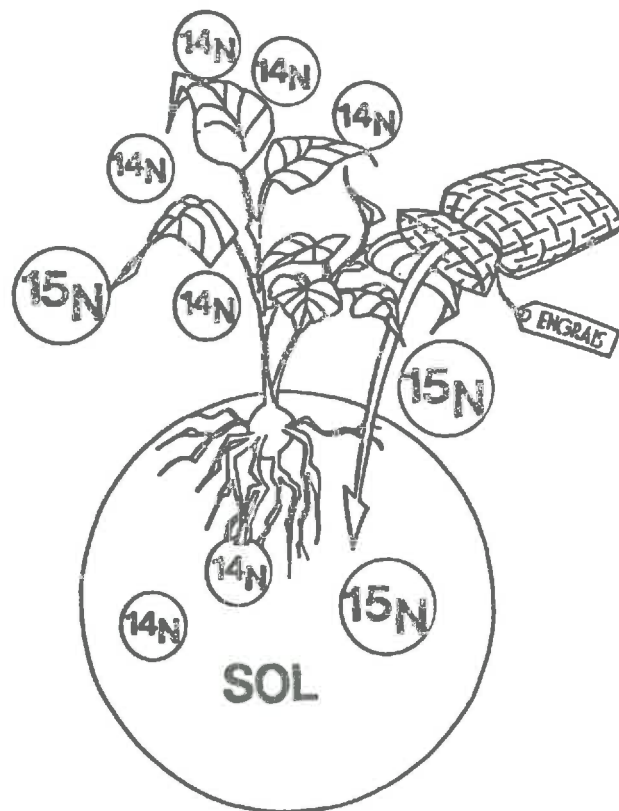
# **PREMIERE PARTIE**

---

**TECHNOLOGIE ISOTOPIQUE**

# CHAPITRE I

## UTILISATION DES ISOTOPES COMME TRACEUR



L'utilisation des isotopes radioactifs, instables, a connu un développement considérable ces trente dernières années mais c'est l'expérience historique d'HEVESY G. qui, dès 1923, a prouvé l'intérêt et la puissance des méthodes isotopiques. Il n'est pas inutile de l'évoquer brièvement car elle demeure encore un exemple type de l'utilisation judicieuse des traceurs.

HEVESY a utilisé du *thorium B* (isotope radioactif du plomb) pour étudier l'absorption du plomb par la fève. Il a placé les racines dans une solution marquée et à l'aide d'un électroscope, il a mesuré la quantité de plomb dans chaque organe de la plante. Les plantes ont ensuite été mises dans des solutions inactives contenant beaucoup plus de plomb que les solutions initiales. C'est cette deuxième étape qui révèle l'intérêt de la méthode : HEVESY trouva que la quasi totalité de la radioactivité était passée des racines dans la solution externe bien que la quantité de plomb dans les plantes ait augmenté. *Il y avait donc eu un échange qu'il serait impossible de mettre en évidence par une autre méthode.*

Si la découverte de la radioactivité artificielle par CURIE I. et JOLIOT F. en 1934 accrut considérablement la portée de la méthode, ce n'est qu'après la deuxième guerre mondiale, avec l'avènement des réacteurs atomiques, qu'il fut possible de se procurer de nombreux isotopes en grandes quantités. Aussi à Genève, dès 1955, lors de la première conférence internationale sur l'utilisation de l'énergie atomique à des fins pacifiques, de nombreuses interventions faisaient état de l'emploi des isotopes.

Au mot isotope est généralement associée l'idée de radioactivité : c'est le plus souvent vrai, la majorité des isotopes étant radioactifs. Cependant, pour l'azote comme pour d'autres éléments, tels que le carbone et l'oxygène par exemple, il existe des isotopes stables qui peuvent être utilisés comme traceurs. Des six isotopes connus de l'azote (de masse 12, 13, 14, 15, 16 et 17) ceux de masse 14 et 15 sont stables ; les autres, radioactifs, émetteurs  $\beta^-$  ou  $\beta^+$  ont une période trop courte pour pouvoir

être employés si ce n'est pour des études strictement limitées dans le temps. La période de  $^{13}\text{N}$ , qui est la plus longue en ce qui concerne les isotopes de l'azote, est de 10 mn seulement. Malgré cela, quelques expériences ont été réalisées portant essentiellement sur la fixation (NICHOLAS D.J.D. et al. 1961, WOLK C.P. et al. 1979) et la dénitrification (GERSBERG R.M. 1977, TIEDJE J.M. et al. 1979).

Ceci explique pourquoi lors du congrès de l'AIEA à Colombo en 1978, OLSON R.A. a commencé la première conférence par ces mots : "*It is a catastrophe of nature that no radioisotope of nitrogen with modest half-life exists*". Après la découverte de l'azote 15, en 1929 par NAUDE S.M., et les travaux en médecine de l'équipe de SCHOENHEIMER R. et RITTENBERG D. en 1938, c'est NORMAN A.G. et WERKMAN C.H. (1943) qui font la première publication se référant au domaine agronomique. Après cette date, l'utilisation de l'azote 15 ne se développe guère et on ne compte que 1000 publications en 1970 (HAUCK R.D. et BYSTROM M.) et seulement 2000 maintenant (DE WITT R. 1980). A titre de comparaison, la première publication agronomique citant l'utilisation de  $^{32}\text{P}$  date de 1947 (DEAN L.A. et al) ; il est impossible à l'heure actuelle de dénombrer tous les travaux publiés tant ils sont nombreux.

En effet, la technique de détection des composés radioactifs est plus sensible et plus aisée, et cette situation a souvent conduit à une utilisation préférentielle de l'isotope radioactif ; l'exemple du carbone  $^{13}\text{C}$  stable et  $^{14}\text{C}$  radioactif est très probant à cet égard.

La détection des isotopes stables ne peut se faire, dans la majorité des cas que par *spectrométrie de masse*. Malgré les progrès réalisés cette technique demeure délicate à mettre en oeuvre et fort onéreuse. Cependant, en ce qui concerne l'azote, depuis une quinzaine d'années une nouvelle méthode se développe, il s'agit de la *spectroscopie optique*.

Les isotopes stables présentent quelques avantages sur les composés radioactifs, tels que l'absence des risques physiologiques dès que leur poids moléculaire est assez élevé et l'absence de limitation quant à la durée de l'essai du fait de la période de l'isotope. Avec  $^{32}\text{P}$ , au bout de 12 périodes, soit 170 jours, il ne reste plus que 1/4096 de la radioactivité initiale : il n'est plus possible d'effectuer les comptages, ce qui limite la durée des essais agronomiques.

Le problème du choix ne se pose pas pour l'azote dont les isotopes radioactifs ne sont pas utilisables dans la majorité des cas agronomiques. Ceci étant, l'emploi de l'azote 15, isotope stable, entraîne des possibilités supérieures à celles des techniques classiques, car la sensibilité de la méthode est au moins 50 fois meilleure que celle espérée avec les dosages Kjeldahl. Afin de fixer les idées, si on suppose un apport de 100 kg d'azote à l'hectare sur un sol qui en contient 3000 kg (on estime en effet 3000 t sol-ha<sup>-1</sup> à 1 ‰ de N total), le dosage Kjeldahl ne peut pas en rendre compte ; par contre si cet azote est marqué à 10 % de  $^{15}\text{N}$ , il sera dilué environ trente fois et donnera donc un excès moyen voisin de 0,3 % mesurable avec précision ; si l'incorporation n'est que de 10 kg, l'excès sera encore de 0,03 %, valeur qui est parfaitement accessible avec des spectromètres de masse conçus pour les mesures de variations d'abondances isotopiques naturelles, présentant une double introduction et une double collection (MARIOTTI A. et LETOLLE R. 1978).

Cependant, le principal intérêt du marquage isotopique réside dans les études où seul l'azote 15 permet une évaluation des phénomènes ; on peut citer le marquage sélectif de l'azote du sol ou de l'engrais, le suivi d'une fumure azotée avec les effets résiduels, la décomposition de composés organiques marqués, les pertes par dénitrification et volatilisation ainsi que les gains par fixation : c'est-à-dire globalement rendre compte de tous les mécanismes touchant au cycle de l'azote.

Trois hypothèses fondamentales sont essentielles pour l'utilisation de  $^{15}\text{N}$  comme traceur (HAUCK R.D. et BREMNER J.M. 1976) :



1) les éléments ont, à l'état naturel, une composition isotopique constante,

2) les organismes vivants ne peuvent distinguer un isotope d'un autre qu'avec difficulté,

3) les propriétés chimiques des isotopes sont conservées dans les systèmes biologiques.

Comme en attestent les nombreuses études menées sur les variations des abondances naturelles ( RIGA A. et al. 1971, MARIOTTI A. et al. 1975, BARDIN R. et al. 1977, SHEARER G. et al. 1978, MARIOTTI A. 1982), aucune de ces hypothèses n'est entièrement vraie. Cependant, pour la plupart des essais faisant appel au marquage artificiel, elles peuvent être considérées comme correctes. Ceci illustre bien la différence essentielle qui va guider les raisonnements, suivant que l'on fera appel à une technique ou à une autre, et il ne faut surtout pas les considérer comme opposées alors qu'elles sont en réalité complémentaires. Un des meilleurs exemples que l'on puisse donner est celui de la mesure des faibles excès isotopiques.

A partir d'une certaine valeur, comprise entre 0,02 % et 0,1 % suivant les appareils utilisés, les mesures isotopiques classiques s'avèrent insuffisantes et il est indispensable de faire appel à la technique d'analyse plus sophistiquée des variations de l'abondance naturelle (MARIOTTI A. 1982).

Nous abordons tout de suite un des problèmes posé par l'emploi de <sup>15</sup>N : celui du prix des composés marqués. En effet, si on ne dispose que d'un spectromètre de masse conventionnel ou d'un spectromètre optique, il sera nécessaire avant d'entreprendre des essais au champ ou en cases lysimétriques de planifier parfaitement l'expérimentation. Si l'on augmente trop les teneurs initiales, le coût de l'isotope empêchera la réalisation de l'essai ; si par contre on applique des teneurs trop faibles, les analyses seront trop imprécises pour donner des résultats statistiquement exploitables. Ce genre de problème ne se pose pas dans les essais en vases de végétation, car le coût des traceurs est faible par rapport à l'investissement total de l'expérimentation.

Il nous paraît important d'insister sur la bonne détermination de la quantité d'azote introduite et de son excès isotopique lors de la mise en place des essais, car cela conditionne la réussite de l'expérience. Le choix de l'excès isotopique initial est nécessairement un compromis entre un enrichissement de luxe et une perte d'une partie voire même de la quasi totalité de l'information recherchée.

Nous allons fixer les idées par un exemple précis : l'étude de l'évolution d'un engrais azoté apporté dans un essai au champ, les analyses isotopiques étant effectuées avec un spectromètre de masse conventionnel, c'est-à-dire à simple introduction mais avec éventuellement une double collection. Si nous nous intéressons seulement au prélèvement par le végétal lors de la première année, un excès isotopique de 0,3 % à 0,4 % sera suffisant. En effet dans la plante nous pensons observer une dilution de moitié par l'azote issu du sol et arriverons donc à un excès de 0,15 % à 0,2 % mesurable avec précision.

Par contre, pour étudier l'azote minéral du sol, il sera nécessaire d'augmenter l'excès initial jusqu'à 1 % au moins car il va se produire une dilution de l'azote marqué, remplacé progressivement par l'azote minéralisé provenant de la matière organique non marquée. Nous travaillerons rapidement à la limite de précision de l'appareil.

Si nous voulons également mesurer l'incorporation de l'azote de l'engrais dans la matière organique du sol, l'excès de départ doit être considérablement augmenté. En posant l'hypothèse d'une organisation de 30 % pour un apport de  $100 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  pour un sol contenant toujours  $3000 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  nous obtiendrons avec un excès de départ de 10 %, une valeur moyenne de 0,1 % qui sera aisément mesurée.

Si nous voulons pousser plus avant l'analyse de l'essai et faire un fractionnement de l'azote dans la matière organique, il sera alors nécessaire d'augmenter encore l'enrichissement initial afin de ne pas accroître l'incertitude sur les mesures isotopiques des fractions les moins marquées.

De même pour mesurer l'effet résiduel de l'engrais ou l'effet d'un enfouissement de résidus de récolte (verts de betterave, paille de blé ou de maïs etc...), il faudra prévoir un excès de départ d'autant plus élevé que l'on voudra poursuivre l'expérience plus longtemps.

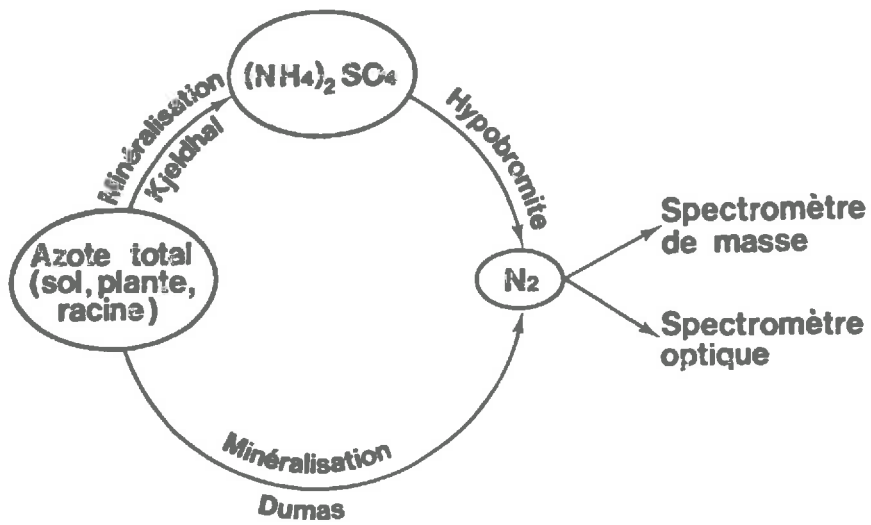
Enfin, il faut tenir compte du nombre total d'analyses à effectuer, afin de ne pas trop perturber la parcelle marquée par des prélèvements trop rapprochés (effets de bordure) ou par des modifications de l'état physique du sol (trous de sondage ou piétinement des expérimentateurs).

Toutes ces considérations montrent la difficulté de prévoir avec certitude la quantité idéale du marqueur à apporter. Il appartient au chercheur concerné de choisir, en fonction de sa connaissance du terrain (des essais préliminaires en laboratoire renseignent utilement) et de son appareil de mesure, la meilleure solution : l'improvisation du dernier moment se révélant en général trop hasardeuse.

Si l'utilisation de l'azote 15 apporte de précieux renseignements, il faut tout de même garder à l'esprit les limitations qu'elle sous-entend. Il s'agit seulement d'un outil, parmi d'autres, mis à la disposition des chercheurs et ne pouvant pas être considéré comme la panacée. *L'emploi des traceurs ne se justifie que s'ils offrent des chances raisonnables de résoudre des problèmes qui ne pourraient pas l'être autrement.*

## CHAPITRE II

### DEFINITIONS ET METHODES ANALYTIQUES



Nous venons de voir quelques généralités concernant l'emploi des isotopes. Bien souvent les utilisateurs usent de termes incorrects, par exemple abondance isotopique au lieu d'excès isotopique ou n'appliquent pas les formules adéquates, par exemple celle de dilution isotopique. Il nous semble nécessaire d'explicitier quelques formules et définitions habituellement employées, et que nous aurons l'occasion de rencontrer plus tard.

L'impossibilité d'assimiler les mesures isotopiques d'azote  $^{15}\text{N}$  à une mesure de routine impose un choix rigoureux des méthodes à suivre ; des précautions particulières sont à prendre et des conditions analytiques strictes doivent être respectées.

## II.1 - DEFINITIONS

Rappelons tout d'abord deux définitions essentielles de termes qui ont déjà été utilisés précédemment.

### II.1.1 - Abondance isotopique

Grandeur sans dimension, qui est le rapport en pourcentage de l'isotope à l'ensemble des isotopes du même corps chimique.

Pour l'azote :

$$A = \frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}} \cdot 100$$

Il est possible de trouver dans la littérature (CORNU A. 1975) le terme teneur pour désigner la même grandeur : les deux expressions sont correctes. Nous préférerons cependant l'appellation *abondance*, qui a été adoptée par l'AIEA et le COMIFER\*.

\* AIEA : Agence Internationale de l'Energie Atomique.

COMIFER : Comité Français d'Etude et de développement de la Fertilisation Raisonnée.

Dans le cas d'isotopes radioactifs, la mesure de la radioactivité spécifique ne requiert pas la connaissance de la quantité totale de l'élément dans le système ; il en est exactement de même en ce qui concerne l'abondance isotopique des isotopes stables.

### II.1.2 - Excès isotopique

C'est la différence entre l'abondance isotopique de l'échantillon et celle d'un étalon de référence. Pour l'azote, l'étalon de référence sera l'azote de l'air dont l'abondance isotopique est :  $0,3663 \% \pm 0,0004$  (JUNK G.A. et SVEC M.J. 1958). L'excès isotopique E sera donc égal à :

$$E = A - 0,366$$

Tout au long de ce mémoire nous adopterons pour les calculs cette valeur de 0,366 %. Elle représente pour nous l'abondance isotopique de tous les composés azotés présents sur terre. C'est une des hypothèses essentielles concernant l'utilisation de l'azote 15.

En fait, cette abondance naturelle peut varier dans de très légères proportions (GUILLEMOT J. 1983). En géochimie isotopique, on est ainsi amené à utiliser une unité relative d'expression de la composition isotopique : l'unité  $\delta$  (MARIOTTI A. 1982). Elle a pour expression :

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

où R est le rapport isotopique ; il est égal au rapport des ions de  $\frac{M}{Z} = 29$  ( $^{14}\text{N} \ ^{15}\text{N}^+$ ) et  $\frac{M}{Z} = 28$  ( $^{14}\text{N} \ ^{14}\text{N}^+$ ) :

$$R = \frac{/^{14}\text{N} \ ^{15}\text{N}+/}{/^{14}\text{N} \ ^{14}\text{N}+/}$$

Dans les essais faisant appel aux variations de l'abondance naturelle, tous les calculs dépendent de la parfaite homogénéité et de la constance isotopique de l'étalon (MARIOTTI A. 1983).

A partir de la mesure des abondances ou des excès isotopiques, il est alors possible de calculer les quantités de  $^{15}\text{N}$  dans l'échantillon (quantité totale d'azote multipliée par l'abondance isotopique) et les quantités de  $^{15}\text{N}$  en excès (quantité totale d'azote multipliée par l'excès isotopique).

Dans la pratique, nous utiliserons uniquement l'excès isotopique et nous allons illustrer ceci par un exemple.

On fait pousser une plante sur un sol ayant l'abondance naturelle en  $^{15}\text{N}$ ,  $a$ , et on ajoute un engrais marqué ayant une abondance  $\mathcal{A}$ . La plante ne s'alimente qu'à partir de ces deux sources d'azote ; on mesure, au bout d'un certain temps, une quantité d'azote  $Q_N$  avec une teneur moyenne en azote  $^{15}$ ,  $\mathcal{A}_{pl}$ . On veut connaître la quantité "x" de cet azote, qui est originaire de l'engrais et la quantité "y", venant du sol.

$$\text{On a : } Q_N = x + y$$

La quantité de  $^{15}\text{N}$  dans la plante va être :

$$Q_N \cdot \mathcal{A}_{pl} = (x \cdot \mathcal{A}) + (y \cdot a)$$

en remplaçant y par  $Q_N - x$  on obtient :

$$Q_N \cdot \mathcal{A}_{pl} = x \cdot \mathcal{A} + (Q_N - x) \cdot a$$

$$\text{d'où : } x = Q_N \cdot \frac{\mathcal{A}_{pl} - a}{\mathcal{A} - a}$$

Nous voyons donc que l'abondance isotopique n'intervient pas directement et l'on peut remplacer  $(A_{pi} - a)$  et  $(A - a)$  par  $E_{p1}$  et  $E$ , c'est-à-dire l'excès isotopique de la plante et de l'engrais.

Donc :

$$x = Q_N \cdot \frac{E_{p1}}{E}$$

$$y = Q_N \cdot \left(1 - \frac{E_{p1}}{E}\right)$$

### II.1.3 - Méthode de dilution isotopique

L'analyse par "dilution" est une technique courante en zoologie ou entomologie même si elle ne fait pas appel aux traceurs (LE CREN E.D. 1965). Rappelons en le principe : si une partie d'une population marquée de façon distinctive, retourne dans la population originelle et si après mélange parfait un échantillon est prélevé, le nombre d'individus marqués dans cet échantillon sera dans la même proportion que celle se rapportant à l'ensemble de la population. Il est ainsi possible de dénombrer la population totale sans compter tous les individus.

Lorsque le marquage résulte de l'emploi d'un isotope, stable ou radioactif, la méthode devient celle de *dilution isotopique* et les isotopes seront répartis de façon uniforme dans la population (FARDEAU J.C. 1981).



Pour déterminer une quantité "X" d'azote sous une forme quelconque mais inaccessible dans un système donné, il suffira d'ajouter une quantité connue "Q" d'azote, sous la même forme chimique, avec un excès isotopique "E". Les quantités d'azote 15 avant et après mélange sont égales, et si "E'" est l'excès isotopique mesuré d'une partie aliquote du mélange, nous pouvons écrire :

$$Q \cdot E = (Q + X) \cdot E'$$

On en déduit facilement la formule de dilution isotopique :

$$X = Q \left( \frac{E}{E'} - 1 \right)$$

X : quantité d'azote du système,

Q : quantité d'azote ajoutée,

E : excès de l'azote ajouté,

E' : excès du mélange.

Cette méthode, spécifique de l'élément à doser, peut s'appliquer à des gaz mais elle est le plus souvent utilisée pour des échantillons solides ou liquides. Il est bien sûr nécessaire que cet élément ait deux isotopes au moins.

#### II.1.4 - Conditions de validité de la méthode de dilution isotopique

Cette méthode extrêmement intéressante car ne nécessitant pas d'extraction quantitative, ne peut être appliquée que si les conditions suivantes sont rigoureusement respectées :

- Le mélange du traceur et du corps à doser doit être parfaitement *homogène*. On travaillera en solution autant que faire se peut (le mélange dans du solide est plus difficile à réaliser).

- Il faut que le traceur et l'élément à doser soient sous la *même forme chimique*. Ainsi pour une analyse de nitrates dans de l'eau, il suffira d'ajouter du nitrate marqué et de prélever une partie aliquote. S'il s'agit d'azote dans le sol où de multiples formes sont impliquées, il sera nécessaire de faire une minéralisation, type Kjeldahl par exemple, sur la totalité du mélange avant de faire l'analyse isotopique.

- Si l'élément est présent sous différentes formes, il faut vérifier qu'il n'y a pas *d'échanges isotopiques*.

- Les contaminations isotopiques au cours de la manipulation doivent être évitées ou faire l'objet d'une correction.

- Les excès isotopiques initiaux et finals doivent être mesurables (éviter une dilution trop importante). La quantité du traceur ajoutée doit être connue avec une grande précision.

- L'élément doit être injecté dans un seul compartiment. C'est l'exemple le plus simple de dosage d'une solution chimique pure mais dans les systèmes biologiques complexes, il n'en est plus de même, nous observons alors une diminution de l'excès isotopique. Nous parlons de *CINETIQUE DE DILUTION ISOTOPIQUE*. Pour l'étude du cycle de l'azote, nous n'arrivons pas à proposer une équation mathématique pour cette décroissance qui devrait nous renseigner sur les compartiments du système : leur nombre est par trop élevé et le système est rarement à l'état stationnaire. La formule de dilution isotopique ne peut pas s'appliquer.

#### II.1.5 - "Nitrogen derived from fertilizer" (Ndff %)

*C'est le pourcentage d'azote dans la plante provenant de l'engrais ajouté.* Le pourcentage d'azote venant du sol sera donc égal à  $100 - \text{Ndff} \%$ .

Nous avons vu page 22 que la quantité d'azote issue de l'engrais "x" était donnée par la formule :

$$x = Q_N \frac{E_{p1}}{E}$$

x : quantité d'azote de la plante, provenant de l'engrais.

$Q_N$  : quantité d'azote dans la plante.

$E_{p1}$  et E : excès isotopique de la plante et de l'engrais ajouté.

Donc

$$\text{Ndff (\%)} = \frac{x}{Q_N} \cdot 100 = \frac{E_{p1}}{E} \cdot 100$$

Cette formule est très simple et nécessite seulement la mesure de deux excès isotopiques ; nous notons que la quantité d'engrais apporté et la quantité d'azote dans la récolte n'apparaissent pas.

#### II.1.6 - Coefficient réel d'utilisation d'un engrais (C.R.U)

Le coefficient réel d'utilisation d'un engrais ne peut être obtenu qu'en utilisant l'azote marqué. C'est le pourcentage d'azote de la plante provenant de l'engrais par rapport à la quantité d'azote apportée par l'engrais.

$$\text{CRU \%} = \frac{Q_N \cdot E_{p1}}{F \cdot E} \cdot 100 = \frac{Q_N}{F} \cdot \text{Ndff \%}$$

$Q_N$  : quantité d'azote dans la plante,

F : quantité d'azote de l'engrais ajouté.

Le C.R.U est obtenu directement et s'oppose au C.A.U. (Coefficient Apparent d'Utilisation), qui ne nécessite pas d'isotopes, mais représente la différence entre la quantité d'azote prélevée par les plantes sur une parcelle fertilisée et celle d'une parcelle témoin sans engrais "Q<sub>0</sub>", divisée par la quantité d'azote ajoutée "F" :

$$\text{C.A.U. \%} = \frac{Q_N - Q_0}{F} \cdot 100$$

## II.2 - METHODES ANALYTIQUES

### II.2.1 - Dosage chimique de l'azote

La première étape d'une analyse isotopique de l'azote consiste en un dosage chimique. En effet, l'analyse isotopique fournit seulement une indication qualitative (abondance ou excès isotopique), et bien souvent il est nécessaire de la relier à l'information quantitative apportée par le dosage de type Kjeldhal en général. Malgré la qualité des résultats, la minéralisation en ampoules scellées qui demandait beaucoup trop de temps (GUIRAUD G. et BERLIER Y. 1968) a été abandonnée au profit de la minéralisation classique en matras. La détermination de l'ammonium formé se fait par entraînement à la vapeur d'eau en milieu basique. Une petite unité de distillation a été réalisée. Elle présente les avantages d'être démontable, uniquement en verre et facilement nettoyable (Figure 2).

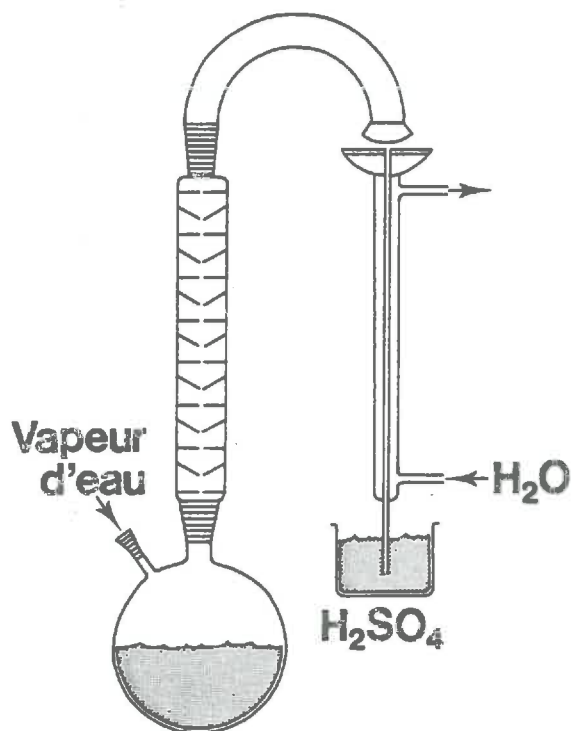


Figure 2 - Schéma de l'appareil à distillation

Il existe des techniques de dosage plus élaborées mais elles ne s'accordent pas avec le dosage isotopique ultérieur. Ainsi la colorimétrie nécessite des quantités trop petites et des échantillons sous une forme trop complexe pour l'analyse spectrométrique ; les analyseurs élémentaires type C.H.N. ne permettent que difficilement la récupération de l'azote dégagé ; les appareils Kjeldahl automatiques (type Büchi par exemple) sont susceptibles d'entraîner des erreurs de contamination d'un échantillon par un autre.

En effet, lors des analyses d'échantillons marqués, il faut éviter les *effets de mémoire* qui ne gênent pas les mesures chimiques mais peuvent avoir des conséquences sur la mesure isotopique (REEDER J.D. et al. 1980). Si l'on suppose une interférence de 1 % entre deux échantillons de taille identique, l'analyse chimique classique n'en sera pas significativement affectée ; si un échantillon a une abondance isotopique de 30 % et l'autre

a la teneur naturelle, on arrive à un excès de  $0 + 0,01 \cdot 30 \% = 0,30 \%$  ; si l'interférence n'est que de  $1 \text{ ‰}$ , elle conduit à une valeur de  $0 + 0,001 \cdot 30 \% = 0,03 \%$  : même mesurée avec un spectromètre optique, moins précis qu'un spectromètre de masse, une telle valeur pour un échantillon non enrichi est aberrante.

Il faudra donc être très attentif à la propreté de la vaisselle et des postes de travail, grouper dans la mesure du possible les dosages d'échantillons supposés avoir des enrichissements voisins (répétitions par exemple), et surtout distiller un peu d'alcool entre chaque dosage pour entraîner les traces éventuelles. Il ne faut pas essayer de rassembler dans un même laboratoire des essais faisant appel au traçage naturel avec ceux faisant appel au marquage artificiel, si on veut éviter à un moment ou à un autre une "catastrophe" analytique d'autant plus grave que la cause risque de passer inaperçue. Une pollution par un composé radioactif se détecte facilement, il n'en est pas de même pour celle due à un isotope stable.

### II.2.2 - Dosage isotopique de l'azote

Pour effectuer la détermination isotopique, l'azote présent sous forme de  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  doit être converti en azote moléculaire  $\text{N}_2$ . La technique employée est dérivée de celle de RITTENBERG D. (1948) ; la conversion s'effectue soit dans un appareil identique à celui de SPRINSON D.B. et RITTENBERG D. (1948) (Figure 5a page 40) soit avec un système dérivé de celui de ROSS P.J. et MARTIN A.E. (1970) (Figure 5b page 40). Le réactif employé est, soit l'hypobromite de sodium, soit l'hypobromite de lithium, ces deux réactifs donnent des résultats identiques et il n'est pas observé de décomposition plus importante de l'un ou de l'autre contrairement aux résultats de POLAK H.L. et al (1966).

### II.2.2.1 - Préparation des solutions d'hypobromite

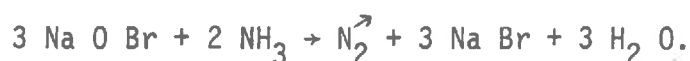
Une solution aqueuse de soude (336 g de NaOH dans 500 ml d'eau) est préparée. Une partie de cette solution (la moitié environ) est refroidie au bain de glace. Sous agitation, il est ajouté goutte à goutte 100 ml de brome. L'autre moitié, de la solution de soude refroidie, est ensuite rajoutée et le mélange est maintenu 12 heures à 5°C. Le précipité de BrNa qui se forme est filtré sur verre fritté. Cette solution se conserve plusieurs semaines si elle est gardée au réfrigérateur.

Pour le sel de lithium, 150 g de LiOH sont dissous dans 1500 ml d'eau et, à cette solution refroidie et sous agitation, 50 ml de brome sont ajoutés. Ce dernier réactif, moins visqueux et ne précipitant pas, est utilisé de préférence dans le cas de la méthode ROSS et MARTIN.

### II.2.2.2 - Conversion des sulfate d'ammonium en azote moléculaire

Dans le cas de la méthode ROSS et MARTIN, on fait couler quelques gouttes de la solution d'hypobromite soigneusement dégazée et maintenue sous hélium, dans le tube sous vide contenant le sulfate d'ammonium. Pour la méthode RITTENBERG, après avoir fait le vide, on bascule le dispositif afin de faire couler la solution d'hypobromite dans la boule contenant l'échantillon sec de sulfate d'ammonium.

Un millilitre de l'une ou l'autre solution d'hypobromite suffit pour convertir 2 à 3 mg d'azote sous forme de sulfate d'ammonium en azote moléculaire. La réaction est la suivante :



### II.2.2.3 - Expression des résultats

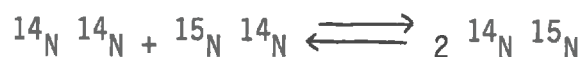
L'analyse isotopique par spectrométrie de masse (ou par spectrométrie optique) permet de détecter les faisceaux d'ions  $m/z = 28$  ( $^{14}\text{N } ^{14}\text{N}^+$ ),  $m/z = 29$  ( $^{14}\text{N } ^{15}\text{N}^+$ ) et  $m/z = 30$  ( $^{15}\text{N } ^{15}\text{N}^+$ ).

L'abondance isotopique, qui est par définition égale au nombre d'atomes d'azote 15 sur le nombre total d'atomes de l'élément pourra, à partir de la mesure de la hauteur des trois pics correspondants, être calculée par la formule :

$$A = \frac{/30/ + 1/2 /29/}{/28 + 29 + 30/} \cdot 100 \quad (I)$$

Le pic correspondant au faisceau d'ions  $\frac{m}{z} = 29$  correspond à autant d'atomes de masse 14 que de masse 15. On ne fait donc intervenir au numérateur que la moitié de la hauteur du pic 29. Cette formule est générale et valable pour toutes les analyses. Elle présente cependant un inconvénient : lors de la mesure d'échantillons faiblement marqués le nombre de molécules de type  $^{15}\text{N} \ ^{15}\text{N}$  ( $m/z = 30$ ) est très faible et le pic correspondant non mesurable.

Pour pallier à cet inconvénient, nous utilisons la propriété des isotopes qui peuvent s'échanger au sein de différentes molécules pour atteindre l'équilibre isotopique (THIBAUT P. 1972) :



Il s'agit d'un équilibre analogue à un équilibre chimique classique qui maintient un brassage permanent des atomes aboutissant à la répartition statistique la plus probable.

Les atomes  $^{14}\text{N}$  et  $^{15}\text{N}$  sont combinés entre eux statistiquement de manière aléatoire suivant les termes de l'équation :

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

où p représente le nombre d'atomes de masse 14 et q celui de masse 15 ;  $p^2$  sera donc la probabilité d'obtenir des molécules 28,  $2pq$  des molécules 29, et  $q^2$  des molécules 30.



Il est facile de mesurer le rapport :

$$R = \frac{{}^{14}\text{N} \quad {}^{15}\text{N}}{{}^{14}\text{N} \quad {}^{14}\text{N}} = \frac{29}{28} = \frac{2pq}{p^2} = \frac{2q}{p} \quad (\text{I})$$

Par définition  $\mathcal{A} = \frac{q}{p + q} \cdot 100$  et en divisant numérateur et

dénominateur par p il vient :

$$\mathcal{A} = \frac{q/p}{1 + q/p} \cdot 100$$

De (1) on en déduit  $q/p = R/2$  et

$$\mathcal{A} = \frac{R/2}{1 + R/2} \cdot 100 = \frac{100 R}{2 + R} \quad (\text{II})$$

De la même façon, si on a un composé fortement enrichi on pourra mesurer le pic 30 et calculer un rapport  $R' = \frac{30}{29}$  ; un calcul semblable permet de trouver que :

$$\mathcal{A} = \frac{200 R'}{1 + 2 R'} \quad (\text{III})$$

Pour un gaz en équilibre isotopique la valeur de  $\mathcal{A}$  calculée selon (I), (II) ou (III), doit être strictement identique.

Un autre moyen de vérifier cet équilibre est de calculer le rapport :

$$\frac{/29/}{/28/ \cdot /30/} = \frac{(2pq)^2}{p^2 \cdot q^2} = 4$$

Plus ce rapport sera différent de 4, plus le gaz sera loin de l'équilibre isotopique. Cet équilibre sera toujours réalisé pour des atomes tels que ceux de l'hydrogène et du deutérium qui s'échangent très rapidement entre eux, et dans toutes les analyses d'azote faites suivant la méthode RITTENBERG, où les atomes d'azote provenant du  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  vont se combiner pour donner des molécules d'azote.

Si l'abondance isotopique est inférieure à 10 %, nous utilisons la formule (II) ; si elle est supérieure à 10 %, la formule (III) est appliquée car le pic 30 est mesuré avec précision et l'analyse est moins perturbée par une éventuelle pollution causée par une entrée d'air. Si la contamination est faible (inférieure à 5 % de la quantité d'azote de l'échantillon), il est possible d'établir une *correction* permettant d'approcher au mieux la valeur réelle de l'abondance isotopique de l'échantillon.

Cette correction est applicable parce que l'azote moléculaire de l'air ne se combine pas à celui provenant de l'échantillon. Nous déterminons avec de l'air le rapport des pics 28/40 ( $^{14}\text{N}$   $^{14}\text{N}$  sur argon) et 29/40 ( $^{14}\text{N}$   $^{15}\text{N}$  sur argon) ; le rapport 30/40 ( $^{15}\text{N}$   $^{15}\text{N}$  sur argon) est négligeable.

Ces rapports, dépendant des probabilités d'ionisation des différentes molécules, ne peuvent pas être obtenus par calcul, car il varie d'un spectromètre à l'autre et sont fonction du réglage des différents paramètres (source, focalisation) d'un même spectromètre. Lors de l'analyse isotopique, la détermination d'un pic 40 permettra de connaître la contribution de l'air aux pics 28 et 29, d'obtenir des mesures corrigées de ces pics par soustraction des valeurs lues sur le spectre, et de faire une estimation correcte de l'abondance isotopique du produit analysé. Cette méthode n'est bien sûr qu'approximative, et dans la mesure du possible les contaminations doivent demeurer exceptionnelles.

Un autre exemple de non équilibre isotopique est fourni par l'étude de la dénitrification, où des molécules d'azote issues des nitrates marqués ajoutés au sol se dégagent dans de l'air contenant donc des molécules à l'abondance naturelle. Nous allons illustrer ceci par un exemple numérique.

Nous avons ajouté à un sol en incubateur, des nitrates marqués à E = 34,2 % et après 15 jours l'analyse de l'atmosphère donne les résultats suivants :

$$/28/ = 7,8 \text{ V}$$

$$/29/ = 0,486 \text{ V}$$

$$/30/ = 0,106 \text{ V}$$

Nous voyons que l'équilibre isotopique n'est pas atteint car :

$$\frac{/29/}{/28/ \cdot /30/} = 0,28$$

Cette valeur est très inférieure à 4. Le calcul de l'abondance isotopique suivant les formules (I), (II) et (III) donne des valeurs très différentes, respectivement : 4,16 ; 3,02 et 30,37. 4,16 est la teneur exacte moyenne du mélange analysé.

A partir de ces mesures, il est possible de calculer la teneur isotopique de l'azote dégagé (donc des nitrates du sol). La contribution de la dénitrification sera minime sur le pic 28 puisque l'azote dégagé a une teneur voisine de 34 % ; connaissant le rapport R de l'azote de l'air (0,00735), on peut chiffrer la valeur du pic 29 correspondant.

$$R = 0,00735 = \frac{/29/}{7,8} \text{ d'où } /29/ = 0,057 \text{ V}$$

La contribution de l'azote dénitrifié sur ce pic 29 sera donc de :

$$0,486 - 0,057 = 0,429 \text{ V}$$

A partir de cette valeur corrigée nous calculons :

$$\text{le rapport } R' = \frac{/30/}{/29/} = \frac{0,106}{0,429} = 0,247$$

et l'abondance isotopique = 33,09 %.

Cet azote a une abondance isotopique voisine de celle des nitrates ajoutés (peu de nitrates dans le sol étudié). L'utilisation de la formule (III) pour les composés fortement enrichis est justifiée, car la mesure n'est que très peu perturbée par des contaminations extérieures.

De la détermination de  $\delta$  on déduit la valeur de l'excès E qui est la donnée à utiliser pour les calculs.

### II.2.3 - Appareillage de mesure

La détermination de la teneur isotopique se fait par *spectrométrie de masse* ou par *spectrométrie optique*. Le spectromètre de masse utilisé jusqu'à ces dernières années est un VARIAN modèle GD 150 (GUIRAUD G. et PACCHIANI L. 1973), et récemment un VG Micromass 622. Nous ne nous attarderons pas trop sur cette technologie qui a été copieusement et précisément décrite par ailleurs (RITTENBERG D. 1948, BREMNER J.M. 1965 c, SMITH J.H. et al. 1963, PROKSCH G. 1969, FIEDLER R. et PROKSCH G. 1975), mais nous insisterons davantage sur la spectrométrie optique qui est moins connue.

#### II.2.3.1 - Principe de la spectrométrie de masse

C'est en 1913 que J.P. THOMSON créa le premier spectrographe mais c'est F.W. ASTON qui inventa la spectrométrie de masse en perfectionnant l'instrument qui lui permit de découvrir deux isotopes dans le néon. Le spectromètre de masse est un appareil qui produit des ions à partir de la substance à étudier, les sépare suivant un rapport  $m/z$  de leur masse "m" à leur charge électrique "z", avant d'en donner la répartition.

Nous pouvons résumer cette technique en quatre phases correspondant à 3 zones de l'appareil : source, analyseur et collecteur.

- ionisation (création d'ions positifs),

- accélération des ions,

} Rôle de la source d'ions

- séparation sous l'influence d'un champ magnétique : rôle de l'analyseur de masse,

- détection et mesure du courant ionique : rôle du collecteur.

La spectrométrie de masse reste toujours de par son universalité et sa précision la technique la mieux adaptée aux analyses isotopiques. Sans atteindre la précision exigée pour les mesures des variations d'abondance naturelle\* (MARIOTTI A. et LETOLLE R. 1978), la reproductibilité des déterminations ( $\pm 0,003$  atome  $^{15}\text{N}$  %, tableau 3 Page 46) est largement suffisante pour toutes les expériences faisant appel au marquage artificiel, et l'expérience montre que l'erreur entraînée par l'analyse isotopique est négligeable devant les variations biologiques ou devant celles des analyses chimiques.

#### II.2.3.2 - Principe de la spectroscopie optique

La présence d'un atome de masse 15 dans une molécule d'azote gazeux excitée par un champ électrique haute fréquence se traduit par un déplacement des bandes du spectre d'émission ; c'est ainsi que la longueur d'onde de la bande principale émise dans l'ultraviolet se situe à 297,7 nm pour les molécules  $^{14}\text{N} \ ^{14}\text{N}$ , à 298,3 nm pour les molécules  $^{14}\text{N} \ ^{15}\text{N}$  et à 298,9 nm pour les molécules  $^{15}\text{N} \ ^{15}\text{N}$ . L'utilisation d'un détecteur photoélectrique et d'un enregistreur permet de mesurer l'intensité de ces différentes bandes et de calculer la teneur en azote 15.

Mise en oeuvre à partir de 1950 par HOCH M. et WEISSER H.R., cette technique est employée depuis une quinzaine d'années dans le laboratoire de l'AIEA à Seibersdorf (PROKSCH G. 1971). Ses avantages sont : un prix de revient bien moindre et la possibilité d'analyses de petites quantités ( $< 1 \mu\text{g N total}$  ; MARTIN F. et al 1981) ; l'inconvénient majeur réside dans le peu de précision des mesures pour les faibles teneurs (FIEDLER R. et PROKSCH G. 1975, GUIRAUD G. et BUSCARLET L.A. 1975, MIDDELBOE V. 1977).

\* Cette précision n'est obtenue que par la réalisation de mesures relatives au lieu des mesures absolues et non par l'utilisation de machines plus performantes.

Jusqu'en 1980 deux appareils seulement étaient commercialisés : STATRON (R.D.A.) et JASCO (Japon), aussi la spectrométrie optique s'est largement développée dans ces pays là (FAUST H. et REINHARDT R. 1975, WETZEL K. 1977, OHMORI M. et al 1981, ARIMA 1981). Nous avons participé activement à la réalisation et la mise au point d'un appareil (GUIRAUD G., FARDEAU J.C. 1980, LEMASSON L. et al. 1982).

### II.2.3.3 - Spectromètre optique GS 1

L'analyseur optique utilisé est un appareil français, de marque SOPRA\*, modèle GS 1 dont le schéma est représenté sur la figure 3. Son originalité est d'utiliser un réseau concave fixe ( $2000 \text{ traits.mm}^{-1}$  optimisé pour 300 nm) permettant d'obtenir directement l'image de la fente d'entrée sur la fente de sortie. Le balayage des différentes longueurs d'onde est réalisé par la rotation d'une lame à faces parallèles en quartz, placée sur le trajet du faisceau diffracté.

