

# Gestion de l'azote en système d'élevage développé. Enjeux scientifiques et environnementaux

JOSÉ MARTINEZ, FABRICE BÉLINE

JOSÉ MARTINEZ

Unité de recherche

Gestion des effluents d'élevage  
et des déchets municipaux,

Cemagref,

17, avenue de Cucillé, CS 64427,  
35044 Rennes cedex, France  
jose.martinez@cemagref.fr

FABRICE BÉLINE

Unité de recherche

Gestion des effluents d'élevage  
et des déchets municipaux,

Cemagref,

17, avenue de Cucillé, CS 64427,  
35044 Rennes cedex, France

L'azote est un composant essentiel de la matière vivante, l'un des éléments centraux des cycles biogéochimiques. Les études sur le cycle de l'azote ont eu pour première motivation la compréhension des flux et sa participation aux structures et aux fonctions biologiques. Très généralement, l'analyse des voies métaboliques et des transformations chimiques, notamment *in natura*, a beaucoup bénéficié de l'utilisation et du suivi d'isotopes stables ou radio-actifs, plus particulièrement pour l'azote de l'isotope  $^{15}\text{N}$ . Aujourd'hui, par des méthodes analogues à celles qui ont été employées pour les études fondamentales, il s'agit d'examiner comment le cycle de l'azote est perturbé par l'activité humaine, quelquefois gravement, puis de proposer des solutions pour limiter les incidences négatives de ces perturbations. Cette approche est illustrée sur un problème d'actualité, celui des pollutions par les élevages intensifs producteurs de lisiers, qui est au centre de nombreux débats aussi bien au niveau régional que national ou international.

## Le cycle biologique de l'azote, enjeux en système d'élevage développé

L'azote, élément central des protéines et de nos gènes, et à ce titre élément nutritif essentiel des plantes, est, avec l'eau et le carbone, un des constituants dont le cycle naturel est le plus modifié par les activités humaines. L'homme et les animaux terrestres vivent au milieu « d'un océan » d'azote, puisqu'il entre pour quatre cinquièmes dans la composition de l'atmosphère sous sa forme moléculaire diazote ( $\text{N}_2$ ). Mais cet azote libre gazeux ne constitue une source nutritionnelle que pour un nombre restreint d'espèces [cyanobactéries, eubactéries et archéobactéries] qui convertissent, par fixation biologique, l'azote  $\text{N}_2$  en une forme d'azote assimilable.

La fixation biologique, c'est-à-dire la transformation de l'azote moléculaire  $\text{N}_2$  en composés organiques ou minéraux, a été estimée sur la planète à environ 100 millions de tonnes d'azote par an durant la période pré-industrielle. Pour faire face à une croissance de la population de l'ordre de 1 milliard d'individus tous les 12 ans, la transformation de l'azote moléculaire en formes d'azote assimilables se situe désormais à 290 millions de tonnes par an (Jenkinson, 1990 ; Galloway, 1998), 80 millions de tonnes provenant de la synthèse d'engrais chimiques pour l'agriculture. Cet accroissement a pour conséquence une augmentation d'émissions atmosphériques d'oxydes d'azote ( $\text{N-NO}_x$  et  $\text{N-N}_2\text{O}$ ) et d'ammoniac ( $\text{N-NH}_3$ ) qui attei-

draient respectivement 31, 15 et 54 millions de tonnes par an (Olivier et al. 1998). Ces émissions ont deux impacts environnementaux reconnus : (i) l'acidification des forêts et des écosystèmes naturels en raison des dépôts d'azote ammoniacal ( $\text{NH}_3$ ) ; (ii) une contribution à l'effet de serre en raison des émissions de composés oxydés, tel le protoxyde d'azote. Par ailleurs, les transferts azotés vers les eaux de surface participent à l'eutrophisation. Vers les nappes phréatiques, ils contribuent à la contamination des eaux souterraines par les nitrates. Les effets écologiques commencent à être préoccupants. Des incidences économiques importantes, liées notamment aux problèmes de retraitement et de dépollution des eaux, sont prévisibles.

Le flux d'azote ingéré par les animaux d'élevage est de l'ordre de 110 millions de tonnes par an. Seuls 10 millions de tonnes sont transformés en produits alimentaires (viandes, œufs, lait), alors que 100 millions de tonnes sont rejetés dans les écosystèmes en tant que déjections animales. La gestion écologique de ce sous-produit de l'élevage met en jeu de très nombreuses transformations de l'azote qui peuvent contribuer à la contamination atmosphérique. Ainsi, la moitié des émissions anthropogéniques de gaz ammoniac ( $\text{NH}_3$ ), soit 20 millions de tonnes par an, serait liée aux déjections animales (Olivier et al., 1998).

Les enjeux de la gestion des déjections animales peuvent être appréciés sur la base d'une simulation (figure 1) concernant la situation des États-Unis

### Abstract – Nitrogen management from intensive livestock production : scientific and environmental issues

Growing environmental concern led to increased public and scientific attention to nitrogen transfers from animal manure and slurry. Major environmental problems arise from the excessive use of nitrogen compounds. Amongst these are (i) acidification of forests and natural ecosystems through atmospheric deposition of ammonia ( $\text{NH}_3$ ), (ii) eutrophication of inland waters and coastal seas mainly by organic N and nitrates, (iii) contamination of groundwater by nitrates and (iv) a contribution to the global warming problem by nitrous oxide,  $\text{N}_2\text{O}$ . Tracer methods using  $^{15}\text{N}$  stable isotope provide an excellent tool for studying such complex transfers during the different stages of animal slurry management including storage, treatment and land spreading. In this article, we present a brief review of isotopic tracer principles and history through a general description of terms, definitions and assumptions followed by the methodologies developed in our laboratory to label the ammoniacal nitrogen fraction of pig slurry using artificial  $^{15}\text{N}$  enrichment. The aim of our studies is to gather information concerning nitrogen pig slurry turnover and to focus on those processes, where major progress is made using the stable isotope  $^{15}\text{N}$ . Recent research findings are presented.

