

Estimation du renouvellement du carbone des sols par mesure isotopique ^{13}C Précision, risque de biais

Jérôme BALESDENT

Station de science du sol, INRA, 78026 Versailles Cedex, France et
Université Pierre et Marie Curie, INRA, Laboratoire de biogéochimie isotopique, case 120, 4, place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05, France.

RÉSUMÉ

La différence de rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ entre les plantes à cycle photosynthétique C_3 et les plantes à cycle photosynthétique C_4 offre un traceur naturel des changements d'écosystèmes et de la dynamique du carbone organique des sols. Cette différence peut être considérée comme le signal dans la méthode d'utilisation de ce traceur. Les matières organiques sont soumises à d'autres sources de variations d'abondance isotopique en ^{13}C . Parmi celles-ci, certaines sont impliquées dans la dynamique du carbone. Elles constituent alors le bruit de la méthode. L'examen des relations entre la dynamique du C et l'évolution des rapports isotopiques permet de proposer quelques moyens d'améliorer la finesse de ce traceur et d'éviter les biais. Les variations d'abondance naturelle en ^{13}C conditionnent également l'effet de l'échantillonnage sur la précision de la mesure isotopique. Dans de bonnes conditions, la mesure isotopique permet actuellement de mettre en évidence 1 % de matières organiques d'origine C_4 dans un sol marqué par une végétation de type C_3 .

MOTS CLÉS : Dynamique – Décomposition – Isotope stable du carbone – Matière organique – Sol.

ABSTRACT

QUANTITATIVE ESTIMATE OF SOIL C TURNOVER BY ^{13}C MEASUREMENTS. PRECISION, POSSIBLE BIASES

The difference between $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of C_3 plants and C_4 plants can be used as a natural tracer of ecosystems changes or soil organic carbon dynamics. This difference can be considered as the signal of this tracer. Soil organic matter also undergoes other variations of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios. Some of them are linked to C dynamics and can thus be considered as a noise in the use of the tracer. The paper overviews the different relationships that exist between isotope ratio evolution and carbon dynamics. It shows how they can affect the quality of this tracer, its noise, its precision. In best conditions, the tracer allows detecting 1 % C_4 -derived carbon in a C_3 vegetation derived soil.

KEY WORDS : Decomposition – Organic matter – Turnover – Soil – Stable carbon isotope.

INTRODUCTION

La différence de rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ entre les plantes à cycle photosynthétique C_3 et les plantes à cycle photosynthétique C_4 (SMITH et EPSTEIN, 1971) permet de suivre, en mesurant la composition isotopique des matières organiques des sols (MOS), la proportion de carbone provenant de l'un ou de l'autre des deux types de végétation.

Cette méthode a trouvé depuis 1985 deux champs d'application principaux :

(1) Les études de paléoenvironnement et des successions de végétation (DZUREC *et al.*, 1985 ; SCHWARTZ *et al.*, 1986 ; GUILLET *et al.*, 1988 ; KRISHNAMURTHY et BHATTACHARYA, 1989). Les profils du rapport isotopique des MOS permettent de mettre en évidence l'existence de végétations

passées d'un type différent de la végétation actuelle. La datation de ces MOS donne des indications sur les dates de succession de végétation.

(2) Les études du renouvellement du carbone organique (CERRI *et al.*, 1985 ; BALESSENT *et al.*, 1987, 1988, 1990 ; VITORELLO *et al.*, 1989 ; MARTIN *et al.*, 1990 ; SKJEMSTAD *et al.*, 1990 ; BALESSENT et BALABANE, 1991 ; MARTIN *et al.*, 1992 ; TROUVÉ, 1992). Lorsqu'il y a changement de végétation, les matières organiques du nouveau type remplacent progressivement celles du type précédent. La mesure du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ d'échantillons prélevés à différentes dates permet alors d'estimer la cinétique du renouvellement du carbone du sol. Cette méthode peut être appliquée à toute fraction organique, permettant ainsi de distinguer les fractions à renouvellement rapide de celles à renouvellement lent. Le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ est ici un traceur des MOS. Ce traceur s'avère très puissant car il permet l'étude du renouvellement du C *in situ* ; il peut être exploité sur des périodes allant de l'année à plusieurs centaines d'années, enfin il permet de disposer de sols ou de fractions de sol uniformément marqués, ce qu'aucun traceur introduit artificiellement ne permet.

Cet article présente les bases de l'utilisation de ce traceur. Dans tous les cas on interprète un rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en terme de pourcentage de MOS d'origine C₃ et MOS d'origine C₄. Il s'agit toujours d'un problème quantitatif, même s'il est simplement question de chiffrer la confiance avec laquelle on peut affirmer que les MOS proviennent d'un type de végétation, comme dans les études de paléoenvironnement.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Sites et sols

Les résultats cités ici sont tirés de plusieurs expérimentations. Leur liste et quelques-unes de leurs caractéristiques sont présentées au tableau I. Tous

les sols sont de type bruns à faiblement lessivés, ont des teneurs en carbone dans l'horizon Ap de l'ordre de 10 mg . g⁻¹.

Prélèvement

Les méthodes de prélèvement du sol, variables selon les expérimentations exploitées, sont décrites dans les références citées au tableau I. Chaque échantillon est un échantillon moyen de 4 à 16 prélèvements, contenant l'ensemble de la couche étudiée. L'échantillon obtenu pèse 4 à 8 kg. Seuls les échantillons du site 4, prélevés sur une micro-parcelle de 2 m², ne pèsent que 0,1 à 0,5 kg.

Conditionnement des échantillons

Les échantillons de sol ont été séchés à l'air puis tamisés à 2 mm à l'aide d'une tamiseuse à rouleaux ou congelés dès le prélèvement.

Fractionnement des matières organiques

Les fractionnements granulométriques ont été effectués selon BALESSENT *et al.* (1991).

Les extractions alcalines ont été effectuées sur fractions granulométriques en deux étapes successives. Le premier extrait (I) a été obtenu par épuisement en milieu NaOH à pH 10, le deuxième par épuisement en milieu NaOH 0,1M - Na₄P₂O₇ 0,1M. Les acides humiques (AH) ont été précipités à pH 2 par HCl. Les acides fulviques (AF) ont été dialysés pendant une courte durée à un poids moléculaire équivalent de 1000. En moyenne, 30 % des AF — les plus petites molécules — ont été éliminés. Toutes les fractions ont été lyophilisées.