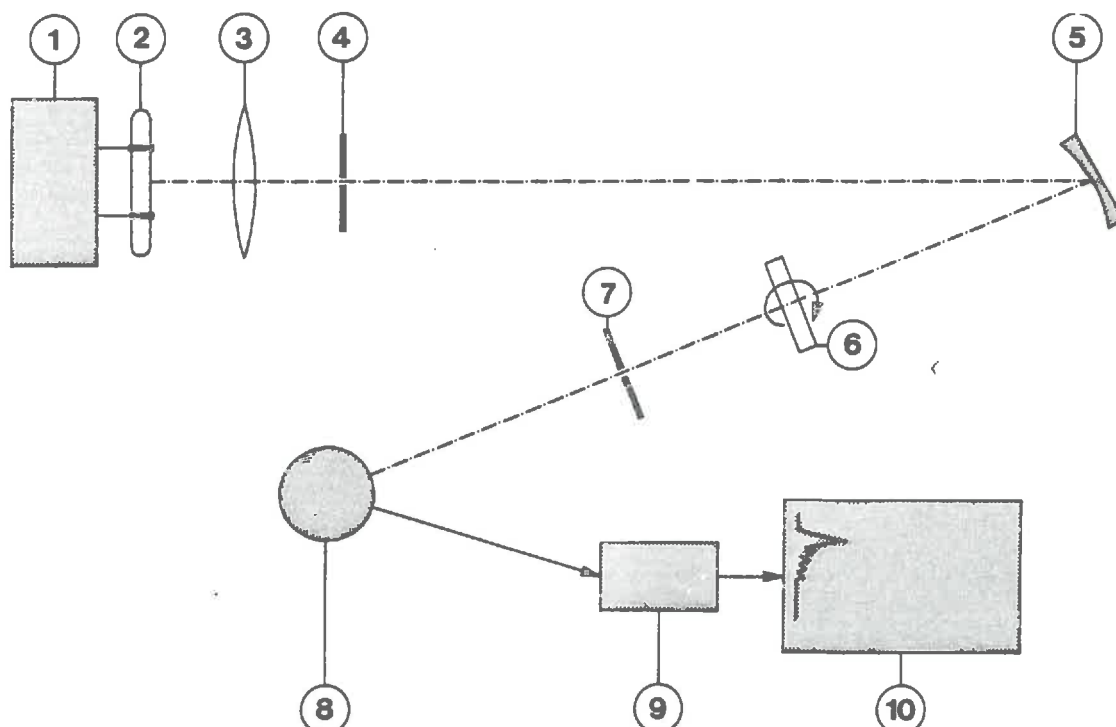


Figure 3 - Schéma de principe du spectromètre optique GS 1

- 1 Haute fréquence ;
- 2 Tube à décharge sans électrode ;
- 3 Lentille convergente ;
- 4 Fente d'entrée ;
- 5 Réseau concave ;
- 6 lame à faces parallèles ;
- 7 Fente de sortie ;
- 8 Photomultiplicateur ;
- 9 Amplificateur ;
- 10 Enregistreur ou intégrateur.

\* SOPRA : 68 Rue P. JOIGNEAUX F. - 92270 BOIS-COLOMBES

Par rapport aux autres spectromètres optiques, le "GS 1" présente des simplifications importantes qui améliorent la précision des mesures. L'utilisation d'un réseau concave permet de supprimer des miroirs (trois dans le cas du JASCO). Le balayage par la rotation régulière d'une petite lame à faces parallèles, opération plus simple à réaliser que celle consistant à faire pivoter très légèrement un prisme volumineux (STATRON) ou un réseau (JASCO), allège la mécanique de l'appareil.

Pour limiter au minimum le bruit de fond propre à l'appareil, la haute tension du photomultiplicateur a été fixée à 550 V, alors qu'elle est de 1150 V dans le STATRON. Entre 550 V et 750 V, tension de saturation du photomultiplicateur, on n'observe pas de variations dans le rapport d'intensité des pics  $^{14}\text{N}$   $^{14}\text{N}$  et  $^{14}\text{N}$   $^{15}\text{N}$  même si leur hauteur varie. Cette constante peut être exploitée pour améliorer dans certaines circonstances la qualité de lecture de l'enregistrement.

Du fait d'une résolution insuffisante des pics 28, 29 et 30 (nous avons un spectre de bandes caractéristique des molécules et non un spectre de raies caractéristique des atomes) *les spectromètres optiques nécessitent un étalonnage* qui peut être obtenu en analysant des composés de teneur parfaitement définie (SCOTT T.A. et HUMPHERSON R. 1974), soit en utilisant un spectromètre à haute résolution (MIDDELBOE V. 1974) ce qui nous paraît très difficile étant donné la complexité du spectre (Figure 4), soit le plus souvent, en comparant les résultats avec ceux fournis par un spectromètre de masse (FERRARIS M.M. et PROKSCH G. 1972, FIEDLER R. et PROKSCH G. 1972, GUIRAUD G. et BUSCARLET L.A. 1975).

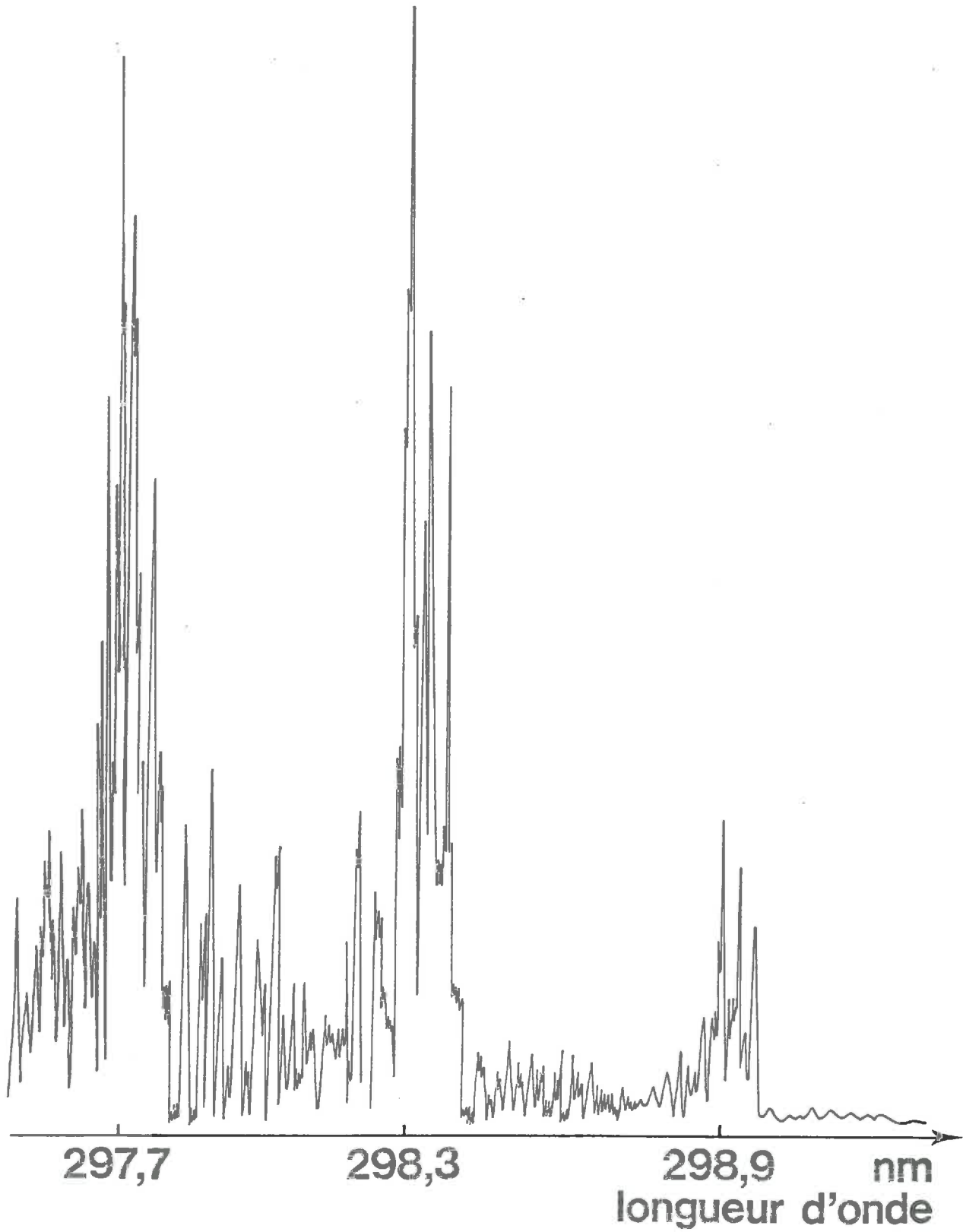


Figure 4 - Spectre, d'une ampoule teneur 30 %, obtenu avec un spectromètre à haute résolution.



#### II.2.3.4 - Préparation des tubes à décharge sans électrodes

Pour pouvoir être analysé, l'azote est transféré dans une ampoule (tube de Pyrex : diamètre extérieur 8 mm, épaisseur 1 mm) que l'on scelle au chalumeau. La pression à l'intérieur doit être environ 1 mbar.

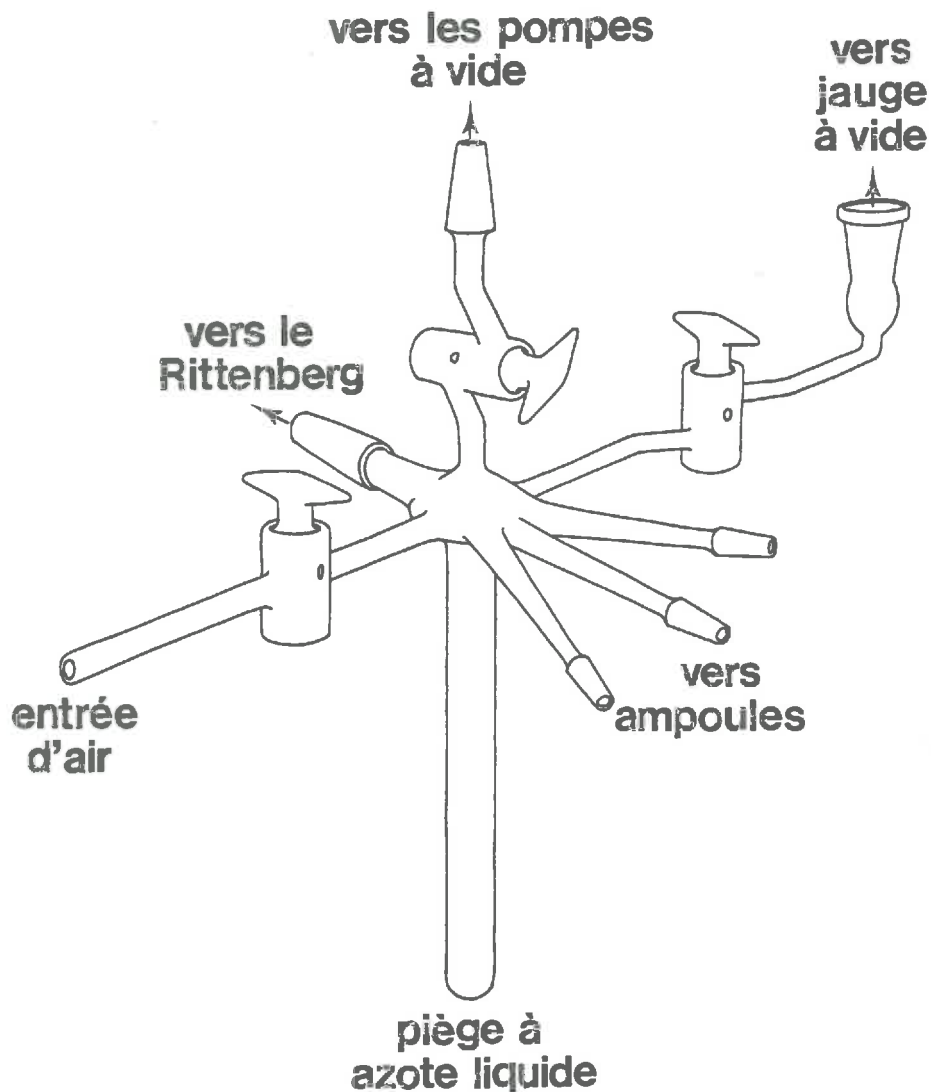


Figure 5 : Dispositif de préparation des ampoules scellées.

Deux façons d'opérer sont couramment pratiquées :

\* La première consiste à transférer au moyen du dispositif de la Figure 5 l'azote moléculaire de l'appareil de RITTENBERG (Figure 5a) ou du dispositif de ROSS et MARTIN (Figure 5b) dans l'ampoule à sceller, en prenant bien soin d'éliminer toutes les impuretés (les traces d'eau en particulier par piégeage dans l'azote liquide et les gaz adsorbés par chauffage quelques minutes avec un petit chalumeau) et en ajustant la pression avant de sceller le tube à décharge.

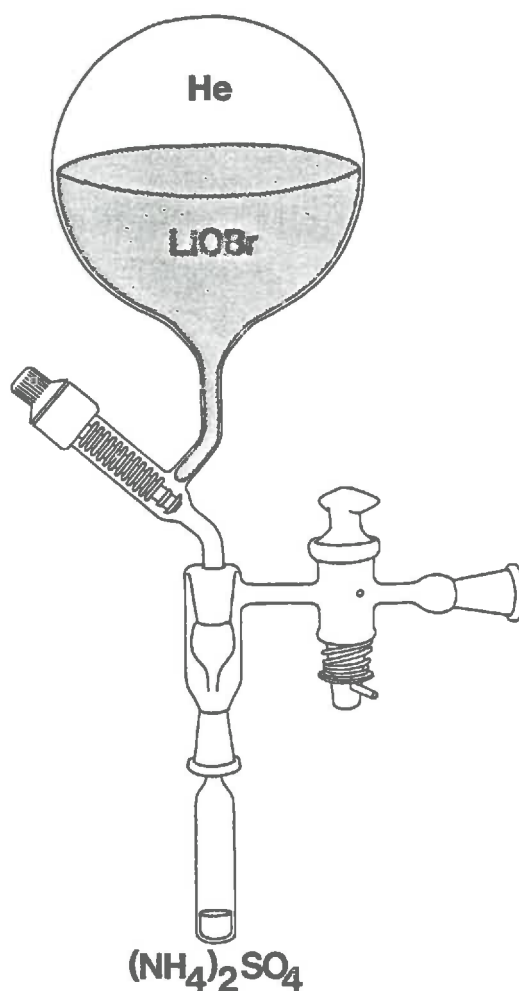
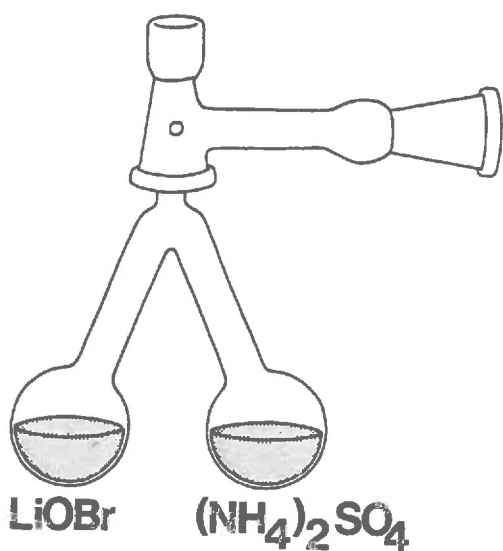


Figure 5a - Dispositif de RITTENBERG

Figure 5b - Dispositif de ROSS et MARTIN

\* La deuxième consiste à faire directement sur l'échantillon organique un micro-Dumas (LEMASSON L. et al. 1982), en confinant le mélange échantillon-cuivre-oxyde de cuivre au fond de l'ampoule par un petit tampon de laine de verre. Après avoir soigneusement dégazé les parois du tube, il est scellé et mis dans un four à 550°C pendant 12 h. L'analyse isotopique est faite en prenant soin de piéger les gaz résiduels issus de la combustion, qui entraînent soit une surestimation de la teneur (CO<sub>2</sub> : FIEDLER R. et PROKSCH G. 1975), soit gênent ou même empêchent l'émission (H<sub>2</sub>O : LEICKNAM J.P. et al 1968).

Pour pallier à ces inconvénients, la majorité des auteurs utilisent CaO activée à 1000°C (GOLEB J.A. et MIDDELBOE V. 1973, MUHAMMAD S. et KUMAZAWA K. 1976, MARTIN F. et al. 1981) ou un tamis moléculaire (PHEIFFER MADSEN P. 1977). Le dégazage de ces produits est long; l'introduction dans l'ampoule entraîne des manipulations supplémentaires qui sont toujours des sources possibles de contamination. Nous avons trouvé moins fastidieux d'effectuer la mesure en maintenant le bout de l'ampoule immergé dans l'azote liquide (MIDDELBOE V. 1974).

Il est difficilement envisageable d'utiliser en routine des ampoules en quartz à cause de leur prix et des difficultés de scellement, c'est pourquoi l'on emploie du Pyrex ordinaire bien que sa transmittance dans cette région du spectre (300 nm) soit de 8 % seulement pour une épaisseur de 10 mm alors qu'elle est de 100 % pour le quartz (FIEDLER R. et PROKSCH G. 1975). Des essais sont en cours pour trouver un verre moins cher et pouvant être travaillé plus facilement que le quartz tout en approchant ses qualités optiques (VYCOR).

Dans les premières expériences, les ampoules présentaient une constriction de la partie médiane (Figure 6a), géométrie qui conduit à une émission plus intense et par voie de conséquence un signal plus élevé. Cette forme est abandonnée pour la tige droite (Figure 6b), car le coefficient de variation d'une série de déterminations effectuées sur un même tube éclairé, soit dans la partie large, soit dans la constriction passe de 1,2 % à 2,1 % pour sept mesures.

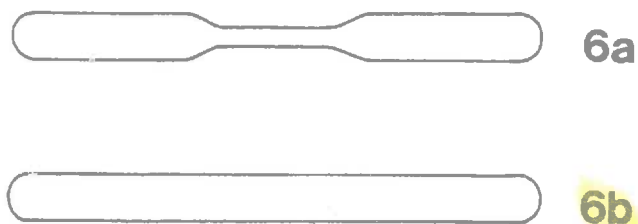


Figure 6 - Différentes formes de tubes à décharge sans électrode

Les avantages de cette nouvelle géométrie sont multiples :

- \* la fabrication des ampoules est simplifiée : leur prix devient négligeable,

- \* l'épaisseur des parois demeure constante alors qu'elle peut varier au niveau de l'étranglement de quelques dixièmes de millimètres, différence suffisante pour créer des variations de transmittance aussi bien d'une ampoule à l'autre que pour une même ampoule positionnée différemment sur son support (rotation de  $180^\circ$  par exemple),

- \* le positionnement de cette nouvelle ampoule par rapport au collimateur et à la fente d'entrée est toujours identique alors que pour une ampoule à étranglement (réalisé manuellement) sa géométrie peut modifier les mesures,

- \* les ampoules s'échauffent beaucoup moins et un petit ventilateur suffit pour assurer leur refroidissement ce qui est important à deux points de vue :

- en premier lieu, la pression de l'azote à l'intérieur reste constante, maintenant ainsi la stabilité de l'émission. Bien que la pression puisse varier de 1 à 5 mbar (LEICKNAM J.P. 1968, FIEDLER R. et PROKSCH G. 1975) et que les manuels d'utilisation des appareils donnent

une gamme allant de 0,5 à 8 mbar, il est très important de bien la contrôler. Durant nos préparations, elle a été fixée à 1 mbar  $\pm$  0,2 mbar. Pour une valeur inférieure, jusqu'à 0,4 mbar, l'excitation a lieu mais la décharge est instable, l'intensité faible et la durée de vie très courte ; en dessous il n'y a plus d'émission. A partir de 2 mbar, on a des difficultés pour amorcer l'excitation (il faut faire appel à une source haute fréquence extérieure) mais les mesures sont correctes.

- en second lieu on note l'absence de désorption et de diffusion des impuretés à travers les parois chaudes ; les précautions prises lors du remplissage pour éliminer toutes pollutions, des traces de gaz carbonique et d'eau en particulier seraient alors caduques.

Les échantillons préparés et mesurés dans ces conditions ont une *durée de vie pratiquement illimitée* : c'est primordial pour les ampoules étalons. Ces ampoules étalons sont établies soit à partir de substances de teneur connue vendues dans le commerce, soit à partir de la mesure au spectromètre de masse d'une partie aliquote de l'azote qu'elles contiennent.

#### II.2.3.5 - Résultats

Sur une période de deux mois, une même ampoule contenant de l'azote proche de la teneur naturelle (Excès exact mesuré au spectromètre de masse GD 150 : 0,051 %) a été analysée dans diverses conditions : aussitôt après sa préparation, après des périodes continues d'éclairage de 1/2 h, 1 h, 3 h et 5 h et même après des séries de plusieurs éclairages et extinctions. Les résultats sont rassemblés sur la Figure 7.

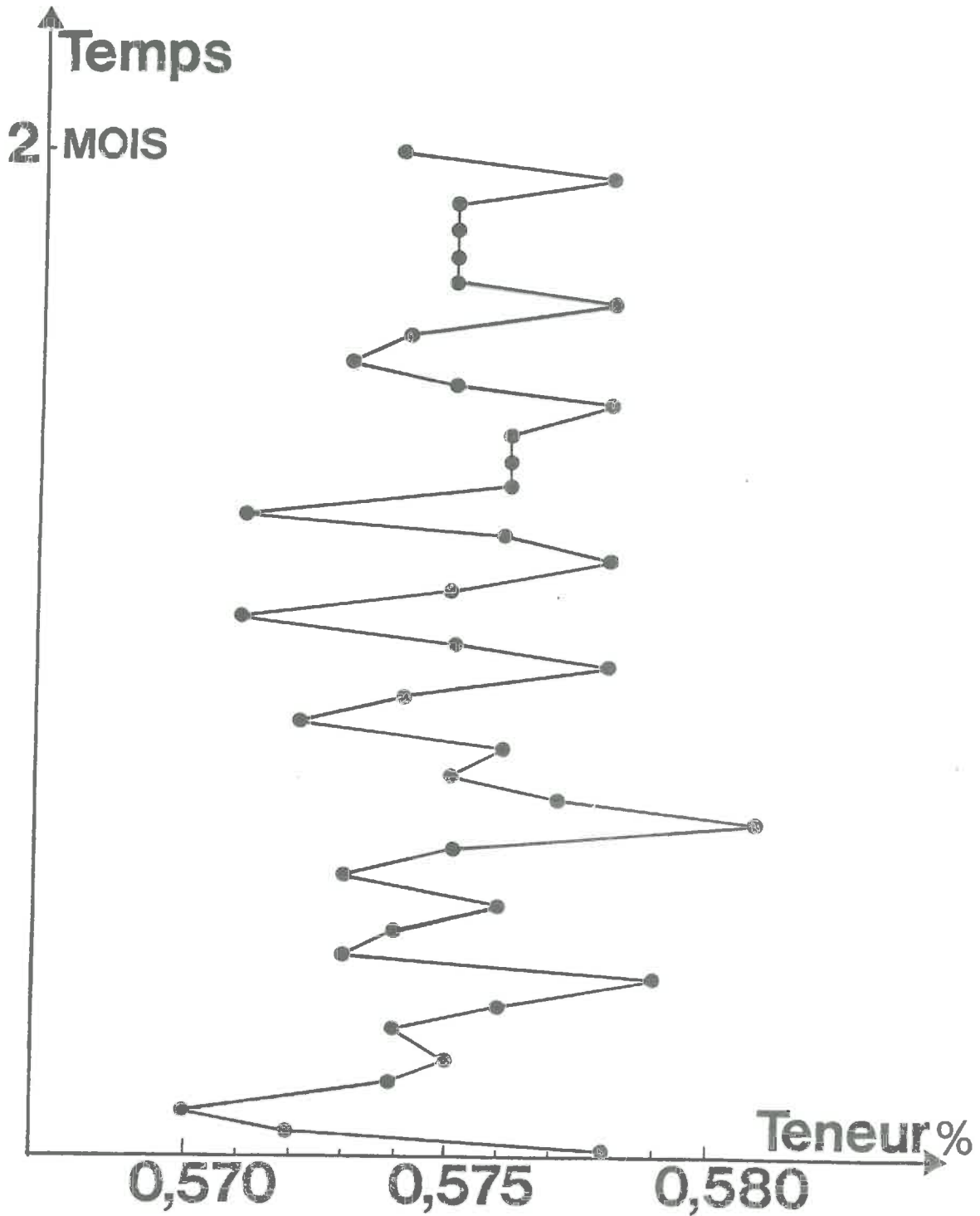


Figure 7 - Variation dans le temps de la teneur isotopique d'une même ampoule mesurée par spectrométrie optique.

Pour cette suite de 40 mesures, les teneurs se situent entre 0,570 % et 0,581 % avec une valeur moyenne de 0,575 %. Le coefficient de variation est de 0,4 %. On ne remarque pas d'évolution dans le temps, si ce n'est une légère amélioration de la fourchette des résultats se traduisant par une petite baisse du coefficient de variation qui passe de 0,46 % pour les 20 premières mesures à 0,33 % pour les 20 suivantes. Nous utilisons encore des ampoules étalons fabriquées depuis plus de quatre ans sans noter des variations significatives des abondances.

Ces analyses répétées prouvent la fiabilité de l'appareil et confirment la durée de vie des ampoules préparées suivant la méthode indiquée précédemment, à condition toutefois de ne pas élever la température au-dessus de 50°C.

Le calcul de l'excès isotopique a des conséquences analytiques importantes car c'est la différence de deux mesures ; plus on s'approchera de l'abondance naturelle, plus petite sera cette différence et plus grande sera la difficulté d'obtention de mesures précises.

Ainsi les résultats d'une série de mesure faites avec le spectromètre optique GS 1 sont caractéristiques (Tableau 2).

Excès mesuré par spectrométrie de masse ‰	Teneurs mesurées par spectroscopie optique <sup>15</sup> N ‰	Moyenne	Excès par spectroscopie optique ‰	Moyenne	Ecart type
0	0,525 - 0,516 - 0,526	0,522	0,002 - 0,007 - 0,003	- 0,004	0,006
0,024	0,553 - 0,544 - 0,541	0,546	0,029 - 0,020 - 0,017	0,022	0,006
0,051	0,575 - 0,578 - 0,579	0,577	0,050 - 0,053 - 0,054	0,052	0,002
0,076	0,605 - 0,598	0,602	0,079 - 0,072	0,076	0,005
0,102	0,627 - 0,629 - 0,630	0,629	0,100 - 0,102 - 0,103	0,102	0,002
0,152	0,683 - 0,687 - 0,676	0,682	0,154 - 0,158 - 0,147	0,153	0,006
0,204	0,740 - 0,744 - 0,739	0,741	0,209 - 0,213 - 0,208	0,210	0,003
0,260	0,785 - 0,794 - 0,803	0,794	0,253 - 0,261 - 0,270	0,261	0,009
0,304	0,838 - 0,840	0,839	0,304 - 0,306	0,305	0,001
0,465	1,012 - 1,003 - 0,989	1,001	0,472 - 0,463 - 0,449	0,461	0,012
0,614	1,172 - 1,153 - 1,153	1,159	0,626 - 0,608 - 0,608	0,614	0,010

Tableau 2 - Etude de la reproductibilité des mesures par spectrométrie optique.

Malgré une bonne précision de la mesure analytique, les erreurs entraînées dans la détermination des faibles excès est très importante : environ 10 % relatif pour un excès de 0,1 %, valeur inférieure à ne pas dépasser avec le GS 1. Par contre, dès que les excès isotopiques atteignent 0,5 % la précision relative (1 % ou 2 %) est suffisante pour les expériences biologiques de toutes natures. La reproductibilité des mesures par spectrométrie de masse est bien meilleure (Tableau 3), et nous considérons que la limite inférieure des excès mesurables se situe aux alentours de 0,02 % pour le GD 150 ou le Micromass 622.

Excès adopté mesuré au SdM %	Excès mesuré GD 150 %	$\bar{m}$	Ecart type
0	- 0,002 ; - 0,001 ; - 0,001 0 ; - 0,001	- 0,001	0,001
0,051	0,054 ; 0,054 ; 0,048 0,050 ; 0,048 ; 0,048	0,050	0,003
0,102	0,096 ; 0,101 ; 0,100 0,101 ; 0,099 ; 0,102	0,100	0,002
0,204	0,209 ; 0,202 ; 0,201 0,202 ; 0,203	0,202	0,003
0,304	0,308 ; 0,310 ; 0,308 0,307 ; 0,305	0,308	0,002

Tableau 3 - Etude de la reproductibilité des mesures par spectrométrie de masse.

#### II.2.4 - Techniques particulières

##### II.2.4.1 - Analyse d'échantillons de sols et de végétaux contenant des nitrates

La méthode Kjeldahl n'inclut que partiellement, les nitrates présents dans les échantillons de sols et de végétaux (BREMNER J.M. 1965a), l'acide nitrique formé étant déplacé par l'acide sulfurique. Dans la mesure



où l'azote nitrique compte le plus souvent pour moins de 1 % de l'azote total, c'est-à-dire une quantité inférieure à celle que l'on peut estimer avec la précision du dosage, cette méthode est considérée à juste raison comme quantitative. Cependant, lors de l'utilisation de traceurs, et plus spécialement de nitrates marqués à l'azote 15, la plus grande partie de l'isotope peut rester temporairement sous forme nitrique et un dosage total devient indispensable si on ne veut pas se trouver devant des défauts de bilans (HAUCK R.D. 1968).

Une série de dosages effectués sur différents sols recevant des nitrates marqués conduit à des récupérations d'azote 15 allant de 30 à 100 % (Tableaux 4 et 5) (GUIRAUD G. et FARDEAU J.C. 1977). C'est pourquoi une méthode dérivée de celle d'OLSEN C. (1929) est retenue pour doser quantitativement les nitrates.

Q N - NO <sub>3</sub> ajouté		Sol brun acide I	Andosol 733 (Le Bouchet) II	Sol brun calcaire III	Sol tropical IV
0	QN mg/5g sol	7,09	15,14	5,38	0,88
10 ppm	QN mg/5g sol	7,13	14,92	5,32	0,87
	EZ	0,222	0,101	0,244	1,711
	Q <sup>15</sup> N mgx10 <sup>2</sup>	1,58	1,51	1,30	1,49
	Z <sup>15</sup> N départ	101	96	83	95
20 ppm	QN mg/5g sol	7,13	15,14	5,39	0,95
	EZ	0,417	0,200	0,428	2,79
	Q <sup>15</sup> N mgx10 <sup>2</sup>	2,97	3,03	2,31	2,65
	Z <sup>15</sup> N départ	95	96	74	84
30 ppm	QN mg/5g sol	7,20	15,23	5,35	0,89
	EZ	0,656	0,298	0,536	4,26
	Q <sup>15</sup> N mgx10 <sup>2</sup>	4,72	4,54	2,87	3,79
	Z <sup>15</sup> N départ	100	96	61	81
40 ppm	QN mg/5g sol	7,18	15,31	5,33	1,05
	EZ	0,842	0,396	0,717	5,50
	Q <sup>15</sup> N mgx10 <sup>2</sup>	6,05	6,06	3,82	5,78
	Z <sup>15</sup> N départ	96	97	61	92
50 ppm	QN mg/5g sol	7,22	15,06	5,38	1,05
	EZ	0,999	0,518	0,856	6,54
	Q <sup>15</sup> N mgx10 <sup>2</sup>	7,21	7,80	4,60	6,87
	Z <sup>15</sup> N départ	92	99	59	87

Tableau 4 - Variation des quantités d'azote 15 récupérées en fonction de la quantité de nitrates ajoutée (Addition de 1 à 5 ml d'une solution de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> contenant 48,5 µgN/ml avec un excès de 32,47 % en azote 15).

Origine et identification des différents sols	QN en mg pour 5 g sol	EZ	Q <sup>15</sup> N en ngx10 <sup>2</sup>	Z <sup>15</sup> N ajouté
Brun lessivé - Témoin Versailles Prélevé en 1965 (30 C)	3,97	1,88	7,46	95
Brun lessivé Versailles avec phosphate d'ammonium 1952 (3 B)	6,16	1,16	7,15	91
Brun lessivé Versailles avec phosphate d'ammonium 1965 (3 C)	5,63	1,29	7,26	93
Brun calcaire Grignon (Deherain) sans engrais depuis 1975 (45)	5,84	1,075	6,28	80
Brun calcaire Grignon (Deherain) fumier seul depuis 1929 (62)	7,86	0,722	5,67	72
Brun calcaire Grignon (36 parcelles) avec engrais sans paille (111)	5,95	1,07	6,37	81
Brun calcaire Grignon (36 parcelles) sans engrais avec paille (112)	6,72	0,999	6,71	86
Brun acide SCPA avec scories 8040	5,06	1,54	7,79	99
Hydromorphe calcique Rizière Saint-Paul Témoin	9,44	0,363	3,43	44
Hydromorphe Camargue	10,17	0,231	2,35	30
Brun calcaire Château Cadarache	5,38	0,856	4,60	59
Brun acide Clermont-Ferrand	7,22	0,999	7,21	92
Ferrugineux tropical dégradé DIOR	1,05	6,54	6,87	87
Andosol La Bouchet 733	15,06	0,518	7,80	99
Andosol Mercoeur	42,9	0,186	7,98	102
Andosol Marlieux 1236	113,8	0,068	7,74	99

Tableau 5 - Pourcentage d'azote nitrique récupéré par un dosage Kjeldahl classique sur différents sols.

(Addition de 240 µg N-NO<sub>3</sub> avec un excès en <sup>15</sup>N de 32,47 %).

### Méthode utilisée

A une prise d'essai d'environ 100 mg de végétal ou 3 g de sol placée dans un matras de 100 ml, on ajoute 1 g environ de fer réduit et 20 ml d'acide sulfurique 12 N (acide concentré dilué au 1/3). On chauffe lentement jusqu'à très douce ébullition qu'on maintient pendant à peu près 1 h pour évaporer l'eau. On laisse refroidir et on ajoute 3 g de catalyseur (mélange de Sélénium, Cu SO<sub>4</sub> et K<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> dans la proportion 2 - 5 - 10) et 5 ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. On chauffe à nouveau jusqu'à clarification (environ 4 h).

Cette méthode est utilisée sur divers échantillons de sols et de végétaux auxquels l'on ajoute des quantités connues de nitrate marqué (Tableaux 6 et 7).

		QN prise d'essai mg	QN prise d'essai + NO <sub>3</sub>	E %	Q <sup>15</sup> N (µg)	Σ <sup>15</sup> N ajouté
Paille de blé Prise d'essai 300 mg	Kjeldahl classique	1,50	1,66	3,29	54,6	85
	Kjeldahl Fe	1,48	1,65	3,80	62,7	98
Sol chateau Prise d'essai 5g	Kjeldahl classique	5,24	5,37	0,867	46,6	73
	Kjeldahl Fe	5,45	5,53	1,16	64,1	100

Tableau 6 - Dosage de l'azote total contenu dans une paille de blé et dans un sol en présence de nitrates marqués par la méthode Kjeldahl classique et modifiée. (Addition de 202 µg N ; E % : 31,51).

Méthode	QN - NO <sub>3</sub> ajoutée en mg	QN en µg pour 100 mg M.S.	E %	Q <sup>15</sup> N en µg x 10 <sup>2</sup>	en % du <sup>15</sup> N ajouté
Kjeldahl classique	0	4,94	/	/	/
	0,2	4,95	0,875	4,33	68
	0,4	4,96	1,66	8,23	65
	0,6	4,77	2,17	10,35	54
	0,8	4,84	2,76	13,36	52
	1	5,1	2,94	14,99	47
	Kjeldahl Olsen	0	5,22	/	/
0,2		5,29	1,14	6,03	95
0,4		5,28	2,31	12,20	96
0,6		5,36	3,38	18,12	95
0,8		6,04	4,09	24,70	97
1		6,22	4,94	30,73	96

Tableau 7 - Comparaison des deux méthodes Kjeldahl classique et Olsen pour le dosage de l'azote du ray-grass en présence de quantités croissantes de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> marqués. (Addition de 1 à 5 ml d'une solution de Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> contenant 202 µg N/ml avec un excès en azote 15 de 31,5 %).

Comme le montrent les résultats des tableaux 4 et 5, la technique Kjeldahl classique conduit toujours à un dosage partiel plus ou moins important de l'azote nitrique qui est repéré au moyen de  $^{15}\text{N}$  ; sans le traceur il serait absolument impossible de tirer des conclusions.

La méthode proposée permet, aux erreurs expérimentales près, d'éviter les pertes qui sont inéluctables avec le Kjeldahl classique ; étant donné sa simplicité elle est mise en oeuvre systématiquement lorsqu'on a le moindre doute sur la teneur en nitrates de l'échantillon.

#### II.2.4.2 - Fractionnement de l'azote dans la matière organique du sol

La majeure partie de l'azote du sol se rencontre sous forme organique, et de très nombreuses études ont été faites afin de déterminer une méthode de séparation des différents composés humiques. Néanmoins, à l'heure actuelle, la moitié environ des composés organiques azotés du sol ne sont pas caractérisés et il est nécessaire de poursuivre les recherches au moyen d'isotopes notamment (STEVENSON F.J. 1982).

Les méthodes de séparation employées peuvent être physiques, séparation densimétrique (MONNIER G. et al. 1962), granulométrique (FELLER et al 1983, BRUCKERT S. et al. 1978) ou par ultrasons (CHABOUIS C. et ALEZARD V. 1981) ou le plus souvent chimique, les extractants étant soit basiques (KONONOVA M.M. 1966) soit acides suivant la technique décrite par BREMNER J.M. (1965 b).

C'est cette technique que nous utilisons en la simplifiant légèrement suivant le processus proposé par STEWART B.A. et al. (1963 a). Comme nous n'avons pas pu nous intéresser à l'identification des différents composés (hexosamines et acides aminés), nous avons préféré choisir une méthode plus rapide et qui donne de bons résultats tant sur le plan chimique que sur le plan isotopique.

Méthode utilisée (Figure 8)

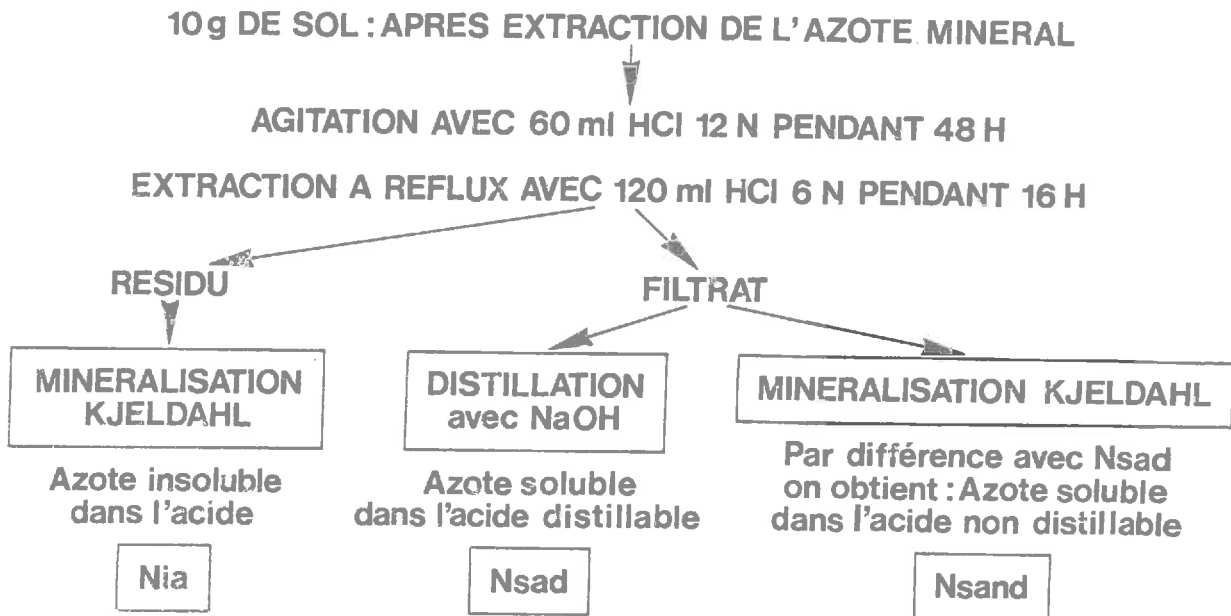


Figure 8 - Fractionnement de l'azote organique du sol.

Après extraction par agitation avec une solution de KCl (1 N), l'azote minéral est déterminé par distillation avec MgO calciné ( $\text{NH}_4^+$ ) et addition d'alliage de Devardas ( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ). Sur 10 g de sol, ainsi débarrassé de son azote minéral, on ajoute lentement 60 ml de HCl (12 N) et on agite, après cessation d'un éventuel dégagement de  $\text{CO}_2$  (sol calcaire), pendant 48 h. On porte ensuite à ébullition à reflux, après addition de 60 ml d' $\text{H}_2\text{O}$ , pendant 16 h. Par centrifugation, en rinçant deux fois avec 50 ml HCl (0,1 N), on sépare deux fractions : un résidu solide et une solution qui est amenée à un volume connu (en général 500 ml). Une partie aliquote (100 ml) est minéralisée pour obtenir la fraction azote total soluble dans l'acide "Nsa", l'autre fraction est directement distillée en présence de

NaOH (10 N) pour déterminer la fraction soluble dans l'acide et distillable "N<sub>sd</sub>". Par différence, on trouve la fraction soluble dans l'acide et non distillable "N<sub>sand</sub>". Un dosage Kjeldahl classique sur le résidu solide mesure la fraction insoluble dans l'acide "N<sub>ia</sub>". Sur toutes ces fractions les analyses isotopiques d'azote sont faites.

La fraction "N<sub>sd</sub>" est essentiellement constituée par des *sucres aminés* dont 80 % au moins sont présents dans cette fraction (STEWART B.A. et al 1963 a).

La fraction "N<sub>sand</sub>" est identique à celle que BREMNER J.M. (1965 b) et STEVENSON F.J. (1957) appellent *acides aminés*. Il y a cependant une possibilité pour que les 20 % environ des sucres aminés non dosés dans la fraction "N<sub>sd</sub>", soient inclus dans cette fraction.

Il en résulte que la fraction "N<sub>ia</sub>" contient de l'azote provenant de composés autres que les acides aminés : *leur identification exacte n'est pas confirmée* ; il semblerait que ce soient des substances humiques complexes et des hétérocycles azotés.

#### II.2.5 - Erreurs analytiques - Traitement statistique des résultats

A condition d'observer toutes les précautions indiquées dans les différents protocoles expérimentaux les erreurs analytiques sont faibles. Ainsi, avec 3 répétitions, les coefficients de variation du dosage d'azote total dans les sols et les végétaux par la méthode Kjeldahl se situent aux alentours de 2 à 3 % ; ceux des dosages isotopiques sont encore plus petits. Il en résulte que la principale source d'erreur proviendra de la variabilité des essais agronomiques. C'est la raison pour laquelle lors des essais en vases de végétation nous avons fait 3 à 5 répétitions pour limiter la valeur des coefficients de variation à 10 % environ. Les résultats des essais au champ, qui ne comportent pas de répétitions, sont donc sujets à critiques et les valeurs fournies ne peuvent être considérées qu'à titre indicatif.

Le calcul du "Ndff%" qui nécessite seulement la mesure de deux excès isotopiques sera très précis, celui du C.R.U. qui fait appel à la quantité totale d'azote dans le végétal le sera déjà moins et celui du C.A.U. qui implique la différence de deux quantités totales d'azote dans la récolte sera entaché de l'erreur la plus grande.

### CONCLUSION

L'emploi de l'azote 15 exige de l'expérimentateur des *contraintes supplémentaires* par rapport à celles demandées par les essais ne faisant pas appel aux traceurs. La sensibilité de la technique isotopique implique des *conditions opératoires strictes* et impose des précisions dans les dosages chimiques supérieures à celles généralement acceptées pour les mesures chimiques classiques seules. L'utilisation proprement dite du spectromètre optique est techniquement moins délicate que celle d'un spectromètre de masse. Les risques analytiques sont cependant plus importants parce qu'ils se situent en amont de la mesure et, avec les appareils commercialisés actuellement, tout contrôle a posteriori est impossible (mesure d'une contamination détectée par la présence d'un pic argon). Il en résulte qu'il ne faut jamais assimiler une analyse isotopique à une analyse de routine et que la simplicité d'emploi du spectromètre optique n'est qu'apparente.