**Key words :** nitrogen cycle, livestock slurries, nitrogen gaseous emissions, nitrogen-15.

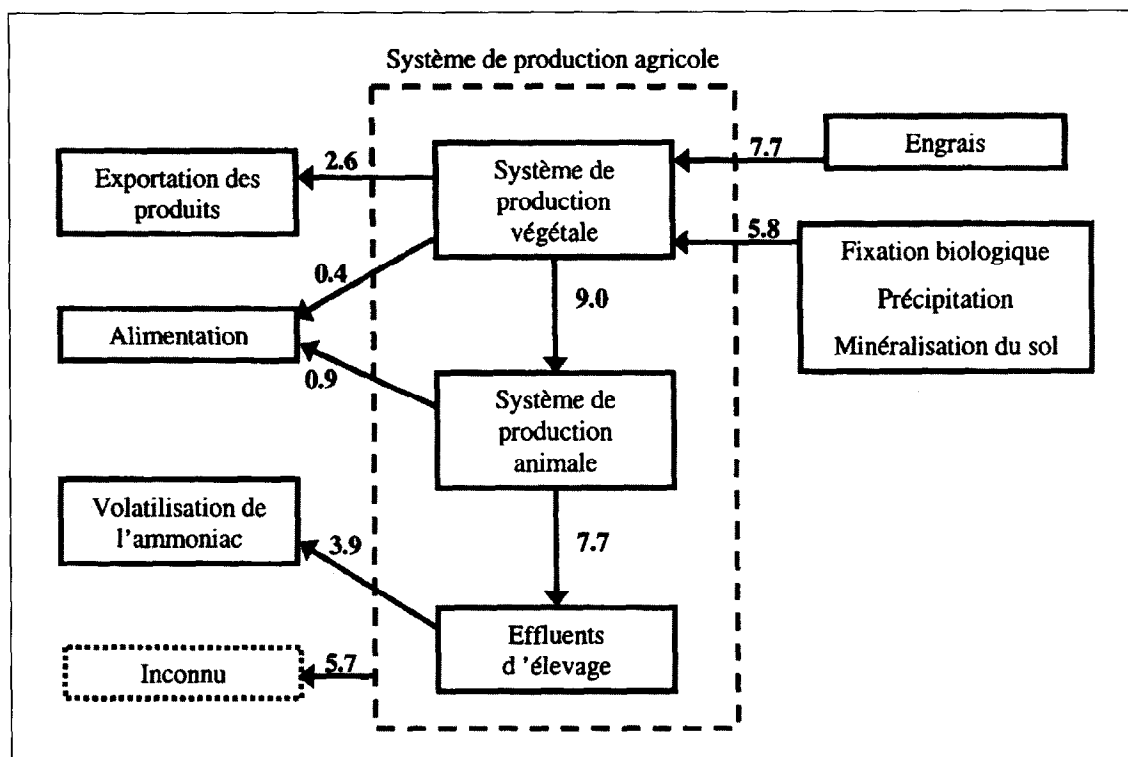


Figure 1. Flux d'azote annuel (millions de tonnes) provenant de l'agriculture aux États-Unis (d'après Duxbury, 1994).

(Duxbury, 1994). Le bilan azoté comporte une rubrique « entrées » de 7,7 millions de tonnes d'azote apportés par les engrais auxquels il faut ajouter 5,8 millions de tonnes provenant de la fixation biologique, des précipitations et de la minéralisation de l'azote du sol. Le système d'exploitation comprend trois postes, c'est-à-dire : (1) le système de production végétale qui prélève 9 millions de tonnes d'azote utilisés par le secteur de l'élevage et 3 millions de tonnes d'azote exportés sous forme de denrées alimentaires, (2) l'élevage et (3) les déjections animales. Les 9 millions de tonnes d'azote entrant dans le secteur élevage aboutissent à 7,7 millions de tonnes d'azote rejetés dans les déjections animales. Ainsi sur les 13,5 millions de tonnes d'azote entrant dans le système agricole, plus de la moitié se retrouve sous forme de déjections animales, qui peuvent constituer une étape-clé pour les transferts vers l'eau ou l'atmosphère dans les écosystèmes. Par exemple, sur les 7,7 millions de tonnes d'azote présents dans les déjections animales, près de 4 millions de tonnes sont volatilisé sous forme de gaz  $\text{NH}_3$  ! Cet exemple illustre le problème central de la gestion de l'azote des déjections animales : elles peuvent avoir un impact environnemental fort en raison des émissions sous forme d'ammoniac et de protoxyde d'azote, alors que leur efficacité en tant que fertilisant pour les cultures est insuffisamment connue et valorisée.

