République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique

Université COLONEL El-HADJ LAKHDR de Batna

Faculté des sciences

Département d'Agronomie

MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de Magister en Sciences Agronomiques

Option : Agrotechnie

Présenté par : Bouhidel Ilhem

Etude expérimentale de l'influence de gypse sur la minéralisation de l'urée et la cinétique d'absorption

Devant la commission d'examen :

T. Saadoun	Prof. Université de Batna	Président
A. Halitim	Prof. Université de Batna	Rapporteur
R. Bensaid	M.C. Université de Batna	Examinateur
H. Bouzerzour	Prof. Université de Sétif	Examinateur

Année universitaire : 2005/2006

REMERCIMENTS

Au terme de cette étude, je remercie avant tout, Dieu tout puissant de m'avoir guidé durant toutes mes années de formation et m'avoir permis la réalisation de ce présent travail.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à M^{r} HALITIM A., mon encadreur, qui a bien voulu, par son aimable bienveillance, diriger ce travail qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.

Mes remerciements les plus profonds à mon enseignant M^{r}. SAADOUN T., professeur à l'institut d'agronomie de Batna pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury.

Mes plus grands respects à M^{r} BENSAID R. et M^{r} BOUZERZOUR H., qui ont bien voulu faire part de jury pour examiner mon travail.

Je tien aussi à adresser mes remerciements à monsieur BENSID Z., pour sa bienveillance, ces précieux conseils et ces encouragements.

Mes remerciements vont également aux techniciens de laboratoires : Noureddine, Pitchou, Abbes, , Amor, Hamid et surtout Rahima, pour leurs aides.

Je remercie infiniment mon mari BELAALA J. enseignant à l'institut de Génie Industriel à l'université de Batna pour son aide durant toutes ces années et ses conseils et aides morales.

Ma gratitude particulière s'adresse à ma meilleure amie SABAH pour tout ce qu'elle a pu me partager durant mes 4 ans de Magister.

Enfin je remercie tous ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin à réaliser ce travail.

Ilhem B.

INTRODUCTION

En Algérie, les sols sont pour la plupart calcaires, gypso-calcaires et gypseux, largement répandus dans les régions arides et semi-arides (Pouget, 1968) là où les facteurs de leur formation sont réunis (présence de formation gypsifère, évaporation supérieure aux précipitations), comme on peut les rencontrer également dans les régions humides et dans les dépressions (Djili, 2000). En faibles quantités, le gypse a un effet positif sur les propriétés du sol et peut jouer un rôle d'amendement et d'engrais (apport d'ion Ca^{++} et $SO4^{--}$) pour la croissance des plantes, par contre, à des taux élevés, il affecte non seulement la croissance et le développement des plantes ; mais influence également la transformation et la disponibilité des éléments nutritifs pour les plantes (Stoops, 1981 ; Nedjahashemi et al., 2000 ; Feldhake et al., 2001 ; Silva et al., 2002 et Villa-Castorena en 2003).

De tous les éléments nutritifs des plantes, l'azote est sans doute celui qui fait l'objet des études les plus poussées et qui, aujourd'hui préoccupe bon nombre de chercheurs. Et il y a de bonnes raisons à cela. Il est d'une part l'élément fertilisant le plus utilisé par les végétaux et qui joue un grand rôle dans la nutrition des plantes cultivées ; c'est un des éléments majeurs de la croissance des plantes. Il rentre dans la constitution de la plupart des composés organiques (acides aminés, protéines, chlorophylle). D'autre part l'azote est fort peu abondant dans le sol et la quantité que les plantes cultivées en retirent chaque année est relativement grande. La carence ou l'excès d'azote entraînent une chute de rendement des plantes cultivées

Le cycle de l'azote dans le système sol-plante-atmosphère est constitué par un grand nombre de transformations physico-chimiques et biologiques. L'azote du sol est présent sous différentes formes : azote organique qui constitue la majeure partie de l'azote contenu dans un sol agricole (en moyenne 3 à 5 tonnes par hectare pour l'horizon labouré), azote sous forme minérale (ammonium, nitrite et nitrate) qui ne représente dans le sol que quelques dizaines de kg par hectare en dehors des périodes

d'apport d'engrais ou d'amendements organo-minéraux et enfin, azote gazeux (azote moléculaire, ammoniac, oxydes d'azote). La plupart des transformations de l'azote dans les sols sont sous le contrôle de microflores plus ou moins spécifiques (fixation, minéralisation, organisation, dénitrification), les formes minérales pouvant être considérées comme la plaque tournante d'une grande partie de ces processus (Recous et al., 1997).

