

# COMPTE RENDU

## DE LA RÉUNION TECHNIQUE SUR L'EMPLOI DES ISOTOPES DANS LES ÉTUDES SUR LA MATIÈRE ORGANIQUE

par B. DABIN

Cette réunion s'est tenue du 9 au 11 septembre à Brunswick (Allemagne Occidentale), au centre fédéral de recherche agronomique, sous le patronage de la F.A.O. et de l'Agence Atomique Internationale de Vienne.

Elle groupait 120 participants de 30 nations différentes, avec une forte majorité de représentants allemands.

C'est surtout le Professeur FLAIG, directeur de l'Institut de Biochimie des Sols de Brunswick et ses collaborateurs, qui ont constitué la cheville ouvrière du congrès. Quant à l'organisation matérielle du colloque (interprétation simultanée, etc.) elle était parfaite et il faut sans doute en remercier autant la F.A.O. et l'Agence de Vienne que les organisateurs locaux.

Les lundi, mardi, mercredi, jeudi matin et vendredi ont été consacrés entièrement à des séances de travail. Les orateurs, relativement peu nombreux, ont présenté généralement des communications assez longues, parfois plus d'une heure, suivies de discussions très animées.

Le jeudi après-midi a été réservé pour une visite du centre de recherche et principalement du laboratoire de Biochimie des Sols.

Enfin, le samedi a été consacré à une excursion essentiellement touristique dans les montagnes du Harz, jusqu'à la ville très pittoresque de Gosslar; contrairement aux congrès habituels, aucun profil n'a été présenté durant l'excursion.

Il faut signaler enfin deux réceptions d'une qualité exceptionnelle, où une ambiance extraordinairement amicale a régné entre tous les représentants de nations bien différentes.

Les communications peuvent se séparer en plusieurs groupes; les plus importantes ont été des synthèses assez complètes sur les divers problèmes généraux concernant la matière organique du sol.

Un autre groupe de communications a présenté quelques expériences précises sur l'utilisation des éléments marqués.

Un dernier groupe de communications a rassemblé les différentes techniques de marquages et de mesure des éléments marqués. Nous commencerons par ce dernier groupe qui justifie le titre de la conférence.

Les deux éléments dont il a été le plus question sont le  $C^{14}$  et le  $N^{15}$ ; il est utile de définir ces deux isotopes.

$C^{14}$

JENKINSON et SHARPENSEEL ont présenté des communications importantes sur  $C^{14}$ . Le grand avantage de cet isotope est sa vie très longue, sa période est supérieure à 5.000 ans; il est bon marché (39 Deutschmark le Millicurie) sous forme de  $CO^3 Na^2$ .

Il est relativement peu dangereux pour l'homme; on peut le doser directement en mesurant son activité, après dissolution du  $C^{14}$  dans des liquides, en effectuant une mesure dite par « Scintillation ».

Les inconvénients sont la difficulté d'opérer en plein champ, en raison des nombreux résidus actifs laissés par les expériences; l'accumulation de ces résidus peut devenir toxique à la longue. Il est nécessaire de prendre des précautions pour éviter toute perte ou diffusion de  $C^{14}$  durant les expériences.  $C^{14}$  utilisé à doses élevées peut modifier par irradiation la flore du sol.

L'équipement de mesure est coûteux :

- boîtes à gants,
- appareil à scintillation liquide (73.000 Marks),
- utilisation d'une chambre de croissance (près de 500.000 Marks par an de frais de fonctionnement).

La fabrication de matières organiques marquées au  $C^{14}$  se fait de la façon suivante :

Synthèse d'hydroquinone marquée au  $C^{14}$  ou  $H^3$  dont on effectue la polymérisation oxydative en milieu alcalin.

On peut marquer l'hydroquinone sur les carbones de son cycle, en faisant la synthèse de ce composé à partir de carbonates  $C^{14}$ .

On peut aussi fabriquer de nombreux précurseurs radioactifs (glucose, saccharose, etc.), que l'on introduit dans des substances organiques en voie de décomposition, ou que l'on fait absorber par des bactéries, des actinomycètes, des champignons, des racines de végétaux.

Dans le cas de racines de végétaux, il peut y avoir échange et fixation de saccharose  $C^{14}$  sur la cellulose. On peut produire toutes les substances des tissus végétaux (lignine, cellulose, acides aminés, etc.) au  $C^{14}$  en provoquant le *développement complet de plantes* dans une atmosphère de  $CO^2$  marquée, *en utilisant une chambre de croissance*, sorte de serre étanche dont l'atmosphère contient  $C^{14}O^2$ .

Les nombreux composés marqués au  $C^{14}$  sont ensuite extraits de la plante et servent aux expériences.