## **DEUXIEME PARTIE**

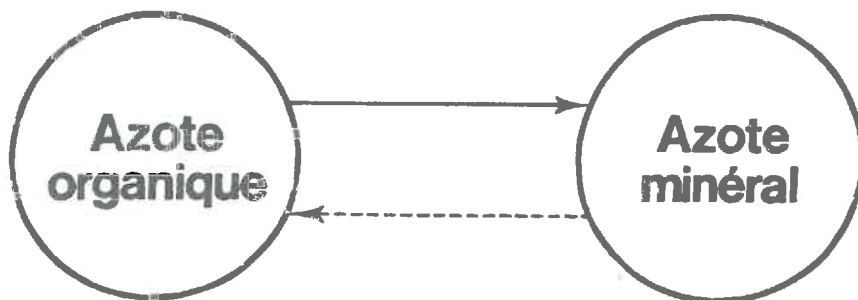
---

**ETUDE DU CYCLE DE L'AZOTE  
A L'AIDE DES  
METHODES ISOTOPIQUES**



## CHAPITRE III

MINERALISATION ET EVOLUTION DE LA  
MATIERE ORGANIQUE



L'origine de la fertilisation organique se perd dans la nuit des temps. HOMERE, neuf siècles avant Jésus Christ, serait le premier à y faire explicitement référence ; a son retour de la guerre de Troie, Ulysse est reconnu par son vieux "chien dormant sur un tas de fumier utilisé par les esclaves pour fertiliser le sol". L'importance de la matière organique dans la production végétale n'est contestée par personne même si, et pour cause, les principes de THAER (1828) faisant du fumier la seule source nutritive des plantes furent sérieusement et justement discutés par LIEBIG J. en 1834.

A partir de cette date, des milliers d'expériences ont été conduites avec les engrais minéraux, alors que peu ont été consacrées à l'étude du rôle de la matière organique. Appelée autrefois en FRANCE "la matière noire", cette dénomination à elle seule laisse présager les *difficultés posées par son étude scientifique.*

En 1963, lors de la dernière conférence d'un congrès consacré à l'utilisation des isotopes dans l'étude de la matière organique des sols, le professeur FLAIG W. a demandé, qu'afin d'intensifier la production végétale, tous les efforts possibles soient faits pour expliquer et comprendre le rôle joué par la matière organique. Malgré le travail accompli, notamment avec les isotopes et les moyens lourds d'investigation physique, les résultats semblent insuffisants puisque lors du récent congrès de l'AISS\* en 1982, SCHNITZER M. déplorait encore le peu d'intérêt accordé à la matière organique, alors que Mc. CUNE D. et STANGEL P.J. demandaient des études complémentaires sur le rôle de la matière organique, et KANWAR J.S. insistait sur l'importance des résidus de récoltes.

Nous n'avons pas la prétention d'aborder les multiples volets de la fertilisation organique. De nombreux ouvrages traitent uniquement ce sujet (ALLISON F.E., 1973, SCHNITZER M. et KHAN S.U., 1978) ; des symposiums, colloques et congrès continuent d'en débattre et les discussions animées montrent que ce problème est toujours d'actualité.

\* AISS : *Association Internationale de Science du Sol.*

Nous allons donner quelques exemples, révélateurs de la puissance de l'outil isotopique, qui préciseront l'état de nos connaissances sur la minéralisation de la matière organique et son incidence, tant sur la fertilité que sur l'évolution de l'azote du sol.

Nous envisagerons deux types d'approche.

- La première, la plus simple, consiste à apporter des composés organiques marqués et à suivre leur évolution dans le sol en mesurant leur minéralisation ; une culture peut servir à mettre en évidence cette transformation. Les composés organiques peuvent être des molécules simples (acides aminés par exemple) marquées à l'azote 15, au carbone 14 ou plus rarement avec les deux isotopes ; ces produits nous paraissent cependant trop éloignés de la réalité agronomique. Nous préférons *utiliser les résidus de récolte*. En effet leur enfouissement tient une place privilégiée dans les pratiques agricoles préconisées pour maintenir, voire augmenter le taux de matière organique et la fertilité des sols.

Cette amélioration de la fertilité est provoquée notamment par un apport plus important d'azote vers les plantes, suite à la minéralisation des substrats organiques ; leur marquage à l'azote 15 permet d'en apprécier l'importance de ces phénomènes. La minéralisation des résidus de récolte est fonction de leur rapport C/N (DELAS J. 1973, ENWEZOR W.O. 1976, JUSTE C. 1982), nous étudierons donc des résidus à *C/N très différents : des engrais verts et des pailles de céréales*.

- La deuxième approche est plus délicate car moins directe. En effet, depuis des périodes plus ou moins longues, des expériences sont suivies au champ, pour déterminer les variations de la fertilité des sols appréciées par la mesure des rendements. Ces modifications proviennent d'un entretien organique différent des parcelles (enfouissement des résidus de récolte, apport de fumier). Les résultats de ces pratiques ne sont décelés qu'après de longues années et bien souvent, il n'est pas possible de dégager une tendance. Sur place, il est difficile d'apporter les engrais marqués susceptibles de renseigner à plus brève échéance ; aussi, nous les ajoutons lors d'essais en vases de végétation, en serre, sur des échantillons de sols provenant des champs d'essais de longue durée.

### III.1 - DEVENIR DE L'AZOTE D'UN ENGRAIS VERT

Le mode d'action de l'engrais vert a souvent été discuté. MONNIER G. en 1965 écrit : "En dépit de son action favorable évidente dans certains cas, l'engrais vert doit être considéré comme une technique d'utilisation délicate aux effets incertains tant que ses conditions d'applications n'auront pas été précisées". Si pour LAL R. et KANG B.T. (1982) l'engrais vert n'a que peu d'incidence sur la teneur en matière organique, pour HALLAM M.J. et BARTHOLOMEW W.V. (1953) et pour BROADBENT F.E. et NORMAN A.G. (1946) un tel apport entraîne une perte de matière organique, et AGBOOLA A.A. (1982) soulève de multiples objections à cette pratique qui n'est pas promise, selon lui, à un grand avenir dans les pays tropicaux. Pour d'autres auteurs au contraire, l'apport d'engrais vert a des effets favorables (HALSTEAD R.L. et SOWDEN F.J. 1968) et peut accroître le taux de matière organique (STOTZKY G. et MORTENSEN J.L. 1958, SOWDEN F.J. et ATKINSON H.J. 1968), tout en ayant une importance primordiale dans l'accroissement de la production agricole (KRISNAMOORTHY K.K. et KOTHANDARAMAN G.V. 1982).

En ce qui nous concerne nous étudierons l'influence sur une culture de l'enfouissement de ray-grass marqué à l'azote 15 (GUIRAUD G., FARDEAU J.C. 1974).

Dans les essais au laboratoire, le ray-grass enfoui dans le sol sera assimilé à un engrais vert. Ceci ne correspond pas exactement à la définition proposée par (GROS A. 1973) : "plantes à végétation rapide enfouies sur place, spécialement cultivées pour améliorer les propriétés physiques du sol et faire de l'humus". La principale critique peut porter sur le fait qu'il n'est pas enfoui sur place. Néanmoins, étant donné sa composition chimique ce matériau s'apparente plus à un engrais vert qu'à toute autre sorte de fumure organique. Enfin, il semble aussi que l'on accepte un sens plus général à cette définition telle qu'elle fut formulée dans les comptes rendus de la Société Américaine de Science du Sol en 1965 (ALLISON F.E., 1973).

### III.1.1 - Culture en présence de ray-grass marqué

Nous effectuons des essais en vases de végétation sur le sol calcaire du domaine de Cadarache.

Sauf indications contraires, toutes les expériences sont réalisées sur ce sol. Il s'agit d'un sol brun calcaire d'une haute terrasse de la Durance (Dénomination F.A.O. : Calcic cambisol), limono-sablo-argileux, riche en calcaire actif et pauvre en matière organique. Ses caractéristiques principales sont, pour les différents prélèvements, voisines de celles-ci :

Granulométrie % (après décalcification)			Ca CO <sub>3</sub> %		pH		N ‰	C <sub>org</sub> ‰
A	L	S	Total	Actif	Eau	KCl		
10	22	28	39	30	8,1	7,6	1,05	10

Les essais sont menés sur des pots contenant 200 g de sol ; cette taille relativement restreinte limite la consommation des produits marqués et diminue la surface de serre occupée. Nous avons choisi cette dimension car des essais préliminaires sur 1 kg de sol donnaient des résultats similaires afin d'homogénéiser la présentation des données expérimentales, les résultats dans les tableaux seront toujours exprimés en mg.kg<sup>-1</sup>, c'est-à-dire en ppm. Les pots sont mis à la serre à une température de 25° C et avec un éclairage maintenu pendant 16 h.jour<sup>-1</sup>. Ils sont arrosés régulièrement en essayant d'éviter toute percolation ; si cela se produit l'eau percolée, récupérée dans une boîte de Pétri, est réintroduite dans le pot.

Une rangée de pots de bordure est disposée autour du dispositif expérimental. Les pots espacés de 15 à 20 cm, et répartis au hasard chaque semaine, sont tournés d'1/4 de tour chaque jour. L'analyse statistique des résultats est faite par le test "t" de STUDENT-FISHER (seuil 5 %).

Ces conditions expérimentales sont respectées dans la plupart de nos essais ; nous ne les rappellerons plus sauf en cas de changements importants. La présentation des résultats impliquera des tableaux alors qu'une représentation graphique serait plus agréable. Nous pensons qu'il est essentiel de fournir, à celui qui veut approfondir et discuter les expériences, l'ensemble des résultats expérimentaux nécessaires qui ne peuvent pas figurer sur un schéma.

Dans ce premier essai, quatre traitements sont comparés, chacun comportant trois répétitions :

A : sol témoin.

B : sol + 1 % de ray-grass\*.

C : sol + 200 ppm d'azote sous forme  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

D : sol + 200 ppm d'azote sous forme  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 1 % de ray-grass\*.

Le sol contient 1080 ppm d'azote total.

Le ray-grass, finement broyé et intimement mélangé au sol, a une teneur de 2,35 % en azote dont l'excès isotopique moyen est de 12,20 %. Il permet d'apporter 235 ppm d'azote dont 15 ppm sous forme minérale. Son rapport C/N est de 16. Il a été obtenu lors d'une culture précédente avec apport d'engrais minéral marqué à l'azote 15. Tous les pots reçoivent 2,4 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  et 2 g de graines de ray-grass (pour 1 kg de sol) sont semées.

\* : signifie marqué à l'azote 15.

Quatre coupes successives sont faites : 3, 6, 10 et 16 semaines après le semis. Immédiatement après la quatrième coupe, on rajoute à tous les pots 50 ppm d'azote sous forme  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  et on resème 1 g de graines de ray-grass. On ne met pas de fumure potassique ou phosphorique supplémentaire, les quantités initiales étant amplement suffisantes. On obtient ainsi deux autres coupes au bout de 3 à 7 semaines soit 19 et 23 semaines après l'apport d'azote 15.

Sur les parties aériennes récoltées lors des 6 coupes, ainsi que sur le sol et les racines séparés en fin d'expérience, on détermine l'azote total et s'il y a lieu l'excès isotopique.

Dans l'exposé des résultats, le calcul des quantités d'azote 15 provenant du ray-grass enfoui n'est pas rigoureusement exact, car *le marquage n'est pas strictement homogène* et un fractionnement des différents composés azotés donne des excès isotopiques variant de 10 à 13 %, cette dernière valeur étant celle de la fraction minérale. Pour faciliter l'interprétation des résultats, nous considérerons cependant en 1ère approximation le marquage comme homogène.

#### III.1.1.1 - Parties aériennes

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux 8 et 9 et schématisés sur la figure 9. Les quantités de matière sèche et d'azote exportées semblent évoluer de façon similaire en fonction des différents traitements, aussi parlera-t-on principalement de l'azote.

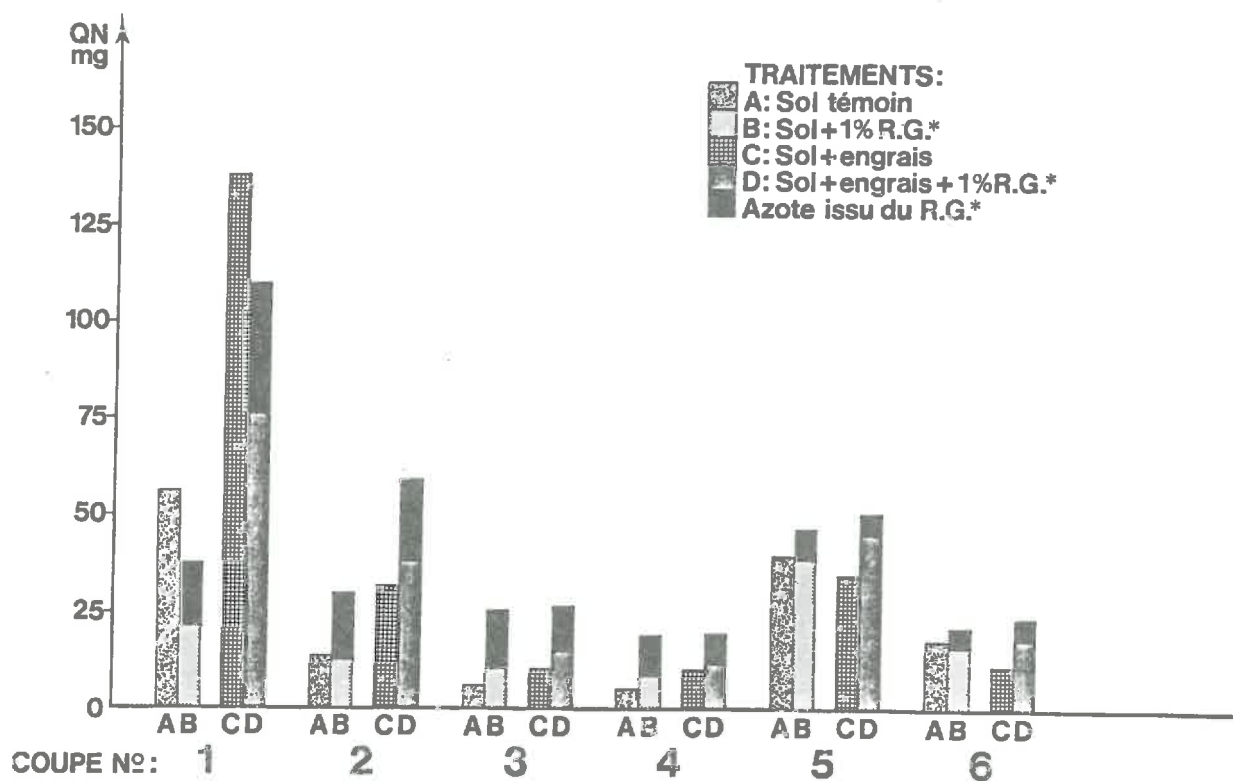
	A		B						
	Sol témoin		Sol + Ray-Grass <sup>15</sup> N						
	Poids sec (en g)	QN en mg/kg	Poids sec (en g)	QN en mg/kg	Excès isotopique %	QN venant du RG*	QN venant du sol	% <sup>15</sup> N départ	
Premier semis	1° coupe	2,82	56,6	1,62	39,5	5,15	16,7	22,8	7,1
	2° coupe	1,17	14,6	1,73	29,2	7,11	17,0	12,2	7,2
	3° coupe	0,66	6,9	1,91	25,2	7,42	15,3	9,9	6,5
	4° coupe	0,64	5,5	2,25	19,5	6,52	10,4	9,1	4,4
	Total	5,29	83,6	7,71	113,4	/	59,4	54,0	25,2
Deuxième semis	5° coupe	2,19	40,4	2,61	48,4	1,72	6,8	41,6	2,9
	6° coupe	1,24	18,3	1,59	21,3	3,01	5,3	16,0	2,2
	Total	3,43	58,7	4,20	69,7	/	12,1	57,6	5,1
Total	8,72	142,3	11,91	183,1	/	71,5	111,6	30,3	

Tableau 8 - Bilan azote et azote 15 dans les parties aériennes. (QN en mg/kg de sol).  
(Traitements A et B)

	C		D						
	Sol témoin + (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		Sol + Ray-Grass <sup>15</sup> N + (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>						
	Poids sec (en g)	QN en mg/kg	Poids sec en g	QN en mg/kg	Excès isotopique %	QN venant du RG*	QN venant du sol	% <sup>15</sup> N départ	
Premier semis	1° coupe	4,39	140,1	3,48	111,6	3,68	33,7	77,9	14,3
	2° coupe	2,29	31,3	2,77	49,2	5,14	20,7	28,5	8,8
	3° coupe	1,14	10,8	2,15	27,3	5,40	12,1	15,2	5,1
	4° coupe	1,36	10,0	2,53	19,8	4,86	7,9	11,9	3,4
	Total	9,18	192,2	10,93	207,9	/	74,4	133,5	31,6
Deuxième semis	5° coupe	1,64	34,8	2,69	51,1	1,31	5,5	45,6	2,3
	6° coupe	1,07	14,2	1,70	24,3	2,44	4,9	19,4	2,1
	Total	2,71	49,0	4,39	75,4	/	10,4	65,0	4,4
Total	11,89	241,2	15,32	283,3	/	84,8	198,5	36,0	

Tableau 9 - Bilan azote et azote 15 dans les parties aériennes.  
(Traitements C et D)





*Figure 9 - Prélèvement d'azote par la récolte*

Lors de la première coupe l'ajout d'engrais vert en présence (traitement D) ou sans sulfate d'ammonium (traitement B) entraîne une baisse du prélèvement d'azote total par la plante. Compte tenu de l'azote fourni par le matériel végétal enfoui, la diminution de la fraction de l'azote provenant du sol et de l'engrais est très importante (figure 9) et ne peut s'expliquer que par l'organisation d'azote minéral pour satisfaire au développement des micro-organismes.

Dès la deuxième coupe, les observations sont différentes. Les quantités d'azote sont significativement plus élevées pour les récoltes correspondant aux traitements avec matière organique enfouie (traitements B et D).

L'augmentation de l'excès isotopique entre la 1ère et la 2ème coupe (Tableau 9) traduit une consommation croissante, par les plantes, de l'azote provenant du ray-grass marqué enfoui. Cette augmentation se maintient durant les deux autres coupes et elle est plus importante dans les pots n'ayant pas reçu d'azote minéral.

Parallèlement, l'effet dépressif sur les prélèvements de l'azote du sol s'atténue lors de la deuxième coupe, et au contraire, on observe une action favorable sur les 3ème et 4ème récoltes.

Si on cumule les résultats (Figure 10), il n'y a plus de différence significative dès la deuxième coupe. Cette tendance est confirmée (et amplifiée) lors des 3ème et 4ème coupes, grâce à l'apport permanent d'azote en provenance du matériel végétal enfoui qui permet une croissance beaucoup plus régulière des plantes (Figure 11).

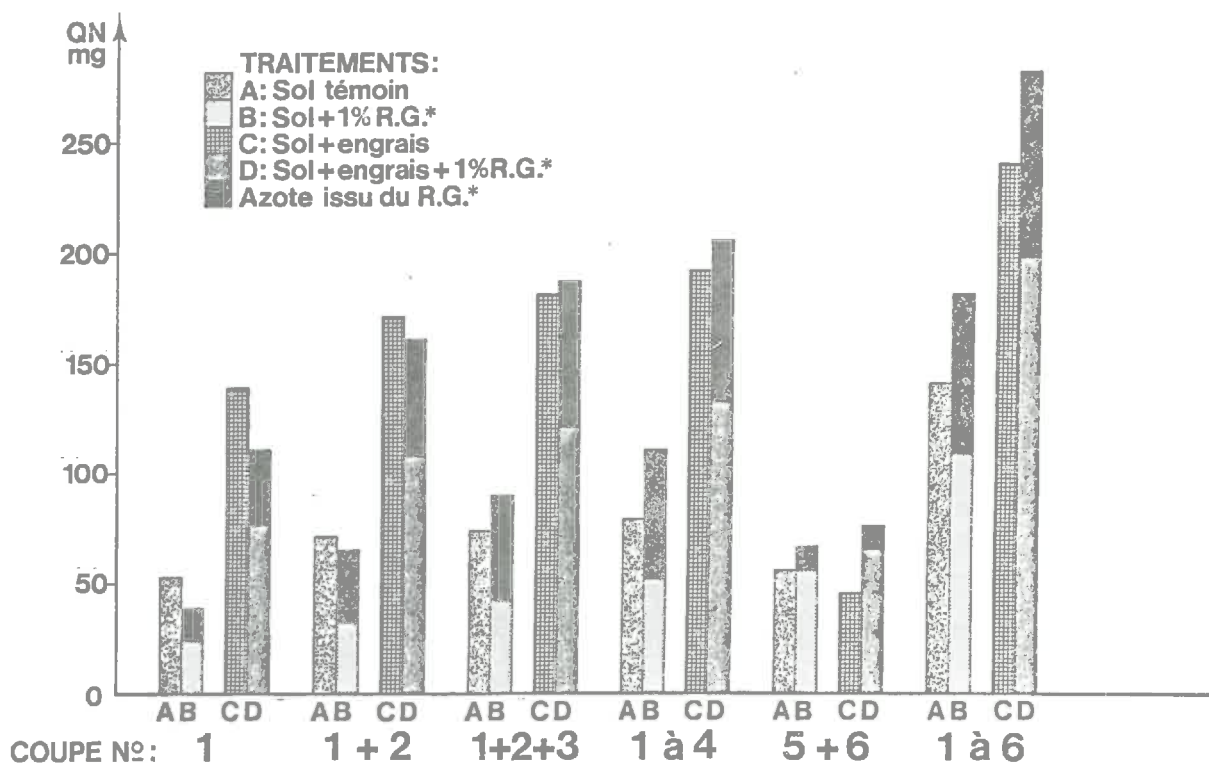


Figure 10 - Prélèvement cumulé d'azote par la récolte.

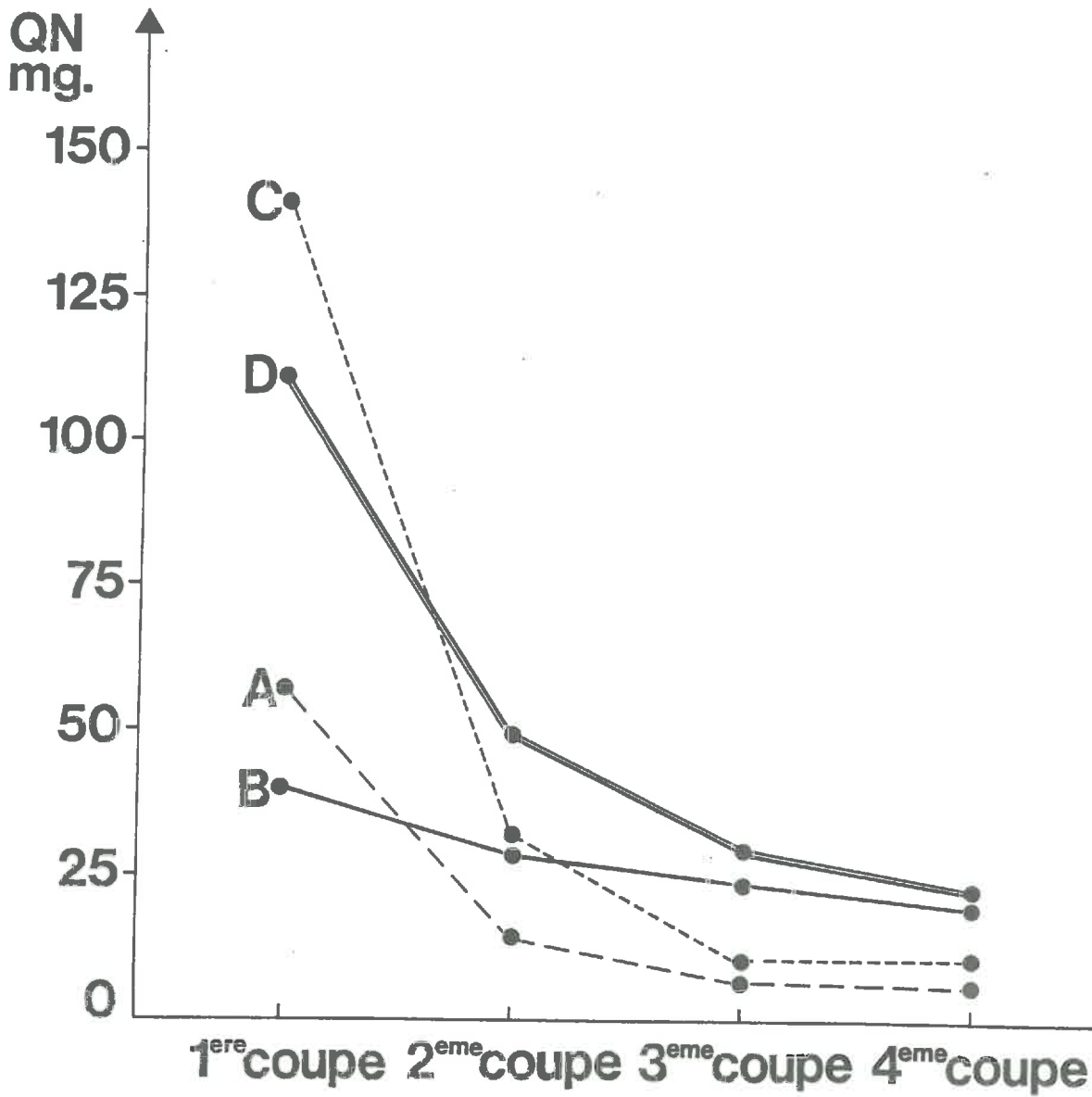


Figure 11 - Evolution des prélèvements d'azote.

Dans les pots témoins (traitements A), le prélèvement d'azote de la première coupe représente à lui tout seul plus de 70 % des exportations totales, alors que dans le traitement B par exemple (ray-grass), il n'y a qu'une très légère diminution à chaque récolte et l'engrais vert apporte autant d'azote que le sol.

Dans les 5ème et 6ème coupes (des quatre traitements), la proportion d'azote provenant du sol et de l'engrais croît du fait de l'addition de  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ , mais la décomposition de la matière organique enfouie se poursuit. Pour les traitements B et D, on observe un effet positif hautement significatif (seuil 1 %) du ray-grass sur les quantités d'azote exportées : plus de 30 % de l'azote 15 du ray-grass se retrouvent incorporés dans les parties aériennes de la culture.

### III.1.1.2 - Bilan général de l'azote

Pour établir un bilan global, nous nous intéressons à l'azote total et à l'azote 15 dans les parties aériennes, les racines et le sol (tableau 10).

	Parties aériennes			Racines				Sol				Total		
	QN en mg	Q <sup>15</sup> N en mg	% <sup>15</sup> N ajouté	QN en mg	Excès iso-topique %	Q <sup>15</sup> N en mg	% <sup>15</sup> N ajouté	QN en mg	Excès iso-topique %	Q <sup>15</sup> N en mg	% <sup>15</sup> N ajouté	QN en mg	Q <sup>15</sup> N en mg	% <sup>15</sup> N ajouté
Sol + Ray-Grass*	163	8,7	30	47,5	3,08	1,46	5	1180	1,23	14,5	51	1410	24,7	86
Sol + Ray-Grass* + $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	283	110,4	36	53,0	2,54	1,35	5	1220	1,02	12,4	43	1556	24,2	84

Tableau 10 - Bilan global de l'azote 15 ajouté au sol sous forme de ray-grass marqué.

Dans les parties aériennes nous retrouvons de 30 à 35 % de l'azote 15 introduit et 5 % dans les racines ; il en reste environ 50 %, immobilisée sous forme organique, dans le sol. Les pertes, 15 % (obtenues par différence avec la quantité introduite) sont attribuées à la dénitrification, car la méthode de culture élimine les pertes par lixiviation.

L'enfouissement de ray-grass (et l'apport de sulfate d'ammonium) conduit à une augmentation importante des rendements. Cet effet est probablement dû aux éléments minéraux, facilement assimilés comme l'azote (LEFEVRE G. et al 1981) sans qu'il faille pour cela exclure d'autres facteurs (LEMAIRE F. 1972).

Après récolte, nous retrouvons dans le sol davantage d'azote total (100 ppm) que dans le sol de départ ; l'engrais vert a ainsi contribué à augmenter le stock de matière organique. Afin de préciser son mode d'action, nous suivons son évolution dans des essais "in vitro" (GUIRAUD G. et al 1982).

### III.1.2 - Incubation de sol en présence de ray-grass marqué

Du ray-grass marqué à l'azote 15 (% N : 2,53 ; Excès % : 11,49 ; rapport C/N = 16) a été broyé, puis mélangé intimement au sol à raison de 1 % (GUIRAUD G. et MAROL Ch. 1982).

Les essais sont menés sur des échantillons de 1 kg de sol. 5 pots reçoivent 1 % de ray-grass marqué, 5 autres servent de témoin. Ils sont placés à l'obscurité, à 25°C, et, par pesée régulière, maintenus sensiblement à la capacité de rétention. Des échantillons ont été prélevés après 1, 3, 12 et 24 mois. Après séchage à l'air, l'azote minéral est extrait par une solution de KCl, et l'azote organique est fractionné par la technique d'hydrolyse acide (Figure 8 page <sup>51</sup>).

#### III.1.2.1 - Evolution de l'azote du ray-grass\* enfoui

Les premières observations concernent l'azote minéral. Nous ne parlerons que de l'azote nitrique, car l'azote ammoniacal est toujours très faible voire même souvent indécélable.

La nitrification nette, en deux ans, est de l'ordre de 30 ppm N dans le témoin et de 200 ppm N en présence de l'engrais vert (Tableau 11).

	Temps (mois)	0	1	3	12	24
Témoin	Quantité d'azote (ppm)	7	9	11	31	36
Sol + Ray-Grass*	Quantité d'azote (ppm)	7	68	127	189	216
	Excès isotopique %	0	7,58	7,78	6,20	5,88
	$\delta^{15}N$ Départ	0	18	34	40	44

Tableau 11 - Azote nitrique dans le sol. (Quantité d'azote apportée par le RG<sup>\*</sup> : 253 ppm; E% : 11,49 soit 29,07 ppm <sup>15</sup>N).

La teneur isotopique des nitrates, dans le traitement sol+ray grass\* permet de connaître l'origine de cet azote, c'est-à-dire en provenance du sol ou bien du ray-grass enfoui.

Le ray-grass ayant apporté 253 ppm d'azote, il apparaît (Tableau 12) qu'au bout de deux ans, *près de la moitié de son azote se trouve nitrifiée* (111 ppm). Cette *nitrification*, rapide le premier mois (Figure 12), se poursuit ensuite avec une vitesse moindre ; elle *représente environ 3 fois plus d'azote minéral que dans le traitement témoin*.

	Temps (mois)	0	1	3	12	24
Témoin	Quantité d'azote (ppm)	7	9	11	31	36
Sol + Ray-Grass*	Quantité d'azote venant du sol (ppm)	7	23	41	87	105
	Quantité d'azote venant du ray-grass (ppm)	0	45	86	102	111

Tableau 12 - Nitrification de l'azote du sol et du ray-grass.

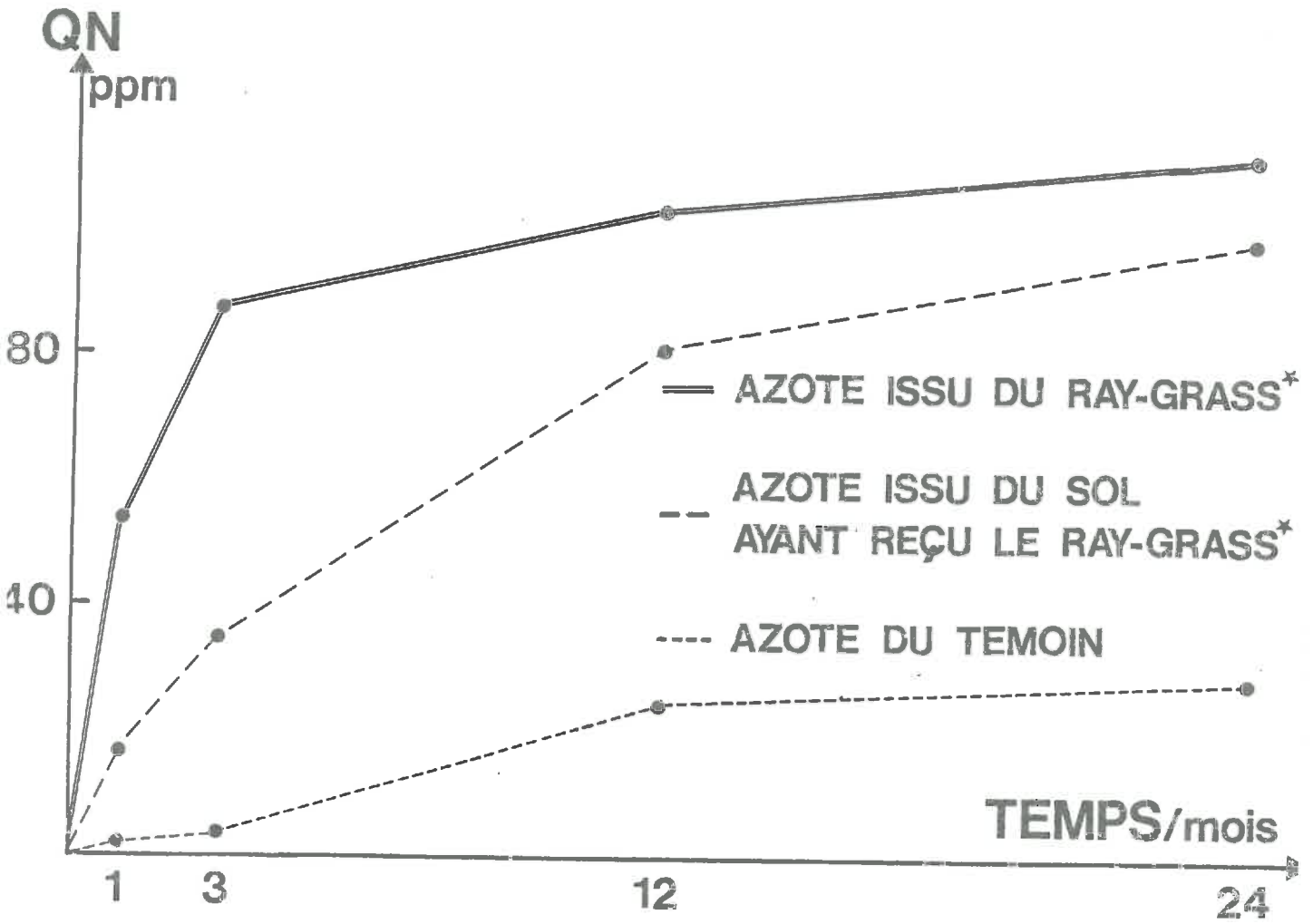


Figure 12 - Nitrification de l'azote du sol et du ray-grass\*.

Le point le plus important concerne le fait que la nitrification de l'engrais vert s'accompagne d'une minéralisation de l'azote du sol, toujours supérieure aussi à celle observée dans le témoin, où elle se continue à peu près régulièrement durant toute la période d'incubation. On peut admettre que cet effet d'activation a pour origine la stimulation de la flore nitrificatrice, induite par l'apport de matière organique à rapport C/N faible. Des résultats analogues ont été relevés dans la littérature (YAACOB O. et BLAIR G.J. 1980).

En fin d'incubation, le fractionnement de la matière organique (Figure 13) pourrait laisser supposer que la quasi totalité de l'azote de l'engrais vert est susceptible de nitrifier.

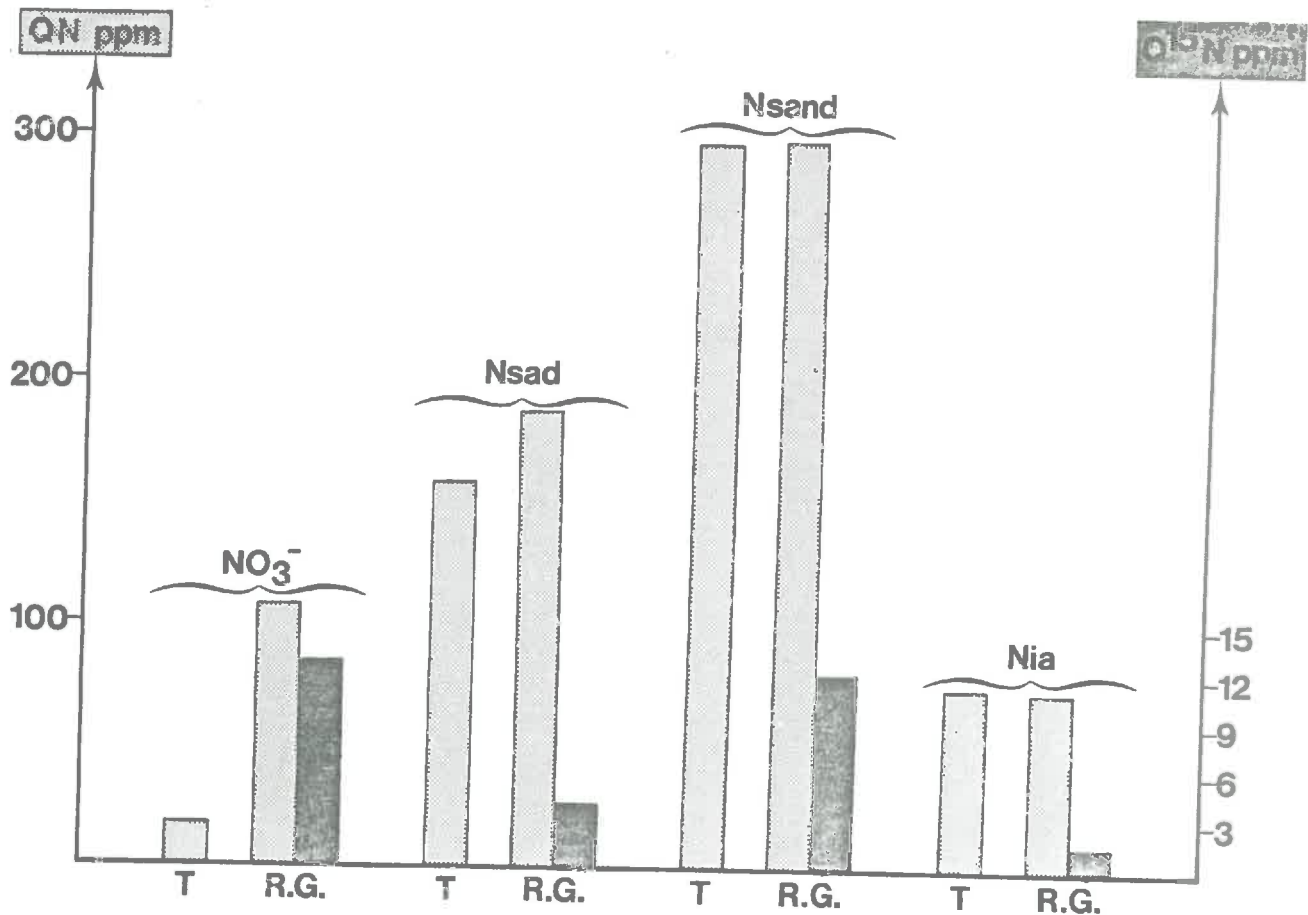


Figure 13 - Quantité de N et de <sup>15</sup>N dans les fractions obtenues par hydrolyse acide.  
(T : sol témoin ; RG : sol + Ray-Grass\*)



L'augmentation de la quantité d'azote minéral  $216 - 36 = 180$  ppm, représente environ 75 % de l'azote apporté ; les 25 % restants se retrouvent dans la fraction azote soluble dans l'acide et distillable (Nsad), car l'azote total des fractions azote soluble dans l'acide et non distillable (Nsand) et azote insoluble dans l'acide (Nia) reste à peu près constant avec ou sans ray-grass enfoui (Tableau 13, colonnes 1 et 3). Cependant, la présence d'azote  $^{15}\text{N}$  dans chacune d'entre elles, indique qu'il y a eu des transferts entre ces différentes formes. C'est la fraction quantitativement la plus importante (Nsand) qui est la plus marquée (E % = 1,95, tableau 13, colonne 3). On estime donc, que tout ou partie de cette fraction possède un turn-over très rapide en relation directe avec les nitrates.

		TEMOIN		SOL + RAY-GRASS*	
		1	2	3	4
		2 ans	2 ans + 3 semaines Incubation glucose	2 ans	2 ans + 3 semaines Incubation glucose
$\text{NH}_4^+$	QN	/	/	/	11
	Q $^{15}\text{N}$				0,25
$\text{NO}_3^-$	QN	36	13	216	61
	Q $^{15}\text{N}$			E% 5,88 12,70	E% 5,32 3,25
Nsad	QN	320	367	374	416
	Q $^{15}\text{N}$			E% 0,94 3,52	E% 1,21 5,03
Nsand	QN	595	583	601	699
	Q $^{15}\text{N}$			E% 1,95 11,69	E% 2,36 16,49
Nia	QN	153	135	147	127
	Q $^{15}\text{N}$			E% 0,78 1,15	E% 0,91 1,16
Total	QN	1104	1098	1338	1314
	Q $^{15}\text{N}$			29,06	26,18

Nsad : Azote soluble dans l'acide directement distillable.  
 Nsand : Azote soluble dans l'acide non directement distillable.  
 Nia : Azote insoluble dans l'acide.

Tableau 13 - Bilan azote après enfouissement et après incubation avec du glucose. (Les quantités de N et  $^{15}\text{N}$  son exprimées en ppm).

Le ray-grass a permis d'apporter 253 ppm d'azote, dont 29,07 ppm de  $^{15}\text{N}$ . Ce supplément se retrouve en fin d'incubation (234 ppm N, dont 29,06 ppm  $^{15}\text{N}$ ). Compte tenu de la précision des dosages, nous pouvons considérer qu'il n'y a pas eu de perte d'azote durant ces deux années d'incubation. Ceci contrairement au cas d'une incubation en présence d'azote nitrique qui conduit les plus souvent à des pertes par dénitrification (chapitre VII).

### III.1.2.2 - Incubation de sol + ray-grass\* enfoui avec addition de glucose

Après ces deux ans, afin de simuler, en première approximation tout au moins l'action des exsudats racinaires, nous poursuivons l'incubation en ajoutant du glucose.

Après 3 nouvelles semaines en présence de glucose, les quantités d'azote total et d'azote  $^{15}$  sont mesurées dans les différentes fractions obtenues par hydrolyse et comparées à celles obtenues avant l'apport de glucose.

Les variations sont de peu d'importance dans le traitement témoin (Tableau 13, colonnes 1 et 2), il n'en est pas de même en présence de ray-grass (Tableau 13, colonnes 3 et 4).

La quantité de nitrate décroît de même que leur excès isotopique : il en découle que la minéralisation se poursuit. Il est difficile de chiffrer avec précision la quantité ainsi nitrifiée, puisque son origine n'est pas connue et peut correspondre à des formes plus ou moins marquées. La quantité maximale produite peut être estimée par la formule de dilution isotopique, en supposant que cet azote provient de la matière organique non marquée, et que l'excès isotopique de la fraction nitrique a varié proportionnellement à la quantité de nitrates présents.

On obtient ainsi :

$$\left(\frac{216 + 61}{2}\right) \left(\frac{5,88}{5,32} - 1\right) = 14,6 \text{ ppm d'azote}$$

14,6 ppm est la quantité maximale d'azote qui a pu nitrifier.

Les fractions organiques solubles dans l'acide se sont enrichies, à la fois en azote et en azote 15.

Pour la *fraction Nsand*, on constate un accroissement de  $699 - 601 = 98$  ppm N, et de  $16,49 - 11,69 = 4,8$  ppm  $^{15}\text{N}$ , soit une forme dont l'excès moyen est de 4,9 %. Aux approximations expérimentales près, on peut faire l'hypothèse que c'est essentiellement le compartiment  $\text{NO}_3^-$  qui a alimenté cette *fraction*, car les deux teneurs isotopiques ( $E \% = 4,9$  et  $5,3$ ) ne sont pas significativement différentes, compte tenu de l'imprécision du dosage chimique.

En ce qui concerne la *fraction Nsad*, le même calcul conduit à un excès moyen de 3,6 %, soit nettement inférieur à celui du compartiment nitrate ; il faut donc qu'il y ait eu en plus un *transfert vers cette fraction Nsad à partir d'une forme organique, en l'occurrence la fraction Nia*, car, alors que son excès isotopique croît, la quantité totale d'azote diminue.