En système agriculture d'élevage développé<sup>1</sup>, l'optimisation de la gestion de l'azote de ces déjections doit

favoriser : (i) un accroissement de leur valeur agronomique ; (ii) une réduction de leur impact sur l'environnement (Martinez, 1999). Cette optimisation passe nécessairement par une maîtrise du cycle biologique de cet élément sous ses différentes formes, ce qui impose parfois un accroissement de connaissances. Mettre en place de telles bases scientifiques pour gérer des objets, comme les déjections animales, souvent délaissés scientifiquement par ailleurs, constitue une des fonctions essentielles à des recherches sur ce thème<sup>2</sup>. Outre l'intérêt très concret que représente cet exercice, il fait aussi surgir des problèmes originaux. Leur résolution demande souvent la mise en œuvre de méthodes et de techniques sophistiquées. C'est ce que nous souhaitons illustrer à travers cet article.

## Étude du cycle de l'azote : quelques repères historiques

Le point de départ des résultats qui est à la base de notre compréhension actuelle du cycle biologique de l'azote se situe en France entre 1856 et 1886 (travaux de Payne). En 1856, Jules Reiset rapportait pour la première fois que la matière organique, en se décomposant, libérait l'azote fixé : « les matières organiques en voie de décomposition lente ou de putréfaction déversent incessamment dans l'atmosphère un volume considérable d'azote : c'est là un fait qui me paraît maintenant hors de doute ». Il précisait par ailleurs que :

<sup>1</sup> L'agriculture traditionnelle entretenait un équilibre, au niveau de l'exploitation, entre la production végétale utilisée pour la nutrition des animaux et le retour au sol des déjections animales restituant la majorité des éléments nutritifs. L'évolution actuelle vers une agriculture développée (hors-sol), se caractérise par des échanges globaux des aliments du bétail et ainsi une spécialisation des zones de production végétale et de production animale.

<sup>2</sup> C'est en particulier le cas de chercheurs du Cemagref du centre de Rennes.

« la végétation vient puiser une nouvelle vie dans cette source inépuisable, en s'appropriant l'azote atmosphérique, soit directement à l'état gazeux, soit indirectement à l'état de nitrates par suite de transformations successives ». Reiset démontrait pour la première fois, à travers ces deux affirmations, que dans la nature l'azote participait à un cycle.

Durant cette active période de découvertes, Pasteur établissait que le nitrate (ion négatif formé d'un atome d'azote et de trois atomes d'oxygène,  $\text{NO}_3^-$ ) et non l'ammoniaque (ion positif formé d'un atome d'azote et de quatre atomes d'hydrogène,  $\text{NH}_4^+$ ) était à l'origine de la libération de l'azote pendant le processus de dénitrification.

Expliquant leur intérêt pour une idée exprimée par Pasteur dès 1862, Schloesing et Müntz ont, les premiers, démontré expérimentalement en 1877 qu'il y avait un rapport évident entre la nitrification et le métabolisme de bactéries, notamment des bactéries du sol<sup>3</sup>. Enfin, en 1886, Ulysse Gayon et Gabriel Dupetit ont mis en évidence la première culture pure de bactéries dénitrifiantes jamais obtenue. Les spécialistes de l'environnement se félicitent de l'existence de ce processus naturel qui peut éviter un accroissement trop important des nitrates dans certains milieux. Les spécialistes du traitement des eaux exploitent et encouragent les recherches qui permettent d'éliminer les nitrates des eaux usées avant leur rejet dans le milieu naturel et des eaux potentiellement potables.

L'utilisation des méthodes isotopiques s'est développée au cours du vingtième siècle. C'est l'expérience historique d'Hevesy qui, en 1923, en a prouvé l'intérêt et la puissance<sup>4</sup>. Le « couple isotopique » de l'azote est constitué de l'azote 14 et de l'azote 15. Ces deux isotopes stables de masse 14 et 15 sont naturellement présents dans un rapport 272 : 1, i.e. l'abondance isotopique de  $^{15}\text{N}$  est de 0,366 %. Tout composé ayant une abondance isotopique de l'azote différente de 0,366 % pourra alors être « tracé ».

La technique de traçage isotopique, par marquage  $^{15}\text{N}$  des engrais, a été largement utilisée pour établir des bilans azotés consécutifs à des apports d'engrais minéraux, ce qui a permis d'en établir, notamment, l'efficacité agronomique, tel le coefficient réel d'utilisation des engrais (Guiraud, 1984, Recous, 1988, Martinez et Guiraud, 1990). Mais, en raison des difficultés liées à la quasi impossibilité de « marquer » directement l'azote des déjections, cette technique de traçage isotopique a été fort peu développée pour analyser la contribution de l'azote des déjections animales au cycle global de l'azote. Il a donc été indispensable de passer par une phase initiale de développements méthodologiques.

## Apports méthodologiques

Ils ont concerné en priorité la mesure des flux gazeux par marquages directs ou indirects. La mesure des flux de gaz présente toujours des difficultés en raison de la nature diffuse des émissions, des propriétés chimiques des gaz et des problèmes analytiques liés à leur détermination.

<sup>3</sup> Un tube de 1 m de haut contient du sable mélangé à une terre calcaire ; en faisant passer de l'eau d'égout (riche en déchets azotés) à travers le tube, on recueille d'abord de l'ammoniaque ; puis la quantité d'ammoniaque décroît tandis qu'apparaissent des nitrates. La production de nitrates cesse si l'on chauffe le tube à 100 °C ou si l'on y envoie du chloroforme ; la production reprend si l'on réensemence le tube avec de la terre fraîche.