Dosages

Tout échantillon a été broyé à 200 µm au mortier de porcelaine avant analyse élémentaire ou isotopique. Le carbone a été dosé par combustion sèche et dosage coulométrique du CO₂. Les rapports isotopiques sont mesurés sur le CO₂ obtenu par oxy-

TABLEAU I
Localisation et quelques caractéristiques des sites étudiés, référence de l'étude
Main characteristics and references of the studied soils

n°	localisation	type de sol	horizon de surface			référence	
			Prof. (cm)	Argiles (%)	C (%)		pH _{eau}
1	Auzeville (Garonne)	alluvial	0-30	27	0,9	5,8	Balesdent <i>et al.</i> (1987)
2	Doazit (Landes)	brun lessivé	0-30	11	2,5	4	Balesdent <i>et al.</i> (1987)
3	Guyancourt (Yvelines)	brun eutrophe	0-35	16	0,9	6,7	Balesdent et Balabane (1992)
4	Versailles (Yvelines)	brun eutrophe	0-20	15	0,6	5,0	
5	Boigneville (Essonne)	faibl. lessivé	0-30	22	1,0	6,5	Balesdent <i>et al.</i> (1990)

dation à 850 °C dans un tube de quartz scellé en présence de CuO. Dans le cas d'échantillons peu carbonatés ou suspectés de l'être, une solution d'HCl est ajoutée à l'échantillon dans le tube, chauffée à 80 °C et évaporée. Le CO₂ est purifié et analysé sur un spectromètre de masse (Finnigan Mat Delta E) à triple collecteur et double introduction. La référence du laboratoire est calibrée par rapport au PDB par l'intermédiaire du standard international NBS19. Les rapports isotopiques sont exprimés sous la forme :

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{référence}}} - 1 \right) \cdot 1000$$

où $R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$. La référence est PDB.

Dans tout le texte, le signe « ‰ » est utilisé exclusivement comme unité des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$.

LE PRINCIPE GÉNÉRAL D'INTERPRÉTATION DU $\delta^{13}\text{C}$

La figure 1 présente le schéma d'une végétation B succédant à une végétation A. Le $\delta^{13}\text{C}$ initial du sol est δ_{A0} . Les matières organiques du sol initial, provenant de la végétation A, vont progressivement disparaître et être remplacées par celles provenant de la végétation B. Après un temps t , il reste une quantité C_A de carbone de végétation A (ancien carbone), son $\delta^{13}\text{C}$ est δ_A . Le sol contient une quantité C_B de carbone provenant de la végétation B (nouveau carbone), le $\delta^{13}\text{C}$ de ce nouveau carbone est δ_B . Alors la mesure de $\delta^{13}\text{C}$ de l'échantillon de sol (δ) permet de déterminer la proportion de ces deux quantités de carbone dans le mélange, selon l'équation :

$$\frac{C_B}{C_A + C_B} = \frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta_A} \quad [1]$$

la quantité totale de carbone de l'échantillon est $C = C_A + C_B$ [2]

Le calcul implique la connaissance de δ_A et δ_B , celle-ci sera discutée plus bas.

Les $\delta^{13}\text{C}$ moyens des plantes C_3 et C_4 sont, respectivement, de l'ordre de -12 ‰ et -27 ‰. Dans les successions C_3 - C_4 , la différence moyenne $\delta_B - \delta_A$ est donc de l'ordre de 15 ‰, en valeur absolue. Cet écart est le signal maximum du traceur ^{13}C .

UN EXEMPLE D'APPLICATION DE LA MÉTHODE

Sur le site n° 1, une parcelle initialement sous culture C_3 a été mise en monoculture de maïs en 1970. Le $\delta^{13}\text{C}$ initial de l'horizon Ap est de -26,2 ‰.

Des échantillons de l'horizon Ap ont été prélevés à différentes dates et soumis à un fractionnement granulométrique des MOS selon une méthode proche de celle de FELLER (1979). La figure 2 présente l'augmentation progressive du $\delta^{13}\text{C}$ des fractions. En prenant comme valeurs δ_A le $\delta^{13}\text{C}$ de chaque fraction du sol initial et comme valeur δ_B celle du maïs (-12,5 ‰) dans l'équation [1], on peut calculer le pourcentage de carbone organique provenant du maïs, dit carbone renouvelé. Le carbone des frac-

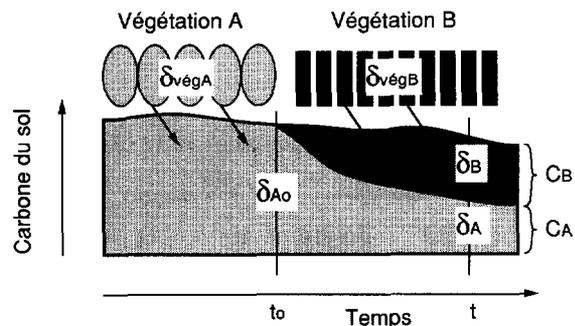


FIG. 1. – Représentation schématique du remplacement du carbone d'un sol sous végétation initiale A par le carbone provenant d'une nouvelle végétation B introduite au temps t_0 . Abréviations dans le texte. Schematic replacement of the soil carbon, derived from an initial vegetation A, by the carbon derived from a new vegetation B, which was introduced at time t_0 .

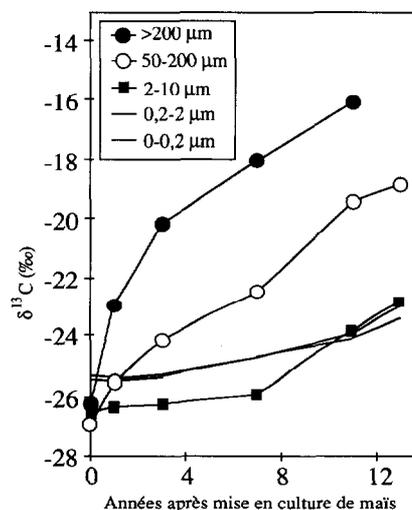


FIG. 2. – Augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ des fractions granulométriques du sol n° 1 après mise en culture de maïs. Increase in ^{13}C content of particle-size fractions, following change from C_3 crops to maize (soil number 1).

tions de taille 200-2000 μm par exemple est renouvelé à plus de 80 % par du carbone provenant du maïs, en fin d'expérimentation. Cette étude permet de chiffrer le temps moyen de renouvellement des fractions, moyennant une hypothèse de cinétique de décomposition exponentielle : $5,5 \pm 2$ ans pour les fractions 200-2000 μm ; 15 ± 2 ans pour les fractions 50-200 μm ; 70 ± 20 ans pour l'ensemble 0-10 μm . Cette même étude montre que les fractions granulométriques $> 50 \mu\text{m}$ contiennent près de la moitié du C de moins de 13 ans, alors qu'elles ne contiennent que 15 % du C total du sol.

LE CHOIX DES ESTIMATEURS DE δ_A ET δ_B .

L'estimation du pourcentage de matière organique C_3 ou C_4 dans un mélange est donné par l'équation [1]. Dans la réalité, les valeurs de δ_A ($\delta^{13}\text{C}$ des MOS qui restent des MOS initiales de type A) et de δ_B ($\delta^{13}\text{C}$ des MOS qui restent des MOS introduites par la végétation B) ne peuvent être connues directement et peuvent différer de celles de la végétation elle-même. Il faut trouver des estimateurs de ces valeurs de référence. On examine ici les trois candidats potentiels les plus fréquents (présentés fig. 1) pour l'estimation et l'on montre l'amplitude possible des différences entre les valeurs réelles et celles de ces candidats.