La plupart des travaux (*Greaves, 1916 ; Greaves et* al. *; 1919 ; Gerei et* al*., 1972 ; Singh et Taneja, 1977 ; Hadas et* al*., 1986 ; Herrero et Porta, 1987; Singh,1999 ; Subbiah et al., 2000* ; *Amitabha, 2000 ; Badia, 2000 ; Badia et Marti, 2000)* montrent que l'azote en présence de gypse est soumis à diverses contraintes physiques et physico-chimiques, la teneur en azote assimilable diminue quand le taux de gypse augmente. Pour confirmer ou infirmer ces constatations, nous nous sommes proposés d'étudier expérimentalement l'influence de gypse sur la minéralisation de l'azote du sol ou provenant de l'engrais apporté sous forme d'urée dans le système sol-plante ainsi que la cinétique d'absorption de l'azote et le devenir de cet engrais azoté organique, en présence de la plante du ray grass. Cette minéralisation est le processus essentiel qui enrichit le sol en azote assimilable (ammoniacal et nitrique) indispensable à la bonne croissance et au bon développement des végétaux

Ce travail pourrait avoir des applications intéressantes dans la mise en valeur des sols gypseux, surtout dans le domaine de la fertilisation azotée qui constitue un facteur non négligeable pour l'amélioration des rendements et l'augmentation de la production.

Cette étude se propose d'analyser l'influence de gypse sur la minéralisation de l'azote du sol et de l'urée d'une part et sur le rythme d'absorption par une plante test « le ray grass d'Italie » d'autre part.

Pour cela, notre travail s'articulera sur trois parties :

1/ La première porte sur une étude bibliographique.

2/ La deuxième partie est consacrée au matériels et méthodes utilisées

3/ Dans la dernière, nous avons présenté et interprété les résultats obtenus

Première partie

Etude Bibliographique

CHAPITRE I : L'AZOTE DANS LE SOL

1/Généralités sur l'azote

1.1/ Définition

C'est l'élément chimique de numéro 7, de symbole"N"et de masse atomique 14.06 g. C'est l'élément le plus léger du groupe V du tableau périodique. Il est incolore, inodore et insipide, et il existe dans la nature sous deux états (FNIE, 1986).

- *A l'état moléculaire (N_2), dans l'air dont il représente 4/5 (78* **%)**
- *A l'état combiné, sous forme minérale (ammoniacal et nitrique) ou organique.*

L'azote comme le potassium et le phosphore et à un degré moindre le Soufre constitue un élément majeur d'où sa grande influence sur les niveaux de rendement des espèces cultivées. C'est pour cette raison qu'il est nommé traditionnellement " le pivot de la fumure" (Duthil, 1973).

1.2/ Découverte et historique

C'est vers la fin du 18^{éme} siècle plus précisément au Chili, que les agriculteurs ont constaté que l'adjonction de certains sels naturels extraits des mines (nitrates de Chili) rendait la fertilité à la terre et augmentait la production de plus du double.

Un siècle plus tard, les savants ont découvert que l'élément efficace qui accroît la fertilité par l'emploi de sel est l'azote, Rutherford, Priestley, Cavendish, Schele et Lavoisier au 18ème siècle ont joué un rôle important dans sa découverte et son identification. Les Allemands Haber et Bosch ont pu de 1908 à 1912, créé un gaz d'ammoniac à partir de l'azote de l'air (Nitrogène) et l'hydrogène. Depuis, la fabrication artificielle des sels d'ammoniac NH_3 est devenue la plus importante des industries chimiques pour la production des engrais azotés.

1.3/ Rôle et importance de l'azote

L'azote, élément plastique, qui occupe le premier rang des éléments fertilisants dans la composition des végétaux.

L'importance de l'azote en tant que facteur de production végétale relève pas seulement par un pourcentage élevé mais plus encore du rôle exceptionnel dévolu aux substances azotées (Duthil, 1973) :

- Dans le cytoplasme et les organites, les protéines développent une surface considérable (1 mg occupe 1,7 m^2) et portent de nombreuses charges ce qui contribue à organiser le métabolisme;
- C'est par leur partie protéique que les enzymes peuvent se lier aux substrats et jouer ainsi un rôle catalytique;
- Les matières azotées jouent un rôle de réserve nutritive et peuvent être utilisées comme substrat respiratoire, en particulier à la germination;
- Les acides nucléiques, clefs de la fabrication de la matière vivante et localisation de l'information génétique, contiennent des bases azotées (puriques et pyrimidiques). Ils sont eux-mêmes responsables de la synthèse des protéines;
- C'est un des principaux constituants de la chlorophylle qui commande l'opération de la photosynthèse.

1.4/ Excès et carences d'azote

L'excès d'azote dans le sol provoque :

* un développement végétatif intense. Les plantes prennent une couleur vert foncé presque noire. Si ce déséquilibre se maintient dans le temps, on assiste à un retard dans la maturation des grains et à un ralentissement dans l'accumulation des réserves (Diehl,1975).

*Diminution de la solidité des tiges, ce qui entraîne la verse des céréales (Jean-Prost, 1971). Dans les cas graves, il provoque la chlorose des bords des feuilles jusque entre les nervures tendant vers la nécrose et le dessèchement (Le Poutre, 1963 ; Lemaire et al,1989).

*Sensibilisation à la coulure (absence de fécondation des fleurs) et aux maladies cryptogamiques (Jean-Prost, 1971).

*Un excès de pression osmotique et un flétrissement (Lemaire et al, 1989).
*Affaiblissement de la croissance des racines et une nécrose racinaire.

* une addition excessive de l'azote peut nuire à la qualité de l'environnement aussi par la pollution des nappes phréatiques dues aux nitrates lixiviées par les eaux de ruissellement et du drainage.