Schloesing et Müntz mettaient ainsi en évidence l'existence et l'action des microorganismes nitrifiants du sol.

<sup>4</sup> Hevesy a utilisé du thorium  $\beta$  (isotope radioactif du plomb) pour étudier l'absorption du plomb par la fève. Il a placé les racines dans une solution marquée et à l'aide d'un électroscope, il a mesuré la quantité de plomb dans chaque organe de la plante. Les plantes ont ensuite été mises dans des solutions inactives contenant beaucoup plus de plomb que les solutions initiales. C'est cette deuxième étape qui révèle l'intérêt de la méthode.

Hevesy trouva que la quasi-totalité de la radioactivité était passée des racines dans la solution externe bien que la quantité de plomb dans les plantes ait augmenté.

Il y avait donc eu un échange qu'il serait impossible de mettre en évidence par une autre méthode (Guiraud, 1984).

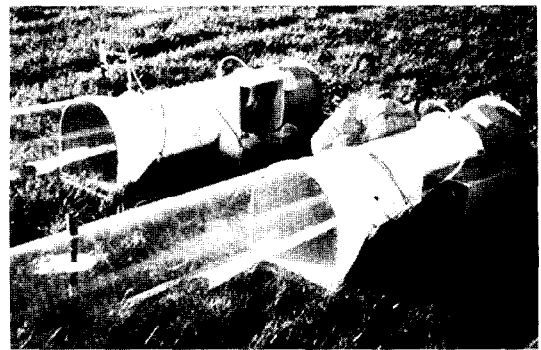


Photo 1. Dispositif de mesure des émissions d'ammoniac suite à l'épandage de déjections animales : tunnels de ventilation (photo : J.-F. Moal, Cemagref).

Ainsi l'équipe de recherche du Cemagref Rennes a été la première en France, au début des années 1990, à développer des méthodes de quantification des émissions d'ammoniac à la suite d'épandages de lisier (Moal et al., 1995). Ce travail a nécessité d'adapter une méthode connue, le tunnel de ventilation de Lockyer (1984) (photo 1) et la mise au point d'une méthode de marquage isotopique de l'azote ammoniacal des lisiers (Moal et al., 1994).

D'autres dispositifs expérimentaux de mesure des émissions gazeuses, et notamment du protoxyde d'azote ( $\text{N}_2\text{O}$ ), ont été développés pour des études en pilote de laboratoire (Béline, 1998, Martinez et al., 1999), sur sites de stockage et sur des unités de traitement en grandeur réelle (Peu et al., 1999) (photo 2). Ces différentes approches méthodologiques ont été complétées par une autre méthode de marquage de l'azote ammoniacal utilisant un ajout d'urée marquée (Béline et al., 1998).

Les principaux rappels et définitions sur le marquage isotopique ainsi que les deux méthodes de marquage précédemment citées sont présentés en encadrés 1 et 2.

Le marquage de l'azote des déjections animales à l'aide du traceur  $^{15}\text{N}$  est basé sur l'utilisation de composés enrichis artificiellement. Ces composés sont ajoutés directement aux déjections après l'excrétion,

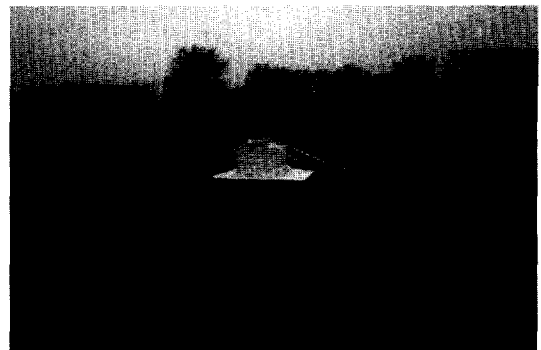


Photo 2. Dispositif de mesure des émissions d'ammoniac et de protoxyde d'azote au cours du stockage et du traitement des déjections animales (photo : Pascal Peu).

### Encadré 1. Définitions et rappels sur le traçage isotopique $^{15}\text{N}$

Rappelons tout d'abord deux définitions essentielles :

- Abondance isotopique (A) : grandeur sans dimension, qui est le rapport en pourcentage de l'isotope à l'ensemble des isotopes du même corps chimique.

$$A = \frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}} \times 100 \quad (1)$$

- Excès isotopique (E) : c'est la différence entre l'abondance isotopique de l'échantillon et celle d'un étalon de référence. Pour l'azote, l'étalon de référence sera l'azote de l'air dont l'abondance isotopique est : 0,3663 %  $\pm 0,0004$ .

$$E = A - 0,366 \quad (2)$$

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

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

$$Q \cdot E = (Q + X) \cdot E' \quad (3)$$

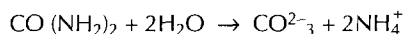
On en déduit facilement la formule de dilution isotopique :

$$X = Q \cdot \left( \frac{E}{E'} - 1 \right) \quad (4)$$

X : quantité d'azote du système, Q : quantité d'azote ajoutée, E : excès de l'azote ajouté, E' : excès du mélange.

