

METHODE DE DETERMINATION EN POTS DE VEGETATION, DE LA MINERALISATION DE L'AZOTE ORGANIQUE D'UN SOL PAR L'ANALYSE DE LA PLANTE EN UTILISANT LE PRINCIPE DE LA DILUTION ISOTOPIQUE*

G. SUTEU, J. RODERBOURG & C. R'KIEK

Introduction

Parmi les méthodes les plus utilisées pour la détermination du pouvoir nutritif en azote d'un sol, on compte la méthode par incubation. Elle consiste en l'extraction, au bout de 2 à 6 semaines, de l'azote minéralisé de la matière organique dans des conditions de température et d'humidité strictement standardisées. Les différences relatives ainsi enregistrées représentent un indice donnant le niveau de fertilité azotée du sol étudié. Les principales objections qui peuvent être faites à cette méthode, se ramènent au fait que les conditions auxquelles le sol est soumis sont trop différentes par rapport

* Travail communiqué à Rabat, au premier Séminaire sur les applications des techniques nucléaires (Novembre 1973).

Al-Awamia, 49, pp. 13-28, octobre, 1973.

aux conditions naturelles. Par ailleurs, il n'est pas rare que les corrélations entre ces données de laboratoire et les observations en plein champ soient trop faibles (HARMSSEN, 1955-1965).

Dans cette communication, nous présentons une méthode originale de détermination, pour un sol donné, de la quantité totale d'azote minéralisé, ainsi que la cinétique de minéralisation de l'azote organique, en utilisant dans ce but le marquage à l' N^{15} de l'azote trouvé dans la solution du sol.

Contrairement à la méthode par incubation, nous étudions la minéralisation de l'azote organique en pot de végétation, où les plantes poussent en plein air sous un régime hydrique habituel. Nous utilisons la plante elle-même comme un indicateur de la minéralisation qui a lieu dans le sol.

Principe de la méthode

On sait que l'azote organique se minéralise grâce à une suite de réactions biochimiques dues à l'activité de la flore bactérienne du sol. Cette activité est spécifique et dépend des conditions du milieu (aération, humidité, température, Ph., etc.). L'étape finale de la minéralisation est l'ion ammonium qui étant ensuite oxydé, passe sous la forme de nitrate. Les produits finaux — NH_4 et NO_3 — libérés dans la solution du sol, sont les formes chimiques de l'azote qui sont accessibles aux plantes.

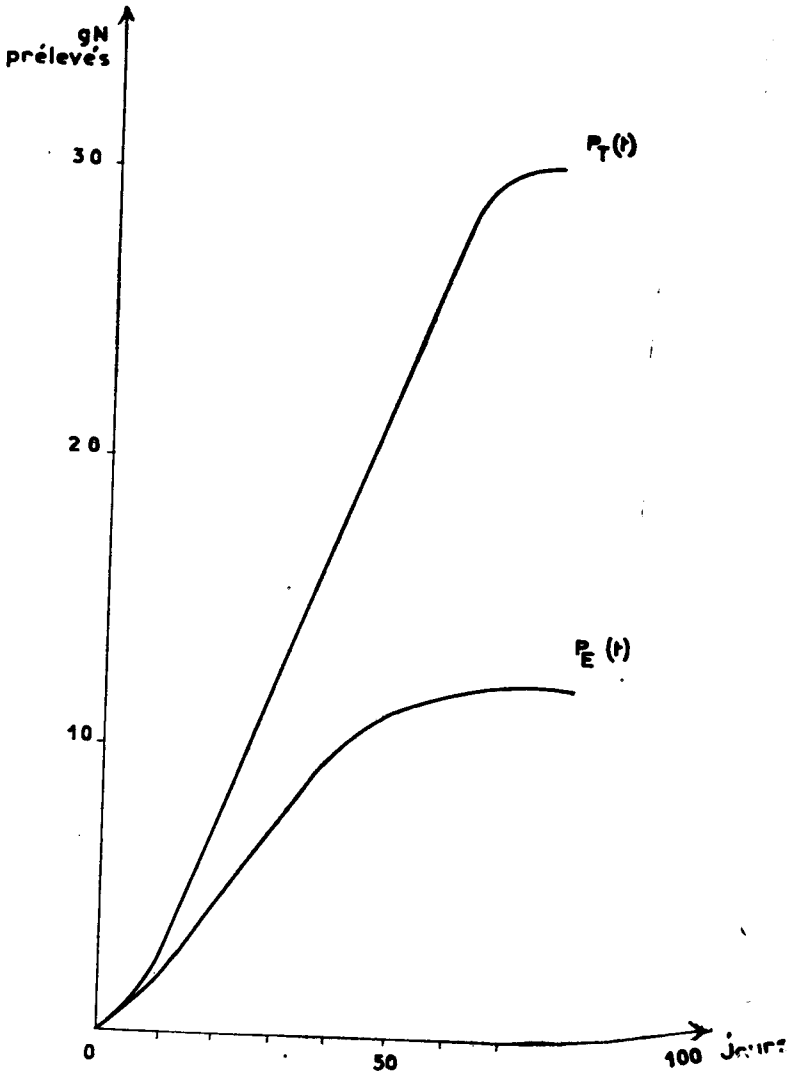
Par la méthode de dilution isotopique, la cinétique ainsi que la quantité d'azote minéralisé par un sol peuvent être déterminées par l'analyse chimique et isotopique de la plante qui pousse sur ce sol.