La carence en azote, au contraire, se traduit par une réduction de taille et une teinte vert jaunâtre. Les végétaux prennent un port dressé. Les bourgeons se développent mal ou n'évoluent pas; chez les céréales, la réduction du tallage est particulièrement nette (Diehl, 1975). Les racines apparaissent très longues, peu ramifiées et blanches (Lemaire et al., 1989) et la carence en azote peut aussi causer non seulement des coulures mais entraîner la production de fruits plus petits, plus précoces et plus colorés

1.5/ Différentes formes de l'azote dans les sols

1.5.1/Azote total

C'est l'ensemble de toutes les formes d'azote minéral et organique présentes dans un échantillon de sol, excepté l'azote gazeux (essentiellement représenté par le N_2 de l'air).

L'azote total représente un pourcentage variant dans de larges limites. Sa teneur en sol cultivé est comprise entre 0.1 et *0.5 %.* Les abaques de fertilité, que rapportent (Calvet et Villemin, 1986) concernant 1'azote total permettent de séparer:

- *Sol très pauvre avec N < 0.05 %*
- *Sol pauvre avec 0.05 > N > 0.1 %*
- *Sol moyen avec 0.1 > N > 0.15 %*
- *Sol riche avec 0.l5 > N> 0.25 %*
- *Sol très riche avec N > 0.25 %*

1.5.2/Azote organique

C'est celui qui est intégré à des macromolécules organiques plus ou moins complexes résultant de la décomposition des matières végétales, animales ou microbiennes (protéines, acides nucléiques, amino-sucres, formes complexées avec la lignine, etc.). C'est également celui qui compose la biomasse vivante du sol (micro-

organismes). D'après Hébert (1979), l'azote organique représente plus de *95* %' de l'azote total, dans la plupart des sols. Ces formes ne sont généralement pas assimilables sauf les très petites molécules, par exemple l'urée.

1.5.3/Azote minéral

C'est la somme de l'azote nitrique et de l'azote ammoniacal. Ces deux formes sont présentes dans la solution du sol et facilement extractibles au laboratoire. Les autres formes minérales, comme NO_2, sont négligées (Baize, 1998).

***Azote ammoniacal**

Azote présent sous forme de l'ion ammonium (NH_4^+). Certains ions ammonium sont associés de façon échangeable au complexe adsorbant; d'autres sont fixés sur les minéraux argileux mais non échangeables. L'azote ammoniacal non fixé est peu assimilable directement par les plantes mais, pour une part, il se transforme rapidement en azote nitrique **(nitrification).**

***Azote nitrique**

Azote présent sous forme de nitrates (NO_3^-). C'est une forme très aisément disponible pour l'absorption par les racines des plantes. Il s'agit d'anion non retenu par le complexe adsorbant, donc facilement entraînés vers la profondeur. La teneur est très variable au cours de l'année. En fonction des flux entrants (nitrification, fertilisation, pollutions) et sortants (nutrition, lixiviation).

1.5.4/ Autres formes

Azote N_20 (oxyde nitreux) et azote gazeux N_2. Ces molécules sont formées par **dénitrification** sous l'action de certaines familles de micro-organismes. D'après Morel (1996) cette dénitrification existerait dans tous les sols cultivés suite à l'action de la microflore dénitrifiante dans de nombreux micro-sites. Elle interviendrait aussi en conditions particulières affectant l'ensemble du solum ou au moins certains horizons, par exemple une anoxie complète en présence de carbone organique (sols hydromorphes — d'où le rôle majeur des zones humides dans la dénitrification naturelle des eaux). La dénitrification provoque des pertes d'azote sous forme gazeuse vers l'atmosphère (Baize, 1998).

CHAPITRE II : DYNAMIQUE DES TRANSFORMATIONS DE L'AZOTE DE L'ENGRAIS (L'UREE)

Introduction

La transformation de l'urée en azote assimilable par les plantes dépend d'un ensemble de processus biologiques et non biologiques du milieu sol et ses interactions avec les microorganismes qu'il héberge. L'ensemble des processus microbiens du sol joue un rôle de premier ordre sur le plan agronomique, car régissant d'une part les gains et les pertes en azote, d'autre part la teneur en azote assimilable. Ces processus microbiens sont : l'hydrolyse, l'ammonification, la nitrification, la dénitrification, l'immobilisation et la fixation de l'azote atmosphérique.

Parmi les processus de nature non biologique, il y a la volatilisation, le lessivage, la fixation par les argiles et la matière organique.

Les facteurs abiotiques : humidité, température, le pH, l'aération, le rapport C/N, les éléments minéraux conditionneront le déroulement de l'ensemble des processus biologiques et non biologiques.

L'étude de la minéralisation de l'urée présente, sur le plan agronomique, un intérêt certain, car il s'agit d'un engrais fréquemment employé.

1/ Nature et propriétés de l'urée

L'urée est un corps du groupe des amides ; de formule $CO\begin{smallmatrix}\nearrow NH_2\\ \searrow NH_2\end{smallmatrix}$ qui dose 46% d'azote uréique, c'est l'engrais le plus concentré, commercialisée en petites perles de 1 à 2 mm de diamètre, d'où le nom de perlurée qui lui est donné, sa densité est faible : 50 Kg occupent un volume de 68 à 73 litres (Eliard, 1979 ; Gros, 1979 ; F.A.O, 1987).