$N^{15}$

Les plus importantes communications concernant  $N^{15}$  ont été présentées par S. JANSSON.

L'isotope  $N^{15}$  est un isotope stable, son homologue le  $C^{13}$  est rarement utilisé.

Il existe des isotopes actifs de l'azote, mais qui ont une durée de vie très courte :

$N^{13}$  vie de 10 minutes.

$N^{16}$  vie de 7 secondes.

$N^{17}$  vie de 4 secondes.

Donc, le seul utilisé est le  $N^{15}$  dont la durée de vie est illimitée, puisqu'il est stable.

Cette stabilité a de nombreux avantages.  $N^{15}$  peut être utilisé dans des expériences de longue durée; il n'a aucun effet toxique sur l'homme, les plantes ou les micro-organismes.

Les inconvénients sont le prix élevé : 230 dollars par gramme, et surtout le fait que l'analyse ne peut être effectuée qu'au spectromètre de masse, dont le coût est d'au moins 20.000 dollars et qui doit être utilisé par des spécialistes.

$N^{15}$  existe naturellement dans l'azote de l'air à raison de 0,4 %.

On sépare  $N^{15}$  par échange chimique entre  $NO$  et  $NO^3H$  ou  $NH^3$  et  $NO^3NH^4$ .

A partir de  $NO^3H$  ou des nitrates, on fabrique les divers engrais azotés.

LAROCHE et COMBELLES ont présenté à ce sujet les différentes techniques utilisées à l'O.N.I.A. Toulouse.

Dans le dosage du  $N^{15}$ , on transforme les composés azotés en sel d'ammonium par le procédé Kjeldahl, puis on réduit en  $N$  gazeux par l'hypobromite, le dosage au spectromètre se fait sur 1 mg de  $N$  gazeux.

LAROCHE et COMBELLES ont présenté une modification inspirée de la méthode de Dumas,  $NH^3$  est entraîné dans un four à  $400^\circ$  par un courant de  $CO^2$  et réduit par  $CuO$ ;  $N$  gazeux et  $CO^2$  sont séparés par un piège à  $CO^2$ .

S. JANSSON a résumé les principales techniques utilisant  $N^{15}$ . Pour obtenir des matières organiques marquées au  $N^{15}$ , on fait croître des plantes dans des cultures sans sol, contenant  $N^{15}$  sous forme de  $NO^3NH^4$ . La plante marquée peut être ajoutée au sol.

On peut aussi isoler de la plante différents constituants azotés marqués au  $N^{15}$  et les étudier séparément dans le sol.

On peut marquer directement les micro-organismes du sol en leur faisant absorber  $N^{15}$  dans un milieu contenant une matière énergétique (glucose) en quantité suffisante pour que tout l'azote soit fixe.

On peut ainsi suivre la transformation des composés azotés frais en composés humiques stables; cette transformation peut être suivie pendant très longtemps en utilisant une faible quantité de N<sup>15</sup> alors que les méthodes de bilans traditionnelles doivent porter sur de fortes quantités d'azote.

Les premiers travaux ont montré que N<sup>15</sup> est pris rapidement dans des cycles complexes du sol.

La Dynamique chimique et biologique de ces cycles est beaucoup plus compliquée que ne le laissent penser les méthodes traditionnelles.

N<sup>15</sup> est réparti dans toutes les phases organiques du sol; il existe des équilibres complexes entre ces phases, un changement dans une phase affecte rapidement toutes les autres phases. Toute étude sur le N<sup>15</sup> doit être accompagnée d'une étude détaillée des cycles de transformation.

A côté de l'étude des éléments marqués et des techniques de marquage, des communications très importantes ont été présentées sur différents sujets relatifs à la matière organique des sols. La plus remarquable est certainement l'exposé du Professeur FLAIG sur la Chimie des Substances Humiques; nous présenterons par la suite une analyse plus détaillée de cette communication.

En résumé : l'humus est formé à partir de *produits de décomposition de la lignine* (et non de la lignine non décomposée comme dans l'hypothèse de WAKSMAN).

Ces produits sont du type acide vanillique ou acide ferulique, comprenant un noyau benzénique et une chaîne aliphatique.

Ils ont été isolés des produits de décomposition de la paille.

En partant de ces corps, il y a décomposition de la chaîne aliphatique :

- déméthylation,
- oxydation en quinone,
- dimérisation et polymérisation,
- clivage des anneaux,
- addition de substances azotées.

La synthèse des substances humiques se ferait sous l'action de diastases (du type oxydases) sécrétées par les micro-organismes.