Ainsi, si on ajoute une quantité B d'azote marqué dans un sol dont la solution contient à un moment donné une quantité A d'azote antérieurement minéralisé et qui est ensuite alimentée avec $N-NO_3$ et $N-NH_4$ plus ou moins continuellement par le processus de minéralisation de la matière organique qui peut-être représentée par une fonction de temps quelconque (t), alors le degré de dilution f (t) de l' N^{15} ajouté est définie par la relation :

$$(I) \quad f(t) = \frac{B}{B + A_0 + (t)}$$

GRAPHIQUE 1

Le prélèvement de l'azote total $PT(t)$ et de l'azote provenant de la substance marqué $PE(t)$, entre la levée et la maturité du ray-grass (Le ppds 0,05 égal à 128 mg N.).



Puisque certaines pertes d' N^{15} et d' N^{14} du système sont inévitables, la formule I doit être corrigée par les fonctions $b(t)$ et $a(t)$ qui représentent les quantités perdues hors du sol, de l'azote provenant, respectivement de B et de $A_0 + (t)$.

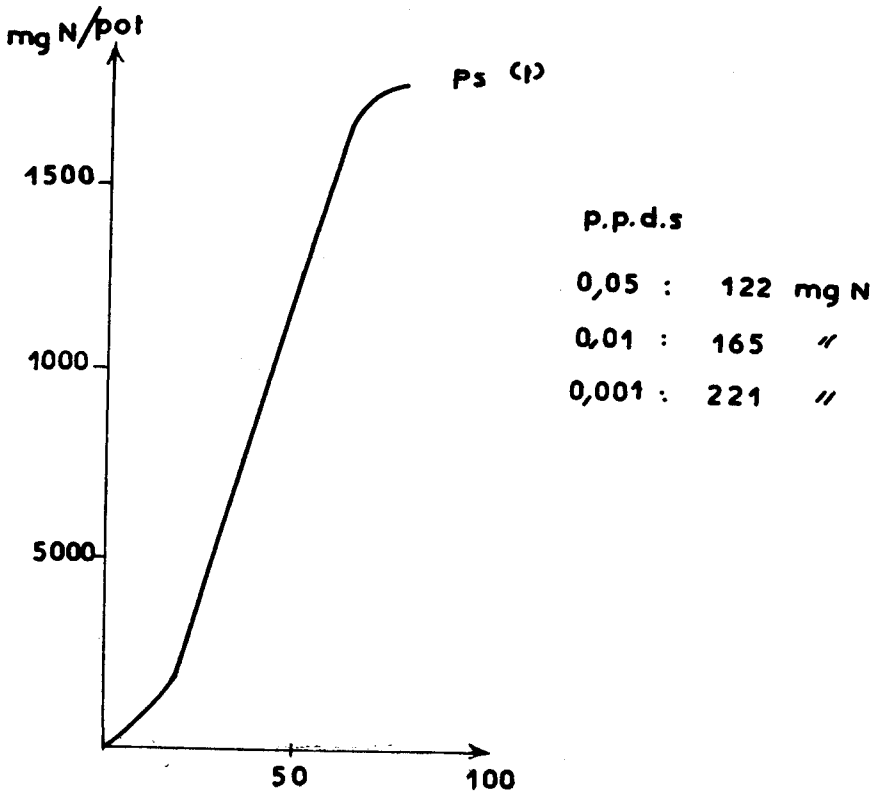
De cette façon la formule I devient :

$$(II) \quad f(t) = \frac{B - b(t)}{(B - b(t) + A_0 + (t) - a(t))}$$

Cette formule montre que la dilution isotopique d'une certaine quantité B d'azote - 15 ajoutée est d'autant plus grande que les quantités d' N minéralisé et les pertes d' N hors du système sont plus importantes.

GRAPHIQUE 2

Le prélèvement par le ray-grass de l'azote provenant du sol entre la levée et la maturité $PS(t)$. Ppds 0,05 = à 122 mg N.



Si on présume qu'une plante pousse sur un sol marqué, il est évident que la teneur isotopique de l'azote absorbé par la plante va varier elle aussi dans le temps à cause de la variation de $f(t)$, ainsi que du rythme du prélèvement par la plante de l' N^{15} et de l' N^{14} pendant sa croissance.