L'urée dans les tests d'identification des engrais, est soluble dans l'eau, chauffée au fond d'un tube à essai dégage une odeur d'ammoniac (Gros, 1979).

L'urée synthétique contient toujours un petit pourcentage de biuret $NH(CONH_2)_2$,, produit toxique pour la végétation (qui ne l'est pas pour les animaux) (Gros, 1979 ; Eliard, 1979), mais divers microorganismes assurent la biodégradation de cette substance, il n'y a aucun risque d'accumulation (Dommergues et Mangenot, 1970 ; F.A.O, 1987).

D'après (Eliard, 1979 ; Gros, 1979) ; l'urée présente deux particularités :

*Tant que l'urée n'est pas hydrolysée, elle descend dans le sol comme un nitrate, non retenue par le pouvoir absorbant. Une fois hydrolysée elle se comporte comme un engrais ammoniacal.

*L'utilisation de l'urée par la plante nécessite l'action préalable d'une diastase microbienne, l'uréase, une bonne activité microbienne et une teneur suffisante en humus favorisant l'hydrolyse.

2/ Dynamique de l'urée dans le sol

2.1/ La minéralisation de l'urée

2.1.1/ Hydrolyse et ammonification de l'urée

2.1.1.1/ Définition

L'ammonification, est le processus de dégradation totale des composés organiques azotés (protéines, acides nucléiques…), qui conduit à la libération dans le milieu d'azote ammoniacal. Le clivage des molécules est réalisé par des enzymes spécifiques synthétisées par les microorganismes du sol.

L'urée est un des produits intermédiaires de la minéralisation, issus de la dégradation des acides nucléiques. Son hydrolyse produit des ions ammonium et des carbonates. Cette hydrolyse n'a lieu qu'en présence d'un catalyseur, l'uréase, enzyme produite par les micro-organismes et naturellement présente dans le sol (Duthil, 1973 ; Gros, 1979). L'activité de l'uréase est très variable d'un sol et d'un climat à l'autre : Bremner et Mulvaney (1978) cité par Genermont (1996) ont montré qu'elle pouvait varier, sur l'ensemble des conditions environnementales rencontrées, de 0 à 2964µg d'urée hydrolysée par heure et par gramme de sol. Elle est proportionnelle à la concentration en urée de la solution du sol (Overrein et Moe, 1967 in Genermont, 1996) et est stimulée par un apport d'urée (Roberge et Knowles, 1967 ; Paulson et Kurt, 1969 in Génermont, 1996)

L'hydrolyse de l'urée est un phénomène assez rapide : 3 à 4 jours dans les sols pourvus en matière organique ayant une activité biologique normale, plus lent (7 à 8 jours) dans les sols pauvres, biologiquement peu actifs ou très acides, ou encore par temps froid et sec (Gros, 1979).

D'après (Bremner et Mulvaney, 1978 in Genermont, 1996) ; l'uréolyse peut s'étaler sur des périodes variables selon les conditions pédoclimatiques, on compte en général 24h avant qu'elle ait lieu de manière significative, et quelques jours pour

qu'elle soit complète (Thomas et *al.*, 1988 dans Genermont,1996) (24h pour Ball et Ryden, 1984 et de 5 à 10 jours pour Duthil, 1973).

L'urée non hydrolysée soluble descend dans le profil comme un nitrate, peut être un avantage pour mettre de l'azote en profondeur, mais cela peut être un inconvénient en cas de fortes pluies après l'épandage (Gros, 1979). Lorsqu'elle est hydrolysée, elle reste fixée sous forme ammoniacale par le complexe adsorbant du sol ; NH_4 échangeable qui va être nitrifié si les conditions pédo-climatiques sont favorables.

2.1.1.2/ Microflore ammonifiante :

Les microorganismes intervenant dans le processus d'ammonification sont très nombreux. Les conditions écologiques sont extrêmement variées d'une espèce à une autre.

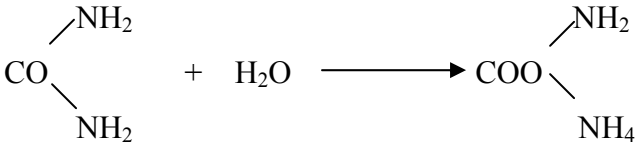
Parmi les bactéries ammonifiantes les plus connues, on cite les genres suivants : Achromobacter, Bacillus, Clostridium, Flavobacter, Micrococcus, Pseudomonas, Protaminobacter, Serratia, Proteus (Dommergues et Mangenot, 1970).

Les champignons également ont le même pouvoir ammonifiant, en particulier les moisissures. Les actinomycètes tels que le genre Streptomyces possèdent souvent l'équipement enzymatique leur permettant de dégrader l'azote organique.

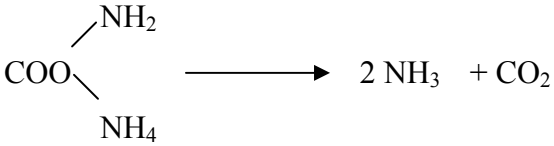
2.1.1.3/ Biochimie de l'ammonification de l'urée :

Divers réactions complexes se produisent au cours de l'ammonification dans le sol fournissant le substrat primaire des microorganismes de la nitrification (Morel, 1996).