### Encadré 2. Les techniques de marquage de l'azote du lisier

La méthode basée sur un ajout de composé marqué directement dans le lisier est plus facile à mettre en œuvre et moins onéreuse car la totalité de l'azote marqué utilisé se retrouve réellement dans les déjections (Dittert et al., 1998). Dans ce cas, le marquage du lisier brut est obtenu par ajout de sulfate d'ammonium marqué (Moal et al., 1994 ; Morvan et al., 1996) ou d'urée marquée (Sotiriou et Scheunert, 1994 ; Vallis et al., 1996, Béline et al., 1998). Lorsque le lisier est marqué à l'aide de sulfate d'ammonium enrichi, celui-ci est ensuite directement utilisé pour les expérimentations. Contrairement à la méthode précédente, dans le cas d'un marquage avec urée, le lisier ne peut pas être utilisé directement mais il doit préalablement être incubé afin que l'urée soit transformée en azote ammoniacal. Dans ce cas, l'ammonium marqué présente l'avantage d'être produit de la même façon que l'ammonium initialement présent dans le lisier, soit à travers l'hydrolyse de l'urée :



Pour ces deux méthodes de marquage, un test effectué en laboratoire a permis de montrer que l'azote ammoniacal ajouté sous forme de sulfate d'ammonium ou d'urée avait le même comportement vis à vis de la volatilisation que l'azote ammoniacal endogène initialement présent dans le lisier (Moal et al., 1994 ; Béline et al., 1998). L'ajout de sulfate d'ammonium ou d'urée est utilisé pour étudier les transformations de l'azote du lisier brut (au cours du stockage ou après épandage). Cependant, pour d'autres aspects, notamment l'étude des transformations de l'azote au cours du traitement aérobie du lisier, il est possible d'utiliser des nitrates ou des nitrites marqués. L'ajout de  $^{15}\text{N}$  sous forme oxydée permet notamment d'identifier la source de protoxyde d'azote au cours de la nitrification – dénitrification.

ou bien, des éléments enrichis sont utilisés pour produire des aliments marqués avec lesquels on nourrit les animaux. Cette dernière méthode de marquage est beaucoup plus laborieuse à mettre en œuvre et très onéreuse. Cependant, quelques essais ont été menés sur des moutons (Sorensen et al., 1994 ; Thomsen et al., 1997 ; Sorensen et Jensen 1998) et des poulets (Kirchmann, 1990).

### Les transformations et transferts de l'azote des déjections animales

L'azote des déjections animales provient des fèces (protéines, amines, etc.) et des urines (urée et acide urique). Les urines et les fèces sont mélangées en cours de collecte et de stockage. Des eaux de lavage et des débris d'aliments

viennent fréquemment s'ajouter à ce mélange. L'ensemble évolue sous l'action des communautés bactériennes qui assurent les principales transformations de l'azote : sa minéralisation et son assimilation (figure 2).

La minéralisation est le processus de transformation des composés organiques en composés minéraux. Ce processus résulte des réactions cataboliques des bactéries hétérotrophes et permet de fournir l'énergie nécessaire à la croissance bactérienne. Ce processus transforme, au cours de l'ammonification, une partie de l'azote organique en ammonium. Les bactéries capables de minéraliser les composés organiques sont particulièrement nombreuses et peu spécifiques. Dans le lisier, l'hydrolyse de l'urée est la réaction principale conduisant à la formation d'ammonium. Cette hydrolyse est effectuée par une enzyme constitutive (l'uréase) et se produit dans les heures qui suivent la collecte des déjections (Muck et Stenhuis, 1982). En revanche, les cinétiques de minéralisation de la fraction non uréique de l'azote organique des déjections animales sont moins connues, peu d'études ayant été conduites sur sa minéralisation. La vitesse de minéralisation et la quantité d'ammonium produite, dépendent de la composition biochimique des composés organiques azotés épandus, des conditions de température, d'humidité et de caractéristiques physico-chimiques du sol récepteur.

L'azote est assimilé, préférentiellement sous sa forme ammoniacale, en compagnie de composés carbonés durant la phase de croissance des micro-organismes (Goering et al., 1970 ; Mc Carty et Eppley, 1972). Cette phase importante du cycle de l'azote est l'une des plus complexes en raison de la diversité des micro-organismes y participant. Trois réactions principales permettent de synthétiser des composés organiques azotés à partir de l'ammoniac. Elles

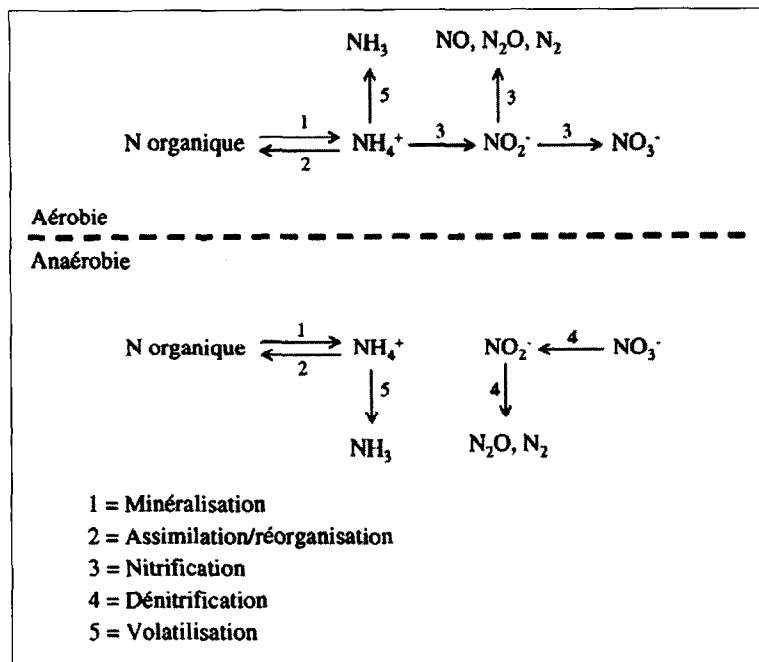
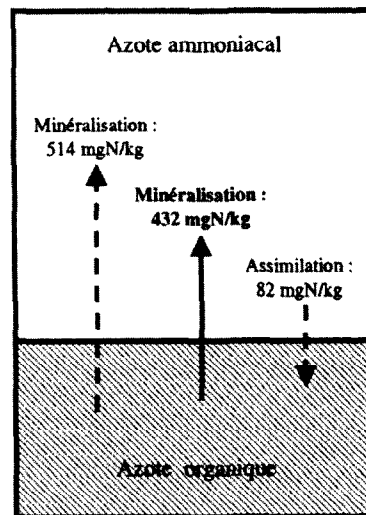