Soit $P_T(t) = P_E(t) + P_S(t)$, la fonction représentant le prélèvement dans la plante de l' N^{15} plus l' N^{14} , dans le temps, $P_S(t)$ représentant le prélèvement de l'azote provenant du sol (l' N^{14}), et $P_E(t)$ celui provenant de la quantité B, c'est-à-dire l'engrais ajouté à l'azote - 15.

On définit le rapport $Ndff(t)$ entre l' N^{15} et la somme N^{15} plus N^{14} prélevés dans la plante, comme étant la fraction d' N^{15} par rapport à l'azote total prélevé :

$$Ndff(t) = \frac{P_E(t)}{P_E(t) + P_S(t)} = \frac{P_E(t)}{P_T(t)}$$

Cette expression est semblable à la fonction $f(t)$, étant aussi un rapport $\frac{N^{15}}{N^{15} + N^{14}}$, mais elles ne sont pas identiques. La non-

identité des deux fonctions provient du fait que les différentes quantités P_{Ti} d'azote total prélevé par la plante du sol à intervalles égaux de temps t , ayant des teneurs différentes en N^{15} , $f(t_i)$ sont mélangées dans les tissus de la plante, ce qui permet d'écrire l'équation III :

$$(III) \quad Ndff(t_n) = \frac{\Delta P_E(t_1) + \Delta P_E(t_2) + \dots + \Delta P_E(t_n)}{\Delta P_T(t_1) + \Delta P_T(t_2) + \dots + \Delta P_T(t_n)} = \frac{\sum_{n_1} \Delta P_E(t_n)}{\sum_{n_1} \Delta P_T(t_n)} = \frac{P_E(t)}{P_T(t)}$$

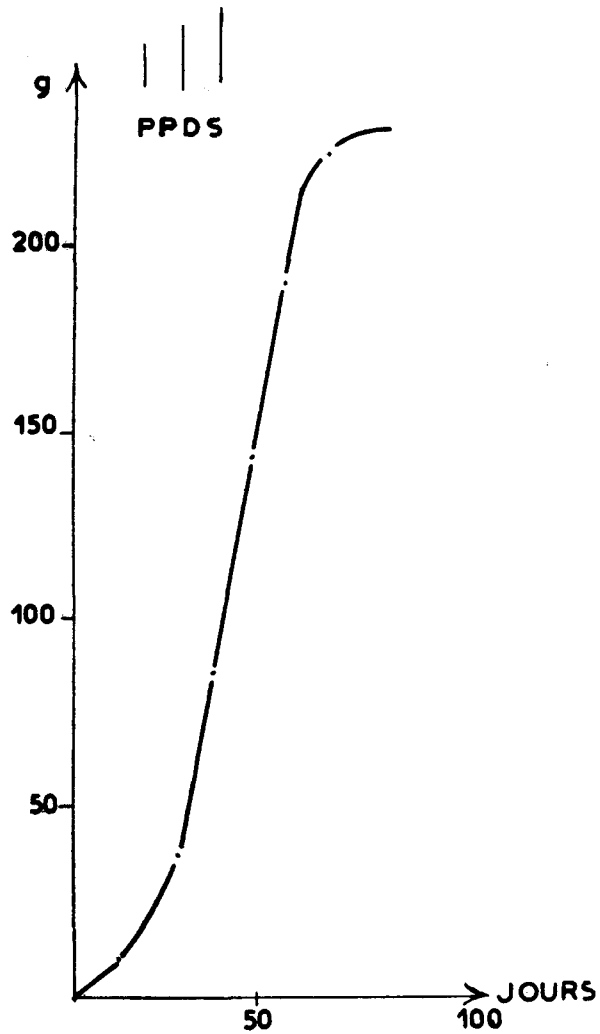
La conséquence qui résulte de cette répression, est que la teneur isotopique de l'azote contenu dans la plante $Ndff(t_i)$ à n'importe quel moment entre t_2 et t_n est plus grande que l'abondance de l'azote contenu et prélevé dans la solution du sol par la plante au moment respectif.

Il faut mentionner à cette occasion que la fonction $f(t)$ est toujours descendante, étant donné que le processus de dilution isotopique n'est pas un phénomène réversible.

De l'expression III il ressort aussi que, afin de trouver la relation qu'il y a entre $Ndff(t)$ (la fraction de N^{15} de l' N total contenu dans la plante) et $f(t)$ (la fraction d' N^{15} de l' N total contenu dans

GRAPHIQUE 3

La matière sèche (pousses + racines) produite entre la levée et la maturité du ray-grass (Ppds 0,05 = 12 g).