En utilisant la même hypothèse que précédemment, à savoir que le traceur présent dans cette *fraction Nia* a pour origine directe les nitrates, il est possible de calculer les quantités d'azote qui y sont entrées (E) et sorties (S) en faisant un bilan azote total et azote 15.

$$\text{On obtient } S = E + (147 - 127) \quad (1)$$

$$E \cdot \frac{5,5}{100} = S \cdot \frac{0,85}{100} \quad (2)$$

5,5 % et 0,85 % représentent les excès moyens des deux compartiments  $\text{NO}_3^-$  et *Nia*.

$$\begin{aligned} \text{D'où : } S &= 23,7 \text{ ppm N} \\ E &= 3,7 \text{ ppm N} \end{aligned}$$

Nous venons de voir que la quantité maximale d'azote qui aurait pu nitrifier à partir de tout l'azote organique du sol, est de 14,6 ppm. La seule *fraction Nia* fait état d'une "sortie" de 23,7 ppm ; il est donc sûr

qu'une partie de l'azote ayant quitté cette fraction a rejoint une autre fraction organique en l'occurrence la fraction soluble dans l'acide distillable (Nsad).

Alors que le bilan chimique fait apparaître une faible diminution, non significative, le bilan  $^{15}\text{N}$  est réellement déficitaire de près de 3 ppm (Tableau 13, colonnes 3 et 4 page 74). Ces pertes sont probablement dues à la dénitrification. Si nous faisons l'hypothèse, vraisemblable, qu'elles se produisent à partir des nitrates dont l'excès isotopique moyen est de 5,5 % elles représentent donc une cinquantaine de ppm.

III.1.2.3 - Culture sur le sol incubé au préalable avec du ray-grass\*

Pour mesurer l'effet résiduel de cet enfouissement d'engrais vert, on effectue, lors de chaque prélèvement, (1, 3, 6, 12 et 24 mois) une culture de ray-grass durant trois semaines.

En ce qui concerne le témoin, l'incubation n'entraîne pas de grandes variations, et le bilan de l'azote total se stabilise aux alentours de 1040 ppm (Tableau 14).

		Temps	1 mois	3 mois	6 mois	1 an	2 ans
MS Ray-Grass Racines Sol Total	MS	g	1,84	1,66	0,89	1,11	1,21
	Ray-Grass	QN	28,50	29,55	18,65	17,95	24,65
	Racines	QN	19,90	15,50	9,55	25,75	15,10
	Sol	QN	1001	994	1034	984	997
	Total	QN	1049	1039	1062	1026	1037

Tableau 14 - *Bilan azote (Traitement Témoin).*  
(Les quantités de N sont exprimées en ppm)

Dans l'essai avec entouissement de ray-grass marqué, les rendements en matière sèche et la quantité d'azote exportée sont supérieurs à ceux du témoin (Tableaux 14 et 15), quelle que soit la durée de l'incubation préalable. L'azote provenant de l'engrais vert (ray-grass marqué) participe à la nitrification azotée de la plante, après 3 semaines de culture, nous retrouvons dans les parties aériennes de 15 à 20 % de l'azote  $^{15}$  apporté en début d'incubation.

En fin de culture, alors que le sol témoin fait état d'une baisse de son azote total de 80 ppm environ (1080 ppm avant la culture, 1000 ppm en moyenne après), l'apport d'engrais vert conduit à une augmentation d'une trentaine de ppm (Tableau 15), sans compter l'azote contenu dans les racines qui ont été séparées avant l'analyse.

		Temps	1 mois	3 mois	6 mois	1 an	2 ans
MS (en g)			2,71	2,37	2,00	3,39	2,12
Ray-Grass	QN		78,4	89,7	87,3	90,5	115,5
	E%		5,19	5,97	6,13	5,27	5,45
	Q $^{15}$ N % $^{15}$ N init.		4,07 14	5,36 18	5,35 18	4,77 16	6,29 22
Racines	QN		22,30	18,5	17,2	26,6	26,8
	E%		4,45	4,97	4,62	3,93	4,49
	Q $^{15}$ N		0,99	0,92	0,79	1,05	1,20
Sol	QN		1141	1124	1138	1093	1058
	E%		1,49	1,56	1,44	1,30	1,38
	Q $^{15}$ N		17,00	17,53	16,39	14,21	14,60
Total	QN		1242	1232	1242	1210	1200
	Q $^{15}$ N		22,06	23,81	22,53	20,03	22,10

Tableau 15 - Bilan azote (sol + engrais vert\*).  
 (les quantités sont exprimées en ppm. Apport d'azote initial par l'engrais vert 255 ppm E% : 11,49 soit 29,07 ppm  $^{15}$ N).

Bien que les conditions expérimentales ne soient pas exactement identiques, on peut comparer ces résultats avec ceux de l'essai, décrit page 63, concernant une culture de ray-grass. Dans le cas présent, même si les cultures ne sont pas conduites simultanément, le sol (prélevé à des dates différentes) provient de la même parcelle, et les deux engrais verts ont des caractéristiques voisines avec notamment un rapport C/N égal à 16.

L'effet dépressif noté lors de la première coupe (Tableau 8, page 65) a totalement disparu même après seulement un mois d'incubation. La nitrification extrêmement rapide de l'engrais vert (Figure 12, page 72) en est la cause, car l'excès isotopique des parties aériennes peut être considéré comme identique à celui des nitrates lors de l'incubation (Tableau 11, page 71), abstraction faite de la petite quantité d'azote issue de la graine que nous ne pouvons pas apprécier.

Les bilans d'azote total et d'azote 15 après la culture sont largement déficitaires. Ainsi dans le dernier prélèvement, après deux ans, il manque  $1338$  (Tableau 13, colonne 3, page 74) -  $1200$  (Tableau 15, page 78) =  $138$  ppm d'azote et  $29,06 - 22,10 = 6,96$  ppm d'azote 15, soit de l'azote dont l'excès isotopique est légèrement supérieur de 5 %, c'est-à-dire voisin de celui des nitrates. Il est logique de penser que *l'azote perdu a été dénitrifié* puisque, nous le rappelons, les pertes par lessivage sont nulles. Ce résultat montre que, même dans des périodes de consommation intense des nitrates en présence de culture, il peut se produire une importante dénitrification touchant jusqu'à la moitié des nitrates présents. Celle-ci peut être due à l'action des racines et plus exactement à l'action de la microflore de la rhizosphère stimulée par les excréments racinaires (WOLDENDORP J.W. 1963).

Le ray-grass marqué enfoui, de C/N peu élevé, libre, dans nos conditions expérimentales, près de la moitié de son azote sous forme d'azote nitrique. En l'absence de plantes ou de substance énergétique telle le glucose, cette nitrification ne s'est pas accompagnée de pertes par dénitrification.

Lors d'une culture, hormis un effet passager noté immédiatement après l'apport, l'enfouissement de ray-grass a conduit à une augmentation des rendements de la récolte ; parallèlement, il est noté un accroissement de la teneur en azote organique du sol.

### III.2 - DEVENIR DE L'AZOTE D'UNE PAILLE

Des résultats fort variables sont obtenus lors des enfouissements de paille (SIMON G. 1960). Un rapport ITCF\* - APRIA\* (1976) souligne la nécessité d'approfondir nos connaissances au niveau fondamental (étude de la dynamique des matières organiques). Ces recherches sont délicates, car elles doivent s'appliquer au niveau régional (étude du comportement de chaque sol, dans chaque région, en fonction des conditions climatiques).

De nombreux essais ont été entrepris, en incorporant au sol des pailles non marquées, puis en ajoutant de l'azote ammoniacal ou nitrique, enrichi en azote 15 (NORMAN A.G. 1968) ; moins nombreux sont ceux, qui utilisent directement des résidus de récolte préalablement marqués à l'azote 15.

#### III.2.1 - Culture en présence de paille marquée

Comme dans le paragraphe III.1, on réalise une culture de ray-grass sur le sol calcaire du domaine de Cadarache (GUIRAUD et al. 1979). On met en place quatre traitements différents, comportant cinq répétitions chacun :

- traitement 1 : sol témoin,

- traitement 2 : sol + 175 ppm d'azote sous forme de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  marqué à 33,92 % de  $^{15}\text{N}$ ; soit 59,4 ppm de  $^{15}\text{N}$ ,

\*ITCF : Institut Technique des Céréales et des Fourrages

\*APRIA : Association pour la Promotion Industrie-Agriculture.

- traitement 3 : témoin + 2 % de paille de blé marquée (teneur en N total : 1,12 % ; E % : 8,42 soit 224 ppm N et 18,9 ppm<sup>15</sup>N ; C/N : 36),

- traitement 4 : témoin + 2 % de paille de blé marquée + 175 ppm d'azote sous forme de Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> non marqué.

On effectue cinq coupes après 4, 8, 12, 16 et 22 semaines. Après la deuxième coupe, afin de prévenir une carence en azote, on ajoute à tous les pots 100 ppm d'azote sous forme de Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> non marqué en solution, et on analyse l'azote contenu dans les parties aériennes, les racines et le sol séparés en fin d'essai.

### III.2.1.1 - Exportation de l'azote dans les parties aériennes - Bilan général de l'azote

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux 16 (rendement en matière sèche) et 17 (bilan azote total et azote 15).

Les résultats concernant les quantités de matière sèche et d'azote total montrent les mêmes tendances. Nous nous intéressons donc essentiellement au second paramètre.

	1	2	3	4
	Témoin	+ Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> marqué	+ paille marquée	+ paille marquée + Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
1ère coupe	1,87	2,81	0,75	1,13
2ème coupe	0,75	1,31	0,27	0,60
3ème coupe	3,20	3,12	2,31	2,85
4ème coupe	1,36	1,36	1,33	1,39
5ème coupe	0,56	0,89	1,12	1,14
TOTAL	7,74	9,49	5,78	7,11

Tableau 16 - Rendement en matière sèche.  
(En grammes par kg de sol).



	1		2				3				4			
	Témoin		Sol + Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> marqué				Sol + paille marquée				Sol + paille marquée + Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>			
	QN mg 1	QN mg 2	E% 3	Q <sup>15</sup> N mgx10 <sup>2</sup> 4	% <sup>15</sup> N départ 5	QN mg 6	E% 7	Q <sup>15</sup> N mgx10 <sup>2</sup> 8	% <sup>15</sup> N départ 9	QN mg 10	E% 11	Q <sup>15</sup> N mgx10 <sup>2</sup> 12	% <sup>15</sup> N départ 13	
1ère coupe	37,75	131,94	23,83	3144	52,9	10,75	0,435	4,68	0,2	18,15	1,83	33,21	1,8	
2ème coupe	10,75	22,60	19,20	434	7,3	4,83	2,08	10,05	0,5	8,24	2,52	20,76	1,1	
3ème coupe	62,15	63,03	2,19	138	2,3	38,35	1,09	41,80	2,2	40,25	0,909	36,59	1,9	
4ème coupe	11,85	15,68	2,79	44	0,7	15,40	2,63	40,50	2,1	15,94	2,28	36,34	1,9	
5ème coupe	5,45	6,58	2,57	17	0,3	11,05	3,07	33,92	1,8	11,70	2,82	32,99	1,8	
Total	128	240		3777	63,5	80,38		130,95	6,8	94,28		159,89	8,5	
Racines	20,30	23,63	5,51	159	2,7	24,20	2,13	51,55	2,7	25,50	1,99	50,75	2,7	
Sol	1031	1029	0,302	310	5,2	1260	1,30	1633	86,6	1257	1,192	1498	79,4	
Total	1179	1293		4246	71,4	1365		1816	96,1	1377		1709	90,6	

Tableau 17 - Bilan de l'azote lors de la culture du ray-grass (en mg par kg de sol).

Quantité ajoutée: Nitrate de calcium :  
 175 mg E% 33,92 soit 59,4 mg <sup>15</sup>N.  
 Paille marquée :  
 224 mg E% 8,42 soit 18,8 mg <sup>15</sup>N.

Pour les deux premières coupes, comme cela a été constaté à différentes reprises (SIMON G. 1960, BROADBENT F.E. et TYLER K.B. 1962, TERMAN G.L. et BROWN M.A. 1968, ULMAN L. 1971), la paille de blé enfouie, malgré son rapport C/N peu élevé, provoque une diminution importante de la quantité d'azote total dans les parties aériennes (Tableau 17, colonnes 6 et 10) par rapport au traitement témoin (colonne 1). L'effet dépressif de la paille est nettement marqué, et l'addition de nitrates ne permet pas de le compenser ; par contre, favorisant le développement racinaire et peut être l'activité microbienne, l'apport de nitrates accélère la minéralisation de la paille enfouie. En effet, pour l'ensemble des deux premières coupes, on retrouve dans la récolte 2,9 % de son azote (Tableau 17, colonne 13) au lieu de 0,7 % (colonne 9).

Lors des trois coupes suivantes, après l'addition supplémentaire de nitrates à tous les pots, l'absorption du traceur est à peu près la même pour les traitements 3 et 4 : 2 % à chaque coupe, qui a lieu toutes les quatre semaines environ.

L'effet positif de l'enfouissement de paille sur les rendements apparaît à la quatrième coupe et se confirme à la cinquième (Tableau 17, colonnes 1 et 6). L'azote de la paille intervient dans la nutrition du ray-grass comme le montre la Figure 14, indiquant le pourcentage d'azote provenant de l'engrais ou de la paille marquée par rapport à l'azote total exporté, (Ndff : Nitrogen derived from fertilizer). Cette abréviation sera employée par la suite quoique la dénomination "engrais" ne puisse pas exactement s'appliquer à la paille.

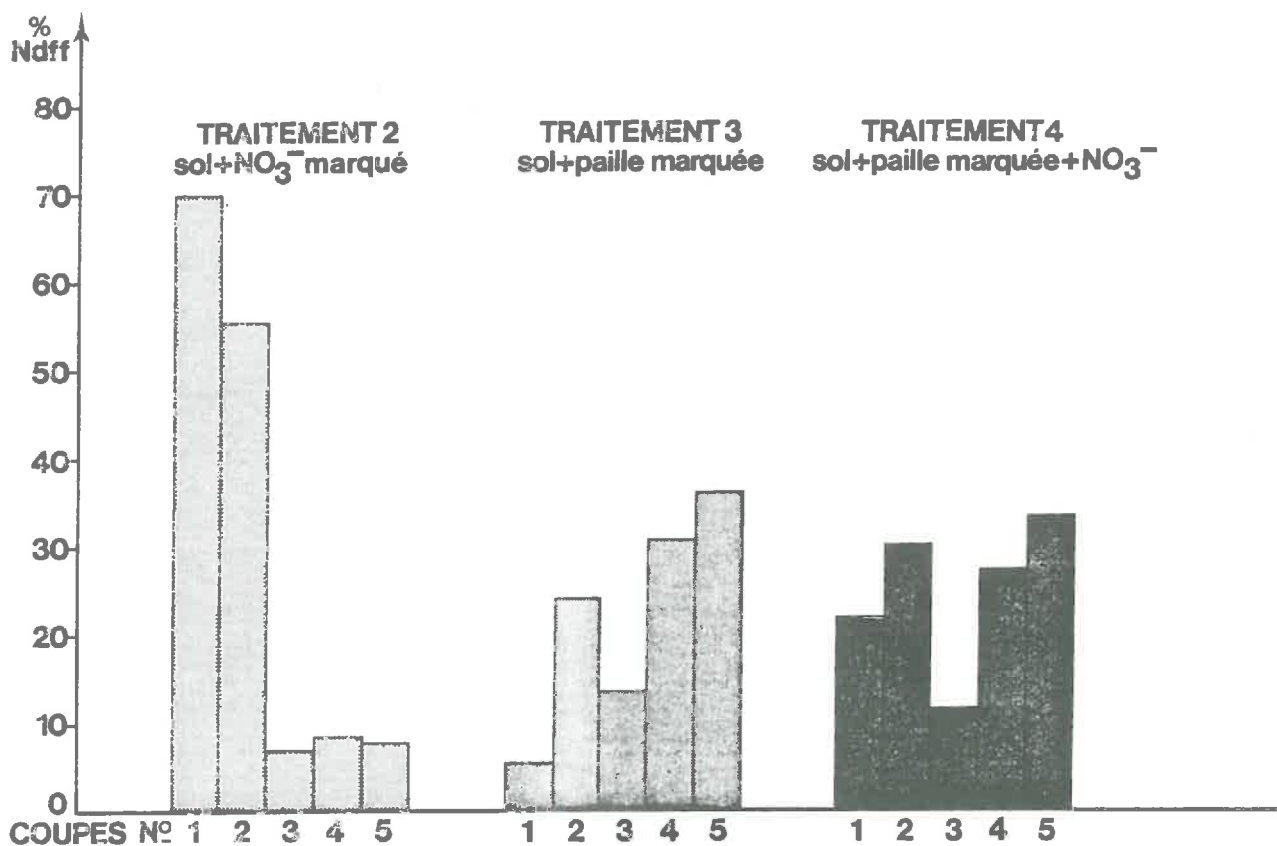


Figure 14 - Contribution de l'engrais et de la paille à la nutrition du ray-grass

Dans le traitement 2, c'est essentiellement l'azote provenant de l'engrais qui alimente le ray-grass lors des deux premières coupes (jusqu'à 70 %), mais ensuite, il ne participe plus que pour une part négligeable. Il est cependant certain que lors des trois autres coupes, l'engrais non marqué apporté intervient pour une grande part. Au total, le coefficient d'utilisation de l'engrais nitrique marqué atteint 63,5 % pour l'ensemble des cinq coupes (Tableau 17, colonne 5), ce qui est une valeur habituellement rencontrée pour une culture en pots.

Les deux traitements en présence de paille montrent que celle-ci se décompose à peu près régulièrement durant toute la période de végétation et que son azote est absorbé de façon continue par la culture. Le faible coefficient  $N_{dff}$  (5 %) de la première coupe, dans le traitement 3 est dû à une limitation du développement de la végétation par la paille.

Le " $N_{dff}$ " diminue fortement lors de la troisième coupe : il est lié à l'ajout des 100 ppm d'azote nitrique non marqué, cela ne ralentissant en aucune façon la minéralisation de la paille (Tableau 17, colonnes 9 et 13) ; une fois l'effet passager de l'azote minéral supplémentaire estompé, le " $N_{dff}$ " augmente fortement lors des quatrième et cinquième coupes pour atteindre 35 % (Figure 14) et il n'est pas modifié par l'apport de nitrates.

Pour l'ensemble des cinq coupes, l'azote des pailles est prélevé dans la proportion de 6,8 % dans le traitement 3 (Tableau 17, colonne 9) et de 8,5 % dans le traitement 4 (colonne 13). Ces valeurs élevées peuvent s'expliquer par le rapport C/N relativement faible de la paille enfouie. En plus, on doit tenir compte du fait que l'azote quinze retrouvé dans les racines (2,1 %) n'a pas été compris dans ces chiffres.

Dans le traitement 2, le bilan général fait état de pertes d'azote marqué de l'ordre de 30 %, qui peuvent être attribuées à la dénitrification.

Pour les deux traitements 3 et 4 qui ont reçu de la paille, les pertes concernant le traceur (moins de 10 %) sont faibles à cause de la grande quantité d'azote (79 et 87 %) demeurant sous forme organique dans le sol où l'on retrouve d'ailleurs, plus d'azote total que dans le témoin. Cette quantité supplémentaire peut être attribuée, d'une part à l'azote apporté par la paille et d'autre part à une organisation plus importante de l'azote nitrique favorisée par la paille. Des pertes par dénitrification, concernant les nitrates non marqués apportés, ne doivent pas être exclues.

### III.2.1.2 - Fractionnement de l'azote du sol avant et après la culture

La mesure de la quantité d'azote total dans le sol est insuffisante pour rendre compte de l'évolution de la matière organique.

Un fractionnement par hydrolyse acide (Figure 8, page 51) avant et après la culture a été réalisé, les résultats sont rassemblés dans le Tableau 18.

	TRAITEMENT 1 Témoin		TRAITEMENT 2				TRAITEMENT 3				TRAITEMENT 4			
	AVANT APRES		AVANT		APRES		AVANT		APRES		AVANT		APRES	
	QN 1	QN 2	QN 3	Q <sup>15</sup> N 4	QN 5	Q <sup>15</sup> N 6	QN 7	Q <sup>15</sup> N 8	QN 9	Q <sup>15</sup> N 10	QN 11	Q <sup>15</sup> N 12	QN 13	Q <sup>15</sup> N 14
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7	0	182	59,36 E%=32,62	0	0	7	0	0	0	182	0	0	0
Ns <sub>ad</sub>	380	382	380	/	387	0,63 E%=0,163	402	2,41 E%=0,600	443	3,44 E%=0,777	402	2,41 E%=0,600	430	3,31 E%=0,770
Ns <sub>and</sub>	510	549	510	/	572	2,39 E%=0,417	663	13,59 E%=2,05	728	11,78 E%=1,62	663	13,59 E%=2,05	720	10,83 E%=1,50
N <sub>ia</sub>	143	125	143	/	133	0,15 E%=0,113	174	2,79 E%=1,60	154	1,30 E%=0,844	174	2,79 E%=1,60	149	1,19 E%=0,799
Total	1040	1056	1215	59,36	1092	3,17 E%=0,290	1246	18,79 E%=1,32	1325	16,52 E%=1,25	1421	18,79 E%=1,32	1299	15,33 E%=1,18

Tableau 18 - Fractionnement de l'azote dans le sol avant et après la culture. Les quantités d'azote (QN) et d'azote 15 (<sup>15</sup>N) sont exprimées en ppm.  
Quantités d'azote 15 ajoutées : traitement 2 : 59,4 ppm ;  
Traitement 3 et 4 : 18,8 ppm.

- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : Azote nitrique.  
Ns<sub>ad</sub> : Azote soluble dans l'acide distillable.  
Ns<sub>and</sub> : Azote soluble dans l'acide non distillable.  
N<sub>ia</sub> : Azote insoluble dans l'acide.

Pour le traitement 1 (témoin), nous constatons après culture, la disparition totale de l'azote minéral, une certaine stabilité de la fraction "Ns<sub>ad</sub>" et une légère augmentation de la quantité d'azote dans les composés "Ns<sub>and</sub>" et l'inverse pour "N<sub>ia</sub>".

Le traitement 2 conduit aux mêmes remarques : l'addition d'azote minéral marqué signale que l'organisation est peu importante (environ 5 % de la quantité apportée, colonne 6), et concerne essentiellement la fraction "Nsand" ; la quantité d'azote de cette fraction passe de 510 ppm à 572 ppm.

L'apport initial de nitrates permettant de distinguer entre les traitements 3 et 4 n'a pas créé de différences notables de comportement du fait de pertes importantes par dénitrification : les résultats sont donc discutés globalement.

Il faut admettre qu'une partie importante des *nitrates non marqués* ajoutés en début ou en cours de culture, *s'est incorporée dans les fractions "Nsand"* (azote soluble dans l'acide et non distillable) et "*Nsad*" (azote soluble dans l'acide et distillable), car leur azote total augmente respectivement de 60 ppm et 30 ppm. Un tel résultat a d'ailleurs été enregistré dans une expérience à peu près identique, faisant intervenir de la paille non marquée et des nitrates marqués à l'azote quinze.

On note une différence essentielle dans le comportement de ces fractions organiques : si pour le "Nsad", on observe lors de la culture, avec l'augmentation de l'azote total, une augmentation de la quantité d'azote quinze et de l'excès isotopique, c'est l'inverse pour le "Nsand" (Tableau 18, colonnes 8-12 et 10-14). Pour la fraction "Nia" (azote insoluble dans l'acide), les trois valeurs (azote total, azote quinze et excès isotopique) diminuent.

Ces variations, dans un sens ou dans l'autre des excès isotopiques, signifient que *tout en étant extraites chimiquement de façon identique, les différentes fractions de l'azote du sol et de la paille ont un comportement dissemblable, et que l'azote s'y trouve sous des formes biochimiques différentes qui évoluent différemment.*

On peut faire l'hypothèse que les composés "Nia" issus de la paille ont évolué sous l'action de la culture vers des formes plus labiles c'est-à-dire "Nsand", et "Nsad". Les composés "Nia", issus du sol sont fortement humifiés, donc particulièrement stables ; on peut considérer qu'ils se transforment plus lentement. Ceci expliquerait la diminution de la quantité d'azote quinze, la grande chute de l'excès isotopique de "Nia" et l'accroissement de ces mêmes paramètres dans la fraction "Nsad" ; On a toutefois aucune preuve permettant d'exclure "Nsand". Par ailleurs, cette fraction, dont le turn-over semble être le plus rapide, se minéraliserait préférentiellement aux deux autres, permettant ainsi le prélèvement du traceur par le ray-grass : ceci se traduit par la baisse importante de la quantité d'azote quinze de cette fraction. On ne peut cependant pas rejeter l'hypothèse de la minéralisation de "Nsad" et "Nia".

Ainsi, par une méthode différente de celle décrite dans le paragraphe III.1.2.2, on arrive aux mêmes conclusions : les composés insolubles dans l'acide chlorhydrique, contenus dans les végétaux étudiés dans nos essais (ray-grass et paille de blé) ont un comportement différent des produits extraits du sol par la même méthode.

Ces remarques justifient les préoccupations de FLAIG W. (1982) et SCHNITZER M. (1982) qui cherchent à déterminer la structure et la composition chimique de la matière organique. Des progrès décisifs doivent être espérés par cette voie, même si des études plus appliquées peuvent sembler plus utiles à certains.

### III.2.2 - Incubation de sol en présence de paille marquée

De la paille de maïs marquée à l'azote 15 (QN % = 0,823 ; Excès % = 23,5 ; C/N = 61) est broyée puis mélangée intimement au sol à raison de 0,8 % ; nous mettons 2 kg du mélange à incuber à 25°C avec une humidité de 15 %. Un échantillon sans apport d'azote, maintenu dans les mêmes conditions, sert de témoin. Des prélèvements sont effectués après 3, 7, 30, 90 et 180 jours d'incubation. L'azote minéral extrait par une solution de KCl est analysé.

Comme dans l'expérience avec incubation du ray-grass marqué, nous parlerons de l'azote minéral total car, sauf au temps 0, l'azote ammoniacal est toujours très faible (< 1 % de la quantité d'azote nitrique).

Dans le témoin, la nitrification est de 60 ppm en 6 mois (Tableau 19).

		Temps en jours					
		0	3	7	30	90	180
Témoin	QN min	17	27	30	33	60	78
Sol + Paille marquée	QN min	16	2	2	1	19	61
	E %	1,61	2,49	2,16	2,30	5,21	5,35
	Q <sup>15</sup> N min.	0,25	0,05	0,04	0,02	0,99	3,26
	% <sup>15</sup> N départ	2	ε	ε	ε	7	22
	QN min. "Paille"	1	ε	ε	ε	4	14
	QN min. "Sol + engrais"	15	2	2	1	15	47

Tableau 19 - Minéralisation de l'azote dans un sol au cours de l'incubation en présence de paille marquée.  
(Les quantités d'azote sont exprimées en ppm).

Dans le traitement avec paille, l'azote minéral disparaît très rapidement ; nous ne mesurons que 2 ppm après 3 jours d'incubation. La minéralisation nette ne commence à se manifester que durant la période 30-90 jours où nous observons également une minéralisation des composés organiques azotes contenus dans la paille de maïs (Figure 15).

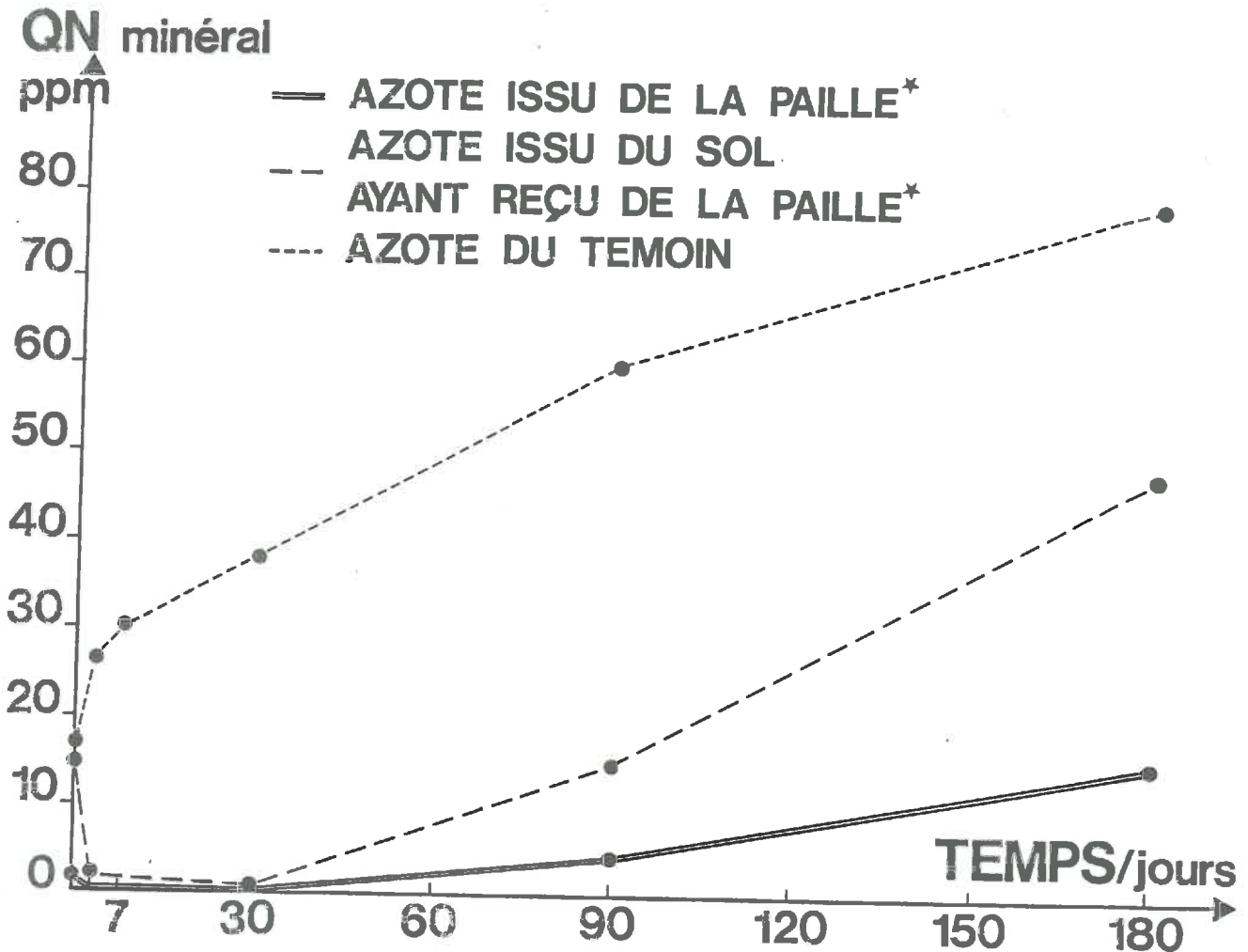


Figure 15 - Cinétique de minéralisation en présence de paille marquée.

L'azote minéral n'est pas perdu, car une incubation complémentaire avec de la paille de maïs non marquée et du sulfate d'ammonium enrichi en  $^{15}\text{N}$  prouve que la quasi totalité de l'azote minéral s'organise dans le sol. Cette organisation se maintient durant le premier mois d'incubation, et c'est à partir du prélèvement au troisième mois que nous retrouvons de l'azote  $^{15}$  dans la fraction minérale.

Bien que les conditions expérimentales ne soient pas tout à fait identiques, il est possible de comparer sur un plan qualitatif, ces résultats d'avec ceux avec apport engrais vert (Figure 12, page 72). Ils sont opposés car l'effet d'activation a disparu et nous observons une minéralisation supérieure dans le traitement témoin. La minéralisation de l'azote du ray-grass est très rapide et atteint déjà 35 % après trois



mois seulement ; avec la paille de maïs, elle est indécélable le premier mois mais atteint tout de même 22 % après 6 mois. Un apport supplémentaire d'azote ammoniacal (50 ppm) susceptible de favoriser la décomposition de la paille (BARBIER G. et SIMON G. 1963, SMITH J.H. et DOUGLAS C.L. 1971), entraîne une minéralisation plus rapide après 3 mois (12 % au lieu de 7 %) mais au bout de 6 mois, nous retrouvons la même valeur de 22 % ; dans les deux traitements, l'azote minéral est quasi inexistant durant le premier mois d'incubation malgré cet apport de 50 ppm.

### III.3 - EXTRACTION A L'EAU DE LA PAILLE

#### III.3.1 - Fractionnement des composés organiques de la paille

Dans les calculs précédents, nous avons fait l'hypothèse que le marquage des végétaux, était homogène, c'est-à-dire que l'azote des différents composés azotés présents avait le même excès isotopique. Nous allons vérifier en faisant une extraction à l'eau de la paille.

Cinq grammes de paille de l'essai décrit plus haut (N % = 1,12 ; E % = 8,42 ; C/N = 36) sont agités dans des flacons avec 200 ml d'eau désionisée pendant 72 h. Par filtration, un culot et les composés hydrosolubles sont séparés. Ils ont été fractionnés ensuite (Tableau 20) par la technique de l'hydrolyse acide (Figure 8, page 51).

	Paille			Culot			Extrait H <sub>2</sub> O			Total	
	QN ppm	E %	Q <sup>15</sup> N ppm	QN ppm	E %	Q <sup>15</sup> N ppm	QN ppm	E %	Q <sup>15</sup> N ppm	QN ppm	Q <sup>15</sup> N ppm
N Total	11200	8,42	934	6506	8,34	543	4200	8,20	345	10706	888
N <sub>sad</sub>	1520	7,93	121	634	7,43	47	602	7,05	43	1236	90
N <sub>sand</sub>	8140	8,35	680	4264	8,43	359	3423	8,68	297	7687	656
N <sub>ia</sub>	1690	8,24	139	1430	8,26	118	/	/	/	1430	118
Total	11350	/	940	6328	/	524	4025	/	340	10353	864

Tableau 20 - Fractionnement par extraction à l'eau et hydrolyse acide de l'azote de la paille de blé.

	Témoïn				Sol + Paille				Sol + Extrait H <sub>2</sub> O				Sol + Culot			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	Poids sec (g)	QN (mg)	E%	Q <sup>15</sup> N (mg) % départ	Poids sec (g)	QN (mg)	E%	Q <sup>15</sup> N (mg) % départ	Poids sec (g)	QN (mg)	E%	Q <sup>15</sup> N (mg) % départ	Poids sec (g)	QN (mg)	E%	Q <sup>15</sup> N (mg) % départ
1ère coupe	1,25	47,6	19,44	9,25	0,42	11,5	1,056	0,12 1,3	1,38	48,3	1,888	0,91 13,1	0,15	4,3	0,931	0,04 0,3
2ème coupe	2,04	41,1	25,39	10,44	1,90	33,9	0,909	0,31 3,3	2,89	51,4	0,853	0,44 6,3	0,38	8,0	1,154	0,09 0,7
3ème coupe	0,94	37,6	27,93	10,50	2,12	42,5	0,796	0,34 3,6	2,41	43,5	0,598	0,26 3,7	0,86	24,1	0,778	0,19 1,4
4ème coupe	0,40	21,2	27,29	5,79	1,57	34,0	0,681	0,23 2,5	1,87	35,4	0,504	0,18 2,6	1,09	25,6	0,773	0,20 1,5
5ème coupe	0,52	14,4	23,63	3,40	1,24	17,9	1,012	0,18 1,9	1,10	15,7	0,757	0,12 1,7	0,62	12,1	1,403	0,17 1,3
Total	5,15	161,9	/	39,38 62,9	7,25	139,8	/	1,18 12,6	9,65	194,3	/	1,91 27,4	3,10	74,1	/	0,69 5,2

Tableau 21 - Bilan azote (Parties aériennes)

Pour les traitements 1 et 2, les remarques que l'on peut faire sont semblables à celles de l'essai décrit dans le paragraphe III.2.1, avec un effet dépressif moindre dû à la diminution du pourcentage de l'apport de paille (1 % au lieu de 2 %) et par contre, un pourcentage de minéralisation légèrement plus important (12,6 % contre 8,5 %).

La minéralisation de l'"extrait H<sub>2</sub>O" est importante (27,4 %, tableau 21, colonne 12), alors que seulement 5,2 % (colonne 16) de l'azote du culot sont retrouvés dans les parties aériennes. Malgré un important dégagement de CO<sub>2</sub> constaté lors de l'extraction de la paille dans l'eau, le rapport C/N du culot est monté à 46, confirmant la perte d'azote mesurée au paragraphe précédent ; il se produit une *organisation importante d'azote* qui apparaît nettement si nous examinons les prélèvements pour chaque coupe prise individuellement (Figure 16).

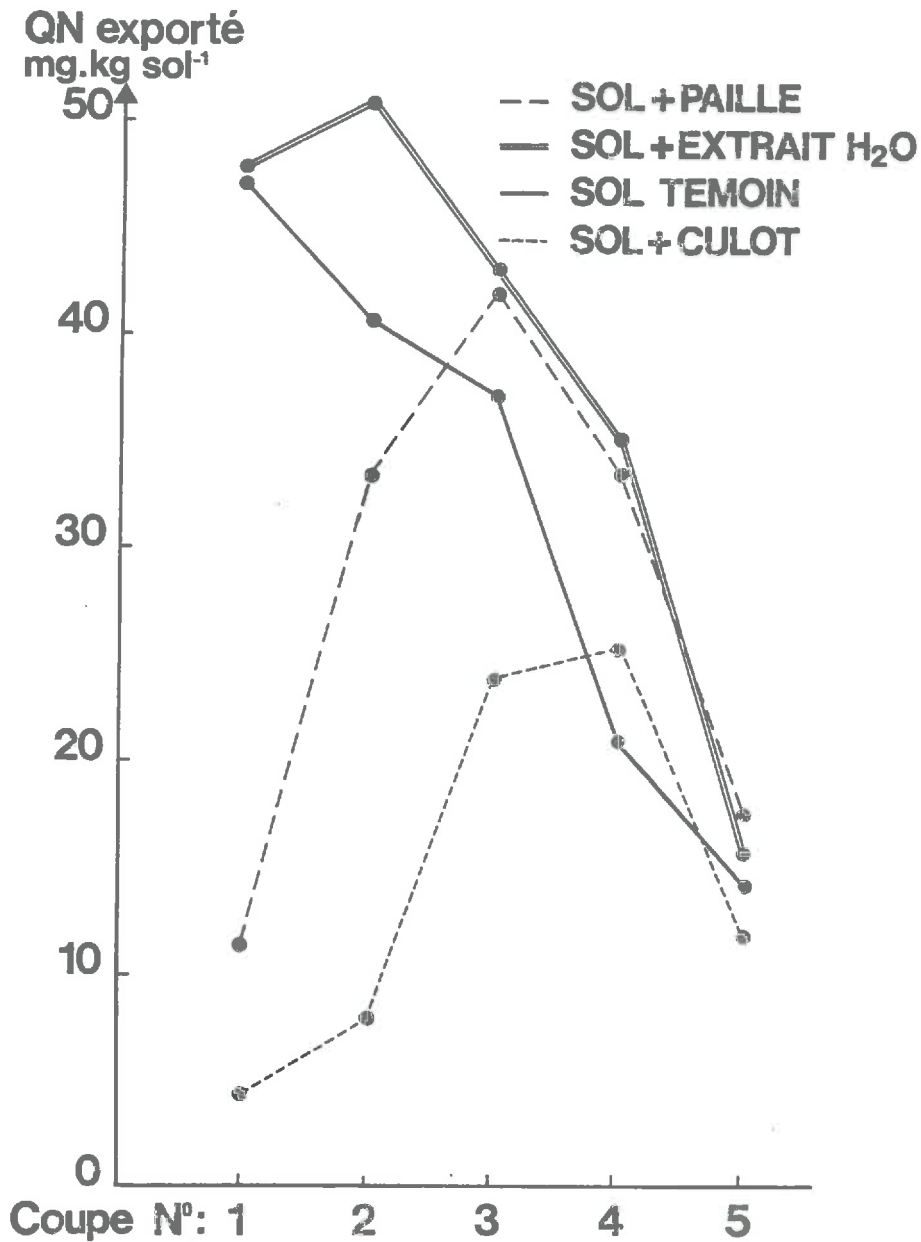


Figure 16 - Exportation de l'azote par la culture.

Dans la première coupe, nous observons une organisation très nette de l'azote qui se traduit par un prélèvement de 10 % seulement par rapport au témoin, et moitié moindre que celui du traitement paille. Par contre, en présence de "l'extrait H<sub>2</sub>O" on obtient des valeurs supérieures aux autres. Sur les coupes successives, cet effet s'atténue et lors de la dernière, il y a peu de différences.

Pour les traitements 1 et 2 (Témoin et paille), les valeurs du Ndt % sont semblables à celles de l'essai du paragraphe III.2.1 (Figure 17).

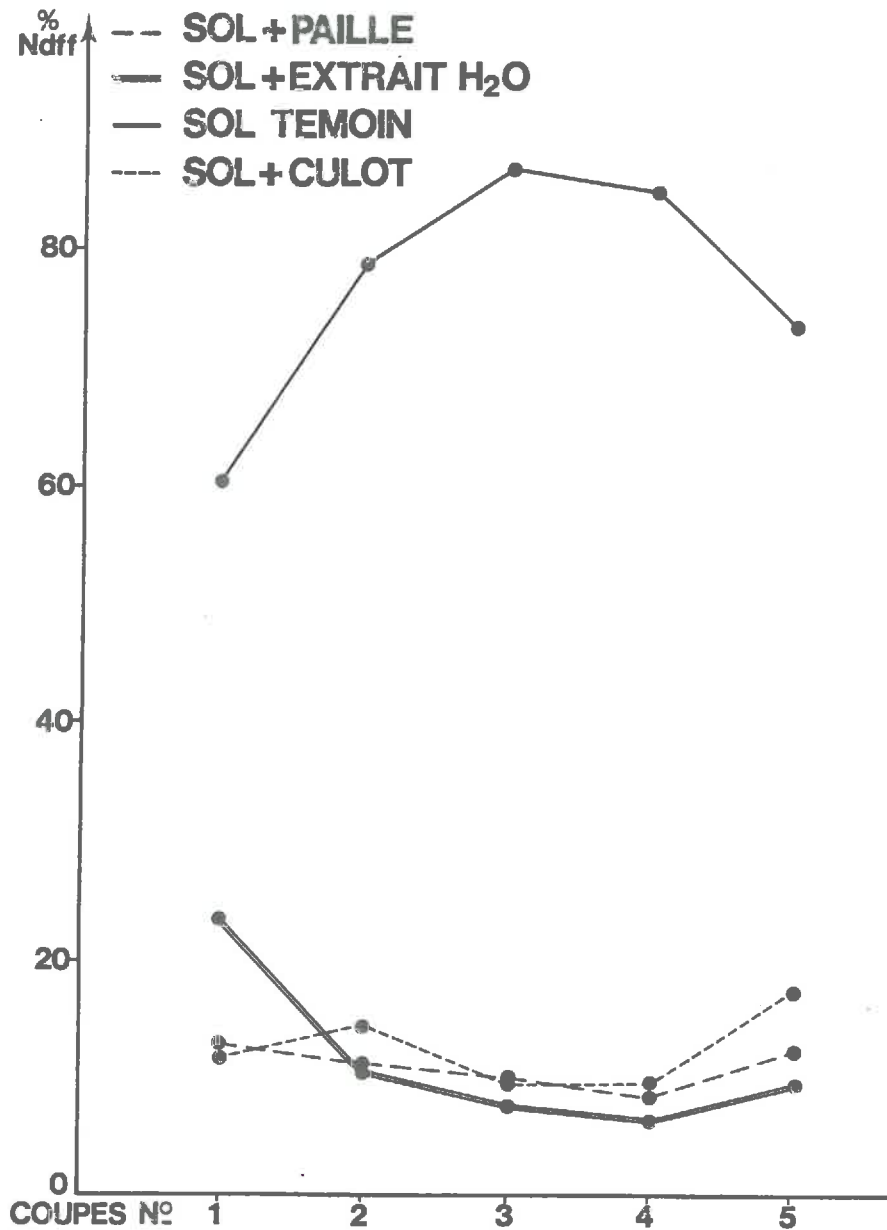


Figure 17 - Variation du Ndff %.

Pour le traitement 3 (extrait H<sub>2</sub>O), lors de la première coupe, il se produit une minéralisation extrêmement rapide de l'azote marqué ajouté : elle apporte 23 % de l'azote total ; ce pourcentage diminue rapidement par la suite et la légère remontée lors de la cinquième coupe, due à l'arrêt de la fertilisation minérale, ne se répercute pas sur les valeurs absolues (Tableau 21, colonne 12). Pour le traitement 4 (culot), le Ndff % est faible et les quantités exportées aussi ; nous ne retrouvons dans la 1ère coupe que 0,3 % de la quantité d'azote apportée.

Le bilan général (Tableau 22) fait état de pertes négligeables pour les traitements 2 et 3, mais il manque 9 % de l'azote total et 18 % de l'azote 15 en ce qui concerne le traitement 4.