Le $\delta^{13}\text{C}$ de la végétation A ($\delta_{\text{végA}}$) peut être un estimateur δ_A . La figure 3 adaptée de LADYMAN et HARKNESS (1980) montre une différence moyenne

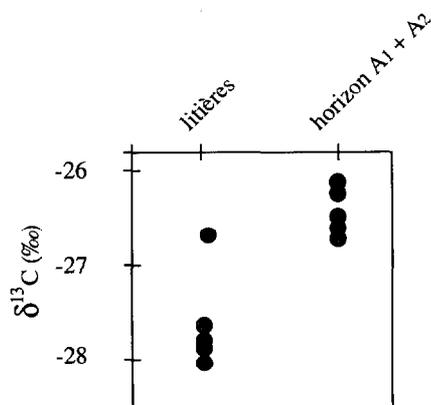


FIG. 3. — $\delta^{13}\text{C}$ des litières et des horizons A de cinq sols podzoliques forestiers en Écosse (adapté de LADYMAN et HARKNESS, 1980).
Comparison between $\delta^{13}\text{C}$ of litters and A horizons, among five podzolic soils under forest, in Scotland (adapted from LADYMAN and HARKNESS, 1980).

entre la végétation — ici des litières forestières — et les horizons A des sols, les derniers étant plus riches de 1,5 ‰ que la végétation que porte le sol. La plupart des autres exemples de la littérature montrent ainsi que le $\delta^{13}\text{C}$ des MOS est plus élevé que celui de la végétation dont elles sont issues.

Le $\delta^{13}\text{C}$ initial du sol sous végétation A (δ_{A0}) — ou d'un sol similaire maintenu sous la végétation de type A — peut aussi être un autre estimateur de δ_A . L'exemple suivant est tiré de l'expérimentation n° 4. Une parcelle a été maintenue sans végétation depuis 1929 à l'Inra de Versailles. La figure 4 reporte l'évolution du $\delta^{13}\text{C}$ et de la teneur en C d'échantillons de l'horizon de surface prélevés depuis le début de l'expérimentation. La minéralisation des deux tiers du C se traduit par une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ de + 1,4 ‰. Dans un tel sol mis sous végétation C_4 pendant 60 ans, l'utilisation de la valeur initiale du sol comme valeur de δ_A aurait conduit à un biais de 10 % du signal maximum du traceur.

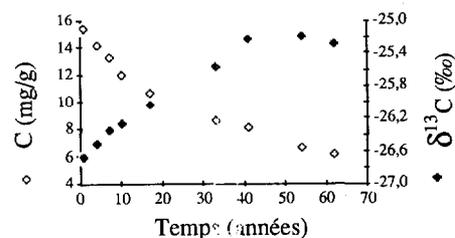


FIG. 4. — Évolution au cours du temps du carbone total et du $\delta^{13}\text{C}$ de l'horizon Ap d'une parcelle C_3 maintenue sans végétation depuis 1929 (site n° 4).
Change in total carbon and $\delta^{13}\text{C}$ with time, in a C_3 plot kept bare since 1929 (site number 4).

Le $\delta^{13}\text{C}$ de la végétation ($\delta_{\text{végB}}$) comme candidat à δ_B ? L'estimation du δ_B (le $\delta^{13}\text{C}$ des MOS provenant de la nouvelle végétation) est plus difficile que celle de δ_A car on ne dispose pas en général d'un sol équivalent à celui étudié (sol témoin), portant depuis un temps infini la nouvelle végétation. Le seul estimateur que l'on puisse trouver est la végétation elle-même. L'expérience ci-dessous, tirée de BENNER *et al.* (1987) montre l'évolution du $\delta^{13}\text{C}$ de tissus de *Spartina alternifolia* incubés en sachets *in situ*, en milieu marin (fig. 5). Après 18 mois, les MOS résiduelles sont appauvries de 1 ‰ par rapport aux MO initiales. Ici encore, l'utilisation du $\delta^{13}\text{C}$ de la végétation comme valeur de δ_B aurait conduit à un biais.

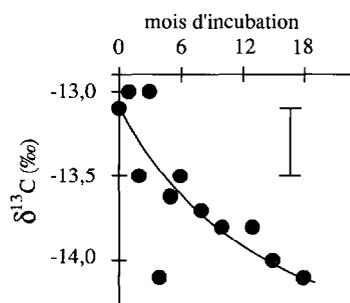


FIG. 5. – Évolution du $\delta^{13}\text{C}$ de tissus de *Spartina alternifolia* au cours de leur incubation en milieu marin (adapté de BENNER *et al.*, 1985).
*Change in $\delta^{13}\text{C}$ of *Spartina alternifolia* tissues, throughout their incubation in marine sediments (adapted from BENNER *et al.*, 1985).*

Ces trois exemples sont destinés à montrer que l'ordre de grandeur des différences entre les valeurs isotopiques de référence recherchées et les estimateurs qui peuvent être obtenus dans le milieu peuvent atteindre 2 à 3 ‰, soit 10 à 20 % du signal maximum du traceur.

LES CAUSES DES VARIATIONS $\delta^{13}\text{C}$ DES MOS

Afin d'améliorer l'utilisation du traceur ^{13}C et les estimateurs des valeurs de référence, il est nécessaire de prendre en compte les variations du $\delta^{13}\text{C}$ des MOS qui peuvent interférer avec leur dynamique, c'est-à-dire les variations associées au temps ou à la minéralisation des MOS. Les causes de ces variations sont multiples et peuvent être classées en quatre grands groupes.

L'évolution du $\delta^{13}\text{C}$ du CO_2 atmosphérique

L'injection de CO_2 provenant des combustibles fossiles a fait décroître le $\delta^{13}\text{C}$ du CO_2 atmosphérique planétaire depuis le milieu du XIX^e siècle. MARINO et MAC ELROY (1991) ont démontré la répercussion sur des plantes C_4 . Il est probable que cette augmentation se répercute sur les plantes C_3 également, peut-être avec une amplitude plus faible (FRANCEY et FARQUHAR, 1982). Dans les sols, les MOS les plus jeunes sont donc plus appauvries que les MOS de même nature et origine, anciennes de plusieurs siècles ou millénaires. Cette évolution explique une part, mais pas la totalité, des différences observées entre végétation et sol. Cette augmentation peut être localement plus élevée. Elle sera de plus en plus importante dans l'avenir.

L'évolution de la végétation elle-même et de son environnement (hors changement C_3 - C_4).

Les fractionnements isotopiques associés à la photosynthèse sont dépendants des conditions du milieu : les conditions écophysiologicals, et l'utilisation de l'eau par les plantes en particulier, contrôlent le $\delta^{13}\text{C}$ des produits photosynthétisés (FARQUHAR *et al.*, 1982). Le $\delta^{13}\text{C}$ des plantes C_3 est plus sensible à l'environnement que celui des plantes C_4 . La figure 6 empruntée à STUIVER et BRAZIUNAS (1987) donne un exemple de variations spatiales du $\delta^{13}\text{C}$ de cellulose de conifères mise en relation avec l'humidité et (ou) la température de l'atmosphère ambiante. L'écart maximum décrit par ces auteurs est de plus de 4 ‰. Ainsi le $\delta^{13}\text{C}$ des composés arrivant au sol a pu varier en un site donné avec les changements pédoclimatiques, qu'il y ait eu ou non des changements d'espèces dans la végétation. Les végétations de milieu sec ou ouvert sont plus enrichies que les végétations humides et fermées telles que les forêts ombrophiles. L'existence d'un environnement différent dans le passé (froid et sec, par exemple) peut, en l'occurrence, expliquer un $\delta^{13}\text{C}$ des MOS anciennes, millénaires, stables, plus élevé que celui des MOS actuelles.