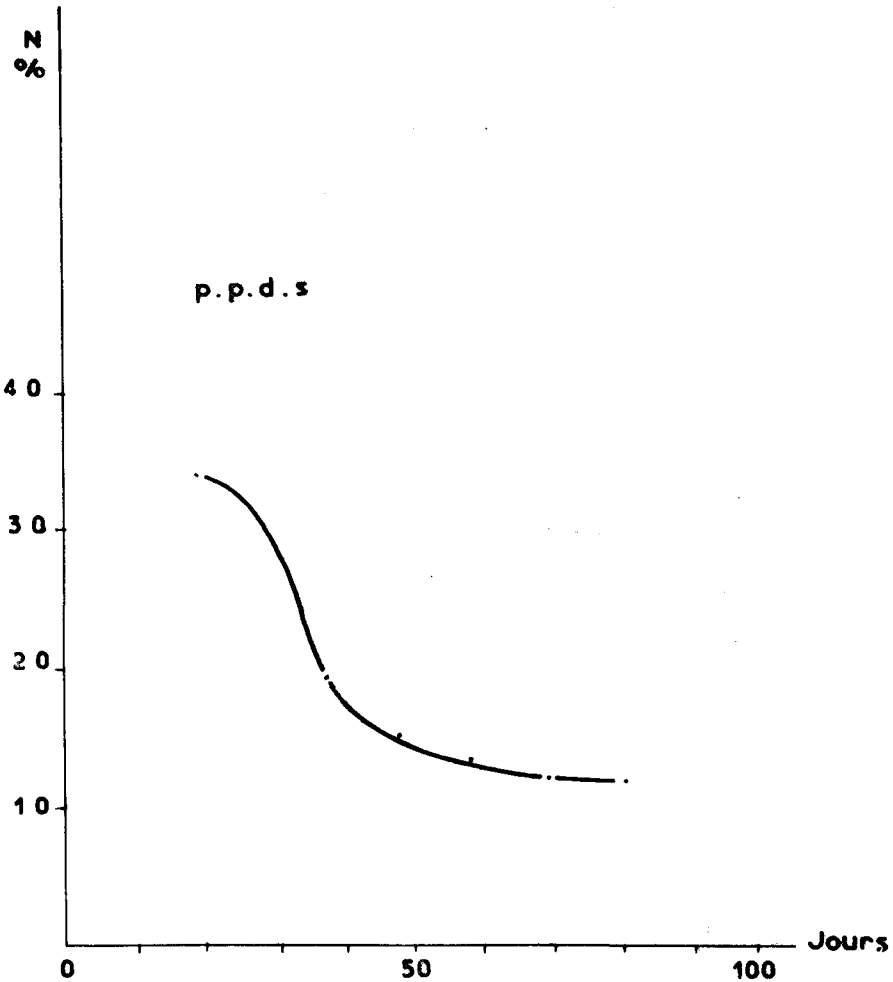


la solution du sol), on doit faire le rapport entre les dérivées par rapport au temps du $P_E(t)$ et $P_T(t)$:

$$(IV) \quad \frac{d P_E (t)}{dt} / \frac{d P_T (t)}{dt} = f (t)$$

GRAPHIQUE 4

La teneur en azote de la matière sèche (racines + pousses). Ppds
 0,05 = 0,25 %.



La fonction $P_E(t)$ étant liée du $P_T(t)$ selon la relation :

$$P_E(t) = P_T(t) \cdot Ndff(t)$$

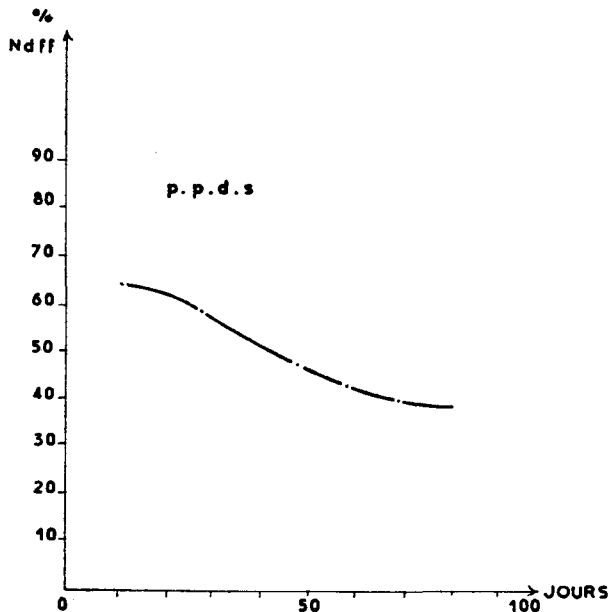
La relation V est déterminable expérimentalement. La fonction $P_T(t)$ est le résultat de la multiplication entre la courbe de la matière sèche produite entre la levée et la maturité et la courbe représentant sa teneur en azote, tandis que l' $Ndff(t)$ est déterminable par spectrométrie de masse sur le même matériel.