	Témoïn				Sol + Paille				Sol + Extrait H <sub>2</sub> O				Sol + Culot			
	QN mg	E%	Q <sup>15</sup> N mg	% <sup>15</sup> N départ	QN mg	E%	Q <sup>15</sup> N mg	% <sup>15</sup> N départ	QN mg	E%	Q <sup>15</sup> N mg	% <sup>15</sup> N départ	QN mg	E%	Q <sup>15</sup> N mg	% <sup>15</sup> N départ
Parties aériennes (5 coupes)	161,9	/	39,38	62,9	139,8	/	1,18	12,6	194,3	/	1,91	27,4	74,1	/	0,69	5,2
Racines	19,9	16,29	3,24	5,2	28,1	1,039	0,29	3,1	42,6	0,826	0,35	5,0	19,7	1,224	0,24	1,8
Sol	1113	0,559	6,22	9,9	1273	0,613	7,80	83,5	1220	0,374	4,56	65,5	1299	0,741	9,63	75,6
Total	1295	/	48,84	78,0	1441	/	9,27	99,2	1457	/	6,82	97,9	1387	/	10,51	82,6

*Tableau 22 - Bilan général de l'azote après la culture*

Le faible prélèvement de la première coupe proviendrait donc, d'une organisation de l'azote minéral d'une part et d'une inhibition de la germination constatée visuellement d'autre part bien qu'il se produise une nitrification du culot, l'azote minéral peut être rapidement dénitrifié avant de pouvoir être utilisé. Cette hypothèse est confirmée par la valeur du Ndff % de la deuxième coupe qui augmente, et ce, sur une quantité globale d'azote plus importante, prouvant par là qu'il y a tout de même une *minéralisation de l'azote contenu dans le culot*.

Dans cet essai, il ne semble pas que l'on puisse noter un effet toxique quelconque provoqué par la partie hydrosoluble. Il est possible que la lyophilisation préalable élimine et (ou) dégrade les substances nocives repérées par d'autres chercheurs dans la fraction hydrosoluble (GUENZI W.O. et Mc CALLA T.M. 1962, WALLACE J.M. et ELLIOT L.F. 1979). Sans chercher à caractériser ces produits nocifs, des incubations de paille dans diverses conditions ont permis de les mettre en évidence. Les conditions optimales pour les voir apparaître semblent être l'absence d'azote minéral complémentaire, l'anaérobiose et un temps d'incubation relativement bref

(< 1 mois). Cette toxicité provoque une mauvaise germination entraînant une hétérogénéité importante des diverses répétitions ; cela a déjà été signalé dans la littérature (COCHRAN V.L. et al 1977) et se retrouve dans nos résultats, car les coefficients de variation du traitement 4 (culot) atteignent jusqu'à 20 %, alors qu'ils sont de l'ordre de 5 % seulement dans le traitement 3 (H<sub>2</sub>O).

Dans certaines circonstances, la phytotoxicité de l'enfouissement des pailles est réelle ; elle contribue à l'effet depressif sur les rendements des récoltes.

### III.3.2.2 - Fractionnement de l'azote du sol avant et après la culture

Les traitements 1 et 2 (tableau 23) appellent les mêmes remarques que celles faites au paragraphe III.2.1.2 : *organisation la plus importante dans la fraction N<sub>sand</sub>, et pour le traitement 2 (paille), une diminution des quantités d'azote <sup>15</sup>N de la fraction "N<sub>ia</sub>".*

TRAITEMENT	Avant culture											
	1 Témoin			2 Sol + Paille			3 Sol + H <sub>2</sub> O			4 Sol + Culot		
	QN (ppm)	E%	Q <sup>15</sup> N	QN (ppm)	E%	Q <sup>15</sup> N (ppm)	QN (ppm)	E%	Q <sup>15</sup> N (ppm)	QN (ppm)	E%	Q <sup>15</sup> N (ppm)
N Total	1170			1270	0,735	9,34	1255	0,555	6,96	1308	1,01	13,22
N min	6			6	0	0	6	0	0	6	0	0
N <sub>sad</sub>	404			419	0,289	1,21	416	0,207	0,86	410	0,222	0,91
N <sub>sand</sub>	556			638	1,06	6,75	624	0,952	5,94	654	1,375	8,99
N <sub>ia</sub>	129			146	0,945	1,38	129	0,00	0,001	161	1,845	2,97
Total	1095			1209	/	9,34	1175	/	6,80	1231	/	12,87
Après culture												
	Témoin			Sol + Paille			Sol + H <sub>2</sub> O			Sol + Culot		
N Total	1113	0,559	6,22	1273	0,613	7,80	1220	0,374	4,56	1299	0,741	9,63
N min	8	5,55	0,44	2	1,90	0,04	7	1,22	0,08	14	2,01	0,28
N <sub>sad</sub>	425	0,435	1,85	460	0,436	2,01	432	0,281	1,21	468	0,546	2,56
N <sub>sand</sub>	567	0,696	3,95	653	0,756	4,94	622	0,479	2,98	684	0,887	6,07
N <sub>ia</sub>	124	0,211	0,26	140	0,431	0,60	128	0,141	0,18	143	0,642	0,92
Total	1124	/	6,5	1255	/	7,59	1189	/	4,45	1309	/	9,83

Tableau 23 - Fractionnement de l'azote du sol avant et après la culture.

Nous pouvons faire une remarque générale concernant les traitements 3 et 4 : après la culture, l'azote minéral dosé a un excès isotopique très important (1,22 % dans le traitement extrait H<sub>2</sub>O et 2,01 dans le traitement culot), traduisant une *minéralisation de la matière organique enfouie*.

Le traitement 3 (extrait H<sub>2</sub>O) ne contient pas, au départ, d'azote marqué insoluble dans l'acide provenant de l'extrait aqueux de la paille. En fin de culture, on en retrouve une toute petite quantité (4 % de l'azote 15 apporté) ; les *transferts d'azote organique vers cette forme sont donc limités*.

Au cours de la culture, la quantité d'azote soluble dans l'acide non distillable (Nsand) ne varie pas, mais l'excès isotopique est moitié moindre, traduisant une incorporation de l'azote nitrique non marqué dans cette fraction. Une partie de ces composés se minéralise et l'azote est prélevé par le ray-grass ; une autre partie se transforme et rejoint l'azote soluble dans l'acide directement distillable (Nsad), fraction faisant état d'une augmentation de son azote total et de son azote 15. Cette augmentation de la fraction Nsad confirme notre hypothèse du paragraphe III.2.1.2 page 85. Elle est causée par l'azote provenant de la fraction Nsand pour une petite part et surtout par celui provenant de la fraction Nia.

Pour le traitement 4, avant la culture, la fraction Nia est proportionnellement très importante (près de 25 % de l'azote total). Dans le traitement 3, nous venons de remarquer une incorporation très limitée des composés azotés dans cette fraction et nous mesurons ici une diminution de  $161 - 143 = 18$  ppm d'azote total et de  $2,97 - 0,92 = 2,05$  ppm d'azote 15, soit un azote dont l'excès isotopique moyen est de 11,4 %, valeur qui, malgré l'imprécision du dosage chimique, paraît supérieure à celle de l'excès isotopique moyen de la fraction Nia du culot (8,26 %). Cette diminution se ferait principalement au profit de la fraction Nsad qui voit sa teneur en azote total croître de  $468 - 410 = 58$  ppm et de  $2,56 - 0,91 = 1,65$  ppm en azote 15, surplus d'excès isotopique moyen de 2,8 %. Il est donc certain qu'il y a eu aussi une incorporation d'azote nitrique non marqué dans cette fraction.

### CONCLUSION

L'emploi de végétaux marqués à l'azote 15 nous renseigne, dans les systèmes sol-plante, sur les phénomènes régissant l'évolution de l'azote organique, et en particulier, sa minéralisation.

Un engrais vert et une paille de céréale ont une action différente sur les rendements des cultures : alors que l'engrais vert conduit à un surcroît de production par rapport à un témoin, l'apport de paille a un effet dépressif.

D'après nos résultats, l'engrais vert, C/N = 16, se minéralise rapidement et en quasi totalité ; alors qu'une paille (C/N = 36 valeur faible pour une paille) est moins facilement biodégradable et entraîne, les jours suivant son enfouissement, une organisation rapide de l'azote minéral, principalement si celui-ci est présent (ou ajouté) sous forme ammoniacale. Plus le rapport C/N de la paille sera élevé, plus l'organisation sera intense.

Ceci nous amène à définir un rapport C/N seuil, qui se situerait vers 20-25, permettant une minéralisation rapide et partielle du végétal apporté, et une organisation suffisante. Cette valeur "seuil" est, selon la littérature, plus (NOVAK B. 1974) ou moins (HENIN S. 1968, HIROSE S. 1973) élevée et dépend de nombreux paramètres.

Ce rapport C/N nous paraît être pour les végétaux enfouis, un des facteurs essentiels régissant leur minéralisation, mais il doit être considéré avec prudence s'il s'agit d'autres produits organiques. Ainsi, des déchets d'origine animale ou de boues de station d'épuration peuvent être riches en substances carbonées rapidement minéralisables, et malgré un rapport C/N très bas, leur épandage peut entraîner une organisation de l'azote dans le sol très importante (JUSTE Ch. 1982, JANSSON S.L. et PERSSON J. 1982).



Cette technique d'étude de la minéralisation des composés organiques n'est qu'un mode d'approche parmi d'autres. Nous citerons une autre méthode qui s'intéresse à la microflore du sol étudiée à l'aide de souches microbiennes marquées à l'azote 15 et au Carbone 14 (NICOLARDOT B. 1983). Néanmoins, *les végétaux constituent une des plus importante source de matière organique héritée*, tant par les racines restant en permanence dans le sol, que par la restitution des résidus de récolte.

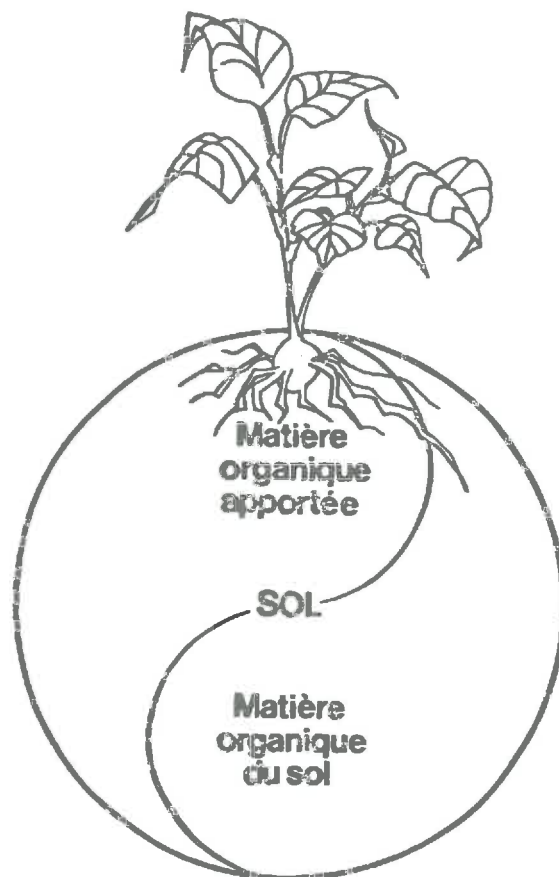
Dans l'interprétation des résultats, nous supposons un marquage homogène des végétaux enfouis ; cette hypothèse est suffisante pour un premier examen. Nous avons cependant prouvé que des composés ayant un enrichissement isotopique distinct peuvent exister. Il faut donc *améliorer la sélectivité des méthodes et progresser dans la spécificité des extractions*.

Des fractions à première vue identiques car extraites par le même réactif ont des comportements différents lors d'une culture ou d'une incubation. Nos techniques actuelles sont encore trop globales, malgré les efforts entrepris depuis une vingtaine d'années. La finalité de cette action pourrait être de caractériser des fractions ayant un comportement biologique homogène et d'identifier à l'intérieur de ces fractions les différentes entités chimiques présentes.

C'est en partie dans ce but que la spectroscopie optique a sa pleine utilité, car les quantités d'azote total à analyser sont trop faibles, vis-à-vis des possibilités offertes par la spectrométrie de masse.

## CHAPITRE IV

EFFETS D'ENFOUISSEMENTS REPETES  
DE LA MATIERE ORGANIQUE :  
ANALYSE D'ESSAIS AGRONOMIQUES DE LONGUE DUREE



Les champs d'essai de longue durée peuvent avoir une valeur particulière pour fournir des informations servant au développement de l'agriculture. Parmi les plus anciens, nous pourrions citer celui créé à ROTHAMSTED en 1843 (LAWES J.B. et GILBERT J.H. 1895) et celui installé à GRIGNON par DEHERAIN P.P. en 1875 et entretenu jusqu'à nos jours par MOREL (MOREL R. 1976, MOREL R. et al 1976). Malgré certaines imperfections inhérentes à la mise en place de l'expérimentation, de très nombreux auteurs (MOREL R. et al 1976, COOKE G.W. 1976) soulignent l'intérêt, dans les recherches fondamentales concernant les sols et les végétaux en particulier, de ces dispositifs. Ils sont très peu nombreux à cause du travail nécessaire à leur maintenance, et à cause de l'abnégation dont doit faire preuve le chercheur qui ne pourra que partiellement exploiter les résultats de son travail, car bien souvent sous nos climats les conséquences d'une pratique culturale mettront plusieurs lustres avant d'apparaître. *Dans la majorité des cas ces essais ont porté sur des apports différents d'engrais minéraux (N, P et K) ou (et) plus fréquemment sur un entretien organique varié (apport de fumier ou de paille) (DEHERAIN P.P. 1875, MATSUD H. et al 1976, DE LA LANDE CREMER L.C.N. 1976).*

Dans des terres suffisamment profondes, l'enfouissement des pailles par labour après leur fragmentation et leur répartition à la surface du sol, donne satisfaction dans l'immédiat et contribue à entretenir l'humus. Dans les terres de faible épaisseur, l'incinération au moins partielle a permis d'obtenir depuis 10 ou même 20 ans de meilleures récoltes. Mais dans des mêmes conditions de sol et d'assolement, certains agriculteurs brûlent les pailles de céréales, d'autres les enfouissent, sans que ni les uns, ni les autres ne puissent affirmer la supériorité de leur technique (PRATS J. 1974, BODET J.M. 1977).

Nous venons de voir l'influence d'un apport récent de paille sur la minéralisation de l'azote, nous allons maintenant étudier l'action d'apports plus anciens en analysant des échantillons de sol provenant de trois essais de longue durée.

L'approche choisie est une culture en vases de végétation avec un engrais marqué, sur des échantillons de sols prélevés dans des parcelles fortement différenciées par leurs traitements agronomiques antérieurs.

#### IV.1 - DISPOSITIF DES "36 PARCELLES" (GRIGNON)

##### IV.1.1 - Essai au champ

Le dispositif des "36 parcelles" (6 blocs de 6 parcelles de 10 m<sup>2</sup>) a été implanté à Grignon en 1959 par MOREL R. pour étudier les transformations dans le sol de la paille avec ou sans azote minéral, avec ou sans préhumification.

##### Six traitements sont effectués sur le terrain

- 1 - *Parcelles sans azote minéral, sans paille.*
- 2 - *Parcelles sans azote minéral, avec paille.*
- 3 - *Parcelles avec paille préhumifiée sans apport d'azote minéral.*
- 4 - *Parcelles avec azote minéral, sans paille.*
- 5 - *Parcelles avec azote minéral, avec paille.*
- 6 - *Parcelles avec paille préhumifiée en présence d'azote minéral.*

La préhumification, effectuée de mars à septembre dans des cuves isothermes, permet une transformation de la paille préalablement hâchée en fumier artificiel. Deux cuves sont utilisées :

- l'une pour la préhumification sans apport d'azote minéral,
- l'autre pour la préhumification en présence d'azote minéral.

La paille est enfouie à l'automne (sans ou avec préhumification préalable) à raison de 7 kg de paille par parcelle traitée ( $7 \text{ t.ha}^{-1}$ ). L'azote est apporté à la dose de 70 g ( $70 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) sous forme de nitrate d'ammonium :

- soit au cours de la transformation de la paille en fumier artificiel (traitement 6),

- soit sur les parcelles (traitements 4 et 5), en deux fois :  
1/3 à l'automne,  
2/3 au printemps.

Au cours de l'année, des binages assurent la propreté des parcelles maintenues sans culture.

#### IV.1.2 - Essai $^{15}\text{N}$ en serre

Un prélèvement de sol a été effectué en avril 1971, soit 12 ans après la mise en place de l'essai au champ et 6 mois après le dernier enfouissement de paille.

Avec le sol de ce prélèvement, nous avons réalisé un essai en vase de végétation en serre, les pots reconstituant le dispositif expérimental du champ. Nous avons fait une culture de ray-grass en ajoutant 180 ppm d'azote sous forme de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  enrichi en  $^{15}\text{N}$  avec un excès de 5,32 % soit 9,58 ppm d'azote  $^{15}$ .

##### IV.1.2.1 - Poids sec et teneur en azote des parties aériennes

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 24.

Traitement	1ère coupe (3 semaines)				2ème coupe (+ 3 semaines)				3ème coupe (+ 7 semaines)				TOTAL		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Poids sec en (g)	Q N en (mg)	Excès E %	Q <sup>15</sup> N (mg)	Poids sec (g)	QN (mg)	E %	Q <sup>15</sup> N (mg)	Poids sec (g)	QN (mg)	E %	Q <sup>15</sup> N (mg)	Poids sec (mg)	QN (mg)	Q <sup>15</sup> N (mg)
1 Sans N sans paille	3,91	114,88	4,18	4,80	1,53	22,37	3,48	0,78	1,34	13,49	2,20	0,30	6,8	150,7	5,88
2 Sans N avec paille	4,8	124,84	3,93	4,91	1,7	24,37	3,43	0,84	1,6	14,65	2,09	0,31	8,1	163,9	6,06
3 avec paille préhumifiée sans N	4,56	117,21	4,02	4,71	1,61	23,81	3,46	0,82	1,44	13,53	2,14	0,29	7,6	154,6	5,82
4 Avec N sans paille	4,22	133,30	4,12	5,49	1,44	22,46	3,56	0,80	1,42	13,86	2,18	0,30	7,1	169,6	6,59
5 Avec N avec paille	4,25	113,58	3,95	4,49	1,62	23,30	3,21	0,75	1,49	18,70	1,81	0,33	7,4	155,6	5,57
6 Avec paille préhumifiée avec N	4,15	112,79	4,08	4,6	1,66	22,51	3,45	0,78	1,56	15,30	1,89	0,29	7,4	150,6	5,67

QN départ = 38,73 mg E % = 5,32 Q<sup>15</sup>N = 2,06 mg

Tableau 24 - Bilan parties aériennes.

Les divers traitements appliqués pendant 12 ans aux parcelles ne semblent pas avoir induit de variations suffisantes pour entraîner des répercussions mesurables, sur les rendements des cultures en vases de végétation ; aucune différence significative n'est observée sur les rendements, et sur les teneurs en azote total et en azote 15 de chaque coupe individuelle ou de la récolte totale. (Il y a une exception : l'azote total de la troisième coupe du traitement 5).

Ces résultats montrent que pour ce sol relativement riche (1,5 % d'azote total en 1959) l'apport d'engrais suffit pour masquer complètement les différenciations éventuelles causées par des apports de matière organique pendant 12 ans et confirment donc la lenteur des phénomènes régissant les évolutions de la matière organique dans les sols.

#### IV.1.2.2 - Bilan azote et azote 15

Le coefficient réel d'utilisation de l'engrais azoté par les parties aériennes est de 60 % environ (Tableau 25) ; 5 % du traceur se retrouvent dans les racines et 25 % dans le sol soit au total 90 % et une perte de 10 % que nous attribuons à la dénitrification.

	Parties aériennes		Racines		Sol		Total
	QN (mg)	% <sup>15</sup> N départ	QN (mg)	% <sup>15</sup> N départ	QN (mg)	% <sup>15</sup> N départ	% <sup>15</sup> N départ
① Sans N sans paille	151	61,3	21	4,8	1371	23,2	89,2
② Sans N avec paille	164	63,1	22	4,8	1483	24,3	92,2
③ Avec paille préhumifiée sans N	155	60,8	24	5,2	1468	24,4	90,4
④ Avec N sans paille	170	68,7	22	4,9	1394	23,4	97,0
⑤ Avec N avec paille	156	58,2	25	4,8	1496	23,3	86,3
⑥ Avec paille préhumifiée avec N	151	59,0	25	5,1	1498	22,0	86,1

Tableau 25 - Bilan azote.

Nous constatons cependant que la quantité d'azote total du sol des traitements 1 à 4 c'est-à-dire sol en l'absence de paille sans et avec N minéral ne diffèrent pas entre eux (donc *aucun effet de l'azote minéral*), mais sont statistiquement plus faibles que celles des autres traitements avec apport de matière organique (donc *influence positive de la paille préhumifiée ou non*).

#### IV.1.2.3 - Origine de l'azote dans les parties aériennes

L'emploi d'un traceur permet, dans le végétal, de distinguer l'azote originaire du sol et celui qui provient du sulfate d'ammonium ajouté. Les quantités et les proportions relatives à l'azote du sol et de l'engrais figurent au tableau 26.

Traitement	1ère coupe			2ème coupe			3ème coupe			T O T A L		
	N en mg venant du sol	N en mg venant de l'engrais	% de N venant du sol	N en mg venant du sol	N en mg venant de l'engrais	% de N venant du sol	N en mg venant du sol	N en mg venant de l'engrais	% de N venant du sol	N en mg venant du sol	N en mg venant de l'engrais	% de N venant du sol
① Sans N sans paille	24,6	90,3	21,4	7,7	14,6	34,6	8,0	5,5	59,3	40,3	110,4	26,7
② Sans N avec paille	32,6	92,2	26,1	8,6	15,7	35,5	8,9	5,7	60,9	50,1	113,6	30,6
③ Avec paille préhumifiée sans N	28,7	88,5	24,5	8,3	15,5	35,0	8,1	5,4	60,1	45,1	109,4	29,2
④ Avec N sans paille	30,1	103,2	22,6	7,5	15,0	33,3	8,2	5,6	59,4	45,8	123,8	27,0
⑤ Avec N avec paille	29,3	84,3	26,8	9,2	14,1	39,3	12,3	6,4	65,9	50,8	104,8	32,6
⑥ Avec paille préhumifiée avec N	26,6	86,3	23,5	7,9	14,6	35,1	10,0	5,3	65,3	44,5	106,2	29,5

*Tableau 26 - Quantité en mg d'azote provenant du sol et de l'engrais dans les parties aériennes.  
(Quantité d'engrais ajoutée: 180 mg d'azote)*

Les quantités d'azote en provenance de l'engrais ne sont pas différentes mais il n'en est pas de même pour l'azote en provenance du sol. Le sol du traitement 1 (sans azote et sans paille) fournit à la récolte moins d'azote que tous les autres, et cette différence est significative avec les sols qui ont reçu pendant douze ans des apports de paille avec (traitement 5) ou sans (traitement 2) fumure azotée complémentaire.

Ceci peut en partie tenir au fait de l'apport d'azote par la paille, qui se traduit par un gain de l'ordre de 300 kg d'azote par hectare en 12 ans (la teneur en azote du sol après culture passe de 1,38 ‰ à 1,49 ‰ tableau 25 page 107).

Cette plus grande disponibilité de l'azote du sol se manifeste surtout dans les deux traitements qui apportent le plus de substances énergétiques au sol et, de ce fait, induisent vraisemblablement une prolifération microbienne plus intense. Cette prolifération n'est-elle pas susceptible de favoriser certains des processus généraux de mise à



*disposition du végétal des éléments nutritifs ? Cette suggestion peut trouver quelque crédit dans le fait que l'un des effets de la préhumification est la destruction d'une fraction importante des substances énergétiques du matériel végétal expérimenté.*

Dans les coupes successives, la plante prélève en valeurs relatives, moins d'azote en provenance de l'engrais et plus d'azote en provenance du sol ; le pourcentage passe de 25 à 60 % en moyenne (Tableau 26 page 108). C'est un fait général provenant de la diminution de la quantité d'engrais restant dans le sol du fait de la consommation par la plante ; une partie de cet azote minéral peut être organisée sous l'action de la microflore. Une autre explication possible est une rétrogradation de l'azote minéral dans des composés biologiquement stables (BROADBENT F.E. et NAKASHIMA T. 1967, KETCHESON J.W. et JAKOVLJEVIC M. 1970, VAN PRAAG H.J. et al. 1980).

#### IV.2 - CHAMP D'ESSAIS "GESA"

##### IV.2.1 - Essai au champ

Le champ d'essais de la GESA a été implanté en 1965 en Beauce à Loigny-la-Bataille (Eure et Loir) en vue de l'étude de l'évolution de la fertilité d'un limon argileux de Beauce (rouge), ceci en fonction du devenir des pailles dans un assolement céréalier (orge, maïs, blé). Les pailles de céréales d'automne sont brûlées, enlevées ou enfouies et, dans le cas d'entouissement, on étudie l'influence des doses et des périodes d'apport de l'azote. Il y a 4 répétitions par traitement et des analyses de terre sont effectuées périodiquement.

*Au bout de 15 années d'expérimentation, les caractéristiques du sol (pH, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O) ne sont pas modifiées de façon significative par les divers traitements.*

GESA : Générale des Engrais Société Anonyme

En ce qui concerne plus particulièrement les teneurs du sol en matières organiques, le fait de brûler ou d'enlever les pailles ne semble pas entraîner de variations importantes et significatives, dans ce sol profond.

#### IV.2.2 - Essai $^{15}\text{N}$ en serre

Les techniques isotopiques étant susceptibles d'apporter des informations supplémentaires, nous effectuons un essai en vase de végétation, avec apport d'engrais  $^{15}\text{N}$ , sur des échantillons de sol provenant de ces parcelles et prélevés à la fin de l'été 1969 et de l'été 1979, soit 4 et 14 ans après le début de l'expérimentation au champ.

##### IV.2.2.1 - 1er essai (4 ans de différenciation en 1969)

L'azote est apporté sous forme de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  marqué à 30 % de  $^{15}\text{N}$  aux doses de 75 ppm (traitement I), 150 ppm (traitement II) et 300 ppm (traitement III) (GUIRAUD G. et BERLIER Y. 1972).

Les résultats (Tableaux 27, 28, 29) confirment ceux de l'essai sur les "36 parcelles" à savoir qu'aucune différence significative n'est notée sur le poids sec et les quantités d'azote prélevées par les parties aériennes. La proportion de  $^{15}\text{N}$  dans la récolte augmente avec la dose appliquée.

	Echantillons	Poids sec (en g)	QN (mg)	Q <sup>15</sup> N (mg)	% <sup>15</sup> N départ
Pailles brûlées	Parties aériennes	5,9	100	13,8	60,6
	Racines		20	1,35	6,0
	Soi		1357	6,8	29,7
	TOTAL		1477	21,0	96,3
Pailles enfouies	Parties aériennes	6,1	106	14,3	62,9
	Racines		17	1,15	5,1
	Soi		1381	6,6	28,8
	TOTAL		1504	22,1	96,8
Pailles enlevées	Parties aériennes	5,9	103	14,4	63,4
	Racines		20	1,30	5,7
	Soi		1332	6,9	30,1
	TOTAL		1455	22,6	99,2

Tableau 27 - Bilan azote (Traitement I : 75 ppm N).

	Echantillons	Poids sec (en g)	QN (mg)	Q <sup>15</sup> N (mg)	% <sup>15</sup> N départ
Pailles brûlées	Parties aériennes	7,8	172	32,7	72,0
	Racines		21	2,4	5,2
	Soi		1360	10,6	23,2
	TOTAL		1553	45,7	100,4
Pailles enfouies	Parties aériennes	8,0	170	32,0	70,5
	Racines		19	2,2	4,8
	Soi		1400	10,1	22,1
	TOTAL		1589	44,3	97,4
Pailles enlevées	Partie aériennes	7,8	168	32,7	72,0
	Racines		20	2,4	5,2
	Soi		1341	10,0	22,0
	TOTAL		1529	45,1	99,2

Tableau 28 - Bilan azote (Traitement II : 150 ppm N).

	Echantillons	Poids sec (en g)	QN (mg)	Q <sup>15</sup> N (mg)	% <sup>15</sup> N départ
Pailles brûlées	Parties aériennes	10,6	299	70	77,1
	Racines		28	4,6	5,0
	Soi		1391	16,6	18,2
	TOTAL		1718	91,2	100,3
Pailles enfouies	Parties aériennes	10,6	307	71,1	78,3
	Racines		27	4,3	4,7
	Soi		1408	14,6	16,0
	TOTAL		1742	90,0	99,0
Pailles enlevées	Parties aériennes	10,6	301	69,5	76,5
	Racines		29	4,7	5,1
	Soi		1364	15,6	17,1
	TOTAL		1694	89,8	98,7

Tableau 29 - Bilan azote (Traitement III : 300 ppm N).

Le fait le plus intéressant concerne le bilan total <sup>15</sup>N : nous avons une récupération quasi complète du traceur ajouté. De tous nos essais en vases de végétation, c'est le seul exemple que nous ayons rencontré. Dans la littérature également les bilans faisant état de pertes nulles sont relativement rares (LEGG J.O. et ALLISON F.E., 1959). La quantité de <sup>15</sup>N restant dans le sol est proportionnellement beaucoup plus importante si la dose d'engrais apporté est faible : 30 % en présence de 75 ppm, 22 % pour 100 ppm et 15 % pour 300 ppm N. Pour l'azote total du sol, les valeurs pour les parcelles pailles enfouies sont significativement plus élevées que celles des parcelles pailles ôtées.

#### IV.2.2.2 - 2ème essai (14 ans de différenciation en 1979)

Sur des échantillons de ces mêmes parcelles prélevés à la même époque de l'année 10 ans après, nous répétons cette expérience en apportant l'azote sous forme de Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> aux doses de : 5, 70 et 140 ppm. Les résultats sont rassemblés dans les tableaux (30, 31, 32).

	Echantillons	Poids sec (en g)	QN (mg)	Q <sup>15</sup> N (mg)	% <sup>15</sup> N départ
Paillies brûlées A	Parties aériennes	1,97	46,3	2,68	58,7
	Racines	0,99	10,4	0,23	4,9
	Soi		1140	0,50	18,7
	TOTAL	-	1197	3,41	82,3
Paillies enfouies B	Parties aériennes	2,01	41,6	2,30	50,5
	Racines	1,37	12,2	0,27	5,8
	Soi		1125	0,85	18,7
	TOTAL	-	1179	3,42	75,0
Paillies enfouies E	Parties aériennes	2,30	49,2	2,67	58,5
	Racines	1,78	13,4	0,30	6,6
	Soi		1270	0,85	18,7
	TOTAL	-	1333	3,82	83,8
Paillies enlevées G	Parties aériennes	1,93	41,6	2,69	58,9
	Racines	1,54	9,5	0,25	5,5
	Soi		1260	1,05	23,0
	TOTAL	-	1311	3,99	87,4

Tableau 30 - Bilan azote (Traitement a : 5 ppm N).

	Echantillons	Poids sec (en g)	QN (mg)	Q <sup>15</sup> N (mg)	% <sup>15</sup> N départ
Paillies brûlées A	Parties aériennes	2,70	92,7	16,4	75,0
	Racines	0,73	8,6	0,6	2,7
	Soi		1180	3,0	13,7
	TOTAL	-	1281	20,0	91,4
Paillies enfouies B	Parties aériennes	3,24	97,1	17,1	78,2
	Racines	0,79	9,3	0,6	2,6
	Soi		1290	2,6	11,7
	TOTAL	-	1396	20,3	92,5
Paillies enfouies E	Parties aériennes	3,08	95,3	16,7	76,6
	Racines	0,94	9,3	0,7	3,0
	Soi		1270	2,6	11,9
	TOTAL	-	1375	20,0	91,5
Paillies enlevées G	Parties aériennes	2,68	89,9	17,0	79,9
	Racines	0,71	11,7	0,8	3,4
	Soi		1265	2,8	12,6
	TOTAL	-	1367	20,6	95,9

Tableau 31 - Bilan azote (Traitement b : 70 ppm N).

	Echantillons	Poids sec (en g)	QN (mg)	Q <sup>15</sup> N (mg)	% <sup>15</sup> N départ
Pailles brûlées A	Parties aériennes	3,68	145,6	32,8	75,0
	Racines	0,66	11,3	1,3	2,9
	Soi		1285	5,3	12,1
	TOTAL	-	1442	39,4	90,0
Pailles enfouies B	Parties aériennes	3,37	136,8	30,8	70,5
	Racines	0,86	14,5	1,6	3,6
	Soi		1335	6,6	15,0
	TOTAL	-	1486	39,0	89,1
Pailles enfouies E	Parties aériennes	3,84	152,6	33,3	76,1
	Racines	1,25	16,9	2,0	4,5
	Soi		1110	5,0	11,3
	TOTAL	-	1280	40,3	91,9
Pailles entevées G	Parties aériennes	3,40	144,9	32,2	73,7
	Racines	0,83	13,2	1,8	4,0
	Soi		1270	5,8	13,1
	TOTAL	-	1428	39,8	90,8

Tableau 32 - Bilan azote (Traitement c : 140 ppm N).

Il y a deux traitements pailles enfouies car les parcelles B au champ reçoivent, au printemps, 20 kg d'azote minéral en moins que toutes les autres qui reçoivent 150 kg N en moyenne. Pour répondre aux pratiques agricoles actuelles, les pailles de maïs sont enfouies dans tous les traitements depuis 1975 (dans le cas présent : deux fois). Ceci a pour conséquence d'atténuer les différences qui peuvent être notées.

Les résultats de l'essai azote 15 confirment ceux de 1969 pour les traitements b et c (apport de 70 ppm et 140 ppm N) . Le coefficient réel d'utilisation, (75 % environ) est légèrement plus élevé qu'en 1969 ; les pertes sont un peu plus fortes quoique très limitées, de l'ordre de 10 %. Ces résultats sont en accord avec ceux relevés sur le terrain, où *il n'est pas noté d'effet significatif du traitement paille sur les rendements des cultures.*

Dans ces deux essais (1969 et 1979), pour la même dose d'engrais azote, les CRU et les quantités totales d'azote exporté par les récoltes sont peu différentes. Les variations des poids de matière sèche d'un essai à l'autre doivent être liées au type de semence utilisée.

Les analyses d'azote total du sol montrent, après 4 ans (Tableau 33), une valeur légèrement supérieure mais non significative pour les sols où la paille est enfouie ; cette différence ne paraît pas être affectée par la culture.

TRAITEMENTS	1er essai (après 4 ans)		2ème essai (après 14 ans)	
	Avant culture	Après culture	Avant culture	Après culture
Pailles brûlées	1360	1370	1260	1200
Pailles enfouies	1400	1400	1335	1240
Pailles ôtées	1340	1350	1280	1260

Tableau 33 - Azote total avant et après culture (en ppm)  
(Azote total du sol à la mise en place de  
l'essai au champ : 1390 ppm).

Pour tous les sols, après 14 ans, il y a une baisse nette de la quantité d'azote total par rapport à la quantité d'azote total du sol à sa mise en place de l'essai ; cette baisse est freinée par l'enfouissement de la paille. Ces résultats sont confirmés par les analyses intermédiaires effectuées dans les laboratoires de la GESA. La culture de ray-grass du 2ème essai (1979) entraîne une diminution de l'azote du sol, mais nous ne pouvons pas dire si elle est liée aux pertes d'azote 15 (10 % environ, tableaux 31 et 32).

#### IV.3 - CHAMP D'ESSAI "DEHERAIN" (GRIGNON)

##### IV.3.1 - Essai au champ

La troisième expérience fait appel au champ d'essai le plus ancien existant en France à savoir le "Champ DEHERAIN" créé en 1875 ; son objet essentiel est l'étude de différents modes de fertilisation sur le sol et le végétal.

Nous avons prélevé le sol de 4 traitements sur les 11 qui sont en place :

- *Sans engrais depuis 1875* (traitement "SE")
- *Engrais N.P.K depuis 1902* (traitement "NPK")
- *Fumier seul depuis 1929* (traitement "F")
- *Fumier + engrais N.P.K depuis 1964* (traitement "FNPK")

Chaque traitement comporte 4 répétitions.

Les quantités d'éléments fertilisants apportées à l'hectare sont les suivantes :

*Fumier d'étable* : 10 t

*Azote* : 87 kg (Nitrate d'ammonium)

*Phosphore* : 40 kg (Superphosphate)

*Potassium* : 75 kg (Chlorure de potassium)



Les parcelles avec fumier et engrais minéraux reçoivent une quantité complémentaire de N, P et K sous forme minérale, telle que la quantité totale des éléments apportés soit la même que pour les parcelles NPK. Les quantités apportées paraissent peu élevées ; elles ont été fixées en 1875 et n'ont pas été modifiées par la suite.

Chacune des parcelles (mesurant 100 m<sup>2</sup> au total) est divisée en deux parties cultivées alternativement en betterave et en blé. Les pailles et les verts de betterave sont enlevés après les récoltes.

#### IV.3.2 - Essai <sup>15</sup>N en serre

Les échantillons de sols ont été prélevés en octobre 1975, soit exactement 100 ans après le début de l'expérimentation sur le terrain ; et leurs quantités d'azote total sont significativement différentes (Test de KEULS). Le traitement "SE" contient 1084 ppm, le traitement "NPK" 1316 et les deux traitements avec matière organique n'ont pas des teneurs significativement différentes (1426 pour "F" et 1460 pour "FNPK").

Sur ces sols, nous avons effectué une culture de ray-grass (en vases de végétation) en comparant deux doses d'azote apportées sous forme de nitrate de calcium : une dose très faible (ON) de 8,9 ppm de N fortement marqué à 96,25 % de <sup>15</sup>N en excès et une dose normale (N) de 73 ppm de N avec un excès de 32,64 %. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 34.

*L'apport d'engrais se traduit par une augmentation des rendements des parties aériennes en terme de matière sèche et d'azote total, et les différences sont d'autant plus importantes que le sol était moins riche au départ (traitements "SE" et "NPK"). Le CRU augmente avec la dose d'engrais passant de 53 % (ON) à 63 % (N). Il est identique pour toutes les parcelles. Les pertes en azote <sup>15</sup> sont sensiblement égales (22 % dans les traitements (ON) et de 19 % dans les traitements (N).*

		SE		NPK		F		FNPK	
		ON	N	ON	N	ON	N	ON	N
Partie aérienne 1ère coupe	Poids sec (g)	1,17	2,66	1,50	3,02	1,68	2,81	1,66	2,98
	QN (mg)	19,4	58,4	25,0	70,5	28,8	62,1	26,7	68,8
	E %	19,03	22,41	16,55	20,60	13,92	19,31	14,36	19,35
	Q <sup>15</sup> N (mg)	3,69	13,09	4,14	14,52	4,01	11,99	3,83	13,31
Partie aérienne 2ème coupe	Poids sec (g)	0,47	1,16	0,54	1,03	0,65	1,16	0,58	1,10
	QN (mg)	5,8	11,3	7,0	11,6	8,5	13,2	8,0	12,6
	E %	10,94	16,86	9,77	15,98	7,63	14,99	8,09	15,02
	Q <sup>15</sup> N (mg)	0,63	1,91	0,68	1,85	0,65	1,98	0,65	1,89
Partie aérienne Total	Poids sec (g)	1,64	3,82	2,04	4,05	2,33	3,97	2,24	4,08
	QN (mg)	25,2	69,7	32,0	82,1	37,3	75,3	34,7	81,4
	Q <sup>15</sup> N (mg)	4,32	15,00	4,82	16,37	4,66	13,97	4,48	15,20
Racines	QN (mg)	9,8	11,7	12,9	13,5	10,2	16,5	13,7	13,6
	E %	7,39	13,14	6,37	11,81	5,97	10,7	5,29	10,40
	Q <sup>15</sup> N (mg)	0,72	1,54	0,82	1,59	0,61	1,77	0,72	1,41
Sol	QN (mg)	1066	1056	1223	1266	1443	1409	1416	1366
	E %	0,136	0,246	0,107	0,242	0,103	0,184	0,090	0,198
	Q <sup>15</sup> N (mg)	1,45	2,60	1,31	3,06	1,49	2,59	1,27	2,70
Total	QN (mg)	1101	1137	1268	1362	1491	1501	1464	1461
	Q <sup>15</sup> N (mg)	6,49	19,14	6,95	21,02	6,76	18,33	6,48	19,31

	QN ajoutée (mg)	E %	Q <sup>15</sup> N (mg)
QN	8,9	96,25	8,57
N	73,25	32,64	23,91

Tableau 34 - Bilan général azote

L'apport d'engrais a pour effet d'estomper les différences créées par les divers traitements appliqués au champ depuis cent ans : ainsi les rendements en matière sèche de tous les traitements (N) sont identiques alors que dans la parcelle sans engrais "SE" ils sont significativement inférieurs aux trois autres pour la dose (ON).

Les analyses statistiques effectuées sur divers paramètres (prélèvement d'azote total par la récolte, rendement en matière sèche, excès isotopique, quantité d'azote venant du sol) permettent d'effectuer un classement par fertilité croissante de traitements :

"SE"

"NPK"

"FNPK" et "F"

Dans tous les cas, les traitements "F" et "FNPK" ne sont pas différenciés (dose(N) surtout). Un exemple particulièrement significatif est fourni par l'analyse de la quantité d'azote issue du sol dans les parties aériennes. (Tableau 35).

	"SE"	"NPK"	"FNPK"	"F"
(ON) :	20,7	26,8	30,1	33,2
(N) :	23,7	31,0	32,1	35,1

Tableau 35 : Quantité d'azote issue du sol dans les parties aériennes en  $\text{mg.kg sol}^{-1}$  (ppm). (Les accolades signifient que les valeurs ne sont pas significativement différentes).

Pour la dose (N) seule la parcelle "SE" apporte moins d'azote mais pour la dose (ON) la parcelle "NPK" en fournit plus que la parcelle "SE" mais moins que les parcelles "FNPK", et "F". C'est d'ailleurs un résultat général, car l'apport d'engrais supplémentaire au fumier n'introduit aucun facteur de variation. Dans les résultats du tableau 35 l'apport d'azote favorise le prélèvement d'azote du sol par la culture, point très important que nous discuterons ultérieurement.

Ainsi après cent années d'expérimentation au champ, nous arrivons à observer des réponses positives à l'enfouissement de matière organique. Sur le terrain, où l'essai se poursuit toujours, les résultats sont très nets ; mais dans des conditions expérimentales habituelles, l'apport d'engrais masque complètement l'influence des traitements appliqués auparavant, même s'ils ont été suivis pendant de très longues périodes, ceci explique les résultats précédents sur les essais "36 parcelles" et "Loigny-la-Bataille".

### CONCLUSION

Après avoir étudié, par une méthode d'approche directe, l'action de la matière organique sur la fertilité des sols (minéralisation de résidus de récoltes marqués à l'azote 15), nous avons tenté une autre approche par le biais d'enfouissements répétés au champ, et une mesure indirecte de la minéralisation, mise en évidence par une culture en vases de végétation en présence d'un engrais azoté marqué.

Cette technique ne permet d'obtenir des résultats qu'après de nombreuses années, et sans les traceurs, les conclusions ne seraient bien souvent que très partielles, puisque nous avons vu dans l'essai GESA par exemple, que les rendements des récoltes, que ce soit sur le terrain ou en vases de végétation, sont semblables même après quatorze années.

Nous ne nous sommes cependant intéressés qu'à l'aspect azote de ces enfouissements répétés de matière organique. L'efficacité de l'engrais azoté est bien plus grande que celle de l'azote du sol puisque, dans le dernier essai, nous mesurons une moyenne de 30 mg d'azote venant du sol dans la récolte (tableau 35, page 119) sur les 77 du total (moyenne des 4 doses (N), tableau 34, page 118). Il est donc normal que l'apport d'engrais, source principale de l'élément étudié, ait une influence prépondérante sur les rendements, et limite pour l'azote les possibilités de cette méthode d'approche indirecte. Si nous avons basé nos essais sur des mesures P ou K où, rappelons le, les CRU sont beaucoup plus faibles que ceux de l'azote (FARDEAU et al. 1984), il est possible que les résultats aient été contrastés beaucoup plus tôt.