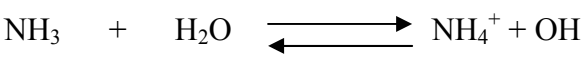
Au début, l'hydrolyse de l'urée aboutit à la formation de carbamate grâce à l'enzyme uréase secrétée par les microorganismes du sol. (Dommergues et Mangenot, 1970, Lasnier-Lachaise, 1973 ; Eliard, 1979 ; Genermont, 1996) :



Après la formation de carbamate, il se produit une réaction de décarboxylation:



NH_3 ionisé en NH_4 suivant la réaction :



L'ionisation de NH_3 se fait partiellement et on a la formation de NH_4OH- NH_4OH qui est la forme de pénétration des ions ammonium dans la plante (Mazliak, 1974).

Une humidité suffisante est nécessaire pour que la réaction d'ionisation puisse se faire. Si la teneur en eau du sol est insuffisante, NH_3 sera perdu par volatilisation. (Tremblay et al, 2001 ; Gregorich, 2003).

NH_3 aqueux $\rightleftharpoons$ NH_3 gazeux.

Le devenir de NH_4^+ effectivement libéré par ammonification de l'urée est multiple:

- Une partie de l'ammoniac libéré peut être immobilisée par la microflore qui préfère l'NH_4^+ à l'azote nitrique.
- Une fraction est oxydée en nitrite et nitrate par les microorganisme nitrifiants en fonction de type de sol, pH, température et l'aération (Pochon et Barjac, 1958).
- Une partie est utilisée par les plantes supérieures.
- Une fraction se dégage dans l'atmosphère sous forme libre par volatilisation.
- Une partie peut être entraînée donc lixiviée par les eaux de pluie vers la profondeur.
- Une partie peut être fixée sur les minéraux argileux (rétrogradation) (Genermont, 1996).
- L'ammoniac peut être fixé par la matière organique du sol pour former des composés très stables (réversion non biologique Broadbent et Nakashima, 1971).

2.1.1.4/ Facteurs influençant l'ammonification de l'urée

L'hydrolyse de l'urée dépend de l'humidité du sol, de la texture du sol, du pH et surtout de la température.

a /pH

L'influence du pH se fait sentir non seulement sur le choix des microorganismes ammonifiants mais également sur le rendement de l'ammoniac produit. Une acidité favorise les champignons et l'alcalinité est favorable aux bactéries (Renault, 1958).

Dans les sols modérément acides, l'urée ne laisse aucun ion acide dans le sol et que l'ammoniac libéré lors de l'hydrolyse relève provisoirement le pH de ½ point environ. (Gros, 1979).

Les pH très bas (inférieur à 4) sont défavorables à l'ensemble du processus d'ammonification (Renault, 1958).

Le pH modifie également la rétention de l'azote ammoniacal par le complexe argilo-humique. D'après Nommik et Vahtas (1982) cité par Genermont (1996), la fixation chimique de l'ammoniac par la matière organique est d'autant plus élevé que le sol est acide. Cependant Freney et al. (1981) in Genermont (1996)

rapportent des résultats différents : pour des pH basiques, la fixation de NH_3 par la matière organique est favorisée, alors que pour des pH acides, c'est l'adsorption sur les minéraux argileux qui est favorisée ; ces résultats semblent refléter simplement la dominance dans la solution de sol des ions ammonium pour des pH faibles et de l'ammoniac aqueux pour des pH élevés.

b/ Température

L'ammonification se produit dans une gamme de températures plus étendue que la nitrification. Elle commence à des températures basses voisines de 0°C et peut se poursuivre au-delà de 42°C (Vanslyke et Gullen, 1914 ; Bremner et Mulvaney, 1978 ; Sahrawat, 1984 dans Genermont, 1996).

En climat tempéré, on compte en général 24h, pour que l'hydrolyse de l'urée commence et quelque jours pour qu'elle soit complète (Thomas et al., 1988) . Dans des terres froides, l'hydrolyse de l'urée est généralement retardée, d'où une action plus tardive de l'azote (Gros, 1979). La transformation de l'urée est maximale à une température de 30°C (Tab. 1). Celle-ci se produit environ quatre jours suivant l'application au champ. Cette transformation est synchronisée avec la température, et par conséquent la croissance des cultures. En printemps froid, les plantes sont au ralenti et une petite partie de l'urée se transforme. Puis, les plantes sont en pleine croissance et la totalité se transforme. Cette transformation devient un avantage, car elle permet à l'urée d'avoir une grande fenêtre d'application. Conséquemment, l'urée peut être appliquée très tôt au printemps (Gros, 1979).

Tableau 1: Les températures de transformation de l'urée en NH_4^+

Températures versus transformation de l'urée en NH_4^+	
30 °C	100 % de transformation
20 °C	80 % de transformation
15 °C	50 % de transformation
10 °C	20 % de transformation
5 °C	10 % de transformation
-15 °C	Aucune transformation

(Gregorich, 2003)

c/ Humidité

Le facteur humidité du sol joue essentiellement sur la diffusion de l'urée dans le sol et sur son hydrolyse. Plus le sol est humide et plus il y a formation de NH_3,

le sol doit être à une humidité proche de la capacité au champ, pour qu'il y ait ammonification maximale (Delaume et Patrick, 1977 ; Ferguson et Kissel, 1986 ; Black et *al*., 1987 dans Genermont, 1996).