En remplaçant l'expression $f(t)$ de la formule III dans la formule II, il résulte :

$$(V) \quad f(t) = \frac{d P_E/dt}{d P_T/dt} = \frac{B - b(t)}{[B - b(t)] + [A_0 + (t) - a(t)]}$$

GRAPHIQUE 5

La variation du pourcentage de l'azote-15, par rapport à l'azote total trouvé dans la plante entre la levée et la maturité (100 $Ndff(t)$) $Ppds$ 0,05 = 5 %.

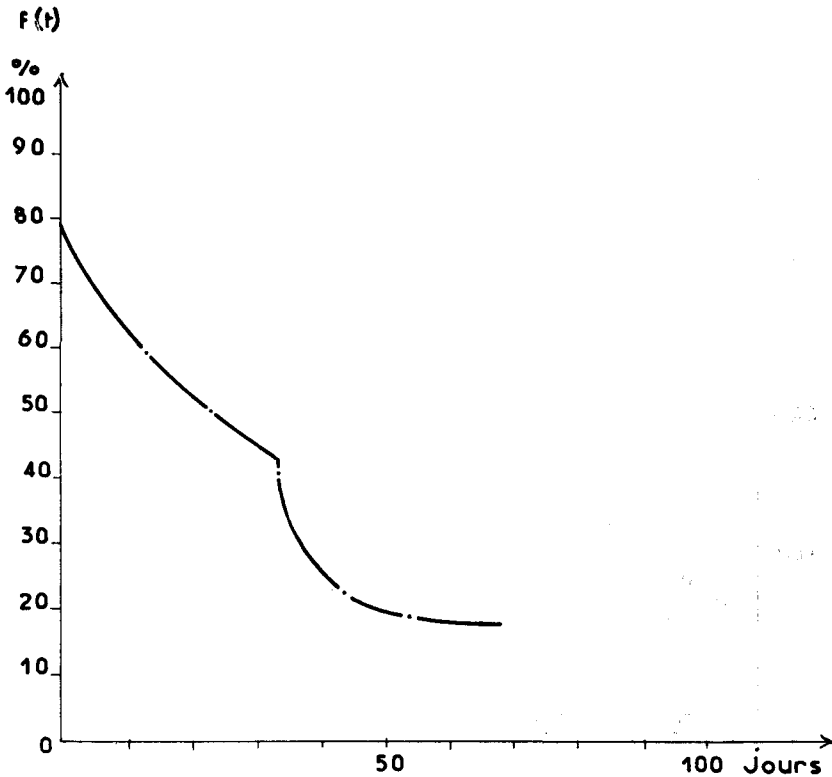


La cinétique de minéralisation est représentée par l'expression :

$$VI. \quad \frac{d \Psi}{dt} = \frac{d [A_0 + \Psi(t) - P_s(t)]}{dt}$$

GRAPHIQUE 6

La variation du pourcentage de l'azote-15 par rapport à l'azote total qui se trouve dans la solution du sol, fonction résultée, de la division de la dérivée par rapport au temps (PE(t)) à la dérivée par rapport au temps du PT(t).