Figure 2. Les principales transformations de l'azote en milieu aérobie et anaérobie.

### Encadré 3. Quantification des flux bruts d'azote lors du stockage du lisier

Un ajout d'azote marqué sous forme d'urée a été effectué dans du lisier brut afin de caractériser les phénomènes de minéralisation et d'assimilation au cours du stockage anaérobie du lisier. Après 24 h de stockage pour permettre l'hydrolyse de l'urée, les différentes formes de l'azote ainsi que les excès isotopiques ont été déterminés dans la partie liquide et la partie solide du lisier. Cette technique permet de distinguer trois compartiments de l'azote : l'azote organique en suspension, l'azote organique dissous et l'azote inorganique dissous (azote ammoniacal). Le suivi des concentrations en azote des différents compartiments a globalement montré une augmentation de l'azote ammoniacal d'environ 430 mgN/kg associée à une baisse de l'azote organique en suspension équivalente et une stabilité du pool d'azote organique dissous au cours des 84 j de stockage anaérobie.

Alors que l'analyse chimique classique des différentes concentrations permet uniquement de déterminer le résultat des différents processus (minéralisation et assimilation), l'utilisation du traceur isotopique nous renseigne sur les processus bruts. En effet, l'application des différentes formules développées dans l'encadré 1, nous permet de quantifier, au cours de cette expérience, la minéralisation et l'assimilation.



Les principales transformations de l'azote au cours du stockage du lisier de porcs.

— processus observé, - - - processus bruts.

Ces calculs mettent en évidence (1) une minéralisation de l'azote organique d'environ 510 mgN/kg en 84 j de stockage et (2) une assimilation de 80 mgN/kg conduisant globalement à une augmentation de la concentration en azote ammoniacal de 430 mgN/kg.

conduisent à : l'acide glutamique, la glutamine, le carbamyl-phosphate. Ces composés intermédiaires assurent ensuite la synthèse des acides aminés nécessaires à l'organisme considéré.

Les processus de minéralisation et d'assimilation suivis d'une synthèse sont simultanés, dans la plupart des cas, notamment dans les écosystèmes. Le bilan matière net observé est alors la somme de ces deux processus. C'est pourquoi l'utilisation du traceur isotopique  $^{15}\text{N}$  s'avère très intéressante, voire indispensable, pour identifier, puis quantifier, les processus bruts de transformation de l'azote (encadré 3), afin d'être en mesure d'en assurer, ultérieurement, la maîtrise.

La production de déjections animales est continue. La demande pour une utilisation agricole, liée à l'existence d'une période favorable à la satisfaction des besoins des cultures, est discontinue. La gestion des déjections comporte donc trois étapes : (i) un stockage pendant une période suffisante ; (ii) des traitements d'appoint en vue de réduire les nuisances et les risques de pollution potentielle associée aux éléments fertilisants excédentaires ; (iii) l'épandage avec des outils adaptés et aux doses acceptables. De nombreuses transformations aérobies et anaérobies, de minéralisation et d'assimilation, peuvent intervenir à chacune de ces étapes, et être accompagnées de transferts de composés azotés vers l'environnement (figure 3) tous quantifiables par utilisation du traceur isotopique  $^{15}\text{N}$ . Nous en présentons quelques exemples.