Tous les produits de synthèse obtenus sont étudiés par les techniques les plus variées, analyse chimique, polarographie, chromatographie, spectrographie, absorption d'infrarouge, utilisation d'éléments marqués et mesure par scintillement liquide, microscope électronique, analyse des amino-acides par appareil Technicon, etc.; un Institut spécialisé comprenant trois étages de laboratoires et une trentaine de chercheurs assistés de techniciens, sous la direction du Professeur FLAIG se consacre totalement à ces recherches. Une visite détaillée de cet Institut a permis de se rendre compte de l'effort exceptionnel réalisé dans ce domaine.

Parmi les autres rapports généraux, citons celui de RUSSELL sur la matière organique dans les sols tropicaux; il insiste sur l'action de *la quantité de matière organique* sur la fertilité, il étudie particulièrement les processus d'accumulation de la matière organique, anaérobiose, fixation sur les colloïdes minéraux, etc.; il étudie également la décomposition de cette matière organique : la minéralisation, la désorption, l'action sur l'alimentation des plantes, azote, soufre, phosphore. C'est une bonne synthèse de faits déjà connus des pédologues tropicaux, mais souvent ignorés des agronomes des régions tempérées.

BARTHOLOMEW étudie plus spécialement l'aspect biologique de l'humus.

Aucune matière végétale n'est totalement immune à la décomposition; les matières végétales se répartissent dans *toutes les fractions* de la matière organique du sol; il y a un blocage rapide de l'azote dans les corps microbiens.

La dessiccation du sol joue un rôle important dans l'activation de la minéralisation de l'humus.

L'anaérobiose et l'adsorption minérale jouent un rôle important dans l'accumulation des matières humiques.

Une fraction de la matière humique est facilement décomposable; l'autre est plus stable.

Les matières humiques se groupent à l'intérieur des pores du sol en petits granules; les études de microscopie en plaque mince sont importantes pour déterminer les formes d'humus.

JANSSON présente un important rapport sur l'azote du sol, ses différents cycles, les relations azote minéral-azote organique. L'utilisation d'éléments marqués permet surtout de suivre les divers équilibres minéralisation - immobilisation qui se produisent en permanence et simultanément.

R. J. SWABY rappelle certaines propriétés des humus; dégradation de la lignine par les micro-organismes en phénols et quinones, puis condensation avec des acides aminés et de l'ammoniaque pour former des humates.

Il écarte l'action enzymatique en raison de la faible cristallinité et du manque de répétition des unités. Il explique la résistance à la décomposition de l'humus, par une constitution moléculaire hétérogène, avec des liaisons de covalences, sans fonctions NH libres dans les chaînes, et l'existence de nombreux anneaux qui doivent être scindés un par un.

Il étudie ensuite l'action de différentes pratiques agricoles sur la teneur en matières organiques des sols; il rappelle différentes formules d'évolution annuelle des matières organiques.

Après incorporation de débris végétaux dans le sol, il étudie leur répartition dans les diverses fractions de l'humus à l'aide d'éléments marqués  $C^{14}$ ,  $N^{15}$ ,  $P^{32}$ ,  $S^{35}$ .

Le carbone  $^{14}$  introduit *se répartit dans toutes les fractions de l'humus.*

Exemple : la luzerne donne surtout des acides fulviques et polysaccharides; les aiguilles de conifères donnent surtout de la lignine.

Les sucres, protéines, hémicelluloses fournissent de faibles quantités d'humus.

Le carotène, la chlorophylle, la lignine fournissent essentiellement les fractions non hydrolysables de l'humus. Les sucres donnent surtout des acides fulviques.

Il faut parfois arrêter le travail du sol pour permettre aux matières organiques de s'accumuler.

*A côté des études générales, citons plusieurs études particulières* utilisant ou non les éléments marqués, parmi celles-ci; tout un groupe de communications est consacré à l'absorption ou à l'action directe des substances organiques dans la croissance des végétaux.

CHAMINADE rappelle le rôle activant des matières humiques dans l'utilisation de l'azote en cultures artificielles.

Il y a action rhizogène et action catalytique par pénétration dans les plantes de composés organiques provenant de l'humus.

Even HAIM montre l'absorption *directe* d'acide vanillique marqué au  $C^{14}$ .

Il y a une plus forte absorption d'activité dans le cas de l'acide vanillique marqué à la fonction carbonyle, que dans le cas du marquage sur le méthoxyle; il y a donc diméthylation de l'acide vanillique pendant l'absorption.

SAUERBECK et FUHR montrent que dans les expériences sur l'absorption de matières organiques marquées par les plantes, il y a une influence considérable du  $CO^2$  marqué fixé sur les racines. Compte tenu de ce fait et en évitant l'interférence de  $CO^2$ , les auteurs ont étudié l'absorption par les plantes d'éléments de décomposition de la paille.