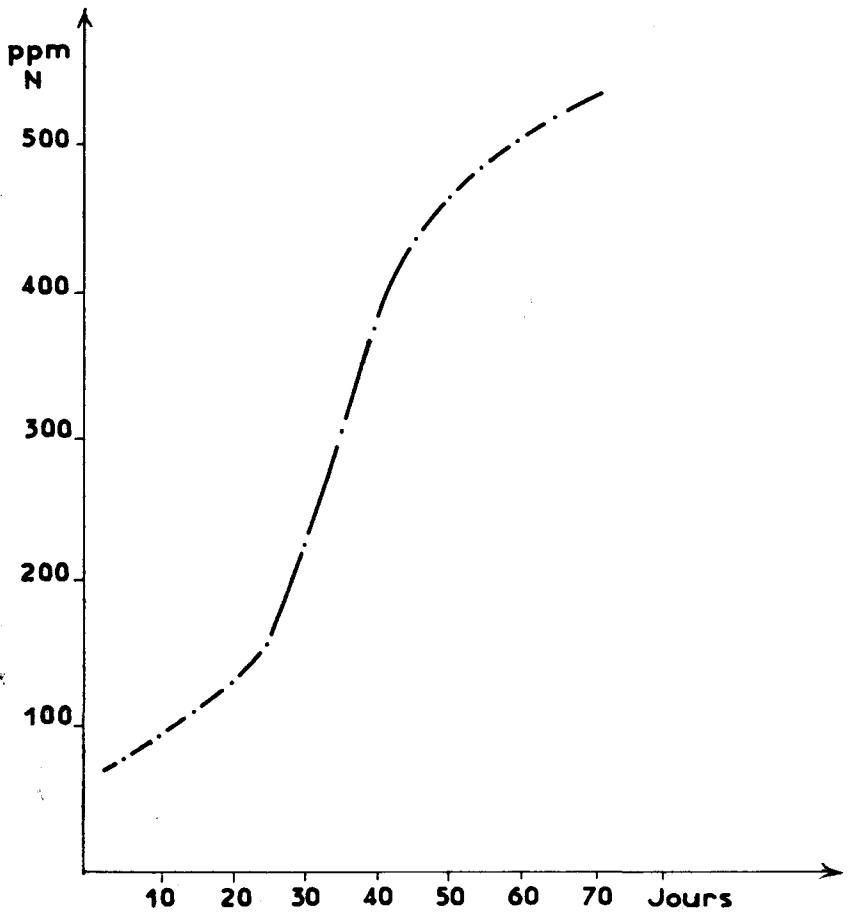


En isolant la fonction de minéralisation de l'azote, on obtient :

$$\text{VII. } - A_0 + \psi(t) = a(t) + [B - b(t)] \cdot \frac{d P_T(t)/dt - d P_E(t)/dt}{d P_E(t)/dt}$$

GRAPHIQUE 7

La quantité d'azote organique minéralisé pendant la période de végétation du ray-grass.

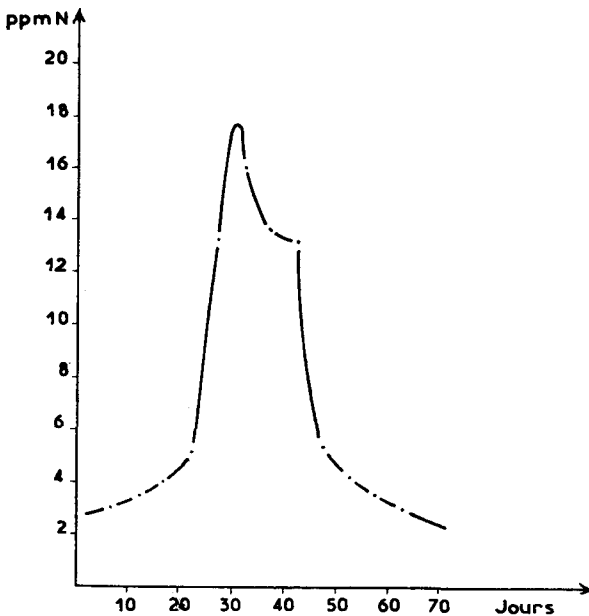


Puisque le plus important canal de perte de l'azote - 14 et de l'azote - 15 c'est leur prélèvement par la plante, alors $a(t)$ et $b(t)$ doivent être remplacés par $P_S(t)$ et $P_E(t)$ représentant les quantités de la solution du sol. Ainsi la formule VII devient :

$$\text{VIII. — } A_o + \Psi(t) = [B - P_E(t)] \cdot \frac{d P_T(t)/dt - d P_E(t)/dt}{d P_E(t)/dt} + P_S(t)$$

GRAPHIQUE 8

La cinétique de minéralisation de l'azote organique pendant la période de végétation du ray-grass.



Ces formules montrent comment la quantité d'azote minéralisé dans le sol et sa vitesse peuvent être mesurées par l'analyse de la plante.

Un dispositif expérimental approprié a été mis en place à la Station expérimentale agricole du Guich, en août 1972 pour vérifier les deux dernières relations.

Méthode de travail

Nous avons utilisé 35 pots de végétation contenant 20 kg d'un sol rouge sablonneux podzolisé, provenant de la couche superficielle d'un terrain à végétation spontanée, du périmètre de la Station expérimentale du Guich. Le sol a été préalablement 3 fois homogénéisé à la pelle et tamisé. Chaque pot a reçu : 9 g $^{15}\text{NO}_3$, $^{15}\text{NH}_4$ à 0,867 % N^{15} , le g superphosphate triple, 5 g K_2SO_4 , 0,5 g Cl_2Mg sec et 0,500 l d'eau.

Les pots ont été ensemencés avec 5 g de ray-grass italien, le sol étant maintenu pendant la végétation à 50 % d'humidité de sa capacité de rétention. La capacité de germination des semences de ray-grass a été de 84 %.

La levée a eu lieu 4 jours plus tard. Un nombre total de 7 échantillonnages a été effectué sur une période de 78 jours, durée nécessaire pour que le ray-grass arrive à la maturité. Au bout de chaque période d'environ 10 jours jusqu'à la maturité, toute la matière végétale produite (pousses + racines) a été échantillonnée dans cinq répétitions.