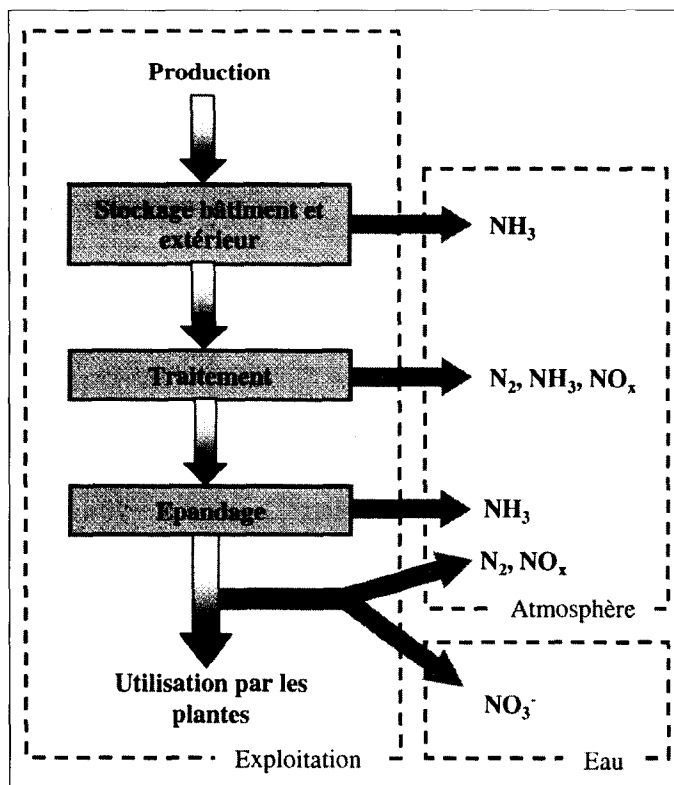


Figure 3. Les principales fuites azotées au cours des différentes étapes de la gestion des lisiers.

## Influence du stockage des lisiers sur les flux gazeux de composés azotés

La minéralisation, notamment l'hydrolyse de l'urée, conduit à la formation d'une quantité importante d'azote ammoniacal  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$  (60-70 % de l'azote total des lisiers). Le processus de volatilisation de l'ammoniac est un transfert d'ammoniac gazeux ( $\text{NH}_3$ ) dans l'atmosphère immédiate à partir de l'ammoniac présent dans les phases liquides et gazeuses du lisier. Ce dégagement d'ammoniac est la conséquence d'un gradient de  $\text{NH}_3$  qui s'établit à l'interface lisier - atmosphère. Le taux de volatilisation de  $\text{NH}_3$ , à partir de l'azote ammoniacal du lisier, est donc contrôlé par un ensemble de paramètres liés au produit lisier (pH, température, ...) et aux conditions environnementales (vitesse de l'air, température, gradient de concentration d'ammoniac, ...).

## Influence du traitement du lisier sur les flux gazeux de composés azotés

Différents procédés de traitement de l'azote du lisier ont été développés pour respecter les contraintes réglementaires (Directive nitrates, 1991)<sup>5</sup>. Des filières de traitement biologique aérobie permettent, sur

des bases largement empiriques et d'un savoir-faire industriel, une transformation en formes gazeuses d'une partie de l'azote du lisier, évitant ainsi le rejet de nitrates vers les eaux. Ces procédés sont basés sur les réactions de nitrification et de dénitrification assurées séquentiellement.

La nitrification sensu stricto est le processus d'oxydation d'un composé azoté (organique ou inorganique) en nitrate. Cependant, on considère la plupart du temps que la nitrification est le mécanisme d'oxydation de l'ammonium en nitrate. Les bactéries nitrifiantes utilisent les formes réduites de l'azote (ammonium, nitrite) comme source d'énergie (capteurs d'électrons). Winogradski (1890) a isolé les microorganismes responsables de la nitrification et a établi que le processus se déroulait en deux étapes principales : la nitritation et la nitratisation (figure 2). Cette étape du cycle de l'azote peut être, dans certaines conditions, source d'émissions de formes gazeuses d'azote, telles  $\text{N}_2\text{O}$  et  $\text{NO}$  (Goreau et al., 1980 ; Remde et Conrad, 1990 ; Firestone et Davidson, 1989). En effet, Ritchie et Nicolas (1972) ont mis en évidence que, sous certaines conditions limitantes en oxygène, certaines bactéries nitrifiantes réduisent les nitrites en protoxyde d'azote,  $\text{N}_2\text{O}$ .

En présence de nitrates, une réaction possible est celle conduisant à la dénitrification, c'est-à-dire celle assurant la réduction des nitrates, ou des nitrites, en azote moléculaire,  $\text{N}_2$ , et/ou en oxyde d'azote,  $\text{N}_2\text{O}$ . Les premières observations du processus de dénitrification (Gayon et Dupetit, 1886) ont permis à Weisenberg (1902) de montrer ensuite qu'en milieu

<sup>5</sup> Plusieurs directives européennes ont été adoptées par le Conseil de l'Europe concernant la protection de l'environnement. Le premier acte juridique à portée environnementale liant l'eau et l'agriculture a été la directive dite Nitrates (91/676/CEE), qui vise à réduire et à prévenir la pollution des eaux par les nitrates provenant de sources agricoles.

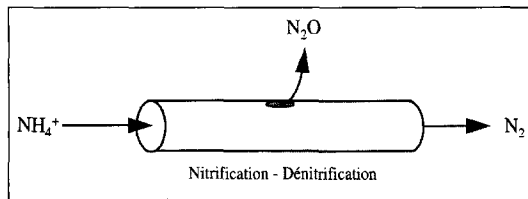


Figure 4. Une fuite dans le tuyau !

anoxique, des bactéries aérobies sont capables d'utiliser les nitrates comme accepteur d'électron à la place de l'oxygène. La réduction des nitrates en azote moléculaire fait intervenir plusieurs intermédiaires (Payne, 1973 ; Firestone et al., 1979), chacun est transformé par une enzyme spécifique.