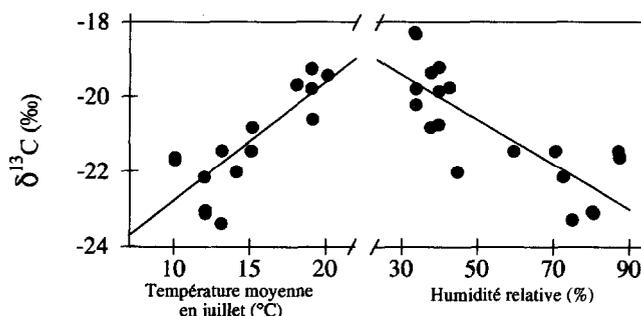


FIG. 6. – Relations entre $\delta^{13}\text{C}$ de cellulose de conifères pré-1850 et la température en juillet (gauche) ou humidité relative (droite). D'après STUIVER et BRAZIUNAS (1987).
Relationship between pre-1850 conifers cellulose $\delta^{13}\text{C}$, and July temperature (left) or air moisture (right). After STUIVER et BRAZIUNAS (1987).

Les effets de décomposition différentielle dans le sol

Les réactions de biosynthèse du matériel vivant aboutissent à un enrichissement de certains composés ou de certains groupements fonctionnels par rapport aux autres. Par exemple, concernant les espèces majeures, les lipides et les lignines sont

généralement appauvris, certains acides aminés et la plupart des groupements carboxyliques sont enrichis par rapport aux hydrates de carbone. Si dans le sol des composés enrichis disparaissent plus vite que d'autres, par minéralisation ou déplacement hors de la zone étudiée, le $\delta^{13}\text{C}$ moyen des produits restants va diminuer. Dans le cas de la décomposition de *Spartina* (fig. 5), BENNER *et al.* (1987) expliquent l'appauvrissement progressif du résidu par la minéralisation plus lente des lignines ($\delta^{13}\text{C} = -17,9\text{‰}$) par rapport à l'ensemble des tissus ($\delta^{13}\text{C} = -13,1\text{‰}$).

Les fractionnements isotopiques dans le sol

Il peut enfin se produire des fractionnements isotopiques dans le sol, c'est-à-dire des réactions où le comportement de l'isotope 13 sera différent de celui de l'isotope 12 à cause de sa masse. Ces réactions sont celles de rupture ou de création d'une liaison C - C. Si ces réactions conduisent à la sortie du C du système, le $\delta^{13}\text{C}$ moyen des produits restants se trouve modifié. La réaction la plus fréquente qui conduit à l'enrichissement isotopique des MO est la décarboxylation (biologique ou abiotique) produisant du CO_2 . Ce dernier est appauvri par rapport au carboxyle initial. C'est principalement ce mécanisme qui aboutit à un enrichissement des organismes hétérotrophes de + 1 ‰ en moyenne par rapport à leur diète (DE NIRO et EPSTEIN, 1978). Dans les sols, la transformation des produits végétaux en produits microbiens tout au long de la chaîne trophique des décomposeurs aboutit à un enrichissement isotopique progressif des MOS. De même les fermentations sont susceptibles d'affecter le $\delta^{13}\text{C}$ des MOS en milieu anaérobie. BLAIR *et al.* (1985) montrent sur culture *in vitro* de *E. Coli* que le CO_2 respiré est appauvri par rapport au glucose initial de - 3,4 ‰, alors que l'acétate libéré est enrichi de + 12,3 ‰. De telles fermentations sont susceptibles d'affecter le $\delta^{13}\text{C}$ des MOS en milieu anaérobie. Un autre mécanisme susceptible de provoquer un fractionnement isotopique dans le sol est la méthanogenèse. BALABANE *et al.* (1987) montrent que la réduction du CO_2 par *Methanobacterium formicicum* conduit à la production de méthane appauvri de - 12 à - 20 ‰, et de cellules microbiennes appauvries de - 3 à - 5 ‰, par rapport au CO_2 initial.

Les fractionnements isotopiques dans le sol doivent être distingués des effets différentiels du paragraphe précédent car ils obéissent à des lois physiques déterminées, propres à la chimie iso-

topique, différentes de celles régissant la minéralisation ou la migration des MOS.

L'HÉTÉROGÉNÉITÉ ISOTOPIQUE DES MOS

La variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ des MOS dans un même sol (toujours sous pure végétation C_3) donne des indications sur les relations avec la dynamique du C.

L'évolution du $\delta^{13}\text{C}$ liée à la dynamique des MOS est d'abord suggérée par les profils verticaux du $\delta^{13}\text{C}$ des MOS. Les profils de la quasi-totalité des sols C_3 révèlent une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ avec la profondeur, pouvant atteindre 3 à 4 ‰ par mètre, comme dans les études de FLEXOR et VOLKOFF (1977) ou DESJARDINS *et al.* (1991). De tels profils sont présentés sur la figure 7 dans le cas des situations n° 3 et n° 5. Une corrélation avec la profondeur implique également une corrélation avec la teneur en carbone et une corrélation avec l'âge moyen des MOS. La figure 8, adaptée de LADYMAN et HARKNESS (1980) montre la corrélation entre $\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta^{14}\text{C}$ dans les 40 premiers centimètres de profils forestiers. Les MOS jeunes de quelques années ($\Delta^{14}\text{C} = 400\text{‰}$) ont un $\delta^{13}\text{C}$ de - 28 ‰, alors que les MOS d'âge moyen supérieur à 1 500 ans ($\Delta^{14}\text{C} = -150\text{‰}$) ont un $\delta^{13}\text{C}$ de - 25,5 ‰. La meilleure analyse de telles relations entre $\delta^{13}\text{C}$, profondeur et âge a été faite par O'BRIEN et STOUT (1978) qui peuvent expliquer les profils de $\delta^{13}\text{C}$ et de $\Delta^{14}\text{C}$, soit par un enrichissement continu des MOS au cours de leur minéralisation, soit par la seule existence de MOS millénaires riches en ^{13}C , présentes en proportion relative plus faible en surface.

Les séparations de fractions organiques révèlent également l'hétérogénéité isotopique des MOS. Les fractions granulométriques, par exemple, montrent

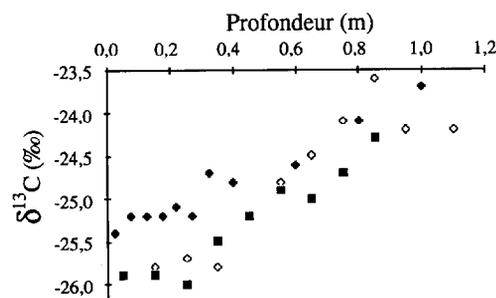


FIG. 7. – Profils de $\delta^{13}\text{C}$ de trois sols bruns C_3 cultivés du Bassin parisien.
 $\delta^{13}\text{C}$ profiles in three C_3 cultivated eutrochrepts, Paris Basin.