Le dosage de l'azote a été effectué par la minéralisation du matériel végétal avec H_2O_2 30 % et H_2SO_4 concentré. Le produit minéralisé a été ensuite distillé en présence du NaOH 40 %, l'ammoniac libéré étant capté dans une solution de H_3BO_3 4 %, qui a été ensuite avec une solution de HCl 0,1 N.

Le dosage de l'azote - 15 a été effectué dans la Section d'agriculture des laboratoires de l'AIEA de Seibersdorf - Autriche.

Résultats expérimentaux et conclusions

Les fonctions $P_T(t)$, $P_E(t)$ et $P_S(t)$ qui représentent respectivement le prélèvement de l'azote total (du sol et de $^{15}\text{NH}_4$, $^{15}\text{NO}_3$ ajouté), le prélèvement de l'azote seulement du $^{15}\text{NH}_4$, $^{15}\text{NO}_3$ enfin celui de l'azote provenant seulement du sol sont représentés dans les graphiques N° 1 et N° 2. Ces graphiques ont été tracés sur la base des graphiques N° 3, N° 4 et N° 5 représentant respectivement le poids de la matière sèche totale produite entre la levée et la maturité du ray-grass, la variation de sa teneur en azote total et en N^{15} , dans le temps.

La fonction $f(t)$ du graphique N° 6 représentant l'évolution de la dilution isotopique du $^{15}\text{NO}_3$, $^{15}\text{NH}_4$ ajouté au sol a été tracée

après avoir fait le rapport des dérivées effectuées par voie graphique des fonctions $P_E(t)$ et $P_T(t)$ du graphique N° 1.

En remplaçant successivement dans la formule VII, les valeurs correspondantes à chaque intervalle de 10 jours du B, $P_E(t)$, $P_S(t)$, $dP_T(t)/dt$ et enfin $dP_E(t)/dt$, on obtient la courbe $A_o + \Psi(t)$ qui montre la quantité d'azote organique minéralisé à un moment quelconque, pendant la végétation du ray-grass.

Le dérivée graphique de la fonction $A_o + \Psi(t)$ est représentée dans le graphique N° 8, en obtenant ainsi la vitesse de minéralisation de l'azote organique contenu dans le sol.

Partant de l'hypothèse qu'il n'y a pas eu d'autres pertes d' N^{14} et d' N^{15} du pot, excepté celles absorbées par la plante, on constate que :

1. La valeur de A_o , qui est la quantité de $N-NO_3$ et de $N-NH_4$ qui se trouvait déjà minéralisée dans la solution du sol au moment de l'application du nitrate d'ammonium marqué est de 65 ppm N.

2. La quantité totale d'azote minéralisé dans l'intervalle de temps de 70 jours a été de 517 ppm. Il est intéressant de constater que la minéralisation de l'azote organique en présence de la plante suit une allure sigmoïdale pareille à la loi de la croissance. Cela fait penser qu'il y a une étroite interaction entre la plante et le processus de minéralisation, celui-ci étant fortement stimulé par la présence de la plante.

3. La vitesse de minéralisation en pots de végétation varie selon l'étape de la végétation de la plante entre 3,0-16,0 ppm/jour.

4. La connaissance de la quantité d'N minéralisé et de celle trouvée déjà dans le sol au début de l'expérience permet de calculer le coefficient d'utilisation par le ray-grass de l'azote provenant du sol, qui a été trouvé égal à 16,8 % [$P_S(t_{70} \text{ jours}) \cdot 100 / A_o + (t_{70} \text{ jours})$]. Le coefficient d'utilisation du $^{15}NO_3$, $^{15}NH_4$ appliqué au pot (3,15 g N) est au bout de 70 jours de 39,4 % $P_E(t \text{ 70 jours}) / B$.

De l'azote minéralisé et de celui ajouté, la plante a prélevé 21,9 % [$P_T(t \text{ 70 jours}) / B + A_o + \Psi(t \text{ 70 jours})$].

5. Suite au fait que l' $Ndff(t)$ varie, la valeur A de l'azote (FRIED, 1967) calculée selon la formule $A = B \cdot L - Ndff(t) / Ndff(t)$, varie elle aussi pendant la végétation de la plante-test. Cette variation est la conséquence de la minéralisation de l'azote organique ainsi que des pertes d' N^{14} et d' N^{15} du sol.

Remerciements

Nous présentons nos remerciements à la Section d'Agriculture, des laboratoires, de l'Agence Internationale d'Energie Atomique de Seibersdorf pour les détermination de l'azote - 15 et également à l'Institut des Isotopes Stables de Cluj-Roumanie, pour avoir mis à notre disposition l' $^{15}\text{NH}_4$ $^{15}\text{NO}_3$ utilisé dans l'expérience.