L'ammonification serait favorisée par les cycles de dessèchement-réhumectation du sol à cause de la forte mortalité des microorganisme lors du dessèchement, qui sont utilisés par les microorganisme encore vivants lors de la réhumectation « Flush effect » (Genermont, 1996).

d/ Le rapport C/N

La disponibilité de l'azote après ammonification de l'urée est influencée par le rapport C/N du sol. Lorsque le rapport C/N est supérieur à 30, il se produit une immobilisation importante de l'ammoniac libéré. Entre 20 à 30 il y a mi-immobilisation, mi-minéralisation de l'ammoniac et lorsque le rapport C/N est inférieur à 20, il y a minéralisation de NH_3.

Le rapport C/N n'influe pas sur le freinage de l'attaque de l'urée et de la matière organique du sol mais sur la réorganisation de l'NH_3 libéré. Il traduit un équilibre entre les phénomènes de décomposition et les phénomènes de synthèse microbienne dans le sol (Hebert, 1979).

2.1.2/ Nitrification de l'urée

2.1.2.1/ Définition

La nitrification est l'oxydation biologique de l'azote ammoniacal en nitrites (NO_2^-) puis en nitrates (NO_3^-). Phénomène général dans tous les sols normalement aérés, il est complémentaire des processus de minéralisation et concerne également la transformation des engrais ammoniacaux. (Hebert, 1979 ; Stengel et Gelin, 1998 ; Morel, 1996).

Après transformation de l'urée en NH_4, si les conditions écologiques sont favorables, ce dernier est oxydé en nitrate. C'est sous cette forme que l'azote est préférentiellement utilisé par la majorité des végétaux supérieurs. Sous cette forme également il est soumis à des processus biologiques et non biologiques qui aboutissent à une perte en azote souvent importante par le sol : la dénitrification et la lixiviation (Tremblay et al, 2001).

La nitrification de l'azote uréique pendant les dix premiers jours ne concerne que de faibles quantités par rapport à la volatilisation. La nitrification n'a généralement que peu d'effet sur les pertes totales par volatilisation d'ammoniac, car elle n'apparaît

que quelques jours après le début de la volatilisation, c'est-à-dire quand la majorité des pertes a déjà eu lieu (Whitchead et Raistrick, 1993 in Genermont, 1996).

2.1.2.2/ Espèces bactériennes nitrifiantes

Elles assument la chaîne réactionnelle suivante :

$NH_4^+ \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NO_3^-$.

Nitroso-bactéries Nitro-bactéries

Deux microflores spécifiques sont responsables de cette oxydation. La première, autotrophe, est responsable de la majorité de la nitrification. Les principales bactéries sont Nitrosomonas et Nitrosolobus (bactéries nitritantes), et Nitrobacter (bactéries nitratantes). Ces bactéries ne nitrifient qu'en conditions d'aérobiose stricte (Van Burg et *al.*, 1982).

La deuxième population microbienne impliquée dans la nitrification est hétérotrophe. Sa constante de vitesse est 100 à 200 fois plus faible que celle de la population autotrophe. En revanche, elle peut être active dans des sols acides, où la microflore autotrophe est moins active (Génermont, 1996).

2.1.2.3/ Biochimie de la nitrification

a/ ***les microorganismes autotrophes nitrificateurs*** tirent toute l'énergie qui leur est nécessaire dans l'oxydation de l'ion ammonium. L'oxygène est l'accepteur final d'électrons. (Mangenot et Dommergues, 1970 ; Morel, 1996)

****1^{ére} phase (nitritation)***

$NH_4^+ + 3/2\ O_2 \longrightarrow NO_2^- + H_2O + 2H^+ + 63{,}8$ Kcal

Cette oxydation se fait en trois étapes pour chacune d'elle il y a perte de deux électrons et deux protons.

$$NH_4OH \xrightarrow{-2H} NH_2OH \xrightarrow{-2H} (NOH) \xrightarrow[+H_2O]{-2H} NO_2H$$

****2^{éme} phase (nitratation)***

$NO_2^- + ½\ O_2 \longrightarrow NO_3^- + 17{,}5$ Kcal.

On ne connaît pas de produits intermédiaires ; le mécanisme consisterait en une déshydrogénation de l'ion NO_2^- qui se trouve sous forme hydratée.

$$HNO_2 \xrightarrow{+H2O} HON(OH)_2 \xrightarrow{-2H} HNO_3$$

b/ les microorganismes hétérotrophes nitrificateurs sont incapables d'utiliser la réaction d'oxydation comme seule source d'énergie pour leur synthèse cellulaire. Pour ces germes la présence de matière organique est indispensable pour la nitrification de NH_4 provenant de l'hydrolyse de l'urée.