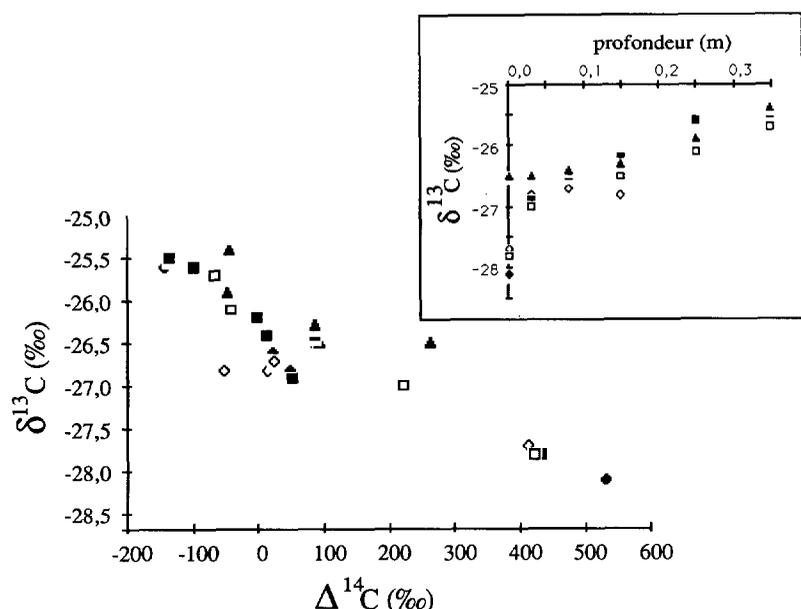


FIG. 8. – Relation entre $\delta^{13}\text{C}$ et activité ^{14}C de cinq sols podzoliques forestiers en Écosse (adapté de LADYMAN et HARKNESS, 1980).
Relationship between $\delta^{13}\text{C}$ and radiocarbon activity, in five podzolic soils under forest, in Scotland (adapted from LADYMAN and HARKNESS, 1980).

que les débris végétaux grossiers sont plus pauvres que les MOS fines rencontrées dans les fractions organominérales. La figure 9 montre cette relation entre $\delta^{13}\text{C}$ et taille des particules dans le cas des sols C_3 des sites n° 1, 2, 3 et 5. Toutes les causes d'enrichissement du $\delta^{13}\text{C}$ mentionnées plus haut peuvent expliquer ces différences : produits d'origine ligneuse plus abondants dans les fractions grossières, produits d'origine microbienne et MO anciennes plus abondantes dans les fractions fines.

D'autres hétérogénéités isotopiques des MOS ont été mises en évidence. Les extractions alcalines

révèlent que les acides humiques sont systématiquement plus pauvres en ^{13}C que les acides fulviques (NISSENBAUM et KAPLAN, 1972 ; FLEXOR et VOLKOFF, 1977). Cette différence est illustrée sur la figure 10 dans le cas d'extraits des fractions granulométriques du sol C_3 n° 5. Le $\delta^{13}\text{C}$ des AF est ici mesuré directement et non pas calculé par défaut de bilan. La différence est systématique, quelle que soit la fraction granulométrique traitée, qu'il s'agisse du premier ou du deuxième extrait. Ici encore de nombreuses causes peuvent expliquer la différence (héritage plus ou moins important des lignines, des lipides, abondance plus ou moins importante des groupements carboxyliques hérités des biomolécules). Les fractionnements isoto-

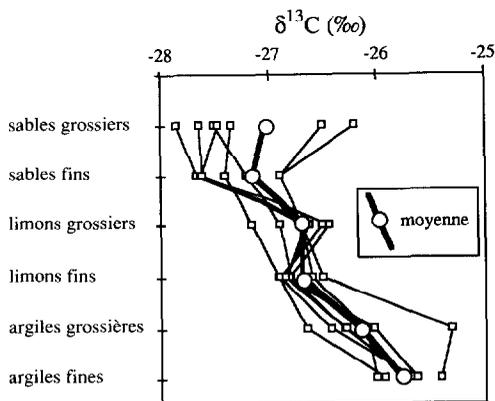


FIG. 9. – $\delta^{13}\text{C}$ de fractions granulométriques séparées des horizons A de sept sols C_3 .
 $\delta^{13}\text{C}$ of particle-size fractions separated from seven C_3 A horizons.

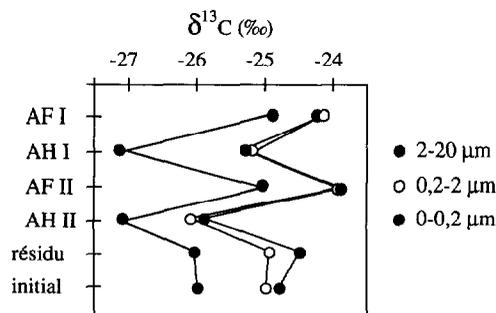


FIG. 10. – $\delta^{13}\text{C}$ de deux extraits alcalins successifs effectués sur trois fractions granulométriques du sol C_3 n° 5.
 $\delta^{13}\text{C}$ of two successive alkaline extracts, performed on three particle-size fractions of a C_3 soil (site number 5).

piques associés aux réactions de l'humification *stricto-sensu* ne sont pas encore assez connus pour qu'on puisse les incriminer. Aucune relation claire avec la dynamique du carbone n'apparaît ici, puisque toutes les fractions extraites ont ici les temps moyens de résidence semblables dans le sol (BALESSENT, données non publiées).

AMÉLIORER LES ESTIMATEURS DE δ_A ET δ_B

Dans le cas de mise en place d'expérimentations, le sol étudié peut être suivi sans plante, la mesure du $\delta^{13}\text{C}$ du sol ainsi incubé est le meilleur estimateur de δ_A . Même si un *priming-effect* est susceptible de conduire à des cinétiques de minéralisation des MO différentes avec et sans plante, il affectera probablement peu la relation entre C résiduel et $\delta^{13}\text{C}$.

Dans le milieu naturel, on peut utiliser les profils isotopiques. On s'appuie ici sur l'exemple de l'analyse conjointe de deux profils d'un même sol (n° 5), l'un sous végétation C_3 , l'autre sous végétation C_4 , tirée de BALESSENT *et al.*, 1990. Il s'agit d'une parcelle sous culture C_3 , labourée, mise en 1970 en monoculture de blé et en monoculture de maïs, sans travail du sol. L'accumulation progressive des matières organiques nouvelles en surface a abouti à l'apparition de nouveaux profils de carbone à l'intérieur de l'horizon Ap initial (0-30 cm), et de nouveaux profils isotopiques (fig. 11a). La mise en relation des $\delta^{13}\text{C}$ des nouveaux sous-horizons avec

l'inverse de la concentration en carbone (fig. 11b) met en évidence des mélanges entre une quantité constante de carbone organique dont le $\delta^{13}\text{C}$ est de $-24,4\text{‰}$ et une quantité, variable selon les horizons, de carbone organique dont le $\delta^{13}\text{C}$ est proche de celui de la végétation. La linéarité et la symétrie des deux figures (celle sous blé et celle sous maïs) permet d'affirmer, d'une part, que les matières organiques anciennes ont un $\delta^{13}\text{C}$ de $-24,4\text{‰}$ et qu'elles sont en concentration à peu près constante le long du profil, d'autre part, que les ordonnées à l'origine de ces droites sont les $\delta^{13}\text{C}$ des MOS issues des nouvelles végétations, et que celles-là ne diffèrent pas de plus de 0,5 ou 1,5 ‰ des valeurs mesurées sur la végétation elle-même.