4 à 10 % du carbone est absorbé; la majorité se trouve dans les racines.

0,2 à 0,4 % provient de substances humiques solubles à l'eau et à la soude, ou d'acides fulviques.

0,1 % provient des acides humiques.

L'acide fulvique provoque un accroissement net des rendements.

#### *Autres Communications.*

ZELLER étudie la transformation en humus de mycelium d'*Aspergillus Niger* marqué au  $C^{14}$ .

Après 3 mois d'incubation, on a les résultats suivants :  
perte de 55 % de  $C^{14}$  par respiration sous forme de  $CO^2$ .

On retrouve 30 % dans la fraction insoluble *humines*,

3 % dans les *acides fulviques*,

1 % dans les *acides humiques*.

SAUERBECK étudie l'activation de la décomposition de la matière organique du sol sous l'effet d'apports de pailles marquées au  $C^{14}$ . Une activation est notée au début, il y a un cycle rapide dans le pool des matières organiques qui rend celles-ci radioactives en totalité, puis l'équilibre se rétablit et on note ensuite un accroissement dans le carbone du sol.

SMITH confirme que l'action de résidus organiques frais n'accroît pas les pertes de matière organique du sol.

SIMONART indique que le  $C^{14}$  du glucose se répartit dans les fractions humiques du sol comme le carbone naturel. Ce sont les substances hydrolysables riches en N qui fixent de préférence le  $C^{14}$ .

Les celluloses et hémicelluloses donnent des résultats comparables.

HUSER donne un exemple d'utilisation du  $N^{15}$  pour déterminer la fixation de N atmosphérique dans un sol de forêt.

Les analyses classiques de N sont trop peu précises et les erreurs sont énormes (quelques kilos fixes à l'hectare par rapport à quelques tonnes préexistantes). En faisant incuber le sol dans une atmosphère contenant  $N^{15}$ , on peut déterminer la fixation de  $N^{15}$  dans le sol avec précision.

GADET et SOUBIES utilisent des engrais azotés au  $N^{15}$  dans des cases lysimétriques, et montrent que le bilan d'azote mesuré dans une case par rapport à un témoin sans engrais est entaché d'erreur. L'apport répété de fumures azotées réduit la fourniture à la plante d'azote nitrique provenant des réserves du sol.

BRENNER et FUHR étudient la fixation du nitrate de soude  $N^{15}$  par des composés organiques du sol dérivés de la lignine (composés nitroso-aromatiques).

VAN DEN HENDE rappelle quelques difficultés rencontrées dans l'utilisation du  $N^{15}$ .

Fixation physique et biologique par le sol.

Différences d'absorption entre  $NO^3$  et  $NH^3$  par les plantes,

une partie de  $N^{15}$  des engrais est immobilisé,

une partie de N préexistant est minéralisé,

« l'indice de rotation » peut être supérieur ou inférieur à 1 suivant les conditions.

*Citons enfin quelques communications purement techniques :*

SHARPENSEEL - Technique du marquage au Tritium-gaz.

Utilisation de radiocolonnes à chromatographie.

Analyse de composés marqués au  $C^{14}$  et au tritium.

Fractionnement d'extraits humiques, acides humiques, acides fulviques dans des extraits à la soude.

Mesure d'activité par scintillation avec Ag - Szn activé.

LITTLE et ZELLER,

Appareils pour déterminer  $C^{14}$ .

Combustion de la matière organique.

$CO^2$  marqué recueilli dans une solution alcaline.

Précipitation de  $CO^3Ba$  et mesure d'activité.

ZELLER. Etude d'une chambre de croissance avec utilisation du  $CO^2$  marqué.

La CONCLUSION de ces rapports est que l'utilisation des éléments marqués est encore difficile dans le cas d'essais agronomiques aux champs, mais qu'elle se montre très utile pour étudier en laboratoire les divers cycles des éléments qui ne peuvent être suivis en détail par aucune autre méthode.

# **BULLETIN BIBLIOGRAPHIQUE DE PÉDOLOGIE**

rédigé par

LA SECTION DE PÉDOLOGIE  
DE L'O.R.S.T.O.M.

---

Tome XII — Fascicule 3  
3<sup>e</sup> trimestre 1963

**OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER**

*Direction Générale :*  
24, rue Bayard, PARIS-8<sup>e</sup>

*Service Central de Documentation :*  
80, route d'Aulnay, BONDY (Seine)

*Rédaction du Bulletin :* C. S. T., 80, route d'Aulnay, BONDY (Seine)