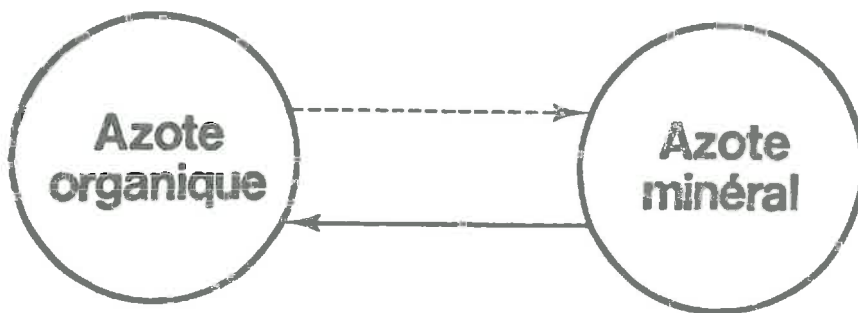
Cet accroissement d'azote total du sol est important car dans l'essai en vases de végétation, il est étroitement corrélié ( $r = 0,995$ ) à la quantité d'azote du sol exportée par la plante. Il ne faut donc pas conclure à l'inutilité des enfouissements de matière organique vis-à-vis de la productivité agricole, d'autant plus que dans tous ces essais les sols sont, à l'origine, largement pourvus en matière organique.

Dans un essai sur sol sableux du Sénégal à faible teneur en azote (0,2 ‰) un apport de compost de paille de mil pendant seulement 4 ans, augmente le taux de matière organique du sol et conduit à des rendements culturaux plus élevés, aussi bien dans les essais au champ (GANRY F. et FELLER Ch. 1977) que dans les essais en laboratoire (GUIRAUD G. et al 1980) : malgré des pertes, l'azote du compost est largement utilisé par les cultures.

Cette méthode indirecte nous renseigne donc sur l'évolution de la matière organique, et montre l'intérêt à long terme de l'enfouissement des résidus de culture bien que, pour les sols étudiés ici, la pratique annuelle de cette technique ne se traduise pas sur le terrain par des gains significatifs.

## CHAPITRE V

### ORGANISATION DE L'AZOTE MINERAL



Dans le sol, l'azote se trouve essentiellement sous forme organique ; dans les sols cultivés, l'ammonium n'est présent qu'à l'état de traces et la quantité de nitrates est toujours très faible vis-à-vis du stock d'azote total lié aux matières humiques (DEMOLON A. 1960). Un apport d'engrais minimal de  $100 \text{ kg.ha}^{-1}$  n'entre que pour une augmentation de 2 à 3 % de la quantité d'azote total de la couche superficielle de sol, et ne peut être mesuré par les techniques chimiques classiques.

Dans des essais au champ ou en laboratoire, il est certes toujours possible de suivre la variation des quantités d'azote minéral, mais il n'y a aucune chance de déterminer la partie immobilisée dans la matière organique du sol ; et quel que soit le mode de fractionnement utilisé, la différenciation entre l'azote natif et ajouté ne peut se faire qu'avec l'aide de traceur (CHENG H.H. et KURTZ L.T. 1963, HAUCK R.D. et BREMNER J.M. 1976).

L'azote minéral du sol peut non seulement être organisé dans les cellules microbiennes mais encore dans les tissus végétaux. Il faut donc étudier l'organisation, aussi bien en absence qu'en présence de plantes, car nous considérons que l'incorporation de l'azote minéral dans les racines doit être assimilée à l'organisation.

#### V.1 - INCUBATION DE SOL EN PRESENCE DE NITRATES MARQUES (SANS CULTURE)

Pour suivre l'évolution des nitrates ajoutés à un sol, douze kilos de sol "CADARACHE" séché à l'air, répartis en lots de 1 kilo, ont été placés à l'obscurité à  $25^{\circ}\text{C}$  et à une humidité constante de 20 % par rapport au poids du sol, soit sensiblement la capacité de rétention d'eau du sol. Ce sol contient 7 ppm d'azote minéral sous forme nitrique.

On effectue trois traitements : sol témoin, sol additionné de 203 ppm  $\text{N-NO}_3$  à 33,63 % de  $^{15}\text{N}$  en excès et réparti de manière homogène, sol additionné de la même quantité d'azote nitrique marqué plus 1 % en poids de paille de blé (dont le rapport C/N est peu différent de 80 et la teneur en azote total de 0,45 %).

Un kilo de sol est prélevé pour chaque traitement après 1, 3, 6 et 12 mois d'évolution. A l'issue d'un séchage à l'air de 8 jours, et après extraction de l'azote minéral, l'azote organique total est mesuré et les différents composés organiques azotes séparés suivant la technique d'hydrolyse acide à chaud (Figure 8 page 51). Les résultats sont réunis dans le tableau 36.

			1 mois	3 mois	6 mois	1 an
Témoïn	N <sub>sd</sub>	QN	386	386	384	388
		Q				
	N <sub>sand</sub>	QN	499	564	576	617
		Q				
N <sub>ia</sub>	QN	133	133	128	130	
	Q					
Σ	QN	1018	1083	1088	1135	

So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> *	N <sub>sd</sub>	QN	385	389	396	400
		E %	0,19	0,28	0,38	0,56
	N <sub>sand</sub>	QN	505	531	539	540
		E %	0,28	0,59	1,05	1,52
	N <sub>ia</sub>	QN	151	152	140	140
		E %	0,11	0,18	0,26	0,39
	Σ des différentes fractions	QN	1041	1072	1075	1080
		Q <sup>15</sup> N	2,31	4,50	7,53	10,99
		% <sup>15</sup> N départ	3,4	6,6	11,0	16,1

So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + P	N <sub>sd</sub>	QN	399	389	396	421
		E %	1,44	1,65	1,42	1,52
	N <sub>sand</sub>	QN	566	631	624	609
		E %	2,45	3,44	3,82	3,87
	N <sub>ia</sub>	QN	144	146	145	134
		E %	0,82	1,02	1,08	1,18
	Σ des différentes fractions	QN	1109	1165	1165	1164
		Q <sup>15</sup> N	20,8	19,6	31,0	31,5
		% <sup>15</sup> N départ	30,5	43,3	45,4	46,2

Tableau 36 - Quantités d'azote et d'azote 15 en ppm et excès isotopique des différentes fractions.



Les variations de l'azote total ne sont pas significatives, mais il est facile par contre de suivre l'incorporation du traceur dans les différentes fractions analysées (Figures 18 et 19).

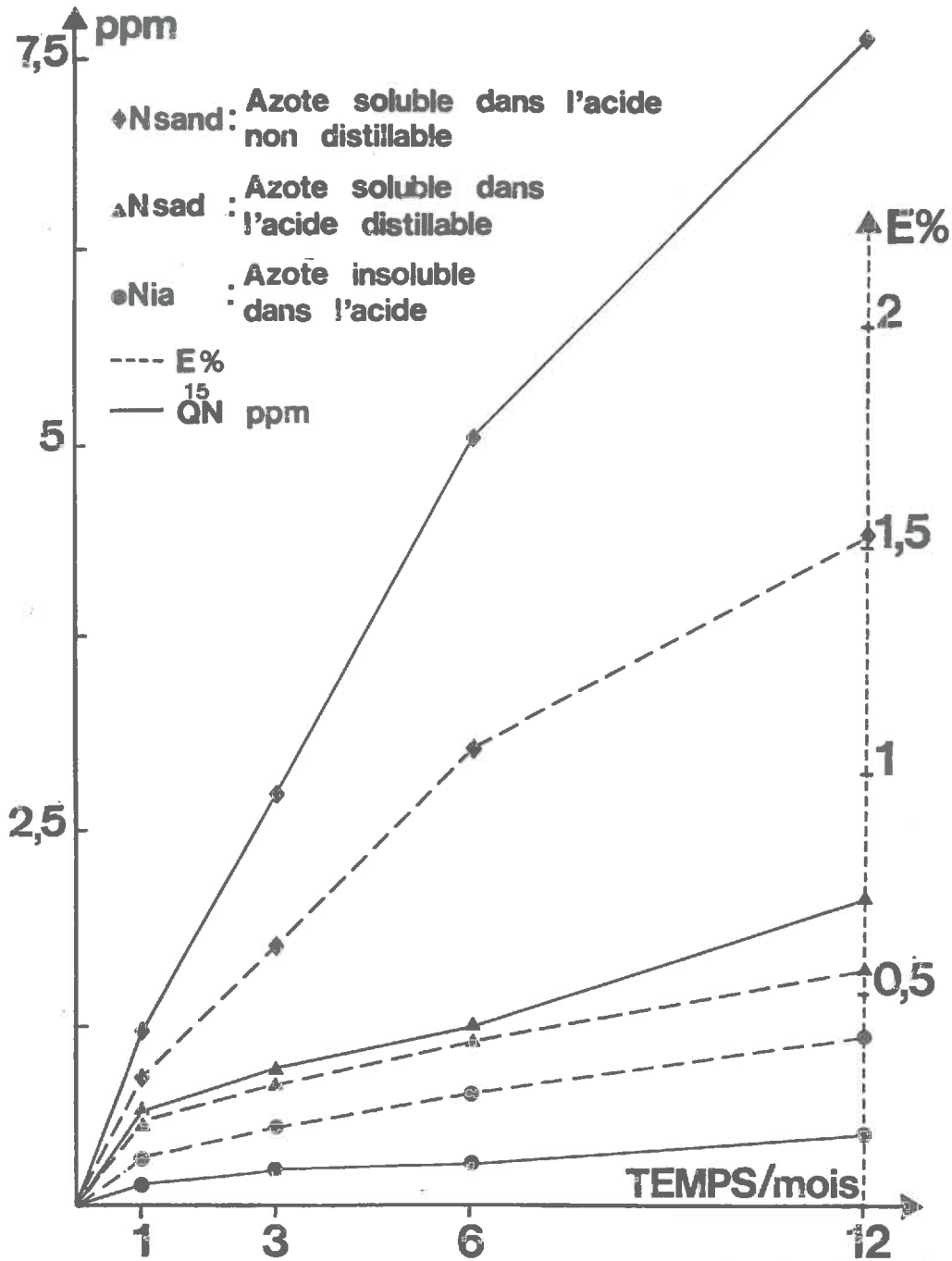


Figure 18 - Evolution des excès isotopiques et des quantités de  $^{15}\text{N}$  organisées dans les différentes fractions (sol + nitrates\*).

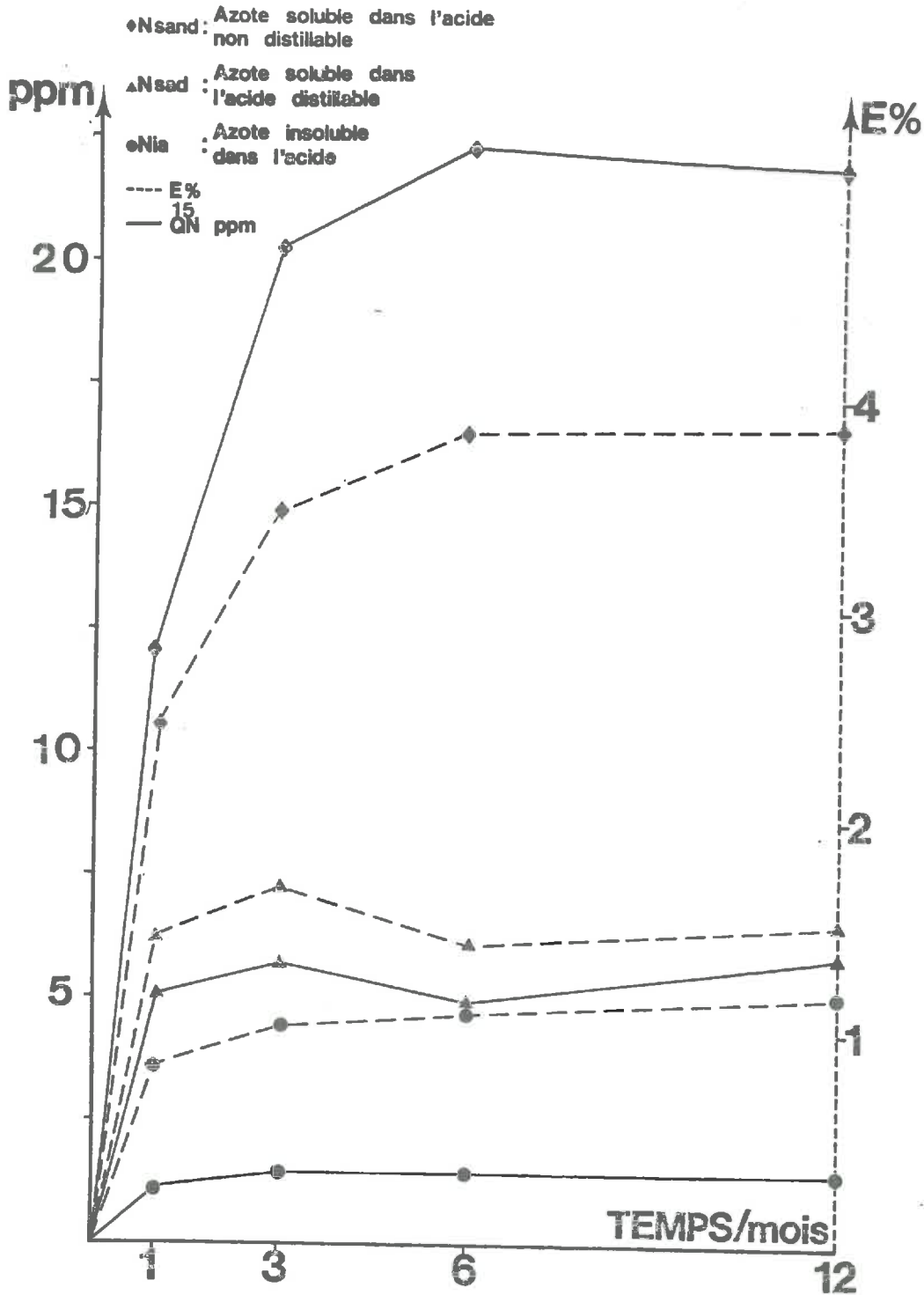


Figure 19 - Evolution des excès isotopiques et des quantités de  $^{15}\text{N}$  organisées dans les différentes fractions (sol + nitrates\* + paille).

Dans le traitement "nitrate\*", nous voyons une croissance régulière des différents excès isotopiques s'accompagnant d'une augmentation de la quantité d'azote 15 des différentes fractions (Fig. 18).

Dans le traitement "avec paille" (Fig. 19) ces valeurs sont toujours plus importantes que dans le traitement "nitrate" (d'un facteur 3 en fin d'essai) traduisant ainsi une organisation bien plus grande. Celle-ci très rapide se produit principalement durant le premier mois d'incubation la vitesse décroissant très nettement ensuite surtout dans les 6 derniers mois alors qu'il reste encore une forte quantité d'azote nitrique marqué dans le système.

*La présence de paille entraîne donc un développement brusque de la microflore, qui provoque une organisation de près de la moitié de la quantité d'azote nitrique ajoutée soit une centaine de ppm. Dans l'autre traitement "nitrate\*", la réorganisation se poursuit régulièrement mais avec une vitesse moindre, car la microflore n'a pas à sa disposition assez de carbone, et atteint seulement une trentaine de ppm après un an (Tableau 36 page 126).*

Pour le fractionnement de l'azote organique, c'est toujours, quel que soit le traitement, la fraction N<sub>sand</sub> la plus importante avec 50 % environ de l'azote total. Elle a aussi l'excès isotopique le plus élevé, traduisant par là une incorporation préférentielle des nitrates dans cette fraction qui comprend essentiellement des acides aminés. Les excès isotopiques des fractions N<sub>sad</sub> et N<sub>ia</sub> sont assez voisins. Dans tous les cas on retrouve 70 % de l'azote 15 organisé dans la fraction N<sub>sand</sub>, 20 % dans la fraction N<sub>sad</sub> et 10 % dans la fraction N<sub>ia</sub>. Ces proportions se maintiennent à peu près constantes durant toute la période d'incubation et sont conformes aux valeurs généralement trouvées dans la littérature (STEWART B.A. et al 1963 b ; ALLEN A.L. et al 1973 ; STEVENSON F.J. 1982).

Le mode de fractionnement utilisé est particulièrement drastique ; il inclut dans une même fraction de nombreux composés de natures différentes. Nous avons cependant une matière organique marquée de façon hétérogène, même après un an d'incubation en présence de paille. La poursuite de l'incubation pendant une année supplémentaire et/ou une addition de glucose, pour activer si besoin est la microflore, n'ont pas

réussi à gommer les différences d'excès isotopiques. *Il est donc très difficile de marquer de façon homogène la matière organique du sol, nous devons nous montrer très prudents* lors de l'interprétation des résultats d'essais à partir d'échantillons de sols marqués.

Si l'azote minéral est ajouté sous forme ammoniacale, les résultats sont différents du fait de la préférence des microorganismes hétérotrophes pour cette source d'azote comparée aux nitrates (JANSSON S.L. et PERSSON J. 1982, JONES J.M. et RICHARDS B.N. 1983); il y aura aussi une compétition avec les nitrifiants autotrophes (FAURIE G. 1980). Ces derniers prédominent dans nos essais si nous n'apportons pas de carbone exogène, mais l'organisation est tout de même bien plus importante et surtout plus rapide que lors d'un apport d'azote nitrique. Ces résultats sont en accord avec ceux de GOUBIER V. (1983). Si nous ajoutons de la paille, la nitrification nette est nulle et après seulement 2 semaines d'incubation la quasi totalité de l'azote ammoniacal ajouté (50 ppm) se retrouve sous forme organique.

## V.2 - ORGANISATION AVEC UNE CULTURE

Durant la culture, il s'établit toujours une *compétition entre les microorganismes et les plantes* pour l'organisation et la consommation de l'azote minéral. Après la récolte, les racines restent le plus souvent dans le sol s'il s'agit de céréales tout au moins. La détermination de la masse racinaire d'une culture au champ est une opération délicate, sujette à bien des erreurs et, même au laboratoire, celle-ci est longue et fastidieuse sans que l'on soit assuré d'une extraction quantitative.

Dans tous nos essais en vases de végétation, les racines sont séparées du sol, afin de préciser le bilan de l'azote quinze et, pour un cas particulier, nous analysons plus finement le système racinaire d'une culture de maïs. Cette culture est réalisée en conditions contrôlées avec un double marquage  $^{14}\text{C}$  et  $^{15}\text{N}$  (HELLER J.M. et al 1980). Nous utilisons le sol Cadarache (Ca) et un autre sol (AC) d'une haute terrasse de Moselle (région d'Archette, Vosges). C'est un sol brun acide sablo-limono-argileux (F.A.O. : Orthic Acrisol) plus riche en matière organique que le précédent.

## V.2.1 - Réalisation de la culture

### V.2.1.1 - Dispositif

Il s'agit d'une chambre de culture étanche de 2 m de haut et de 3 m<sup>3</sup>, sous la partie inférieure de laquelle sont disposées quatre colonnes de sol en PVC opaque de 15 cm de diamètre et de 140 cm de haut. Dans la chambre, dont le fonctionnement a été décrit par ANDRE M. et al (19/8), nous imposons les conditions climatiques suivantes : quatorze heures de jour à 25°C, dix heures de nuit à 19°C. L'hygrométrie est réglée à 85 % et 95 %. La teneur en CO<sub>2</sub> est maintenue à la teneur naturelle de 330 Vpm.

### V.2.1.2 - Préparation des colonnes de sol

Environ 70 kg de sol sèche à l'air et tamisé à 2 mm sont mélangés avec du sulfate de potassium et du phosphate monocalcique à raison de 150 mg de P et K par kg de sol. Ainsi fertilisé, chaque sol sert à remplir deux colonnes de telle manière que la densité du sol "Ac" soit 1,35 et celle du sol "Ca" de 1,45. Les colonnes sont alors reliées à la cellule.

### V.2.1.3 - Conduite de la culture

On introduit dans chaque colonne une graine de maïs prégermée de huit jours.

#### *Photosynthèse sous <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>*

La respiration du sol acide n'étant pas négligeable, il faut mettre les colonnes de sol en dépression par rapport à la cellule (- 5 mm d'eau). Malgré cela, une fraction du CO<sub>2</sub> originaire du sol contribue à diminuer d'environ 6 % la radioactivité spécifique (RAS) globale de l'atmosphère de la cellule.

### *Nutrition azotée : marquage à l'azote 15*

La quantité totale d'azote fournie, choisie en fonction du rendement prévisible du maïs d'après les campagnes précédentes, est par colonne, de 2.15 g de N entièrement sous forme nitrique et marqué à 33,54 % de  $^{15}\text{N}$ . Afin de promouvoir le meilleur CRU possible les ajouts sont répartis en 17 apports liés à l'irrigation compensatrice de l'évapotranspiration.

#### V.2.2 - Conditionnement de la récolte

##### V.2.2.1 - Maïs

Au 92ème jour de la culture, les pieds sont sectionnés en trois parties (haut, milieu, bas) en séparant les principaux organes. L'ensemble est congelé immédiatement puis lyophilisé, sauf les épis qui ont été séchés à l'air.

##### V.2.2.2 - Soi

Une colonne de chaque soi est découpée en six niveaux (0-10 cm ; 10-20 cm ; puis par intervalles de 30 cm jusqu'à 140 cm). De la totalité des deux premiers niveaux, on isole les racines au cours d'un tamisage à 100 microns sous eau (BRUCKERT S. et al, 1978) destiné à séparer le soi en deux fractions : l'une dite grossière ( $S_g > 100 \mu$ ) et l'autre fine ( $S_f < 100 \mu$ ). Le 1/5 des quatre niveaux suivants a été utilisé pour séparer par la même technique les racines lyophilisées pour obtenir un profil racinaire pondéral.

Nous allons considérer d'abord l'aspect matière organique dans les racines et le soi ; les résultats concernant les parties aériennes seront donnés dans le chapitre VIII (page 263).

V.2.3. - Organisation

V.2.3.1 - Organisation dans les racines

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux 37 (sol Ca) et 38 (sol Ac).

Couche	Poids (g) Sol sec	Poids (g) total racines	Densité racinaire g/kg de sol	% N	E %	QN (mg)	15 Q N (mg)	% C	C/N
0-10 fines grosses	2218	3,10	6,55	0,944	24,13	29,3	7,06	40	42
		12,82		0,360	24,38	46,2	11,25	41	114
10-20	2538	6,96	2,74	0,661	23,27	46,0	10,70	39,9	60
20-50	6842	13,02	1,90	0,731	21,46	95,2	20,42	38,3	52
50-80	7130	4,97	0,70	0,770	15,75	38,3	6,03	40,6	53
80-110	7191	3,06	0,43	0,692	24,06 <sup>a</sup>	21,2	5,10	37,4	54
110-140	7007	5,69	0,81	0,637	12,60	36,2	4,56	39,9	63
TOTAL	32900	49,62	/	/	/	312,40	65,12	/	/

*Tableau 37 - Bilan azote et carbone dans les racines (sol Cadarache).*

Couche	Poids (g) Sol sec	Poids (g) total racines	Densité racinaire g/kg de sol	% N	E %	QN mg	15 Q N mg	% C	C/N
0-10 fines grosses	2429	1,32	5,94	1,218	18,23	16,1	2,93	43,9	36
		11,78		0,380	15,45	44,8	6,92	45,7	120
10-20	2186	4,93	2,26	1,091	14,49	53,8	7,79	41,1	38
20-50	6743	10,46	1,55	1,069	9,44	111,8	10,55	38,0	36
50-80	6629	10,83	1,63	1,309	14,25	141,8	20,21	40,0	31
80-110	6583	8,11	1,23	1,044	7,90	84,7	6,69	38,8	37
110-140	6419	12,02	1,87	1,004	7,65	120,7	9,23	40	40
TOTAL	30989	59,45				573,70	64,32		

*Tableau 38 - Bilan azote et carbone dans les racines (sol Archette).*

Pour la couche de sol "0-10 cm" nous séparons les racines en deux fractions  $> 100 \mu$  (grosses) et  $< 100 \mu$  (fines).

Dans le sol "Ca" (Tableau 37) les racines sont concentrées dans la couche superficielle, près de 50 % dans la couche 0-20 cm et plus de 70 % dans la couche 0-50 cm. Il y a de grandes différences dans les teneurs en azote qui varient de 0,94 % (fraction fine), à 0,36 % (fraction grosse) avec une teneur moyenne de l'ordre de 0,7 %. Les excès isotopiques, également, ne sont pas constants. Par contre la teneur en carbone ne varie pratiquement pas, nous avons ainsi des rapports C/N très fluctuants avec cependant une valeur moyenne à peu près stable pour les horizons inférieurs de l'ordre de 60.

Pour le sol "Ac" (Tableau 38), la répartition des racines dans le profil du sol est différente et plus régulière : 30 % dans la couche "0-20 cm" et 48 % dans la couche "0-50 cm". Nous observons les mêmes fluctuations que, pour le sol "Ca", de la teneur moyenne en azote total mais les valeurs sont généralement plus élevées. Ceci se traduit par une organisation dans les racines d'une quantité d'azote deux fois plus grande. Les excès isotopiques, très différents d'une couche de sol à l'autre, sont plus faibles ce qui est une conséquence logique de la plus grande quantité en matière organique du sol "Ac". La teneur en carbone, peu dépendante du sol, est par contre identique et les rapports C/N sont donc beaucoup plus faibles de l'ordre de 40 au lieu de 60 pour le sol "Ca".

#### V.2.3.2 - Organisation dans le sol

Après une élimination aussi complète que possible des racines, nous analysons le sol où nous ne retrouvons que des traces négligeables d'azote minéral. Les résultats sont rassemblés dans les tableaux 39 et 40.



Couches	Poids Sol sec (en g)	N ‰	E %	QN (en mg)	15 Q N (en mg)
0-10 cm (< 100 μ)	1381	0,649	0,972	896	8,71
0-10 cm (> 100 μ)	837	0,219	1,308	183	2,39
10-20 cm (< 100 μ)	1403	0,681	0,464	955	4,43
10-20 cm (> 100 μ)	1135	0,173	0,501	196	0,98
Σ 0-20 cm	4756	-	-	2230	16,51
20-50 cm	6842	0,462	0,207	3161	6,54
50-80 cm	7130	0,593	0,058	4228	2,45
80-110 cm	7191	0,569	0,043	4092	1,76
110-140 cm	7007	0,621	0,033	4351	1,44
TOTAL	32900			18060	28,70

Tableau 39 - Bilan azote dans le sol Cadarache.

Couches	Poids Sol sec (en g)	N ‰	E %	QN (en mg)	15 Q N (en mg)
0-10 cm (< 100 μ)	1463	1,997	0,235	2922	6,87
0-10 cm (> 100 μ)	966	0,355	0,598	343	2,05
10-20 cm (< 100 μ)	1260	2,51	0,154	3163	4,87
10-20 cm (> 100 μ)	926	0,364	0,221	337	0,74
Σ 0-20 cm	4615	-	-	6765	14,53
20-50 cm	6743	1,624	0,117	10951	12,81
50-80 cm	6629	1,729	0,086	11462	9,86
80-110 cm	6583	1,677	0,024	11040	2,65
110-140 cm	6419	1,542	0,040	9898	3,96
TOTAL	31000	-	-	50120	43,81

Tableau 40 - Bilan azote dans le sol Archette.

Pour le sol "Ca" (Tableau 39) la plus grande part du traceur se retrouve dans la couche 0-20 cm (près de 60 % de la quantité totale organisée).

Dans les fractions  $> 100 \mu$ , bien que les teneurs en azote soient très faibles, les excès isotopiques sont plus élevés que ceux des fractions plus fines. Ces fractions ( $> 100 \mu$ ) doivent être constituées d'une part de sables grossiers riches en éléments minéraux et pauvres en azote et d'autre part de débris racinaires provenant d'une séparation incomplète à teneur en matière organique élevée et à fort marquage isotopique.

Dans les couches profondes, les quantités de traceur retrouvées sont faibles et diminuent régulièrement avec la profondeur de sol. On peut donc en conclure que dans cet essai les pertes par lixiviation sont négligeables.

Pour le sol "Ac" (Tableau 40) l'allure générale des résultats est semblable. Mais nous mesurons une organisation plus importante principalement dans les couches 20-80 cm. Celle-ci est peut être liée à la plus grande quantité d'azote  $^{15}$  dans les racines de cette tranche de sol par rapport à la couche 80-140 cm ; où l'on observe une chute importante de l'excès isotopique (Tableau 38) traduisant aussi l'absence en profondeur des nitrates marqués ajoutés à la culture.

#### V.2.3.3 - Bilan de l'organisation

Les résultats sont regroupés dans le tableau 40 bis de manière à faire apparaître deux couches distinctes : une couche dite profonde (20-140 cm) et une autre dite superficielle (0-20 cm), qui semblent avoir un comportement très différent. *C'est dans cette dernière que se concentre principalement l'azote  $^{15}$  et dans le sol "Ca" nous y retrouvons près de la moitié du traceur organisé.*

		Sol Cadarache (Ca)			Sol Archette (Ac)		
		QN mg	Q <sup>15</sup> N mg	% <sup>15</sup> N départ	QN (mg)	Q <sup>15</sup> N (mg)	% <sup>15</sup> N départ
RACINES	Couche 0 - 20 cm	121,5	29,01	4,0	114,7	17,64	2,4
	Couche 20 - 140 cm	190,9	36,11	5,0	459	46,68	6,5
	Total	318,4	65,12	9,0	574	64,32	8,9
SOL	Couche 0 - 20 cm	2 230	16,51	2,3	6 765	14,53	2,0
	Couche 20 - 140 cm	15 832	12,19	1,7	43 351	29,28	3,9
	Total	18 062	28,70	4,0	50 116	43,81	5,9
	Total Sol + Racine	18 400	93,8	13,0	50 700	108,1	14,8

Tableau 40 bis - Bilan de l'organisation.

Compte tenu de la précision des dosages chimiques, le bilan général (sol + racines) ne fait état d'aucune variation de la quantité globale d'azote. Dans cet essai, *l'incorporation des nitrates marqués*, identique pour les deux sols (de l'ordre de 14 %) se fait *préférentiellement dans les racines* (9 % de la quantité ajoutée contre 4 à 6 % dans le sol) ; de plus nous ne sommes pas sûrs qu'une partie de l'azote identifiée comme azote du sol ne soit pas incluse dans des débris racinaires impossibles à séparer mécaniquement.

Nous abordons là une des grandes difficultés rencontrées dans l'étude de la matière organique dans les sols cultivés. En effet il est pratiquement impossible de déterminer le moment où il devient nécessaire de parler de matière organique du sol (composés chimiques plus ou moins complexes) et non plus de matière organique héritée (racines, débris végétaux, etc...).

L'organisation dans le sol est faible ; dans d'autres essais en vases de végétation, le pourcentage est généralement de l'ordre de la dizaine ; il augmente si nous ajoutons une source de carbone exogène (paille) et si l'engrais est apporté sous forme ammoniacale.

### CONCLUSION

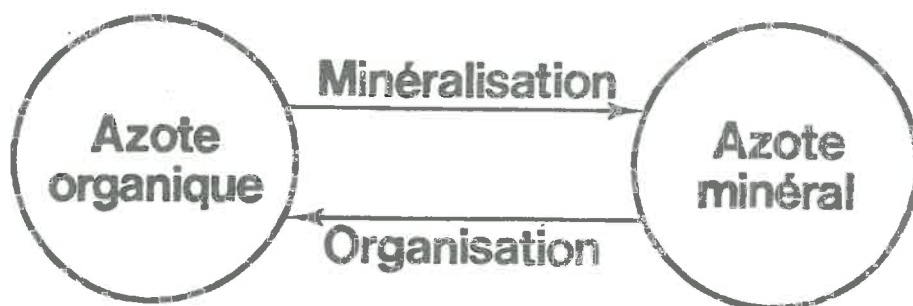
L'apport d'azote marqué sous forme minérale permet de suivre et de quantifier l'organisation du traceur introduit ; *les microorganismes aussi bien que les racines sont responsables de cette organisation.* Nous avons mesuré leur part respective dans un cas particulier, il est probable que les valeurs obtenues ne peuvent être généralisées, car elles dépendent aussi bien du sol et de la culture que de la forme de l'engrais apporté. Nous avons mesuré sans plante, une incorporation plus ou moins forte dans les différents composés organiques du sol séparés par la technique de l'hydrolyse acide.

Dans le dernier essai, avec une culture, nous n'avons pas fait de fractionnement chimique, mais il est probable que nous arriverions à des conclusions identiques ; cependant il est nécessaire de différencier l'azote organisé dans les racines de celui immobilisé dans la biomasse microbienne du sol. Si nous sommes à peu près certains de la réalité physique de la masse racinaire extraite, il est fort probable que de petites radicules soient confondues ou assimilées à de l'azote microbien. *La mise au point d'une technique de séparation élaborée est indispensable,* car les racines et microorganismes ont certainement une évolution et un comportement tout à fait différents dans le sol.

Enfin, outre cette hétérogénéité physique et chimique, nous observons *pour le traceur une répartition spatiale différente* concernant autant l'azote des racines que celui du sol. Il en résulte une suspicion encore plus grande à l'égard de l'homogénéité du marquage des composés organiques complexes, et *la nécessité d'une prudence accrue quant à l'interprétation des résultats expérimentaux,* principalement lorsque le matériel de départ est un sol marqué.

## CHAPITRE VI

MINERALISATION ET ORGANISATION DE L'AZOTE  
CALCULS DES QUANTITES BRUTES



Dans les chapitres précédents, nous avons étudié d'une part la minéralisation de l'azote organique et d'autre part l'organisation de l'azote minéral ; pourtant ces différentes transformations se déroulent simultanément. Bien que la taille des compartiments minéral et organique soit très différente, l'azote dans le sol évolue constamment entre ces deux formes. Les mesures classiques effectuées à une date donnée permettront seulement d'apprécier l'effet net des processus ; le plus souvent, il ne s'agira d'ailleurs que de la minéralisation car les variations du compartiment organique seront trop faibles pour être appréhendées par les seules méthodes chimiques.

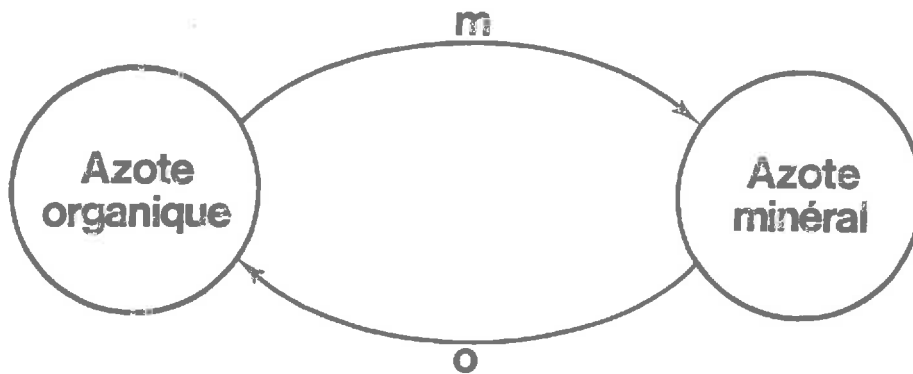


Figure 20 - Calculs des phénomènes bruts.

Ainsi en utilisant la figure 20 comme base de discussion il ne sera possible, après un certain temps, que de calculer la différence  $|m - o|$  où "m" représente la vitesse de minéralisation dans l'intervalle de temps considéré et "o" la vitesse d'organisation durant le même intervalle. Nous parlerons toujours par la suite de vitesse bien que l'application stricte de l'équation aux dimensions imposerait plutôt le terme "débit" puisqu'il s'agit en fait d'une mesure de quantité par intervalle de temps.

Si "m" est plus grand que "o" il y aura minéralisation nette, c'est-à-dire que la quantité d'azote minéral du sol va augmenter. Dans le cas contraire, il y aura organisation nette et la quantité d'azote minéral va diminuer.

L'insuffisance de la méthode apparaît alors très clairement car des pertes par dénitrification peuvent diminuer la réserve d'azote minéral ou, bien plus, si "m" et "o" sont très voisins on ne remarquera aucune activité bien que le système soit en pleine évolution. Un indice cependant peut être révélateur : la mesure du  $CO_2$  dégagé. Il en résulte que la mesure des effets nets ne renseigne que très imparfaitement et qu'il est nécessaire de connaître et "m" et "o" c'est-à-dire les processus bruts. Pour cela l'outil privilégié est l'isotope.

L'emploi d'azote 15 permet d'apprécier ces processus de minéralisation-organisation dans le cycle interne de l'azote (JANSSON S.L. 1958) ou cycle hétérotrophe (JANSSON S.L. et PERSSON J. 1982) ; ce cycle interne ne fait intervenir que la microflore tellurique hétérotrophe alors que le cycle général, lié à la végétation et aux animaux, implique un passage de l'azote hors du sol.

### VI.1 - INCUBATION DE SOL EN PRESENCE DE NITRATES MARQUES (SANS CULTURE)

Dans tout ce chapitre qui concerne l'évolution de l'azote minéral, nous ne parlerons que de l'addition de nitrates marqués. En effet, pour le sol étudié l'ammonium ajouté est très rapidement nitrifié et les calculs se conduisent par des méthodes très proches. Par ailleurs, le problème des nitrates a moins souvent été traité et demeure encore objet de discussions (JANSSON S.L. et PERSSON J. 1982).

Nous reprenons l'exemple décrit dans le chapitre précédent (page 125) où nous avons déterminé la quantité d'azote 15 organisée lors de l'incubation en présence de nitrates marqués. Nous étudions dans ce paragraphe l'évolution de l'azote minéral.

Temps en mois		0	1	3	6	12
Témoin	QN - NH <sub>4</sub> (ppm)	-	8	7	6	
	QN - NO <sub>3</sub> (ppm)	7	9	11	24	31
Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	QN - NH <sub>4</sub> (ppm)	-	9	-	2	
	E %	-	1,83	-	6,39	
	QN - NO <sub>3</sub> (ppm)	210	227	216	185	169
	E %	32,51	28,89	28,52	25,37	22,94
Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + Paille	QN - NH <sub>4</sub> (ppm)	-	22	4	5	
	E %	-	10,58	8,28	9,51	
	QN - NO <sub>3</sub> (ppm)	210	113	97	102	112
	E %	32,51	27,40	24,13	21,27	16,98

Tableau 41 - Evolution de l'azote minéral.

Les quantités d'azote ammoniacal et d'azote nitrique, extraites par KCl, sont déterminées par distillation et leur excès isotopique par spectrométrie de masse. Les résultats sont indiqués dans le tableau 41.

La minéralisation nette (figure 21) est obtenue en calculant pour chaque intervalle de temps la différence entre les teneurs finales et initiales en azote minéral. Il apparaît une *minéralisation régulière de l'azote du témoin*, alors que l'addition de nitrates stimule initialement (le premier mois) la minéralisation (effet d'activation) ; les quantités diminuent ensuite fortement. En présence de paille, il se manifeste une *forte décroissance des quantités d'azote minéral* durant les trois premiers mois, mais ensuite les quantités augmentent légèrement.

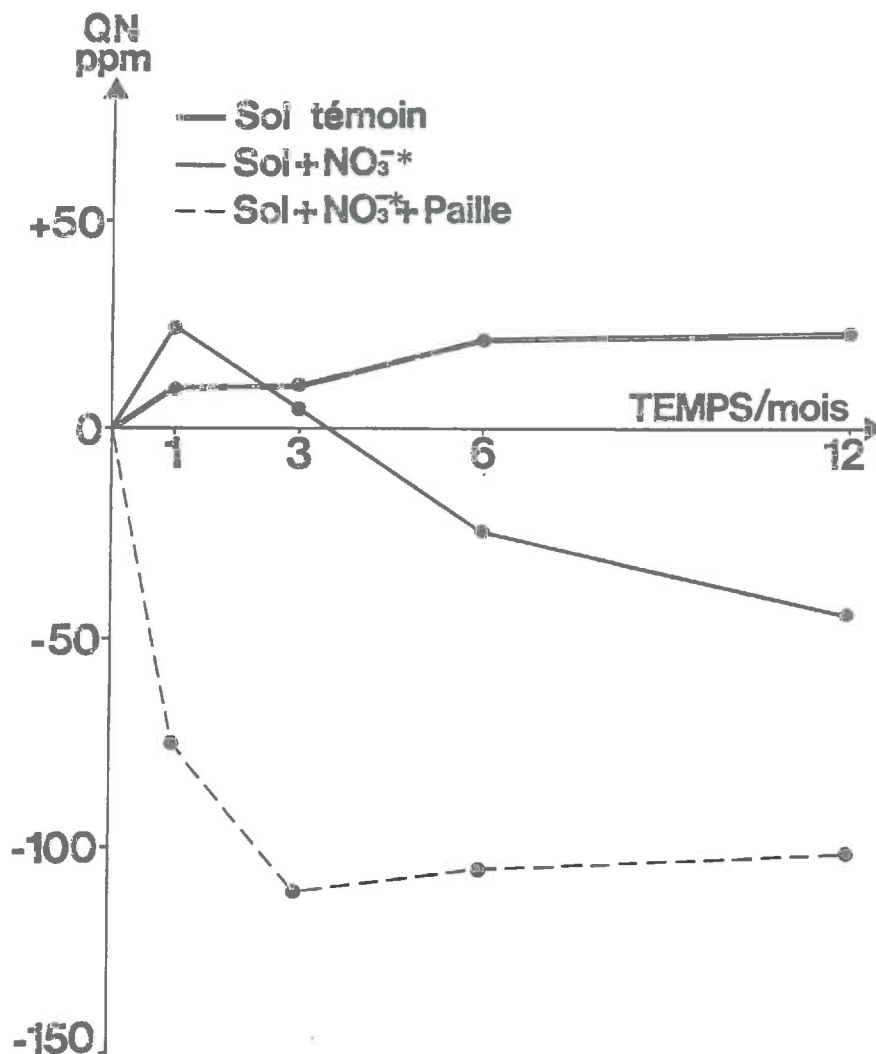


Figure 21 - Minéralisation nette en ppm.



En définitive, après un an d'incubation, la minéralisation nette est de + 24 ppm pour le témoin, de - 41 ppm pour le sol additionné de  $\text{NO}_3^-$  marqué et de - 98 ppm pour le sol ayant reçu de la paille et du nitrate marqué.

Ainsi dans le cas du traitement avec paille, on se trouve dans la situation d'organisation nette sans que l'on puisse dire avec certitude le destin des nitrates disparus, car les pertes par dénitrification ne peuvent pas être exclues puisque nous apportons du carbone organique donneur d'électrons. Malgré cette diminution de la quantité globale de nitrates, on observe également une diminution de l'excès isotopique traduisant, sans équivoque aucune, une *minéralisation* de la matière organique non marquée du sol.

Connaissant la quantité (210 ppm) et l'excès isotopique (32,51 %) de l'azote minéral en début d'essai nous pouvons essayer de quantifier la minéralisation par la formule de dilution isotopique. Après la période d'incubation la mesure de l'excès isotopique de l'azote minéral devrait permettre de chiffrer la quantité, non marquée, en provenance du sol, venue diluer l'azote de ce compartiment.

Il apparaît ainsi (figure 22) *une minéralisation brute très intense qui est grandement favorisée par l'addition de paille*, où elle atteint 200 ppm soit environ 15 % de la quantité initiale d'azote total dans le sol. Même si les valeurs relevées dans la littérature appellent quelques réserves (STEVENSON F.J. 1982), l'ordre de grandeur de la fraction minéralisable de la matière organique du sol est de 1 à 3 % (BREMNER J.M. 1965) ; la valeur 15 % paraît donc surestimée.

Pour s'appliquer en toute rigueur, la formule de dilution isotopique demande qu'un certain nombre de conditions, extrêmement précises, soient remplies (page 23) ; dans le cas présent elles ne le sont pas. En effet la variation continue du compartiment azote minéral durant toute la période d'incubation met en évidence une cinétique de dilution isotopique. Donc nous n'avons absolument pas le droit d'utiliser cette formule de dilution isotopique. Les chiffres peu vraisemblables obtenus en sont une confirmation.