ملخص

لقد أجريت تجريبات في انية النباتات ، لتحديد مقدار وتطور تحويل الازوت العضوي الذي تحتوي عليه التربة ، الى معدن مشوب ، وذلك بواسطة تحليلات كموية واشعاعية للنباتات .

وقصد هذا الهدف ، مهد الباحثون صيغة تعتمد على مزج المواد الشعاعية . ويربط هذا الاخير بين مزج الازوت الشعاعي المضاف الى التربة ، والناج عن تحويل الازوت العضوي الى معدن مشوب ، وبين تغيير كمية الازوت (15) الذي تحتوي عليه النباتات خلال نموها .

وهكذا رأى الباحثون أن النبات له تاثير جد محث على التحويل الى معدن مشوب . وتبلغ جملة كمية الازوت المحولة بالتربة بعد سبعة (517 ppm) . أما فيما يتعلق بسرعة التحويل ، فانها تتغير من 3.0 الى 16,0 ppm .

وبفضل ذلك ، أمكن تحديد معامل استفاد النبات من الازوت المتحول الى معدن مشوب . ويبلغ القدر المستفاد منه 16.8 % . وأخيرا تبين أن النبات يستعمل الخمس (1/5) من مجموع الازوت الموجود بالتربة (الازوت المتحول + الازوت المضاف) .

RÉSUMÉ

Une expérience en pots de végétation a été mise en place afin de déterminer quantitativement et cinématiquement la minéralisation de l'azote organique contenu dans le sol, par l'analyse chimique et isotopique de la plante.

Dans ce but, les auteurs ont développé une formule, basée sur le principe de la dilution isotopique. Elle relie la dilution de la substance marquée appliquée au sol, causée par la minéralisation de l'N organique, à la variation de la teneur d' N^{15} de la plante pendant sa végétation.

De la sorte, les auteurs ont trouvé que la plante exerce une action fortement stimulante sur la minéralisation. La quantité d'azote total minéralisé dans le sol au bout de 70 jours est de 517 ppm. Quant à la vitesse de minéralisation, elle varie entre 3,0-16,0 ppm N.

De cette façon on a pu déterminer le coefficient d'utilisation par le ray-grass de l'N minéralisé (16,8 %). Enfin, de l'azote total présent dans le sol (N minéralisé + N ajouté), la plante a utilisé un cinquième.

RESUMEN

Una experiencia en macetas ha sido realizada a fin de determinar cuantitativamente y cinéticamente la mineralización del nitrógeno orgánico contenido en el suelo, por el análisis químico y isotópico en la planta.

Con esta meta, los autores han desarrollado una fórmula basada sobre el principio de la dilución isotópica.

Relación a la dilución de la sustancia marcada, aplicada al suelo, causada por la mineralización del N orgánico, a la variación del contenido del nitrógeno de la planta durante su vegetación.

De esta manera, los autores han encontrado que la planta ejerce una acción fuertemente estimulante sobre la mineralización. La cantidad de nitrógeno total mineralizada en el suelo al cabo de 70 días es de 517 ppm.

En cuanto a la velocidad de mineralización varía entre 30-16,0 ppm.

De esta manera se ha podido determinar el coeficiente de utilización del N mineralizado (16,8 %) por el ray grass.

El nitrógeno total presente en el suelo (N mineralizado + N incorporado), la planta ha utilizado un quinto.

SUMMARY

A description is given of a pot experiment to determine the quantity and daily speed of organic nitrogen mineralisation in the soil.

^{15}N labelled NO_3NH_4 was used as fertilizer and ray-grass as test-plant.

An formula relating the variation of the plant ^{15}N content and the variation of soil solution ^{15}N content has been theoretically developed.

It was concluded that the presence of the plant exercises a

powerfull impact on the soil nitrogen mineralisation. The amount of mineralised soil nitrogen after 70 days is 517 ppm. The mineralisation varies between 3,0 and 16,0 ppm per day. In this manner it was possible to calculate the utilisation coefficient by the ray-grass of soil nitrogen produced (16,8 %). Only 1/5 of added nitrogen plus mineralised nitrogen has been taken-up by the ray-grass.

BIBLIOGRAPHIE

- HARMSSEN, G.W. & D.A. VAN SCHREVEN — 1955. Mineralisation of organic nitrogen in soil, in « Adv. in Agronomy ». — Acad. Press. Inc., N.Y. 7, pp. 299-398.
- HARMSSEN, G.W. & G.J. KOLENBRANDER — 1965. Soil inorganic nitrogen, in W.C. Bartholomew and E.F. Clark ed. — Soil Nitrogen N° 10, Series « Agronomy » Am. Soc. of Agr. Inc., Publisher Madison, Wisconsin, U.S.A., pp. 43-71.
- FRIED, M. & H. BROESHART — 1967. « The soil-plant system in relation to inorganic nutrition ». — Acad. Press., N.Y. and London, pp. 201-205.