L'examen conjoint des deux relations C- $\delta^{13}\text{C}$ permet ici d'accéder aux valeurs isotopiques de référence avec une assez bonne précision. Dans le cas précédent, le profil initial uniforme au départ, ainsi que la dynamique du C à peu près identique sous C_3 et C_4 conduisent à une figure simple. Le principe peut cependant en être appliqué à d'autres systèmes. Dans les sols pédoturbés, comme les sols vertiques, ou bioturbés par l'activité de la faune, l'activité de mélange tend à répartir les MOS le long du profil ; au moins dans la zone bioturbée, les profils sont réguliers. Les matières organiques les plus anciennes (les moins biodégradables) ont pu être réparties uniformément alors que les MO les plus récentes sont encore principalement en surface. Les différents

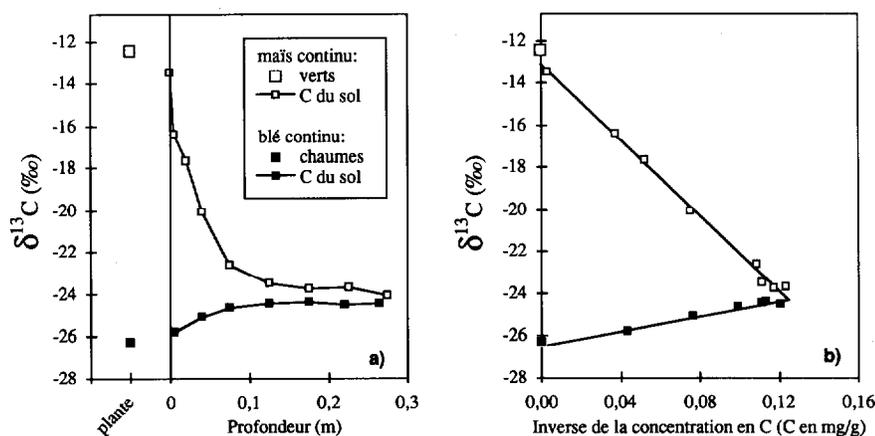


FIG. 11. – Des monocultures de blé et de maïs ont été mises en place depuis 17 ans sur le même horizon Ap C_3 initial. a) Profils isotopiques. b) Relations entre $\delta^{13}\text{C}$ et concentration en C des sous-horizons (d'après BALESSENT *et al.*, 1990).
 A C_3 plot has been cultivated in continuous wheat on one hand, and in continuous maize on the other, for 17 years, without tillage. a) Carbon isotope profiles. b) Relationship between $\delta^{13}\text{C}$ and carbon concentration in the different sublayers (after BALESSENT *et al.*, 1990).

horizons contiennent ainsi des mélanges des MOS de différents âges dans des proportions proches de celles qui peuvent être rencontrées aux différentes étapes de la minéralisation du carbone du sol. On peut donc s'attendre à des relations C- $\delta^{13}\text{C}$ similaires. La figure 12 rapproche les relations C- $\delta^{13}\text{C}$ du sol n° 4 « incubé » pendant 60 ans et celles du profil du sol n° 3 – géographiquement et morphologiquement très proches l'un de l'autre –, pour montrer que ces relations peuvent être voisines. Dans les sols pédoturbés, choisir le couple C_A - δ_A qui satisfasse à la fois la relation extraite du profil sous la végétation A et les équations [1] et [2] est *a priori* un meilleur choix que de choisir une valeur δ_A dans le profil de façon arbitraire. La confiance sur cet estimateur reste cependant difficile à chiffrer.

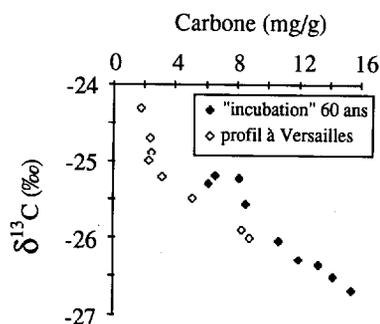


FIG. 12. – Relations C- $\delta^{13}\text{C}$ obtenues d'une part lors de l'incubation d'un sol C_3 pendant 60 ans (voir fig. 4) et d'autre part, le long d'un profil de sol C_3 dans la même région.

Two relationships between C and $\delta^{13}\text{C}$: during 60 years incubation of a C_3 soil (see fig. 4) on one hand, and along a C_3 profile in the same region, on the other.

Une solution d'avenir est l'ajustement des données par des modèles faisant appel à la fois à la dynamique du C (décomposition, transport) et aux variations isotopiques associées, y compris le changement $\delta^{13}\text{C}$ atmosphérique. Le poids des hypothèses du modèle est relativement faible dans l'estimation finale de la dynamique du C car ces hypothèses sont destinées à prendre en compte les variations du $\delta^{13}\text{C}$ autour des valeurs C_3 et C_4 , qui sont du deuxième ordre par rapport au signal exploité. L'intérêt du traceur ^{13}C est que, donnant la répartition des matières organiques nouvelles et anciennes, il permet de valider *a posteriori* ces hypothèses faites sur la dynamique du C. Cela en fait un traceur robuste.

LA PRÉCISION SUR L'ESTIMATION DU $\delta^{13}\text{C}$ DES MOS

Différentes sources d'imprécision, liées à la méthode de mesure isotopique ainsi qu'à l'échantillonnage, vont affecter l'estimation finale du $\delta^{13}\text{C}$ des MOS. On s'appuie ici sur l'analyse isotopique de parcelles cultivées françaises, pour distinguer trois composantes de l'erreur sur la mesure :

Précision sur la mesure isotopique elle-même

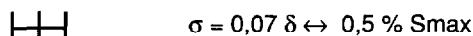
Elle a été estimée par la mesure d'un même échantillon de sol, mixte C_3 C_4 , extrait du site n° 1, répétée plus de 50 fois, au cours de plusieurs années, à partir de la même poudre. L'écart-type du $\delta^{13}\text{C}$ est de 0,07 ‰. Cet écart-type, un peu plus élevé que celui qui est obtenu sur échantillons de carbone pur, exprime l'erreur minimale sur les valeurs isotopiques de MOS dans nos conditions d'analyse. Elle représente ici 0,5 % du signal maximum du traceur.

Précision sur l'estimation du $\delta^{13}\text{C}$ des MOS sous un type de végétation.

Les matières organiques provenant d'un type unique de végétation (C_3 ou C_4) présentent une variabilité isotopique, discutée plus haut. On rend compte ici de l'effet de cette variabilité sur l'estimation du $\delta^{13}\text{C}$ d'une parcelle sous culture C_3 . La population échantillonnée est une fraction granulométrique de l'horizon Ap (0-35 cm) d'une parcelle sans maïs, extraite du site 3. Chaque individu est un prélèvement moyen de 16 trous répartis sur 10 m² et pèse 5 kg. La fraction granulométrique est obtenue sur une part aliquote de cet échantillon. Ces prélèvements ont été répétés à différents endroits et à différentes dates. La figure 13 représente l'écart-type du $\delta^{13}\text{C}$, pour trois fractions granulométriques. Pour les fractions 200-2 000 μm , l'écart-type (0,24 ‰) est trois fois plus élevé que l'écart-type minimal présenté ci-dessus. Cela signifie d'une part que cette fraction présente une variabilité isotopique naturelle plus grande que celle de la précision de l'analyse, d'autre part que les quatre étapes de l'échantillonnage (prélèvement au champ, prise d'aliquote du sol, fractionnement granulométrique, prise d'aliquote de la fraction) ne permettent pas d'obtenir un échantillon parfaitement représentatif. Pour la fraction 0-50 μm , en revanche, l'écart-type (0,09 ‰) est à peu près le même que l'écart-type minimal de la mesure.