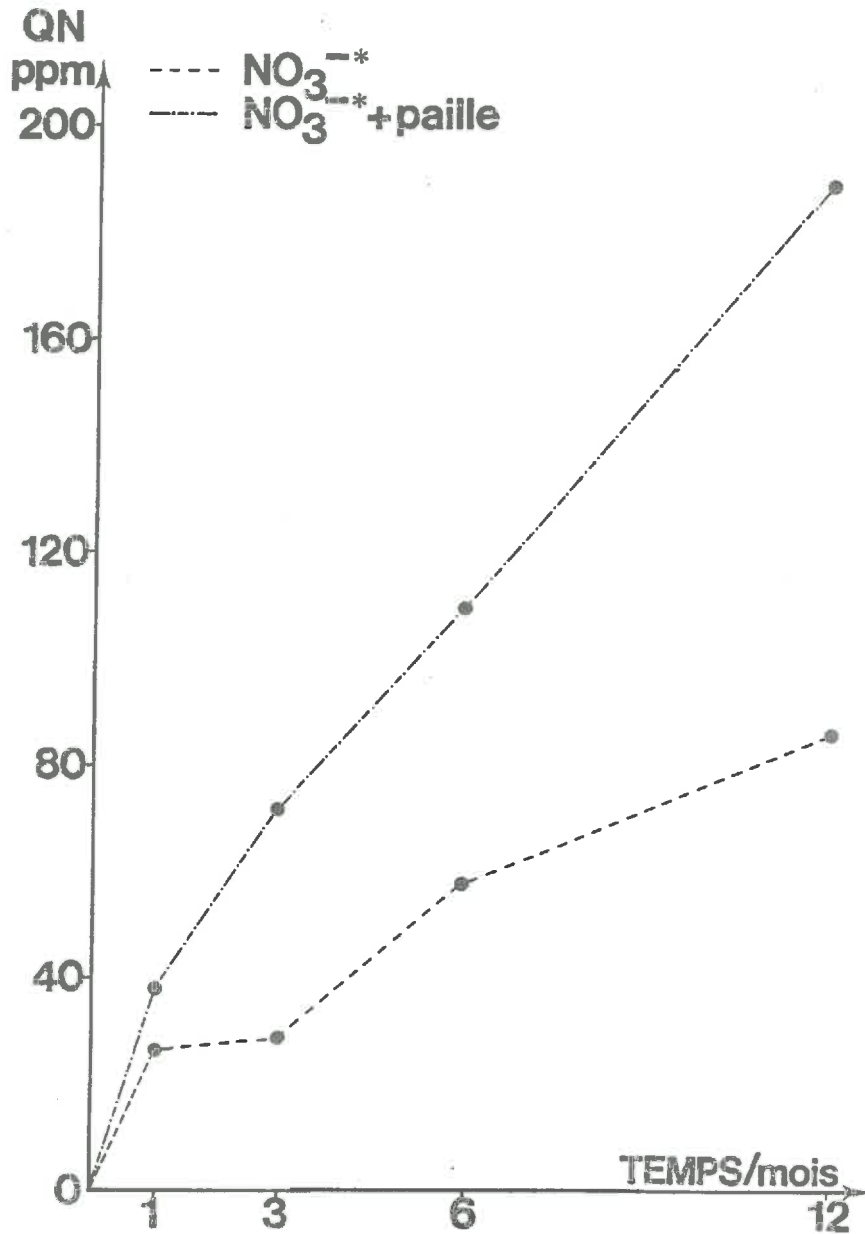


Figure 22 - Minéralisation brute calculée par la formule de dilution isotopique.

Ce résultat rappelle que les isotopes sont susceptibles d'apporter des renseignements fondamentaux et spécifiques (minéralisation en présence d'organisation nette) mais leur emploi inconsidéré et l'utilisation sans vérification des formules les plus banales peuvent conduire à de graves erreurs d'interprétation des résultats.

## VI.2 - MODES DE CALCUL DE LA MINÉRALISATION ET DE L'ORGANISATION BRUTE

### (m ET o)

Sur un plan strictement agronomique et vis-à-vis des cultures, nous pouvons penser que c'est la connaissance de la minéralisation nette qui importe puisque les plantes s'alimentent à partir de l'azote minéral effectivement présent dans le sol.

Nous avons cependant vu la concurrence qu'il y a entre la plante et les micro-organismes pour l'assimilation de l'azote minéral, il est important d'évaluer la quantité totale qui aura été, à un moment ou à un autre, mise à disposition : c'est-à-dire *quantifier les phénomènes bruts*. Peu de résultats ont été publiés sur ce sujet et la nécessité de poursuivre ces recherches a été signalée à maintes reprises (HAUCK R.D. 1973 ; SHIELDS J.A. et al 1973, HAUCK R.D. et BREMNER J.M. 1976). Les différentes approches possibles font appel à des modèles mathématiques plus ou moins complexes (CAMPBELL C.A. et al 1976) nécessitant soit des expérimentations de longue durée aux champs (BARTHOLOMEW W.V. et KIRKHAM D. 1960 ; RUSSELL J.S. 1975), soit des essais avec apport d'isotopes (JANSSON S.L. 1963 ; Mc GILL et al 1974).

Nous avons appliqué nos résultats au modèle décrit par KIRKHAM D. et BARTHOLOMEW W.V. (1954 et 1955) qui est un des plus utilisés (JANSSON S.L. 1958 ; BROADBENT F.E. 1966, TUSNEEM M.E. et PATRICK Jr W.H. 1971 ; VAN PRAAG H.J. et BRIGODE N. 1973) et déterminé "m" et "o" par deux autres méthodes faisant intervenir la variation de la taille ou de l'excès isotopique du compartiment azote minéral.

### VI.2.1 - Calcul de "m" et "o" par les équations de KIRKHAM et BARTHOLOMEW (Méthode A)

Dans le cas où minéralisation et organisation sont simultanées, KIRKHAM et BARTHOLOMEW intègrent les deux équations différentielles suivantes :

$$\frac{dx}{dt} = m - o \quad (1)$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{(b - y)}{(a - x)} m - \frac{y}{x} o \quad (2)$$

t représente le temps :

"m" et "o" les vitesses de minéralisation et d'organisation.

"a" et "x" les quantités d'azote total et d'azote minéral total du système.

"b" et "y" les quantités d'azote total marqué et d'azote minéral total marqué du système.

Ils envisagent deux hypothèses : dans la première "o" et "m" sont considérées comme constantes durant l'intervalle de temps, dans la deuxième comme proportionnelles à "x" et "y". Cette deuxième hypothèse ne se trouve vérifiée que dans de très rares cas (JANSSON S.L. 1958).

La première implique que la courbe donnant la quantité d'azote minéral en fonction du temps est une droite. Pour l'intervalle de temps total (0-1 an, figure 21), nous ne pouvons pas considérer la courbe comme une droite. Par contre pour les périodes intermédiaires (0-1 mois, 1-3 mois, 3-6 mois et 6 mois - 1 an) nous pouvons assimiler, en première approximation, les portions de courbes à des droites. Dans ce cas l'intégration des équations (1) et (2) donne :

$$m = \frac{x - x_0}{t} \cdot \frac{\log_e \left[ \left( \frac{y}{b} - \frac{x}{a} \right) / \left( \frac{xy_0}{bx_0} - \frac{x}{a} \right) \right]}{\log_e \left( \frac{x_0}{x} \cdot \frac{a - x}{a - x_0} \right)} \quad (3)$$

$$o = m - \frac{x - x_0}{t} \quad (4)$$

$x_0$  et  $y_0$  étant les quantités d'azote minéral total et d'azote minéral marqué à l'origine.

Il est ainsi possible de calculer pour, l'essai décrit, les vitesses de minéralisation et d'organisation ainsi que les quantités mises en jeu (Tableau 42).

#### VI.2.2 - Calcul de m et o par cinétique de dilution isotopique (Méthode B)

Etant donné la variation dans le temps des compartiments nitrates, nous n'avons pas le droit d'appliquer la formule de dilution isotopique ; cependant si on connaît l'équation régissant cette évolution, il est possible de calculer les flux entrant et sortant par une *cinétique de dilution isotopique*.

Une des hypothèses de KIRKHAM D. et BARTHOLOMEW W.V. (1955) est que, durant la période d'incubation, "m" et "o" sont constantes durant l'intervalle de temps considéré ; nous faisons l'hypothèse simplificatrice d'une *évolution linéaire de la quantité de nitrates* ; c'est-à-dire que  $|m - o|$  est constante. Le calcul de la dilution isotopique portera donc sur la quantité moyenne d'azote minéral, soit  $\frac{x_0 + x}{2}$ , et non sur la quantité initiale seule. Le calcul de la quantité d'azote minéralisée sera donc obtenu en appliquant la formule suivante :

$$mt = \frac{x_0 + x}{2} \left( \frac{E_0}{E} - 1 \right)$$

$x_0$  et  $x$  représentent les quantités initiales et finales d'azote minéral ;  $E_0$  et  $E$  représentant les excès isotopiques initiaux et finals.

Période d'incubation (mois)		0 - 1	1 - 3	3 - 6	6 - 12	
Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	x <sub>0</sub>	210	236	216	187	
	x		236	216	187	169
	y <sub>0</sub>	203	196	183	140	
	y		196	183	140	115
	a	1275	1288	1262	1249	
	b	200	197	162	148	
	m	34	- 2,5	8	3	
	o	8	7,5	18	6	Total
	mt	34	- 5	25	17	71
	ot	8	15	54	35	112

Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> Paille	x <sub>0</sub>	210	135	101	107	
	x		135	101	107	112
	y <sub>0</sub>	203	99	71	66	
	y		99	71	66	57
	a	1244	1267	1267	1276	
	b	161	159	157	150	
	m	48	2,5	5	4	
	o	123	20	3	3	Total
	mt	48	5	15	24	92
	ot	123	39	9	19	190

Tableau 42 - MINERALISATION ET ORGANISATION NETTE CALCULEES  
D'APRES LES FORMULES DE KIRKHAM ET BARTHOLEMÉW (1955).

x : Quantité d'azote minéral total au temps t, x<sub>0</sub> au temps 0.

y : Quantité d'azote minéral marqué au temps t, y<sub>0</sub> au temps 0.

a : Quantité d'azote total.

b : Quantité d'azote marqué total.

m : Vitesse de minéralisation en ppm.mo<sup>-1</sup>

o : Vitesse d'organisation en ppm.mo<sup>-1</sup>

Les quantités sont exprimées en ppm.

La formule ne pourra s'appliquer en toute rigueur que si la variation du compartiment azote minéral est linéaire ; afin d'éviter les erreurs trop importantes il sera nécessaire d'effectuer des prélèvements les plus rapprochés possibles. Les résultats ainsi obtenus sont réunis dans le tableau 43.

	Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	x <sub>0</sub> (en ppm)	x (en ppm)	$\frac{x_0 + x}{2}$ (ppm)	E <sub>0</sub> %	E %	mt ppm	ot = mt+x <sub>0</sub> -x
Période (mois)	0 - 1	210	236	223	32,51	27,86	37	11
	1 - 3	236	216	226	27,86	28,52	- 5	15
	3 - 6	216	187	202	28,52	25,17	27	56
	6 - 12	187	169	178	25,17	22,94	17	35
						Total	76	117

	Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + Paille							
Période (mois)	0 - 1	210	135	173	32,51	24,66	55	130
	1 - 3	135	101	118	24,66	23,50	6	40
	3 - 6	101	107	104	23,50	20,72	14	8
	6 - 12	107	112	110	20,72	16,98	24	19
						Total	99	197

Tableau 43 - Calcul de la minéralisation brute (mt) par dilution isotopique en tenant compte de la variation de la quantité de nitrates.

$$mt = \frac{x_0 + x}{2} \left( \frac{E_0}{E} - 1 \right)$$

VI.2.3 - Calcul de "m" et "o" par variation de la quantité d'azote 15 (Méthode C)

Une autre façon d'aborder le problème consiste à procéder par la démarche inverse, c'est-à-dire calculer "o". Il est en effet possible de chiffrer, pour chaque intervalle, la diminution de la quantité d'azote 15 sous forme minérale et de déterminer la quantité totale correspondante qui a été organisée. L'hypothèse à faire concerne la variation de l'excès isotopique du compartiment minéral que l'on considère comme linéaire en fonction du temps entre deux périodes d'analyse (figure 23).

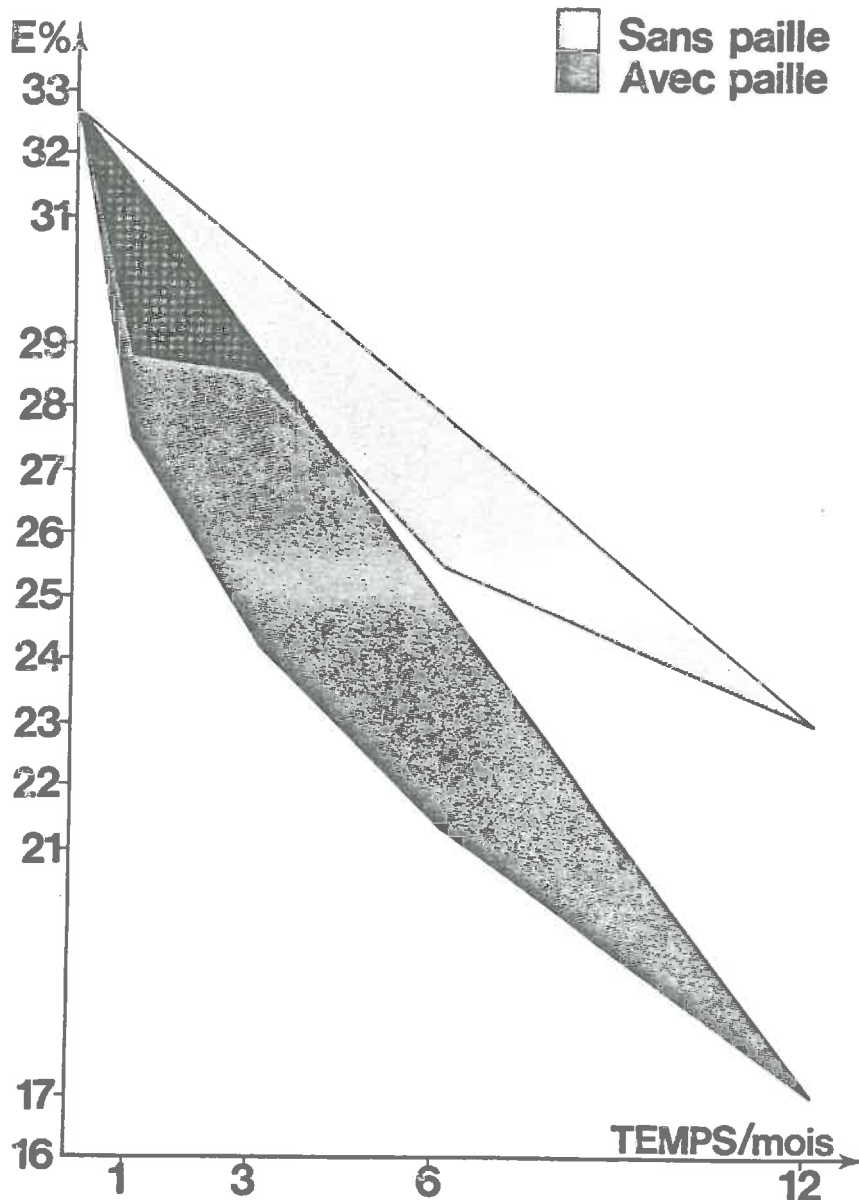


Figure 23 - Variation des excès isotopiques en fonction du temps.



Si nous considérons la période totale d'incubation cette hypothèse n'est pas valable, principalement lors de l'essai avec paille ; par contre, pour des périodes plus brèves, elle paraît plausible.

Dans les calculs "ot" ne représente réellement la quantité organisée que si les pertes peuvent être considérées comme nulles ; sans cela "ot" représente la quantité organisée + la quantité perdue, somme que nous appellerons "fuites", sous-entendu d'azote minéral.

Le calcul des fuites "ot" s'effectue de la façon suivante : nous mesurons la diminution de la quantité d'azote  $15$  dans le compartiment azote minéral pour la période considérée et nous prenons la moyenne des deux excès isotopiques initiaux et finals. La formule sera donc celle-ci :

$$\text{"ot"} = \frac{x_0 E_0 - x E}{\frac{E_0 + E}{2}}$$

$x_0$  et  $x$  représentent les quantités initiales et finales d'azote minéral.

$E_0$  et  $E$  représentent les excès isotopiques initiaux et finals.

De cette valeur "ot" nous déduisons la quantité d'azote minéralisée en appliquant la formule (4) (page 148).

Les résultats sont donnés dans le tableau 44.

Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	Temps (mois)				
	0	1	3	6	12
QN <sub>min</sub> ppm(x)	210	236	216	187	169
E %	32,51	27,86	28,52	25,16	22,94
Q <sup>15</sup> N ppm	68,27	65,75	61,60	47,05	38,77
ΔQ <sup>15</sup> N ppm	2,52	4,15	14,55		8,28
E % moyen	30,19	28,19	26,84		24,05
Fuites ppm (ot)	8	15	54		34
Min nette (x - x <sub>0</sub> )	26	- 20	- 29		- 18
mt ppm (ot+x-x <sub>0</sub> )	34	- 5	25		16
					Total 111
					Total 70

Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + Paille	Temps (mois)				
	0	1	3	6	12
QN <sub>min</sub> ppm(x)	210	135	101	107	112
E %	32,51	24,66	23,51	20,72	16,98
Q <sup>15</sup> N ppm	68,27	33,29	23,75	22,17	19,02
ΔQ <sup>15</sup> N ppm	34,98	9,56	1,58		3,15
E % moyen	28,59	24,09	22,12		18,82
Fuites ppm (ot)	122	40	7		17
Min nette (x - x <sub>0</sub> )	- 75	- 34	+ 6		+ 5
mt ppm (ot+x-x <sub>0</sub> )	47	6	13		22
					Total 186
					Total 88

Tableau 44 - Organisation et minéralisation brutes (ot et mt) calculées par la variation des quantités de <sup>15</sup>N.

VI.2.4 - Comparaison des résultats obtenus avec les trois méthodes de calcul

Nous comparons les valeurs obtenues par ces trois méthodes (Tableau 45 et figure 24).

		Intervalle de temps (en mois)									
		0 - 1		1 - 3		3 - 6		6 - 12		Total	
Traitements		So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P
Minéralisation (mt)	"A"	34	48	- 5	5	25	15	17	24	71	92
	"B"	37	55	- 5	6	27	14	17	24	76	99
	"C"	34	47	- 5	6	25	13	16	22	70	88
Organisation (ot)	"A"	8	123	15	39	54	9	35	19	112	190
	"B"	11	130	15	40	56	8	35	19	117	197
	"C"	8	122	15	40	54	7	34	17	111	186

Tableau 45 - Comparaison des mesures de "mt" et "ot" suivant les 3 méthodes.

Elles sont parfaitement concordantes, excepté peut être le calcul (B) pour la période 0-1 mois qui indique une minéralisation brute légèrement plus importante que celle calculée par les deux autres méthodes. Par la suite il n'y a plus aucune différence, comme en témoigne le parallélisme des courbes de la figure 24.

La différence la plus importante est observée pour le premier mois du traitement avec paille. L'hypothèse formulée de variation linéaire de la quantité de nitrates n'est peut être pas respectée dans ce cas précis, étant donné la grande variation du compartiment minéral, qui passe de 210 ppm à 113 ppm (tableau 41), soit une disparition de près de 50 % de son azote. Par comparaison, l'excès isotopique est passé de 32,51 % à 27,40 % soit une variation relative de 15 % seulement. L'hypothèse de linéarité de la variation de l'excès isotopique doit être mieux vérifiée.

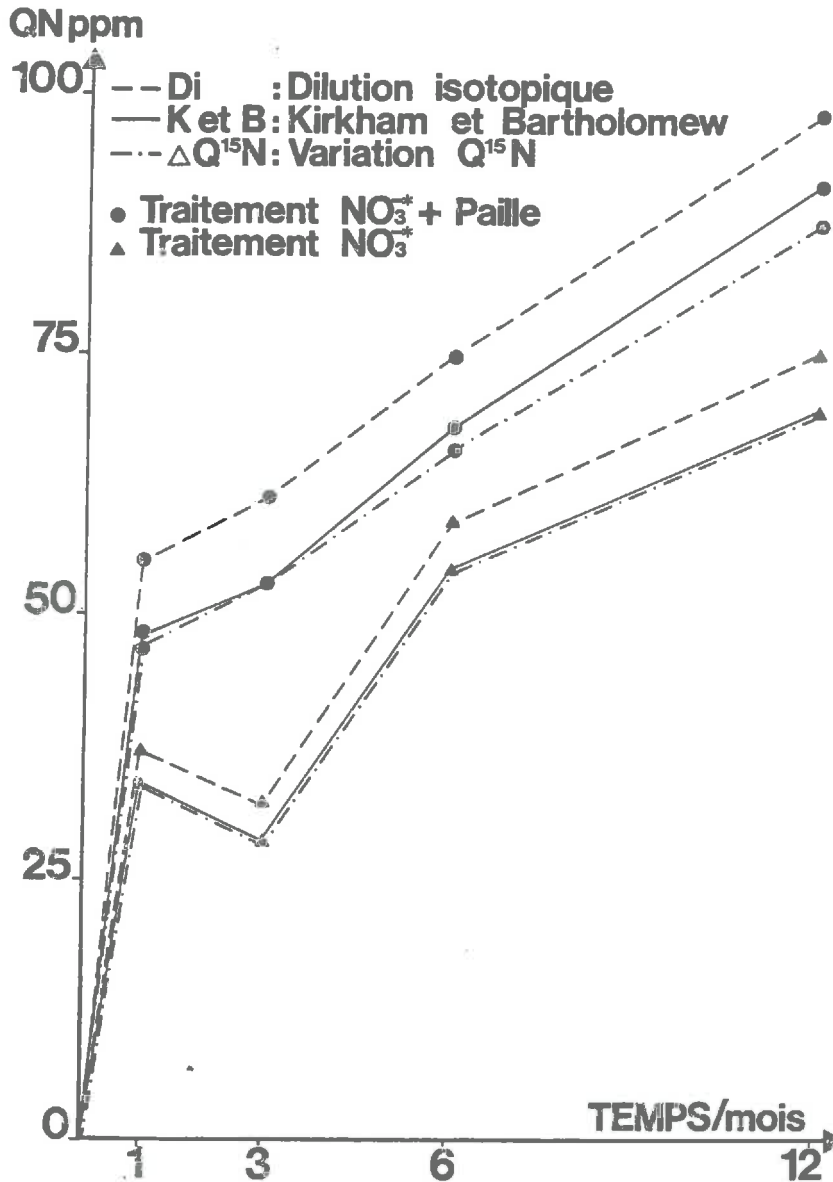


Figure 24 - Calcul de la minéralisation brute par les 3 méthodes.

La validité du mode de calcul (A) repose sur plusieurs hypothèses qui dans le cas présent ne sont pas contrôlables ("m" et "o" sont constantes dans l'intervalle de temps considéré) ou même sont erronées. En effet, si dans le système on peut considérer que la quantité d'azote total (a) est relativement constante, il n'est pas de même de la quantité d'azote marqué (b) qui, à cause des pertes par dénitrification, diminue au cours du temps. Ces valeurs n'ont cependant pas une importance cruciale pour les résultats : une grande variation entraînant seulement des

modifications mineures des valeurs calculées. Il en résulte que le terme "ot" ne représente pas uniquement une organisation mais une somme "organisation + pertes" dans l'atmosphère sans que l'on puisse à ce stade distinguer entre les deux.

Il faut également faire l'hypothèse que *l'azote nitrique organisé ne se reminéralise pas*. Ce facteur est certainement négligeable dans le traitement nitrates seuls. En présence de paille, nous avons vu (tableau 36 page 126) que durant le premier mois d'incubation 30 % de l'azote 15 venant des nitrates se retrouvent sous forme organique susceptible donc de reminéralisation.

Dans cet essai, à une exception près, les différentes suppositions émises pour justifier ces calculs sont vérifiées de façon satisfaisante et nous pouvons employer indifféremment l'une ou l'autre de ces 3 méthodes pour quantifier les phénomènes bruts.

Il peut y avoir un doute justifié sur la détermination de "m" dans le traitement nitrates marqués pour la période de 1 mois - 3 mois : rien ne peut justifier la valeur négative calculée et pourtant les trois méthodes utilisées (A), (B) et (C) conduisent strictement au même chiffre. Ce résultat entre dans la limite des erreurs expérimentales pouvant être introduites par l'hétérogénéité de la répartition de l'azote nitrique ajouté au sol. Il s'explique, mathématiquement, par une augmentation très légère mais anormale de l'excès isotopique moyen de l'azote minéral global qui passe de 27,71 % à 28,52 %. Le dosage de la très faible quantité d'azote ammoniacal peut aussi être impliqué : si on fait abstraction de  $\text{NH}_4^+$  on retrouve une valeur positive (+ 2 ppm) pour la nitrification brute car l'excès isotopique des nitrates diminue (de 28,89 % il tombe à 28,52 %, Tableau 41 page 142).

Durant le premier mois d'incubation les courbes de la figure 24 (page 155) font apparaître une minéralisation brute bien plus importante dans le traitement paille que dans le traitement nitrates. Sans l'emploi de l'azote 15, cela ne pourrait pas être mis en évidence, car dans ce traitement avec addition de paille nous observons une phase d'organisation nette particulièrement prononcée (diminution de 75 ppm de l'azote des compartiment minéral, figure 21, page 143).

Il se produit une extraminéralisation (MARY B. et REMY J.C. 1979) appelée aussi "flush of decomposition" par les anglophones (BIRCH H.F. 1958, POWLSON D.S. et JENKINSON D.S. 1976), se traduisant pour les deux traitements par une vitesse de minéralisation nettement plus élevée (Tableau 46).

Traitements	Intervalle de temps (en mois)							
	0 - 1		1 - 3		3 - 6		6 - 12	
	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	So1 + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + P
"m"	34	47	- 2,5	2	8	4	3	4
"o"	8	122	7,5	20	18	2	6	3
"m + o"	42	169	5	22	26	6	9	7

Tableau 46 - Vitesses de minéralisation et d'organisation ; activité biologique.

Cette phase d'activation microbiologique suivant une réhumectation ne doit pas être rejetée, car elle peut correspondre à un phénomène réel qui a bien souvent été mis en évidence dans les pays tropicaux : le début de la saison des pluies entraîne une production extrêmement brutale d'azote minéral atteignant jusqu'à 100 kg.ha<sup>-1</sup> (BLONDEL D. 1971). Dans nos conditions climatiques (méditerranéennes) on trouve de longues périodes de sécheresse pouvant conduire lors de la première pluie à une extraminéralisation, d'autant plus intense qu'un substrat énergétique est ajouté : la prolifération microbienne s'en trouve favorisée, comme le montre la somme "m + o" (tableau 46) représentant l'activité microbiologique du système avec la paille. Cette activité, intense le premier mois, décroît très vite pour se situer à peine au niveau du traitement nitrates marqués en fin d'incubation (Figure 25).

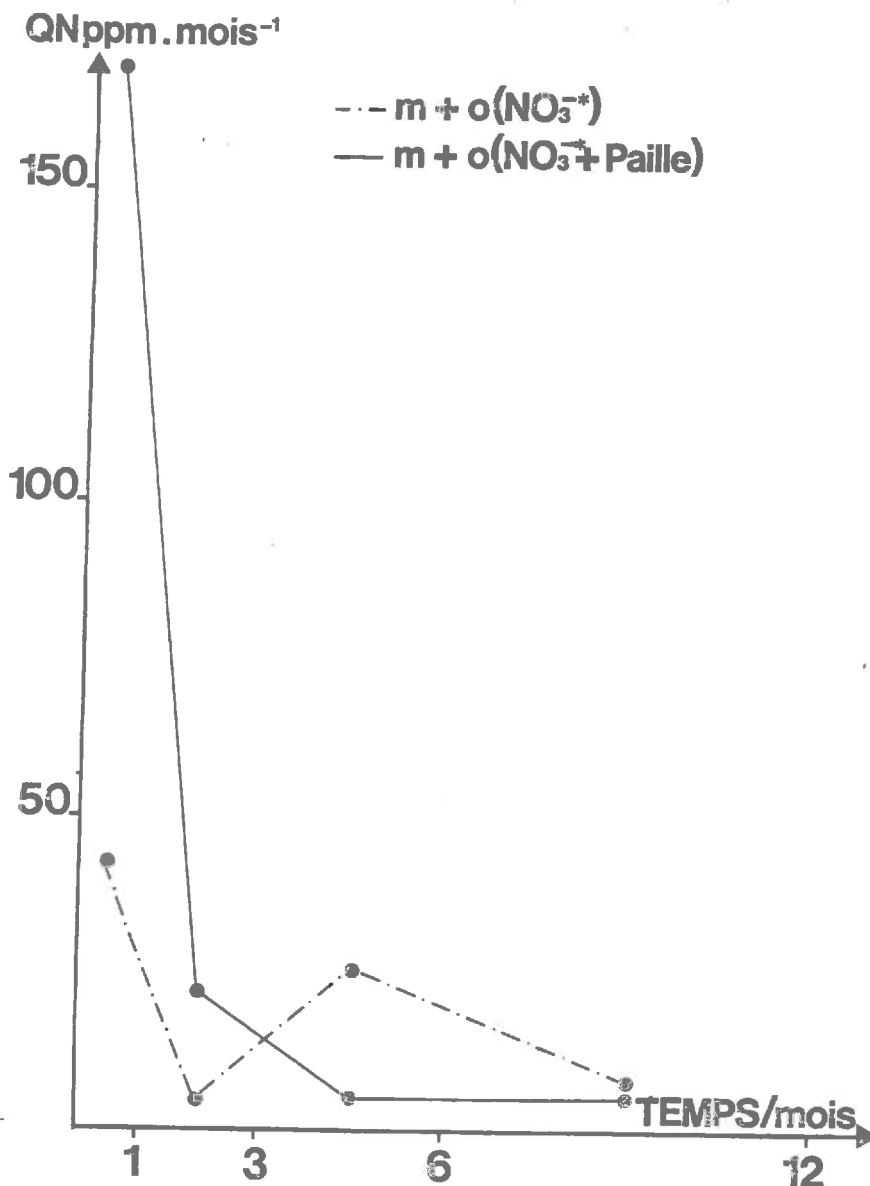


Figure 25 - Variation de l'activité biologique.

### VI.3 - APPLICATION DES DIFFERENTS MODES DE CALCUL DE LA MINERALISATION ET DE L'ORGANISATION BRUTE

#### VI.3.1 - Essais sur le sol "Cadarache"

Afin de vérifier les conditions d'application des trois formules proposées, nous avons réalisé divers essais dans des conditions variées. En premier lieu pour l'essai décrit (page 125) nous avons effectué les calculs sur l'intervalle de temps 0-12 mois et comparé les résultats avec la somme des valeurs relatives à chaque intervalle (tableau 47).

		Mesure par les équations de K et B	Mesure par dilution isotopique	Mesure par la variation de la quantité de <sup>15</sup> N
		"A"	"B"	"C"
Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	Σ des divers intervalles	71	76	70
	0 - 12 mois	66	79	65
Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + Paille	Σ des divers intervalles	92	99	88
	0 - 12 mois	106	147	101

Tableau 47 - Comparaison des valeurs de la minéralisation nette en ppm calculées sur l'intervalle global ou en faisant la somme des mesures individuelles.

Pour un intervalle de temps aussi long (1 an), les résultats sont variables et prouvent que les hypothèses ne peuvent plus strictement s'appliquer. Nous avons une confirmation des résultats précédents car la méthode (B) pour le traitement sol + NO<sub>3</sub><sup>-\*</sup> + paille apporte les plus grandes différences (48 ppm soit près de 50 % en valeur relative).

Nous avons réalisé un autre essai limité à trois mois en faisant une incubation à 25° sur de petites quantités de sol (100 g et 3 répétitions). Le sol est mis à incuber aussitôt après son prélèvement (traitement "sol humide") : ou après séchage pendant 3 semaines à la température ambiante (traitement "sol sec"). Pendant la durée de l'incubation le sol du traitement "sol humide" est maintenu à saturation en eau alors que pour le traitement "sol sec" l'humidité relative est seulement de 80 % de la capacité de rétention. Lors de prélèvements réguliers, nous analysons l'azote minéral (uniquement des nitrates) et l'azote organique (il n'a pas été trouvé de quantité significative d'azote 15 organisé). Les résultats concernant l'azote nitrique sont donnés dans le tableau 48.



		Temps	0	2 j	7 j	13 j	30 j	60 j	90 j
Sol humide	Sol témoin	QN (ppm)	7	7	6	8	7	4	3
	Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	QN (ppm)	58	58	55	52	47	25	17
		E %	26,83	26,23	25,39	23,70	18,89	6,48	1,326
		Q <sup>15</sup> N (ppm)	15,56	15,21	13,96	12,32	8,88	1,62	0,23
Sol sec	Sol témoin	QN (ppm)	10	14	14	19	31	50	55
	Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	QN (ppm)	53	58	61	66	76	90	101
		E %	25,02	22,74	21,97	20,23	16,87	14,31	13,39
		Q <sup>15</sup> N (ppm)	1326	1319	1340	1335	1282	1288	1352

Tableau 48 - Evolution de l'azote minéral pour un sol sec ou humide.

Pour le traitement "sol sec" tout le traceur se retrouve en fin d'essai sous forme nitrique ; il n'y a donc ni pertes ni organisation c'est-à-dire "ot" = 0 et la minéralisation brute est égale à la minéralisation nette. Nous avons donc un cas très simple susceptible de nous aider à vérifier l'exactitude des hypothèses formulées. Effectivement les calculs par les 3 méthodes donnent les mêmes résultats sensiblement identiques aux valeurs de la minéralisation nette (tableau 49).

Intervalle de temps (jours)		0 - 2	2 - 7	7 - 13	13 - 30	30 - 60	60 - 90	Total
SOL + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>	Calcul par les équations de K et B "A"	-	3*	4	11	41	34	93
	Calcul par dilution isotopique "B"	1	2	4	13	69	82	171
	Calcul par $\Delta^{15}Q_N$ "C"	1	2	4	11	35	28	
	Minéral. nette	0	- 3	- 3	- 5	- 22	- 8	- 41
Sol sec	"A"	5	3	5	12	14	7	46
	"B"	6	2	5	14	15	7	49
	"C"	5	2	5	13	14	6	45
	Minéralisation nette	5	3	5	10	14	11	48

Tableau 49 - Comparaison de la minéralisation brute (mt en ppm) par les 3 méthodes avec un sol sec ou humide.

\* Le calcul sur l'intervalle 0 - 2 n'est pas possible car les quantités totales d'azote minéral sont égales (58 ppm - tableau 48).

La vitesse de minéralisation à peu près constante durant le 1er mois ( $1 \text{ ppm.j}^{-1}$ ), décroît ensuite lentement ( $0,5 \text{ ppm.j}^{-1}$  le deuxième mois et  $0,25 \text{ ppm.j}^{-1}$  le troisième mois) ; il y a donc une extraminéralisation mais limitée. La minéralisation nette du témoin (45 ppm, tableau 48) est égale à celle du traitement avec nitrates et il n'y a donc pas d'effet d'activation.

Dans cet exemple nous observons uniquement *une minéralisation de la matière organique du sol* : nous sommes donc dans *des conditions idéales pour l'application de la formule de dilution isotopique classique*. Effectivement le calcul dans le traitement "sol sec" (tableau 48) :

$$mt = 53 \left( \frac{25,0}{13,4} - 1 \right) = 46 \text{ ppm}$$

nous conduit exactement à la valeur de la minéralisation brute calculée par l'une quelconque des autres méthodes (tableau 49).

Pour le traitement "sol humide", il apparaît des pertes considérables par dénitrification (puisque l'organisation est pratiquement nulle) et après 3 mois il ne reste, dans le système, que 1 % environ de la quantité d'azote 15 initiale (tableau 48). Les conditions d'application de la formule de dilution isotopique ne sont donc pas remplies et le calcul :

$$mt = 58 \left( \frac{26,8}{1,33} - 1 \right) = 1110 \text{ ppm}$$

ne signifie rien car la valeur est plus grande que celle de l'azote total du sol qui est de 900 ppm à la mise en place de l'essai.

De même, il semble qu'à priori la méthode (A) ne puisse pas être employée car la quantité d'azote marqué (b) n'est pas constante (tableau 49). Nous constatons que jusqu'à 1 mois, les calculs par l'une des trois méthodes fournissent des valeurs cohérentes (tableau 49) ; mais à partir de la période 30-60 jours, où les quantités de nitrates et d'azote 15 chutent considérablement, la méthode (B) donne des valeurs très élevées et il en est de même, mais dans une proportion moindre, pour la méthode (A).

La vitesse de minéralisation est à peu près constante durant toute la période (de l'ordre de  $1 \text{ ppm.jour}^{-1}$ ) et quoique l'on observe une disparition de l'azote minéral, la minéralisation brute est plus importante que pour le sol sec.

Sur cette période d'incubation un peu plus courte (3 mois au lieu de 12), nous calculons comme précédemment la minéralisation brute soit en faisant une mesure globale soit en cumulant les résultats de chaque prélèvement successif (tableau 50).

		Méthode	Variation	Intervalle de temps en jours					
				0 - 2	0 - 7	0 - 13	0 - 30	0 - 60	0 - 90
SOL + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> *	Sol humide	"A"	Globale	-	3	7	19	65	172
			par intervalle	-	3	7	18	59	85
		"B"	Globale	1	3	7	22	130	721
		par intervalle	1	3	7	20	89	171	
		"C"	Globale	1	3	7	18	51	68
			par intervalle	1	3	7	18	53	81
Sol sec	"A"	Globale	5	8	13	25	39	46	
		par intervalle	5	8	13	25	39	46	
	"B"	Globale	6	8	14	31	53	67	
		par intervalle	6	8	13	27	42	49	
	"C"	Globale	5	7	13	25	39	47	
		par intervalle	5	7	12	25	39	45	
	Minéralisation nette		5	8	13	23	37	48	

Tableau 50 - Comparaison des mesures en ppm faites globalement ou par intervalle de temps.

Pour le traitement "sol sec", il n'y a pas de grosse hétérogénéité même si la méthode (B) s'écarte un petit peu par rapport aux 2 autres. Pour le traitement "sol humide", il en est de même jusqu'à 1 mois mais à partir de deux mois la méthode (B) dérive et à trois mois aucune valeur ne concorde quoique les différences pour la méthode (C) soient faibles ; les valeurs (B) sont aberrantes car trop élevées et celles de (A) passent du simple au double.

Le même calcul rapporté aux périodes 0-30 et 30-90 donne pour (A) 105 ppm et pour (C) 74 ppm, valeur tout à fait comparable à celle obtenue par le cumul de chaque résultat individuel. Il n'est donc pas nécessaire, pour cette dernière méthode, d'effectuer des prélèvements aussi nombreux et rapprochés que pour les deux autres.

Ces essais sont complétés par des incubations sur des temps très courts (de l'ordre de quelques jours) avec des sols ayant une activité biologique intense (apport de paille de blé). On sature le milieu en eau et on ajoute une très grande quantité d'azote minéral (650 ppm d'azote nitrique) (tableau 51).

Temps en jours	0	1	2	3	4	10	11	14	17
QN - NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	658	508	422	396	370	186	162	130	68
E %	28,85	28,80	28,40	28,30	28,20	27,9	27,7	26,7	25,0
Q <sup>15</sup> N- NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	189,8	146,3	119,9	112,1	104,3	51,9	44,9	34,7	17,5

Tableau 51 - Evolution de l'azote nitrique en présence de paille en milieu saturé en eau.

La dénitrification est très intense : il n'y a plus d'azote nitrique après 26 jours ; l'organisation est très faible (pas d'azote 15 dans l'azote organique) ainsi que la minéralisation (baisse peu importante de l'excès isotopique).

Les trois méthodes de calcul donnent des résultats sensiblement identiques la première semaine (tableau 52), mais ensuite celle par dilution isotopique (B) évolue de façon différente, alors que (A) et (C) sont toujours parfaitement comparables, ceci malgré la disparition de plus de 90 % du traceur ajouté. Les nombreux prélèvements intermédiaires permettent d'atténuer l'impact de cette perte. En effet, la mesure globale sur la période 0-17 jours conduit à une valeur beaucoup plus forte alors que la différence pour le calcul suivant (C) est relativement minime.

Intervalle de temps (jours)	0 - 1	1 - 2	2 - 3	3 - 4	4 - 10	10 - 11	11 - 14	14 - 17	Total des intervalles	0 - 17 Global
Méthode "A"	1	7	1	2	3	1	5	3	23	44
Méthode "B"	1	8	2	1	3	3	15	20	53	43
Méthode "C"	1	6	2	2	3	1	6	3	24	35

Tableau 52 - Comparaison de la minéralisation brute déterminée selon les 3 méthodes de calcul.

Les résultats sont assez proches de ceux de l'essai précédent : *il ne semble donc pas que la grande quantité d'azote introduite induise un effet d'activation sur la minéralisation de la matière organique du sol.*

Sur ce même sol de Cadarache, plusieurs autres expériences dans des conditions différentes (humidité, quantité et qualité du substrat énergétique) entraînent des conclusions semblables.

Les cinétiques de dilution isotopique (méthode B) ne permettent généralement pas d'estimer avec précision les valeurs de la minéralisation brute. Par contre, les calculs dérivant des équations de KIRKHAM et BARTHOLOMEW (méthode A) et ceux tenant compte de la diminution de la quantité de traceur dans le compartiment minéral (méthode C) conduisent aux mêmes résultats *si les prélèvements sont rapprochés, et si les variations de la quantité totale d'azote N dans le système sont faibles.* Dans le cas le plus général il semble que ce soit *cette dernière méthode qui soit la plus fiable.*

### VI.3.2 - Essais relevés dans la littérature

Tous les résultats précédents portent sur un même sol. Malgré le peu d'exemples de la littérature où il soit possible de reconstituer les calculs, nous avons appliqué les trois méthodes aux résultats proposés par JANSSON S.L. (1958) (tableau 53) et calculé la minéralisation brute (tableau 54).

Temps en jours			0	3	6	10	17	24	38	52	66
Témoin	N minéral total	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	113	118	125	130	141	144	150	156	160
		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	36	33	35	34	33	33	34	36	34
		Total	149	151	160	164	174	177	184	192	194
	N minéral marqué	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	83,6	76,1	74,6	71,7	67,8	66,5	65,6	63,2	61,9
		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,3	0,2	0,9	0,2	0,2	0,3	0,8	0,5	0,6
		Total	83,9	76,3	75,5	71,9	68,0	66,8	66,4	63,7	62,5

sol + Paille	N minéral total	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	112	120	114	116	99	98	111	115	109
		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	35	30	30	15	2	2	3	4	4
		Total	147	150	144	131	101	100	114	119	113
	N minéral marqué	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	81,5	72,4	63,0	53,7	35,2	32,0	33,6	31,3	27,8
		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,4	0,2	0,3	0,4	-	-	-	-	-
		Total	81,9	72,6	63,3	54,1	35,2	32,0	33,6	31,3	27,8

Tableau 53 - Evolution de l'azote minéral en ppm dans un sol limoneux-argileux (d'après JANSSEN 1958, page 208).  
Addition de 100 ppm d'azote ammoniacal marqué à un sol contenant 2,46 ‰ d'azote total.

Temps en jours		0-3	3-6	6-10	10-17	17-24	24-38	38-52	52-66	Total
Sans Paille	Par JANSSEN sans correction (1)	19	10	11	21	6	9	13	8	97
	Par JANSSEN avec correction (2)	13	9	9	18	5	8	12	8	82
	(3) "A"	16	11	12	20	6	8	16	6	95
	(4) "B"	17	11	13	20	6	8	16	6	97
	(5) "C"	16	11	12	19	6	8	18	6	96
Avec Paille	Par JANSSEN sans correction (1)	22	10	24	32	10	13	22	6	139
	Par JANSSEN avec correction (2)	19	6	24	19	7	13	15	6	109
	(3) "A"	21	14	9	20	9	9	14	8	104
	(4) "B"	22	15	9	21	9	9	14	8	107
	(5) "C"	21	14	9	20	9	9	13	8	103

Tableau 54 - Calcul de la minéralisation brute (en ppm) dans l'exemple cité par JANSSEN.

- (1) Calculs selon les équations de KIRKHAM et BARTHOLOMEW (JANSSEN).
- (2) Calculs selon les équations de KIRKHAM et BARTHOLOMEW avec correction pour l'ammonium.
- (3) Calculs selon les équations de KIRKHAM et BARTHOLOMEW (Méthode "A").
- (4) Calculs par la formule de dilution isotopique (Méthode "B").
- (5) Calculs par variation de la quantité d'azote 15 (Méthode "C").

Les résultats obtenus par JANSSON sont différents, car il ne prend en compte que l'"azote actif". Il considère, que dans le cycle minéralisation-organisation, seulement une partie des composés azotés se trouve impliquée (azote actif) et qu'en particulier l'azote sous forme nitrique n'intervient pas. Pour les produits organiques, il détermine une phase active qui seule serait en relation étroite avec la fraction minérale, et qui serait bien inférieure à l'azote total. Ainsi dans cet exemple, il calcule au moyen de marquages croisés que, sur les 2460 ppm d'azote total, cette phase active représente seulement 387 ppm, valeur choisie pour le "a" de l'équation de KIRKHAM et BARTHOLOMEW (équation 3 page 147). En ce qui concerne l'azote marqué ajouté, il ne prend en compte que la fraction récupérée au temps 0 sous forme minérale (84 ppm) et adopte cette valeur pour le "b" de l'équation 3. Enfin il fait une correction pour tenir compte de l'ammonium fixé.