Parmi les hétérotrophes on distingue deux groupes :

- Ceux qui oxydent NH_4 en NO_2^-. Ils sont les plus répondus chez les bactéries et les actinomycètes : Achromobacter, Corynebacterium, Nocardia, Agrobacterium, Alcaligenes (Dommergues et Mangenot, 1970).
- Ceux qui oxydent l'azote jusqu'au stade NO_3^-, ils sont peu nombreux. L'espèce la plus anciennement connue est *Aspergillus flavus* (Schmidt, 1960 cité par Dommergues et Mangenot, 1970).

2.1.2.4/ Facteurs de la nitrification dans le sol

a/ La présence de CO_2 ou de carbonates

Les bactéries nitrifiantes autotrophes utilisent seulement le carbone du gaz carbonique et des carbonates (Morel, 1996 ; Recous et *al.*,1996). On incorpore souvent aux milieux de culture du carbonate de calcium. L'intérêt de cette adjonction ne réside pas dans le fait qu'elle apporte du Ca, puisque cet élément ne semble pas indispensable à la croissance des bactéries nitrifiantes ; l'utilité du carbonate de calcium provient simplement de ce qu'il constitue une source de carbone (en même temps que le CO_2) et qu'il tamponne le milieu (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Recous et *al.*, 1996 ; Stengel et Gelin, 1998).

b/ La présence d'oxygène

Les bactéries autotrophes nitrifiantes sont des microorganismes aérobies stricts.. La production de nitrates est donc ralentie par des faibles tensions d'oxygène ; mais l'est également par des tensions anormalement élevées (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Van Burg et *al*., 1982 ; Recous et *al*., 1996).

D'après Morel (1996), la nitrification augmente jusqu'au taux de 20% environ (Fig. 1) et elle disparaît en milieu anaérobie (Stengel et Gelin, 1998).

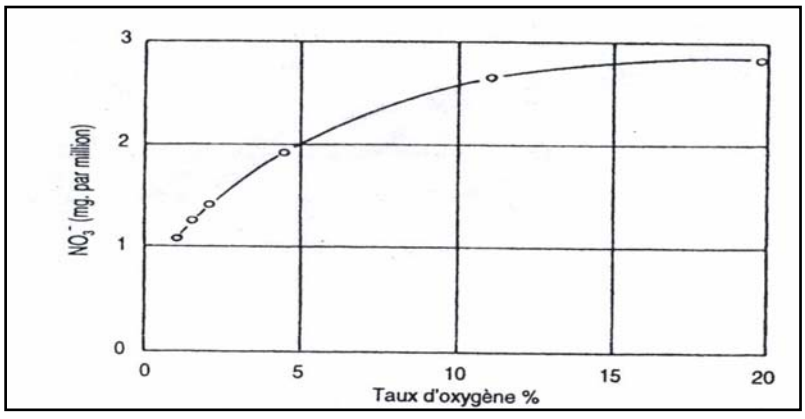


Figure 1: Production de nitrate après 21 jours d'incubation dans des atmosphères contenant différents taux d'oxygène (Morel, 1996)

c/ Présence d'ions d'ammonium NH_4^+ :

Le substrat ammoniacal joue un rôle déterminant dans le processus de nitrification. Cette dernière est augmentée après un apport d'urée, par augmentation de la concentration en azote ammoniacal des sols et des populations de microorganismes nitrifiants (Griffith, 1989 in Genermont, 1996). Cependant, en présence de fortes concentrations en azote ammoniacal (870 µg N-NH_4/g de sol), elle peut être inhibée (Mahli et McGill, 1982 in Genermont, 1996 ; Recours et *al.*, 1996). Par conséquent la technique de fertilisation (en ce qui concerne la dose à apporter et le mode d'épandage des engrais) doit tenir compte de l'effet d'inhibition des fortes concentrations ammoniacales sur les microorganismes nitrificateurs (Dommergues et Mangenot, 1970).

d/ La réaction du sol :

Dans le sol, le maximum d'activité des nitrificateurs se situe entre les pH 6,8 et 9 ; au dessous de pH 4,5, cette activité devient négligeable (Morel, 1996 ; Davet, 1996). Au-dessus du pH 9, la nitrification diminue rapidement (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Recous et *al.*, 1996).

Dans la plupart des sols neutres, la nitrification est suffisamment rapide pour que la forme ammoniacal ne soit observée qu'après l'apport d'engrais ammoniacaux (Stengel et Gelin, 1998). Par ailleurs, le bilan de charges de la réaction montre que la réaction de la nitratation libère des protons qui induit une diminution du pH du sol. Elle peut ainsi limité la volatilisation en fin de période (Stengel et Gelin, 1998). Elle peut s'accompagner aussi d'une émission de protoxyde d'azote, formé au cours de la nitrification.(Watking et *al*., 1972 ; Fenn et Kissel, 1973 ; Whitchead et Raistrick, 1990 ; Bussink et *al.*, 1994 in Genermont, 1996).

Donc la nitrification est l'un des mécanismes principaux d'acidification du sol qui conduit à déconseiller l'usage des fertilisants ammoniacaux en sols acides (Stengel et Gelin, 1998), dans ces sols, ce processus est favorisé par le chaulage (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Morel, 1996).

e/ La température :

Les exigences thermiques minimales et maximales des Nitrosomonas diffèrent sensiblement de celles des Nitrobacter. En ce qui concerne les températures optimales, elles sont en général comprises entre 28° et 35C° (Van Burg et *al.*, 1982 ; Morel, 1996). D'après Gibbs (1919) in Dommergues et Mangenot, (1970),

Nitrosomonas est tué par une exposition de 10 minutes à 53 – 55°C ; pour les Nitrobacter, la température létale est de 56 – 58°C.