Variabilité de la mesure isotopique

(50 mesures d'un même échantillon de sol):



Variabilité du prélèvement d'un sol C3

(différents prélèvements de l'horizon 0-35 cm d'une même parcelle):

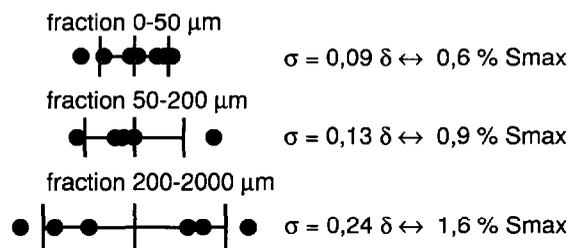


FIG. 13 – Variabilité de la mesure isotopique d'un même échantillon de sol (haut) et de différents prélèvements du même sol C₃ (bas).
Variability of the isotope ratio measurement : of the same soil sample (top), among different samplings of the same C₃ soil (bottom).

Précision dans le cas de matières organiques C₃ et C₄ en mélange.

On s'appuie ici sur la même expérimentation que ci-dessus, mais les fractions sont analysées pendant les quatre années suivant la mise en culture de maïs (fig 14). On exprime la variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ comme l'écart-type résiduel après un ajustement simple de la relation entre δ et temps. Pour la fraction 200-2000 μm (fig. 14a), cet écart-type (1,0 ‰) est près de quatre fois plus élevé que sous plante C₃. Cette variabilité est en quasi totalité due à la variabilité de ce que l'on veut mesurer ici, à savoir la proportion de produits dérivés du maïs (radicelles, petits débris de tiges et feuilles) dans notre échantillonnage. Cette source de variabilité propre à l'objet de l'étude n'est pas particulière à la méthode isotopique. Il aurait été faux de prêter aux échantillons prélevés sous maïs l'écart-type obtenu sous C₃.

Dans le cas de la fraction 0-50 μm (fig. 14b), la variabilité est à peu près la même avec ou sans maïs, indiquant que l'échantillonnage est représentatif. L'exemple de cette fraction 0-50 μm montre que l'on peut mettre en évidence une augmentation annuelle moyenne du $\delta^{13}\text{C}$ de 0,25 ‰ an⁻¹, assortie d'un intervalle de confiance à 95 % de 0,035 ‰ an⁻¹.

Limite de résolution du traceur

Elle peut être définie comme le plus petit signal — ici la plus petite proportion de carbone d'origine C₄ — que l'on puisse mettre en évidence. La connaissance de cette limite est indispensable à la

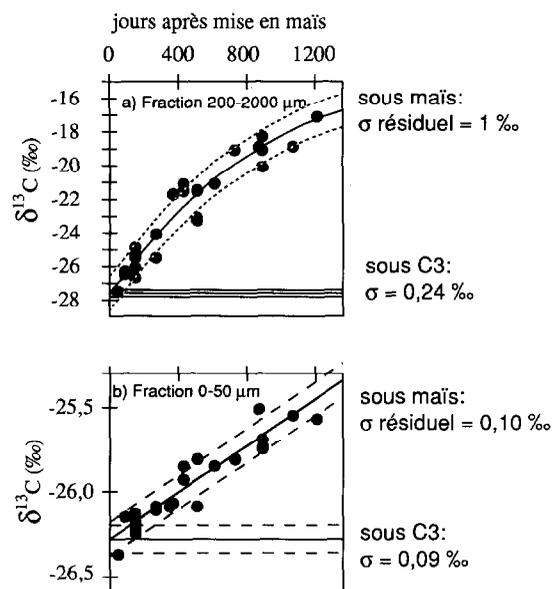


FIG. 14. – Variabilité de la mesure isotopique de différents prélèvements de l'horizon Ap d'une même parcelle au cours de 4 années de culture de maïs.
 a) Fraction 200-2000 μm . b) Fraction 0-50 μm .
Variability of the isotope ratio measurements among different samplings of the same soil during 4 years maize cultivation. a) Particle-size fraction 200-2000 μm . b) Fraction 0-50 μm .

conception et la planification d'une expérimentation faisant appel au traçage naturel ^{13}C , le risque le plus grave étant de ne pas retrouver le traceur. On a approché cette limite lors de l'estimation de la quantité de carbone d'origine racinaire ou rhizodéposé dans la fraction 0-50 μm , en octobre, à la fin de la première culture de maïs de l'expérimentation précédente (fig. 15). L'intervalle de confiance sur la différence entre 7 échantillons avec maïs et 6 échan-

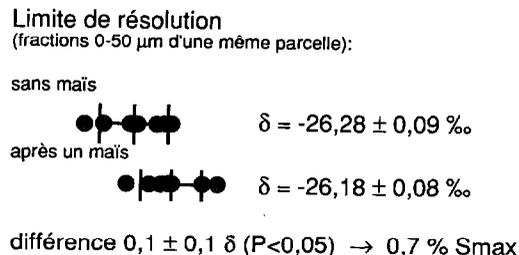


FIG. 15. – Limite de résolution du traceur $\delta^{13}\text{C}$ atteinte dans la comparaison de fractions 0-50 μm obtenues avant et après une culture de maïs.
The difference between $\delta^{13}\text{C}$ of the soil (0-50 μm -sized fraction), before and after maize growth, is equal to the limit of the tracer resolution.

tillons sans est égal à la différence elle-même : 0,1 ‰ soit 0,7 ‰ du signal maximum du traceur.

La limite de résolution est assujettie à la précision sur δ et δA . À titre indicatif, avec un écart-type de 0,15 ‰ et 5 couples d'échantillons, on obtient une limite de résolution de 1 ‰ du signal maximum (limite de rejet de l'hypothèse d'égalité des moyennes à $P < 0,05$).

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Il est préférable de ne pas interpréter isolément le $\delta^{13}\text{C}$ organique d'un sol où il y a eu changement de végétation sans sol de référence où il n'y a pas eu changement de végétation.

Si l'on s'intéresse à la partie la plus superficielle du sol, l'examen conjoint de la relation entre teneur en carbone et $\delta^{13}\text{C}$ le long du profil de référence peut améliorer l'estimation des valeurs isotopiques de référence, en particulier dans les sols où la pédoturbation est importante. L'examen conjoint des deux profils apporte plus d'informations encore.

L'interprétation du $\delta^{13}\text{C}$ des matières organiques de paléosols ou de paléohorizons doit prendre en compte la teneur en carbone. Si celle-ci est beaucoup plus faible que celle du sol d'origine — de ce que l'on peut en savoir du moins — la valeur peut résulter d'un enrichissement isotopique important par rapport à celle de la végétation initiale.

Il est souhaitable de connaître le $\delta^{13}\text{C}$ de la végétation des sites étudiés.

Dans le cas de séparations de fractions, il faut comparer chaque fraction avec la même fraction dans le sol de référence, voire dans un profil de référence.