Toutes nos mesures sur l'organisation ont montré que par rapport au fractionnement chimique utilisé, *le traceur se trouvait incorporé très rapidement dans toutes les fractions, même celles considérées comme les plus résistantes* (fraction Nia). Il nous paraît donc contestable de ne considérer que la matière organique "active" comme seul compartiment susceptible de minéraliser, même si certains ont une évolution et des excès isotopiques différents.

Si tel était le cas, l'azote de ce compartiment devrait être très rapidement en équilibre isotopique avec l'azote minéral, mais l'hypothèse d'une reminéralisation quasi nulle de l'azote marqué organisé ne serait plus valide : la formule de KIRKHAM et BARTHOLOMEW ne s'appliquerait plus.

Si au contraire nous considérons l'azote organique total et si nous admettons que, même avec des vitesses différentes, tout cet azote est susceptible de participer à la minéralisation l'azote marqué ne représente plus qu'une part minoritaire et le calcul par la formule (A) est possible. Dans l'exemple du tableau 54, les valeurs obtenues en prenant l'azote total (2460 ppm) ou simplement la fraction active (387 ppm) ne diffèrent pas trop, mais pour d'autres expériences de JANSSON il n'en est pas de même, et nous notons des différences qui peuvent aller du simple au double.

Les résultats apportés par VAN PRAAG H.J. et BRIGODE N. (1973) (tableau 55) confirment la grande variation des taux de minéralisation selon la méthode de calcul choisie. La deuxième hypothèse de VAN PRAAG concernant le départ de 50 % de l'azote de la phase active vers la phase passive, accroît encore les différences. Il faut noter la parfaite cohérence des valeurs obtenues selon les méthodes (A) et (C).

	Substrat 26R/F2 N total = 1,85 % 80 ppm $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Substrat 1/A11 N total = 0,49 % 40 ppm $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
Calculs de VAN PRAAG Hyp. 1 : tout N* reste dans le système fermé	416	431
Calculs de VAN PRAAG Hyp. 2 : 50 % de N* passent dans la phase organique passive	591	523
"A" Calculs par les équations de KIRKHAM et BARTHOLOMEW	365	405
"B" Calculs par dilution isotopique	424	475
"C" Calculs par la variation de la quantité d'azote quinze	359	382

Tableau 55 - Calcul de la minéralisation brute en ppm d'après les résultats de VAN PRAAG et BRIGODE 1973.  
Durée de l'incubation 80 j substrat 26R/F2  
63 j substrat 1/A11

Pour JANSSON, dans les sols à fort pouvoir nitrifiant, (c'est le cas des sols de culture) les mesures quantitatives ne sont pas possibles. En effet, il y a une compétition entre la flore hétérotrophe organisante et les nitrificateurs au net désavantage de celle-la. L'azote nitrique, va s'accumuler ; il constitue donc une phase passive qui n'intervient pas dans le cycle interne de l'azote. KETCHESON J.W. et JAKOVLJEVIC M. (1968) partagent ce point de vue.



Sur un sol nitrifiant, JANSSON arrive à des résultats trop souvent surprenants car les vitesses de minéralisation et d'organisation sont négatives. Ceci est dû à des quantités d'azote minéral marquées qui augmentent au cours du temps. JANSSON l'explique par une nitrification de l'ammonium fixé. Cela nous paraît improbable dans la mesure où il a déjà été prouvé que la nitrification de cet ammonium était très difficile et dépassait rarement 15 % (NOMMIK H. 1957, BURGE W.O. et BROADBENT F.E. 1961, ALLISON F.E. 1973, GOUBIER V. 1983). C'est aussi en contradiction avec son hypothèse précédente classant l'ammonium fixé dans la phase passive.

En ce qui nous concerne, nous avons également constaté ce phénomène sur le sol de Cadarache après une addition d'azote ammoniacal, nous ne pensons pas que l'ammonium fixé en soit responsable, car juste après l'addition la quantité fixée représente seulement 5 % de celle apportée. Après 2 semaines d'incubation, l'azote ammoniacal a complètement disparu ; la nitrification est rapide et importante (60 % de l'azote ammoniacal ajouté). Après cette disparition de la fraction ammoniacale échangeable, nous observons encore une augmentation de la quantité de traceur dans la fraction azote nitrique.

Nous pensons qu'il s'agit d'une *reminéralisation d'une partie de l'azote organisé par la microflore* (35 % du traceur ajouté) et que dans nos conditions de sol et de pH, les nitrificateurs concurrencent les hétérotrophes (OVERRAIN L.N. et BROADBENT F.E. 1964).

Le fait que les micro-organismes préfèrent l'ammonium aux nitrates (JANSSON S.L. 1955) étant généralement admis (CAMPBELL C.A. 1978), nous pouvons dire aussi que *les nitrates participent au cycle interne de l'azote, non seulement dans le cas d'organisation nette* (JANSSON S.L. 1971) *mais également en situation de minéralisation nette* (tableau 36 par exemple). Ceci est confirmé par l'incorporation d'azote 15 dans la matière organique du sol.

Nous avons vérifié cette hypothèse dans les exemples rapportés par BOUDOT J.P. (1982) sur 6 sols où la minéralisation nette et la nitrification sont plus ou moins importantes. Les mesures ont été effectuées tous les 8 jours pendant 1 mois 1/2 après apport d'azote ammoniacal marqué.

	Minéralisation nette	Minéralisation Brute		
		Calculée par les équations K et B "A"	Calculée par dilution isotopique "B"	Calculée par variation de la quantité $^{15}_N$ "C"
Sol colluvial eutrophe*	2928	4281	4574	4217
Sol colluvial mesotrophe*	3225	4686	6341	4597
Sol brun ocreux à fétuque des bois*	1508	3441	4031	3501
Sol brun ocreux à canche flexueuse	1395	4234	4927	4187
Sol andique	1081	3632	3874	3582
Ranker cryptopodzolique	1338	5261	5830	5124

Tableau 56 - Minéralisation brute et nette en ppm dans 6 sols des Vosges après 1 mois 1/2 d'incubation (d'après Boudot J.M. 1982).

\* Sols nitrifiants.

Dans le tableau 56, nous rapportons le bilan correspondant à la somme des différentes mesures intermédiaires. La minéralisation nette est positive quels que soient le sol et la durée d'incubation. Les calculs de la minéralisation brute, en tenant compte des nitrates qui pour le sol colluvial eutrophe constituent en fin d'incubation 80 % de l'azote minéral total, coïncident parfaitement pour les calculs (A) et (C).

Par contre les calculs par dilution isotopique donnent des résultats fort différents.

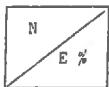
Nous en concluons encore, que dans la plupart des cas rencontrés cette méthode ne peut pas s'appliquer. Il est tout à fait logique que la méthode proposée par KIRKHAM et BARTHOLOMEW soit valable ici car la récupération de l'azote 15 en fin d'essai est totale (pas de pertes), et étant donné la grande quantité d'azote organique, la reminéralisation de l'azote marqué organisé doit être négligeable. Comme l'avait soupçonné BOUDOT, il est à noter des *minéralisations brutes intenses même si les minéralisations nettes apparaissent plus faibles* (dans le ranker par exemple).

### VI.3.3 - Essais au champ

Tous les essais précédents ont été conduits au laboratoire et il est utile, voire même indispensable, de réaliser certaines expérimentations en plein champ malgré les difficultés que leur mise en oeuvre et leur interprétation peuvent entraîner. En effet, des variations très importantes de la teneur en azote minéral sont observées en des points très voisins de la surface du sol ce qui impose d'effectuer un grand nombre de prélèvements (SOUBIES L. et al 1952, KOLENBRANDER G.L. 1968, LINDEMANN Y. 1977). A cette hétérogénéité spatiale il faut bien sûr ajouter toutes les autres variations dans le temps d'origines diverses : drainage, volatilisation, organisation etc...

Une expérimentation a été mise en place sur un sol limoneux à Charny (Seine et Marne) avec deux parcelles, l'une en sol nu et l'autre cultivée en betterave sucrière. L'engrais marqué est apporté sous forme de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  à la dose de  $173 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  avec un excès isotopique de 1,82 %. Des prélèvements réguliers de sol ont été effectués sur lesquels l'azote minéral (uniquement sous forme nitrique) a été dosé (tableau 57).

Dates traitements		27 avril	17 mai	31 mai	28 juin	15 juillet	31 juillet	27 août	13 septembre	25 octobre	
0 - 30 cm nu	Apport d'azote nitrique 173 kg.ha <sup>-1</sup> à 1,816 % de <sup>15</sup> N Ntotal : 0,83 ‰	75,46 1,636	26,55 1,235	29,22 1,085	30,67 1,117	53,18 1,250	33,17 1,15	12,82 0,995	12,13 0,823	12,09 0,822	
30 - 60 cm nu		5,38 0,356	9,70 0,840	9,99 0,816	12,50 0,606	16,02 0,436	14,50 1,01	9,68 0,717	5,48 0,246	6,02 0,397	
60 - 90 cm nu		6,61 0,360	68,33 1,313	15,67 1,082	7,73 0,539	9,96 0,643	4,78 0,356	4,25 0,210	6,15 0,183	2,25 0,138	
0 - 30 cm bett	Code des traitements A 0 - 30 cm B 30 - 60 cm C 60 - 90 cm nu sans betterave, avec N marqué bett avec betteraves, avec N marqué			33,21 1,034	17,81 0,869	8,60 0,856	5,24 0,694				
30 - 60 cm bett				11,95 1,022	8,11 0,477	5,44 0,203	2,33 0,323				
60 - 90 cm bett				18,09 0,741	6,11 0,462	5,40 0,164	2,55 0,139				
				plantules	feuilles	feuilles + racines	feuilles + racines				
				PRELEVEMENT DE VEGETAL							



N en mg par kg de terre sèche  
E % excès isotopique

Tableau 57 - Variation de l'azote minéral dans le champ de Charny (77).

Pour chaque date, nous prélevons 9 carottes de sol que l'on découpe en 3 niveaux 0-30 cm, 30-60 cm, 60-90 cm. Les carottes de terre sont analysées, soit individuellement, soit 3 par 3. Les coefficients de variation sont de l'ordre de 25 % ; cette valeur élevée est due principalement à l'hétérogénéité de la répartition des nitrates dans le sol (LINDEMANN Y. 1977). A partir du 27 août, l'azote minéral est négligeable dans les parcelles cultivées à cause du prélèvement par les végétaux.

Sur la figure 26, nous avons rassemblé les résultats des mesures sur la colonne entière de sol (0-90 cm) pour les parcelles cultivées et nues ainsi que celles faites pour le niveau (0-30 cm) pour la parcelle nue.

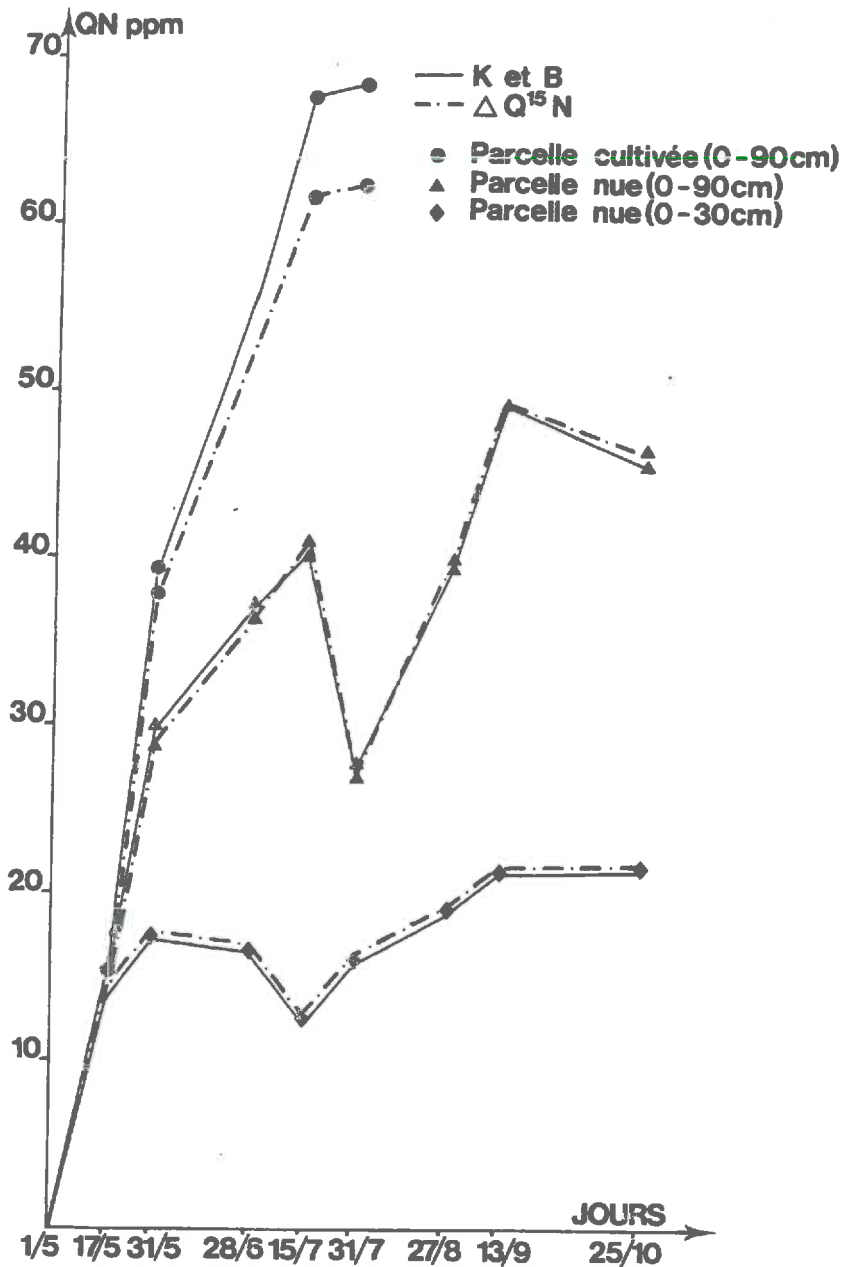


Figure 26 - Minéralisation brute dans les parcelles nues et cultivées.

Pour cette dernière parcelle, nous nous apercevons que la minéralisation brute calculée suivant les deux méthodes (A) et (C) a la même valeur, et, est du même ordre de grandeur dans la parcelle cultivée malgré le prélèvement déjà important par la culture. Il est impossible de chiffrer cette absorption mais la mesure de l'excès isotopique de la plante montre que la contribution de l'engrais dans la nutrition azotée de la plante passe de 75 % au 31 mai à 56 % le 31 juillet, soit plus de la moitié de l'azote total de la betterave.

Dans nos conditions, si en première approximation nous pouvons considérer la quantité d'azote total du système "a" comme constante, il n'en est plus de même de la quantité totale d'azote 15, "b" qui a diminué. Les équations de KIRKHAM et BARTHOLOMEW ne s'appliquent donc plus en toute rigueur.

La figure 26 fait apparaître, pour la somme des trois niveaux, une minéralisation brute négative (- 13 ppm) pour la période allant du 15 au 31 juillet. Ceci peut correspondre à l'augmentation de 23 ppm N et 0,3 ppm <sup>15</sup>N de la quantité d'azote nitrique du niveau 0-30 cm pendant la période 28/6-15/12. Cette augmentation surprenante peut être attribuée à l'hétérogénéité de la répartition de l'azote nitrique et (ou) une remontée des nitrates causée par la sécheresse (GADET R. et al 1961). On observe une baisse mais bien moindre (3 ppm) pour la dernière période.

Si nous comparons les résultats des parcelles nues et cultivées la minéralisation brute est beaucoup plus intense dans cette dernière 65 ppm contre 40 ppm au 15 juillet malgré une minéralisation nette largement inférieure (- 68 ppm au lieu de - 8 ppm pour le sol nu).

Une autre expérience conduite sur le champ d'essai de SOUGY (LOIRET) a permis également de vérifier sur une période de huit mois la bonne concordance des mesures, excepté pour un intervalle où il y a une perte importante de nitrates marqués hors du profil examiné (0-90 cm), perte due vraisemblablement à une lixiviation causée par des pluies importantes (150 mm).

#### VI.3.4 - Organisation brute

*Une fois la minéralisation brute déterminée, il est facile par simple soustraction de la minéralisation nette, de calculer l'organisation brute.*

Ceci n'est vrai que si le système est fermé, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de transferts hors du cycle interne de l'azote (figure 20). C'est une des hypothèses avancées par KIRKHAM et BARTHOLOMEW ; elle se trouve vérifiée par exemple dans les résultats présentés par BOUDOT J.P. (1982).

A notre avis, ceci ne représente qu'un cas particulier car, en général, une partie plus ou moins importante de l'azote qui sort du compartiment minéral ne va pas dans le compartiment organique ; la figure 20 peut se compléter ainsi (figure 27).

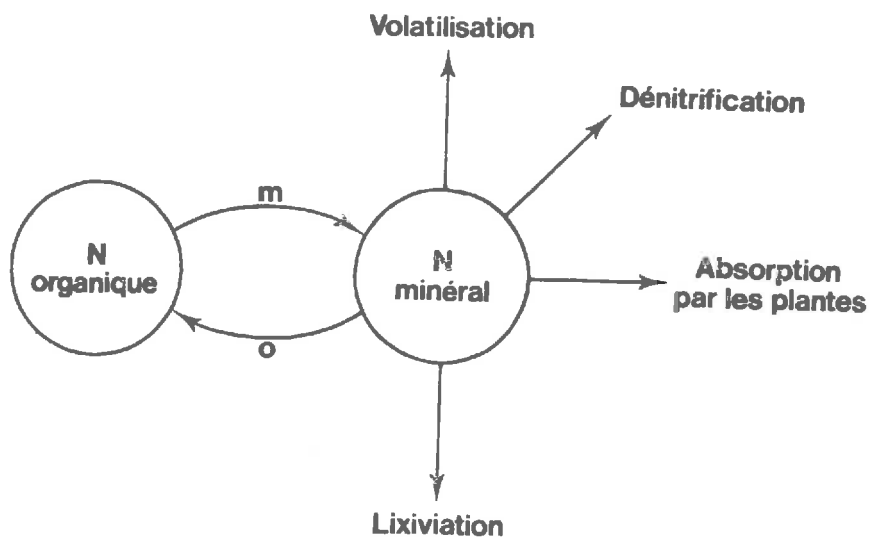


Figure 27 - Evolution de l'azote minéral.

Il en résulte que la quantité d'azote, considérée comme "organisation brute" et représentée par "ot" dans toute nos équations, est en réalité égale à la somme "organisation brute" + "pertes" et nous préférons appeler cette quantité "*fuites*" sous entendu hors du compartiment azote minéral.

Dans ces conditions, pour avoir accès à la quantité d'azote réellement organisée dans le sol, il est nécessaire de *mesurer les teneurs isotopiques du compartiment organique*. Cette mesure s'effectue facilement dans les essais en laboratoire mais elle est plus délicate dans les essais au champ à cause de la grande dilution du traceur. Avec la technique utilisée pour la mesure des variations d'abondance isotopique naturelle une détermination quantitative est cependant possible (MARIOTTI A. 1982). Il n'en demeure pas moins que pour simplifier l'interprétation des résultats il est nécessaire de rester dans un domaine de valeurs où l'intervention du fractionnement isotopique peut être considéré comme négligeable (excès isotopique  $> 10 \delta$  ; MARIOTTI A. Communication personnelle).

Lors de l'expérience décrite dans le chapitre précédent (page 125), nous avons suivi l'incorporation du traceur dans le compartiment organique et mesuré ainsi l'organisation nette. Afin de rendre compte de l'organisation brute, nous reprenons l'hypothèse que l'excès isotopique du compartiment minéral varie linéairement dans l'intervalle de temps considéré. Les résultats obtenus à partir des valeurs déjà données dans les tableaux 36 et 44 sont rassemblés dans le tableau 58.

Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup>							
Temps (mois)	0	1	3	6	12	Total	
Q <sup>15</sup> N org(ppm)	0	2,31	4,50	7,53	10,99		
ΔQ <sup>15</sup> org(ppm)		2,31	2,19	3,03	3,46		
E % minéral	32,51	27,86	28,52	25,16	22,94		
E % moyen	30,19	28,19	26,84	24,05			
Organisation (ppm)	7	8	11	14		41	
Fuites (ppm)	8	15	54	34		111	
Dénitrification (ppm)	1	7	43	20		70	

Sol + NO <sub>3</sub> <sup>-*</sup> + Paille						
Q <sup>15</sup> org(ppm)	0	20,8	29,6	31,0	31,5	
ΔQ <sup>15</sup> org(ppm)		20,8	8,6	1,4	0,5	
E % minéral	32,51	24,66	23,51	20,72	16,98	
E % moyen	28,59	24,09	22,12	18,82		
Organisation (ppm)	73	36	6	3		118
Fuites (ppm)	122	40	7	17		186
Dénitrification (ppm)	49	4	1	14		68

Tableau 58 - Organisation et dénitrification.



Nous obtenons ainsi après 1 an d'incubation, une organisation brute de 41 ppm et 118 ppm respectivement pour les traitements sans et avec paille. Ces valeurs sont nettement inférieures à celles calculées pour les fuites dans le tableau 44 (page 153) et la différence entre la valeur des fuites et celle de l'organisation brute permet d'estimer les pertes, qui ne peuvent provenir que de la dénitrification car la lixiviation est nulle et les pertes par volatilisation négligeables puisque nous ne décelons pas d'azote ammoniacal.

La mesure globale de l'organisation brute faite sur la période 0-1 an, en supposant une variation linéaire de l'excès isotopique sur toute cette période, conduit à des valeurs de 40 et de 127 ppm. Celles-ci sont assez proche de celles obtenues en faisant la somme des valeurs pour les différents intervalles surtout pour le traitement "sol sans paille", où les excès ont peu varié et où notre hypothèse de linéarité est mieux vérifiée que dans le traitement "sol avec paille" (figure 23 page 151). Dans ce dernier cas, la valeur supérieure provient de l'importance relative du dernier excès isotopique, alors qu'en fait à partir du 6ème mois l'organisation est très faible (figure 28, page 177).

Si nous faisons le calcul pour la période 0-6 mois la somme des 3 prélèvements donne 115 ppm (tableau 58) et la mesure globale 116 ppm.

La figure 28 met en évidence une activité biologique intense le 1er mois, induite par l'apport de paille, activité se traduisant par une grande organisation (75 ppm) et par une importante dénitrification (50 ppm). La vitesse de dénitrification devient quasi nulle ensuite, alors que l'organisation se poursuit encore pendant deux mois. Dans le traitement "sans paille" la vitesse de l'organisation est beaucoup plus limitée et à peu près constante durant les 12 mois de l'incubation ( $3 \text{ ppm mois}^{-1}$ ). Par contre la dénitrification démarre lentement ( $2 \text{ ppm mois}^{-1}$  durant les trois premiers mois) mais s'accélère ensuite ( $15 \text{ ppm. mois}^{-1}$  de 3 à 6 mois) pour atteindre plus tard une valeur sensiblement égale à celle du traitement avec addition de paille (70 ppm environ après 12 mois). Ces vitesses sont estimées par les pentes des différents segments de droite de la figure 28.

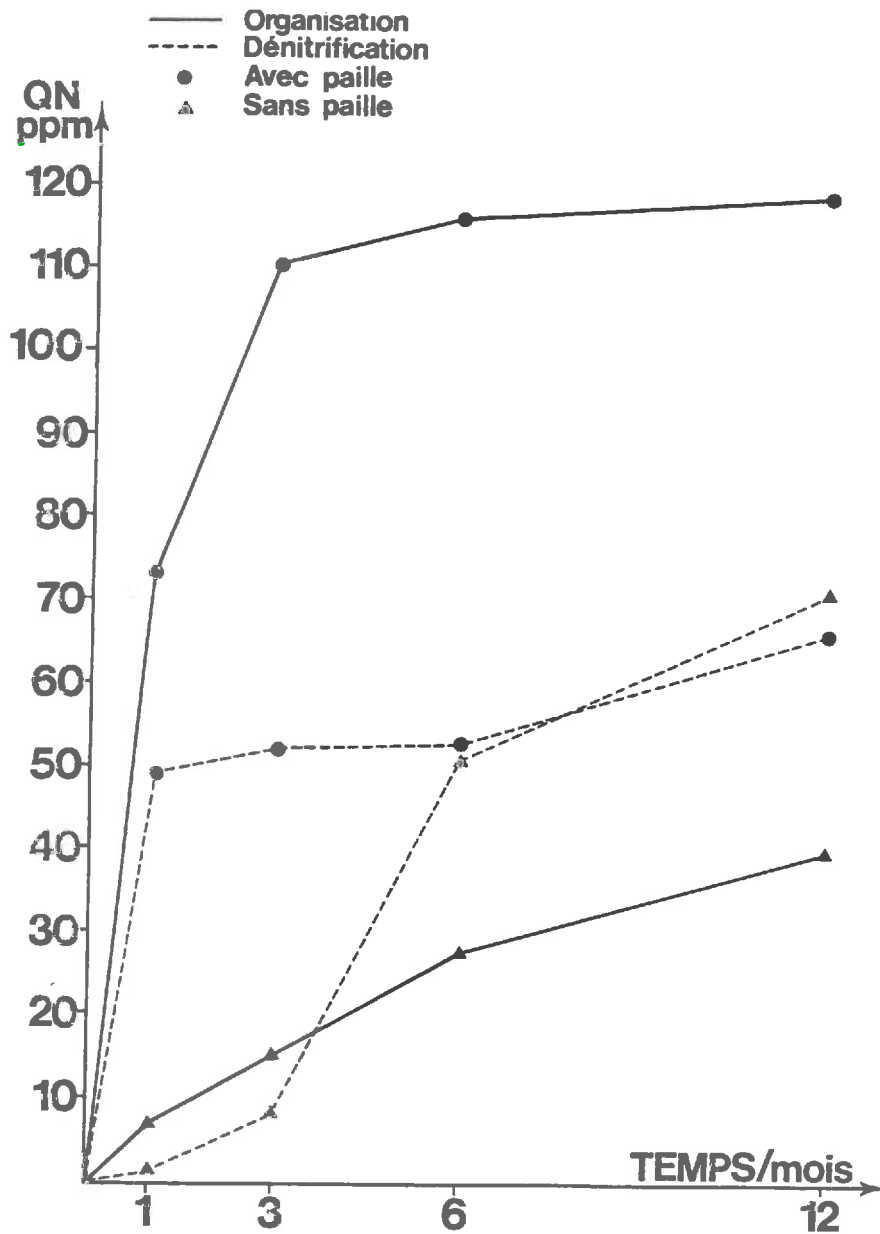


Figure 28 - Organisation et dénitrification avec ou sans paille.

Si nous n'avions pas tenu compte de la variation des excès isotopiques du compartiment azote minéral lors des calculs de l'organisation brute (tableau 58), celle-ci se serait élevée seulement à 34 ppm et 97 ppm respectivement pour les traitements sans et avec paille, valeurs sous estimant l'importance du processus.

C'est à nouveau un exemple qui met en évidence les *difficultés d'interprétation des expériences faisant appel aux isotopes*. Dans le cas présent, les différences ne sont pas considérables car nous avons ajouté une quantité relativement importante d'azote nitrique (203 ppm) et les excès isotopiques n'ont varié que dans des proportions comprises entre 1 et 2 ; *plus leur variation est importante plus les différences vont s'amplifier et plus l'analyse des phénomènes doit se faire sur des temps courts*.

Ces résultats demandent à être confirmés par des essais au champ. En effet, dans l'expérience de laboratoire, les pertes par lixiviation sont nulles et les nitrates non utilisés par la microflore s'accumulent ; dans des conditions naturelles, ils ont de grandes chances d'être entraînés en profondeur et donc de polluer la nappe phréatique. Dans le cas d'un sol biologiquement actif, ou ayant reçu un apport de substance énergétique, les deux processus *organisation* et *dénitrification*, importants en début d'enfouissement, réduisent grandement la quantité totale de nitrates présents dans le sol donc les risques de pollution.

D'un point de vue agronomique et écologique, il est évident qu'il faut favoriser le premier processus au détriment des autres.

#### CONCLUSION

La seule mesure des quantités nettes en jeu ne peut pas rendre compte de l'importance réelle des différents flux concernant le cycle interne de l'azote (MOREL R. 1971) ; cette unique mesure sous-estime l'activité biologique des sols puisque nombre de processus simultanés ont souvent des actions opposées comme, par exemple, la minéralisation et l'organisation. En l'état de nos connaissances, *l'emploi des traceurs est le seul moyen permettant de quantifier les phénomènes bruts*. Les calculs et les interprétations sont toutefois délicats ; l'utilisation d'hypothèses simplificatrices est souvent nécessaire.

Nous avons analysé *trois méthodes d'appréciation de flux bruts* :

- *La formule de dilution isotopique ne peut être employée que si les conditions théoriques relatives à son utilisation sont respectées.* Alors que la taille du compartiment de l'azote organique est constante celle du compartiment de l'azote minéral du sol est très variable et *cette formule ne peut lui être appliquée.*

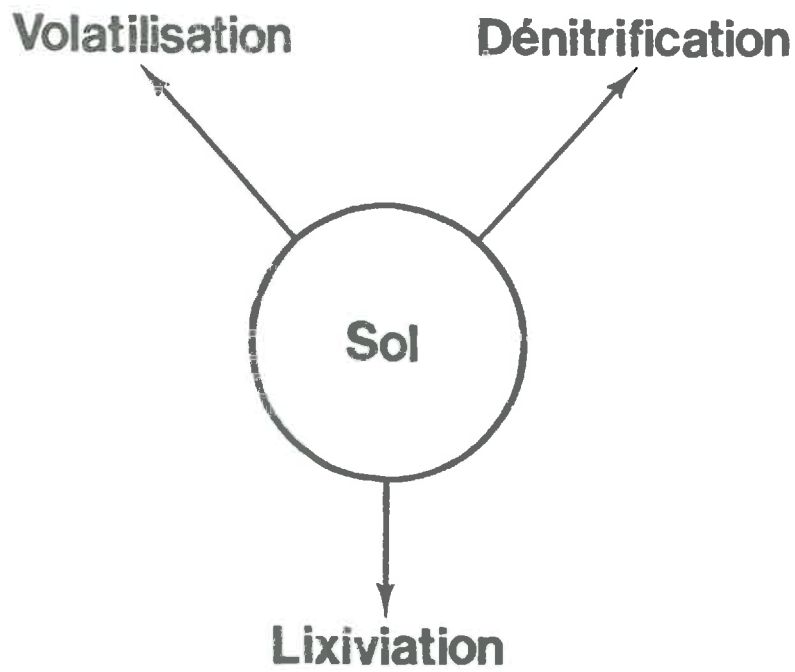
- *Les équations proposées par KIRKHAM et BARTHOLOMEW sont applicables si l'azote  $^{15}$  total du système reste constant* car on peut considérer que l'azote total (organique + minéral) l'est quelles que soient les conditions expérimentales. Il faut intégrer dans les calculs *l'azote nitrique qui, pour la majorité de nos sols, intervient activement dans le cycle interne de l'azote.* Dans la plus grande part de nos essais, il y a des pertes plus ou moins importantes d'azote  $^{15}$  qui peuvent survenir par dénitrification et lixiviation ou (et) absorption par les plantes : ces formules ne s'appliquent plus.

- Les résultats obtenus avec la méthode  $\Delta Q^{15}N$  sont très souvent en accord avec ceux calculés par les équations de KIRKHAM et BARTHOLOMEW. Ils nous paraissent cependant plus fiables puisque les hypothèses de départ sont mieux respectées et que les différences entre une mesure globale sur le temps total et effectuées sur chaque prélèvement individuel sont moindres. Nos résultats concordent aussi avec ceux de LINDEMANN Y. (1984) qui a quantifié *le processus de minéralisation à partir de modèles mathématiques et a défini une variation de type hyperbolique des quantités d'azote nitrique.* Si les prélèvements ne sont pas trop espacés dans le temps, il est possible d'assimiler la branche de l'hyperbole à une droite justifiant aussi l'identité de nos résultats provenant des mêmes valeurs expérimentales.

Nous proposons une méthode faisant intervenir seulement la *diminution des quantités d'azote  $^{15}$  dans le compartiment azote minéral du sol.* Cette approche nous paraît la plus satisfaisante car les hypothèses formulées, à savoir une variation linéaire de l'excès isotopique dans l'intervalle de temps choisie pour le calcul et une minéralisation négligeable de l'azote marqué précédemment organisé sont les plus vraisemblables ; cette dernière hypothèse est d'ailleurs commune aux 3 méthodes.

## CHAPITRE VII

TRANSFERTS D'AZOTE HORS DU SYSTEME  
SOL - PLANTE



Antoine Laurent de LAVOISIER est certes connu pour avoir baptisé azote l'élément n° 7 de la classification périodique ; il a surtout donné son nom à une loi fondamentale en chimie et relative à la conservation de la masse : *"Rien ne se perd, rien ne se crée tout se transforme"*.

Cette loi s'applique au cycle de l'azote et pourtant, le mot "pertes" est bien souvent utilisé. En fait bien qu'inapproprié, l'emploi de ce terme peut se justifier si nous considérons, comme le fait l'agronome, uniquement le système sol-plante. Nous pouvons alors qualifier de pertes ce qui ne représente en fait qu'un transfert hors de cet ensemble.

Jusqu'en 1960, pour accroître les rendements agricoles, il était plus facile et peu onéreux d'augmenter les doses d'engrais azotés plutôt que leur efficacité (BROADBENT F.E. et CLARK F. 1965). C'est en partie pourquoi nous ne relevons que dix publications avec <sup>15</sup>N traitant des pertes et seulement vingt deux les dix années suivantes (HAUCK R.D. 1971). A partir de cette date l'impact financier s'est fait de plus en plus ressentir et a motivé un certain nombre de recherches. A titre d'exemple, pour un blé la fumure azotée représente 25 % environ des charges opérationnelles.

Un moyen pour quantifier ces pertes est de calculer lors d'une culture le pourcentage d'un engrais marqué qui ne se retrouve ni dans la plante ni dans le sol. Cette technique, par différence, est assez critiquable et les résultats sont dispersés.

En vases de végétation TYLER K.B. et BROADBENT F.E. (1958) mesurent des pertes allant de 3 à 17 %, DILZ K. et WOLDENDORP J.W. (1961) de 11 à 40 %, DINCHEV A.L. (1964) de 18 à 28 %, BROADBENT F.E. et NAKASHIMA T. (1965) de 21 à 39 %.

En cases lysimétriques, sous climat tempéré, OWENS L.D. (1960) mesure un déficit en azote de 33 % alors que en milieu tropical GANRY F. et GUIRAUD G. (1979) observent des pertes pouvant atteindre 60 %.

Au champ KOWALENKO C.G. (1978) ne récupère que de 35 à 61 % de l'azote apporté alors que CARTER J.M. et al (1967) retrouvent la totalité de l'apport lors d'un premier essai mais, seulement 77 % lors d'un second. De cet aperçu bibliographique et de nos propres résultats il ressort que *les pertes sont très variables (de 0 à 60 %) avec une valeur moyenne se situant aux alentours de 25 à 30 %.*

Au vu des problèmes actuels posés par l'entraînement en profondeur des nitrates (RAMADE F. 1978, RAWTZ E. et al 1980) et par l'augmentation croissante du coût des engrais azotés (ROCHARD E. 1981) leur utilisation la plus judicieuse possible est devenue une nécessité (LEGG J.O. et MEISINGER J.J. 1982) ; aussi la connaissance précise des mécanismes régissant le transfert de l'azote hors des zones d'exploitation racinaire et leur quantification a fait l'objet de nos préoccupations. Les causes principales sont *la volatilisation d'ammoniac, la dénitrification et la lixiviation* ; dans cette étude l'organisation biologique n'est pas considérée comme une perte car l'azote ainsi organisé peut être reminéralisé.

#### VII.1 - VOLATILISATION D'AMMONIAC

En l'état actuel des connaissances, il semble que les pertes gazeuses par volatilisation d'ammoniac sont plus importantes qu'on ne les estimait il y a quelques années. Ceci est essentiellement dû à des modifications des pratiques culturales et des types d'engrais utilisés : doses plus fortes, utilisation de solutions d'ammoniac au lieu de sels d'ammonium, emploi croissant de l'urée (ALLISON F.E. 1966). L'urée entraîne des pertes d'ammoniac supérieures à celles mesurées lors d'un apport de nitrate d'ammonium (MOVSUMOV Z.R. 1969) ou de sulfate d'ammonium même si les différences ne sont pas toujours évidentes (GASSER J.K.R. 1964). Ce phénomène s'explique par une hydrolyse extrêmement rapide de l'urée en carbonate d'ammonium (BROADBENT F.E. et al 1958).

Les pertes augmentent avec la température et le pH (ERNST J.W. et MASSEY H.F. 1960), avec la sécheresse et dépendent de la capacité d'échange des sols (MARTIN J.P. et CHAPMAN M.O. 1951).

FAURIE G. (1980) estime que les facteurs influents sont, en premier lieu, le pH et la capacité d'échange ; en second lieu la nature du composé azoté et enfin la micropopulation tellurique.

Enfin des pertes peuvent provenir de réactions chimiques telles que celle entre l'urée et la matière organique (OVERREIN L.N. 1972), entre de l'acide nitreux et les acides aminés (réaction de Van Slyke)(GERRETSEN F.C. et DEHOOP H. 1957) et, plus vraisemblablement, l'ammonium (ALLISON F.E. 1963, EWING G.J. et BAVER N. 1966).

La volatilisation de  $NH_3$  se produit essentiellement durant la première semaine après l'apport d'engrais (MUSA M.M. 1968, CARRIER D. et BERNIER B. 1971) et peut atteindre jusqu'à 50 % de la quantité épandue (NOMMIK H. 1973, HARGROVE W.L. et al 1977) mais parfois suivant les conditions expérimentales n'excède pas 5 % (GASSER J.K.R. et al 1967, OVERREIN 1968). Une estimation moyenne se situe aux alentours de 20 % (MARSHALL V.G. et DEBELL D.S. 1980).

Sur le sol de Cadarache des essais en incubateur clos ne nous ont pas permis de mettre en évidence des valeurs ayant une signification agronomique. *Ce sol nitrifie très rapidement et nous ne mesurons jamais de grandes quantités d'ammonium.* Ainsi après addition de 50 ppm d'azote sous forme de sulfate d'ammonium il reste moins de 1 % du traceur dans la fraction ammonium échangeable après 2 semaines en présence de paille et seulement des traces au bout d'une semaine.

Nous avons par contre de fortes présomptions de pertes par volatilisation de  $NH_3$  dans les essais réalisés sur des sols "DIOR" en climat tropical. C'est un sol appartenant dans la classification française aux sols "ferrugineux tropicaux peu lessivés" et qui constitue la majeure partie du bassin arachidier du Sénégal. Les principales caractéristiques physico-chimiques de ce sol figurent dans le tableau 59.



pH eau	5,5	Complexe absorbant (mék/100 g de sol)	
Argile + limon (%)	4,0	Ca <sup>2+</sup>	0,56
Carbone total (‰)	2,3	Mg <sup>2+</sup>	0,17
		Na <sup>+</sup>	0,01
Azote total (‰)	0,20	K <sup>+</sup>	0,04
C/N	11,5	Somme des bases échangeables S	0,78
		Capacité totale d'échange T	1,55
		Taux de saturation S x 100 : T	50

Tableau 59 - Principales caractéristiques physico-chimiques du sol DIOR.

L'expérience a été réalisée au Sénégal en minilysimètres d'une surface de 0,12 m<sup>2</sup> d'une profondeur de 0,4 m et contenant à peu près 70 kg de sol. Les différents traitements, avec 4 répétitions concernent l'apport d'azote sous forme d'urée (0 et 150 kg.ha<sup>-1</sup>) et de fumier (nul, en surface ou enfoui). La céréale cultivée est le mil synthétique GAM en cours de sélection au Sénégal pour satisfaire aux exigences de l'intensification de l'agriculture sous des isohyètes inférieures à 500 mm. Au cours de cet essai des pertes de l'ordre de 50 % sont constatées. Elles sont du même ordre de grandeur que celles observées au cours d'un précédent essai (45 %) conduit dans des conditions expérimentales assez proches (GANRY F. et al 1978). Elles se produisent essentiellement sous forme gazeuse puisque nous retrouvons dans les eaux de percolation moins de 1 %. Bien que la dénitrification puisse contribuer au dégagement d'azote, dans ce sol où la capacité d'échange est très faible (tableau 59). C'est essentiellement la volatilisation de l'ammoniac qui est impliquée en raison d'une élévation importante de pH provoquée par l'addition d'urée (CORNFORTH I.S. et DAVIS J.B., 1968) et par une température élevée en hivernage, pouvant atteindre 45°C.

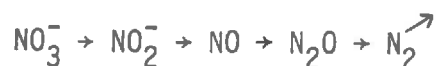
Dans un essai en vases de végétation sur ce même type de sol, les pertes, s'élèvent à 25 % seulement (GUIRAUD et al 1980 a et b) l'azote étant toujours apporté sous forme d'urée. Cette diminution peut être attribuée pour une part tout au moins aux différences de température car les essais en pots ont été conduits en serre à une température de 25°C environ.

Dans ces essais il n'a pas été possible de déterminer avec certitude la composition des pertes gazeuses. Nous pensons qu'une partie, tout au moins, doit être attribuée à la dénitrification puisque, sur ce même sol, un autre essai conduit en serre avec apport d'engrais nitrique marqué fait état de pertes de l'ordre de 15 % qui ne peuvent être dues qu'à ce processus ; même si l'engrais est apporté sous forme uréique il se produit toujours une dénitrification d'une certaine partie.

Déterminer la composition de ces pertes d'azote apparaît comme une tâche fondamentale pour accéder à un bilan azote correct. L'étude de la dénitrification et de la lixiviation par mesure directe pourra nous apporter de précieux renseignements.

## VII.2 - DENITRIFICATION

La découverte de la réduction biologique du nitrate dans le sol est ancienne (GAYON U. et DUPETIT G. 1886). *Sensu stricto*, la dénitrification est définie comme la réduction des nitrates à l'état d'azote moléculaire mais on admet actuellement une définition plus large à savoir la réduction des nitrates à l'état gazeux, à l'exclusion de la forme ammoniacale, par un mécanisme biologique ou chimique. Différents schémas ont été proposés pour expliquer les voies réactionnelles impliquées (KLUYVER A.J. et VERHDEVEN W. 1954 - CAMPBELL N.E.R. et LEE H. 1967), mais il semble bien qu'actuellement, ce soit le schéma donné par PAYNE W.J. (1973) qui soit le plus plausible.



Des études récentes avec  $^{13}\text{N}$  ont confirmé la validité de cette hypothèse (FIRESTONE M.K. et al 1979). Il est important de signaler l'utilité des isotopes radioactifs à vie brève tel que  $^{13}\text{N}$  pour de telles études du fait de la sensibilité de la méthode autorisant l'introduction de très faibles quantités de traceurs ne perturbant pas le milieu et permettant la réutilisation ultérieure du même matériel.

De très nombreux auteurs ont donné les conditions optimales pour le développement des micro-organismes dénitrificateurs (NOMMIK H. 1956, POCHON J. et DEBARJAC H. 1958, BROADBENT F.E. et CLARK F. 1965, WOLDENDORP J.W. 1963). Il en ressort que la dénitrification est favorisée par des conditions réductrices : l'anaérobiose souvent causée par une saturation en eau (WIJLER J. et DELWICHE C.C. 1954), la présence de substances donatrices d'électrons, c'est-à-dire de matière organique métabolisable par la microflore et concourant en outre à l'épuisement rapide du milieu en oxygène (WESTERMAN R.L. et TUCKER T.C. 1978) et les racines des plantes vivantes (WOLDENDORP J.M. 1963, STEFANSON R.C. 1974). D'autres facteurs, tels que le pH et la température interviennent aussi. Les facteurs à prendre en compte sont donc très variés. Etant donné l'hétérogénéité du sol il sera toujours possible de trouver des microsites favorables au développement de ces populations, même si l'environnement général semble défavorable.

En fait, les flux de  $\text{N}_2\text{O}$  et  $\text{N}_2$  sont très faibles (ROLSTON D.E. et al 1978) et les techniques de mesures, difficiles à mettre en oeuvre au champ (MULVANEY R.L. et KURTZ L.T. 1982). Il en est de même de la méthode de GARCIA J.L. (1973 et 1974) basée sur la disparition de l'oxyde nitreux. Ceci explique pourquoi l'importance de la dénitrification a longtemps été sous-estimée.

La découverte par FEDOROVA R.I. et al (1973) du blocage de la réduction biologique du  $\text{N}_2\text{O}$  en  $\text{N}_2$  par l'acétylène permet d'ouvrir de nouvelles voies de recherches (YOSHINARI T. et al 1977, GERMON J.C. 1980).