La température d'activité minimale est plus faible pour Nitrosomonas que pour Nitrobacter (leur activité est fortement ralentie à des températures inférieurs à 5°C (Van Burg et *al.*, 1982; Morel, 1996).

f/ Teneur en eau du sol:

L'activité maximale se situe aux environs de 50 à 60 % de la capacité de rétention ; sous une expression différente, elle s'établie entre – 0,1 et –1 Mpa. Au-delà de ces valeurs, la nitrification décroît en intensité, les bactéries nitrifiantes étant progressivement remplacées par une flore anaérobie (Davet, 1996 ; Morel, 1996).

g/ Présence de matière organique :

Celle-ci diminue l'intensité des processus nitrificateurs en raison du fait que sa décomposition requiert, de façon concurrentielle, la présence de NH_4 et de O_2 (Morel, 1996).

h/ Eléments nutritifs :

Aux macro-éléments nutritifs habituels (N, P, S, K, Mg, Ca) s'ajoutent plusieurs micro-élément tels que Fe, Cu, Mo, B, Li. (Morel, 1996)

i/ Mode d'exploitation du sol :

Le taux de nitrates est moins élevé sous prairie que sous le même sol mis en culture ; la transformation d'une prairie en terre cultivée s'accompagne d'une abondante production de nitrate, ce qui indique que la qualité du sol n'est pas en cause (Davet, 1996). Plusieurs explications de ces faits sont proposées :

- L'abondance des racines qui prélèvent intensément les ions NH_4^+ et NO_3^- ;
- L'absorption d'eau par les plantes, importante sous prairie, qui crée des conditions moins favorables à la nitrification ;
- Les phénomènes de dénitrification, amplifiés dans les rhizosphères ;
- La production par les racines d'inhibiteurs de nitrification.

l/ Les pratiques culturales :

Le travail du sol modifie la répartition de la matière organique dans le profil et les propriétés physiques des sols et donc les transferts d'eau, de solutés, de chaleur et d'oxygène (Recous et *al*., 1996). Alors que le tassement ralentit la diffusion de l'oxygène dans le sol, et par conséquent modifie l'activité de la biomasse microbienne et la disponibilité de l'azote minéral (Nicolardot et al., 1997).

2.2/ La dénitrification

2.2.1/ Définition

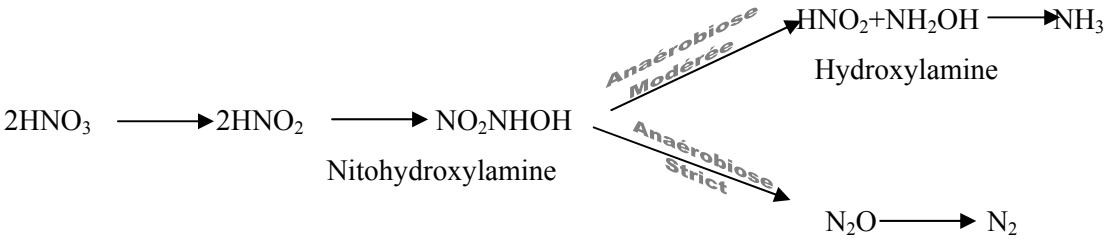
Les agronomes désignent sous ce nom la réduction par des microorganismes telluriques des nitrates (et accessoirement des nitrites) pour donner des produits gazeux (azote moléculaire, oxyde nitreux) qui sont perdus par volatilisation dans l'atmosphère (Duthil , 1973).

Cette définition est plus étroite que celle donnée par les microbiologistes. Ces derniers désignent par le terme de « dénitrification », un mécanisme respiratoire par lequel certains microorganismes se développant en anaérobiose utilisent les nitrates et d'autres composés oxygénés de l'azote minéral comme accepteurs finals d'électron à la place de l'oxygène. Les produits ultimes de cette opération sont des composés azotés plus au moins réduits : NO_2^-,N_2O, N_2, NH_3. (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Duthil, 1973 ; Morel, 1996).

Une partie de NO_3^- provenant de l'urée après hydrolyse et nitrification de NH_4, est suivant certaines conditions favorables à la dénitrification, réduit à l'état gazeux (N_2, NO_2) qui s'échappent du sol et sont ainsi perdus par le sol.

2.2.2/ Biochimie de la dénitrification

Différents schémas ont été proposés pour expliquer la succession des réactions impliquées dans la dénitrification. Le plus récent est celui de Campbell et Lees (1967) cité par Dommergues et Mangenot (1970) :



2.2.3/ Facteurs de la dénitrification

Trois conditions doivent être réunies pour qu'il y ait dénitrification

a/ Absence d'oxygène

Cette absence peut se manifester dans le sol. D'une façon générale, le plus souvent corrélative d'un accroissement anormal du taux d'humidité, en raison de la diffusion lente de l'oxygène dans l'eau ; la dénitrification peut aussi se développer activement dans les sols très humides (Morel, 1996)