Le sol maintenu sans plante peut apporter un bon estimateur des valeurs de référence.

Si l'on met en place une expérimentation utilisant le traceur, une simulation préalable doit permettre de chiffrer la précision qui pourra être obtenue du traceur.

Manuscrit accepté par le Comité de rédaction le 11 décembre 1992.

BIBLIOGRAPHIE

- BALABANE (M.), GALIMOV (E.), HERMANN (M.), LETOLLE (R.), 1987. — Hydrogen and carbon isotope fractionation during experimental production of bacterial methane. *Organic Geochemistry*, 11 : 115-119.
- BALESDENT (J.), MARIOTTI (A.), GUILLET (B.), 1987. — Natural ^{13}C abundance as a tracer for soil organic matter dynamics studies. *Soil Biol. Biochem.*, 19 : 255-30.
- BALESDENT (J.), MARIOTTI (A.), BOISGONTIER (D.), 1990. — Effect of tillage on soil organic carbon mineralization estimated from ^{13}C abundance in maize fields. *J. of Soil Sci.* 41 : 587—596.
- BALESDENT (J.), PETRAUD (J.-P.), FELLER (C.), 1991. — Effets des ultrasons sur la distribution granulométrique des matières organiques des sols. *Science du Sol*, 29 : 955-406.
- BALESDENT (J.), WAGNER (G.-H.), MARIOTTI (A.), 1988. — Soil organic matter turnover in long-term field experiments as revealed by the carbon-13 natural abundance. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52 : 118-124.
- BALESDENT (J.) ET BALABANE (M.), 1992. — Maize-root derived soil organic carbon estimated by natural ^{13}C abundances. *Soil Biol. Biochem.*, 24(2) : 97-101.
- BENNER (R.), FOGEL (M.L.), SPRAGUE (E.K.), HODSON (R.E.), 1987. — Depletion of ^{13}C in lignin and its implications for stable carbon isotope studies. *Nature*, 329 : 708-710.
- BLAIR (N.), LEU (A.), MUNOZ (E.), OLSEN (J.), KWONG (E.), DES MARAIS (D.), 1985. — Carbon isotopic fractionation in heterotrophic microbial metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 50 : 996-1001.
- CERRI (C.), FELLER (C.), BALESDENT (J.), VICTORIA (R.), PLENECASSAGNE (A.), 1985. — Application du traçage isotopique naturel en ^{13}C à l'étude de la dynamique de la matière organique dans les sols. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, T. 300, II, 9 : 423-428.
- DE NIRO (M.J.) ET EPSTEIN (S.), 1978. — Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geoch. Cosm. Acta*, 42 : 495-506.
- DESJARDINS (T.), VOLKOFF (B.), ANDREUX (F.), CERRI (C.C.), 1991. — Distribution du carbone total et de l'isotope ^{13}C dans des sols ferrallitiques du Brésil. *Science du Sol*, 29 (3) : 175-187.
- DZUREC (R.S.), BOUTTON (T.W.), CALDWELL (M.M.), SMITH (B.N.), 1985. — Carbon isotope ratios of soil organic matter and their use in assessing community composition changes in Curlew Valley, Utah. *Oecologia*, 66 : 17-24.
- FARQUHAR (G.D.), O'LEARY (M.H.), BERRY (J.A.), 1982. — On the relationship between carbon isotope discrimination and the intracellular carbon dioxide concentration in leaves. *Austr. J. of Plant physiol*, 9 : 121-137.
- FELLER (C.), 1979. — Une méthode de fractionnement granulométrique de la matière organique des sols. Application aux sols tropicaux à textures grossières, très pauvres en humus. *Cah. Orstom, sér. Pédologie*, XVII, 4 : 339-346.
- FLEXOR (J.M.), VOLKOFF (B.), 1977. — Distribution de l'isotope stable ^{13}C dans la matière organique d'un sol ferral-

- litique de l'État de Bahia, *C. R. Acad. Sci. Paris, Série D*, 284 : 1655-1657.
- FRANCEY (R.J.), FARQUHAR (G.D.), 1982. – An explanation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in tree rings. *Nature*, 297 : 28-31.
- GUILLET (B.), FAIVRE (P.), MARIOTTI (A.), KHOBZI (J.), 1988. – The ^{14}C dates and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of soil organic matter as means of studying the past vegetations in intertropical regions : examples from Columbia (South America). *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*, 65 : 51-58.
- KRISHNAMURTHY (R.V.), BHATTACHARYA (S.K.), 1989. – Paleovegetational history in the Kashmir basin, India, derived from $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio in paleosols. *Earth and Planetary Science Letters*, 95 : 291-296.
- LADYMAN (S.J.), HARKNESS (D.D.), 1980. – Carbon isotope measurements as an index of soil development. *Radiocarbon*, 22 (3) : 885-891.
- MARINO (B.D.), MAC ELROY (M.B.), 1991. – Isotopic composition of atmospheric CO_2 inferred from carbon in C_4 plant cellulose. *Nature*, 349 : 127-131.
- MARTIN (A.), MARIOTTI (A.), BALESDENT (J.), LAVELLE (P.), VOUATTOUX (R.), 1990. – Estimates of the organic matter turnover rate in a savanna soil by the ^{13}C natural abundance. *Soil Biol. Biochem.*, 22 : 517-523.
- MARTIN (A.), MARIOTTI (A.), BALESDENT (J.), LAVELLE (P.), 1992. – Utilisation of the ^{13}C natural abundance as a tracer for the study of the soil organic matter assimilation by a tropical geophagous earthworm. *Ecology*, 73 (1) : 118-128.
- NISSENBAUM (A.), KAPLAN (I.R.), 1972. – Chemical and isotopic evidence for the *in situ* origin of marine humic substances. *Limnology and Oceanography*, 17 : 570-582.
- O'BRIEN (B.J.), STOUT (J.D.), 1978. – Movements and turnover of soil organic matter as indicated by carbon isotopes measurements. *Soil Biol. Biochem.*, 10 : 309-317.
- SCHWARTZ (D.), MARIOTTI (A.), LANFRANCHI (R.), GUILLET (B.), 1986. – $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of soil organic matter as indicator of vegetation changes in the Congo. *Geoderma*, 39 : 97-103.
- SKJEMSTAD (J.O.), LE FEUVRE (R.P.), PREBBLE (R.E.), 1990. – Turnover of soil organic matter under pasture as determined by ^{13}C natural abundance. *Austr. J. of Soil Res.*, 28 : 267-276.
- SMITH (B.N.), EPSTEIN (S.), 1971. – Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. *Plant Physiology*, 47 : 380-384.
- STUIVER (M.), BRAZIUNAS (T.F.), 1987. – Tree cellulose $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratios and climatic change. *Nature*, 328 : 58-60.
- TROUVÉ (C.), 1992. – *Apports de la géochimie isotopique ($\delta^{13}\text{C}$) à l'étude du renouvellement des matières organiques et des sucres neutres dans les sols tropicaux soumis à des changements d'écosystème*. Th. Univ. Orléans (France), 101 p.
- VITORELLO (V.A.), CERRI (C.C.), ANDREUX (F.), FELLER (C.), VICTORIA (R.L.), 1989. – Organic matter and natural carbon-13 distribution in forested and cultivated oxisols. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53 : 773-778.