Au cours du traitement biologique aérobie du lisier, l'alternance de cycle d'aération et d'anoxie permet une élimination d'une partie de l'azote initialement présent dans le lisier (70-75 %) par nitrification et dénitrifi-

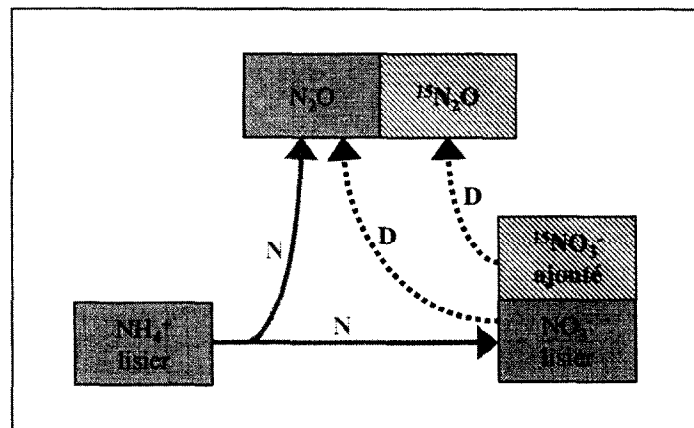
cation. Cependant, ces procédés d'épuration en réacteur, de même que les procédés d'épuration par le sol, sont des sources potentielles de  $N_2O$  (Chadwick et al., 1998 ; Liu et al., 1997) qu'il s'agit de faire décroître. Pour faire décroître ces émissions, il fallait identifier les réactions chimiques responsables de sa production : phase de nitrification avant nitrification ou phase réelle de dénitrification ? (figure 4). L'utilisation du traceur  $^{15}N$  a permis de connaître la réaction responsable de l'origine de  $N_2O$  (encadré 4).

## Influence de l'épandage de lisier sur les flux d'azote au niveau de la parcelle

Les lisiers sont des fertilisants complexes car ils contiennent les éléments majeurs (azote, phosphore, potassium...), des amendements organiques ou minéraux et

### Encadré 4. Identification des sources de $N_2O$ au cours du traitement du lisier

Un ajout de nitrate marqué entraîne une production de  $N_2O$  marqué si la dénitrification est la source de  $N_2O$  alors que le  $N_2O$  provenant de la nitrification ne sera pas marqué.



Les sources et les processus influençant l'enrichissement du  $N_2O$  produit avec ajout de nitrate marqué  $^{15}N$  ; D : dénitrification, N : nitrification (Béline et al., 1999).

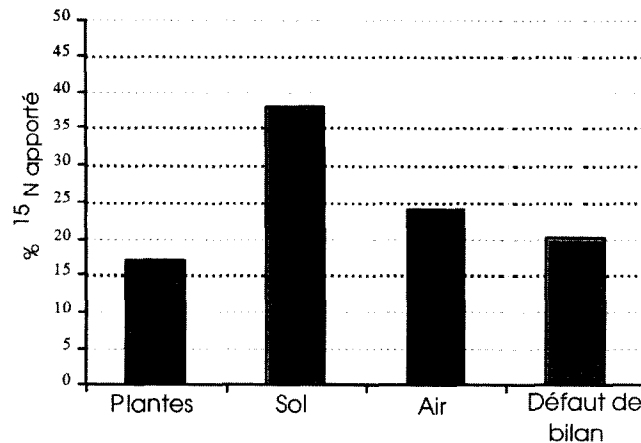
Dans ce contexte, deux expérimentations ont été effectuées avec utilisation d'azote  $^{15}$  afin de déterminer la source de  $N_2O$  au cours du traitement aérobie selon les conditions d'aération : (1) aération forte, (2) aération faible. Dans les deux cas, après un ajout de nitrate marqué, la quantité d'azote éliminée ainsi que la quantité de  $N_2O$  produite ont été déterminées (azote marqué et non marqué). En condition d'aération forte, on observe une accumulation importante de nitrites et une élimination de l'ordre de 20 % de l'azote entrant dans le réacteur, principalement sous forme de protoxyde d'azote. Cependant, après un ajout de nitrate marqué, le  $N_2O$  émis n'est pas marqué. Dans ce cas, la nitrification est donc l'unique source de  $N_2O$ . Au contraire, au cours de l'aération faible, le  $N_2O$  émis est marqué et le ratio  $^{15}N_2/^{14}N_2O$  est quasiment identique au rapport  $^{14}N_2/^{14}N_2O$ . Dans ces conditions, le principal processus responsable des émissions gazeuses est la dénitrification. De plus, la comparaison entre la quantité totale de nitrates dénitrifiés au cours de cette expérimentation, calculée à l'aide des formules de dilution isotopique (212 mg N) et la quantité d'azote éliminée (2550 mg N) montre que la majeure partie des nitrites (92 %) sont dénitrifiés sans oxydation préalable en nitrate.

D'après ces résultats, il apparaît que l'accumulation de nitrites entraîne une production de  $N_2O$  au cours de la nitrification et que la présence d'une faible quantité d'oxygène favorise l'accumulation et l'émission de protoxyde d'azote au cours de la dénitrification. Ainsi, ces observations nous ont amenés à préconiser l'aération séquentielle pour une élimination d'azote sans transfert de pollution vers l'atmosphère sous forme de  $N_2O$ .

### Encadré 5. Devenir de l'azote du lisier suite à l'épandage

Lorsqu'une culture prélève des éléments dans deux sources nutritives, le sol et l'effluent épandu, le marquage de l'une ou l'autre des sources permet de connaître, dans la plante, l'origine de l'élément. Par ailleurs, seule l'utilisation du traceur isotopique  $^{15}\text{N}$  permet de suivre l'évolution d'un petit flux d'azote dans un pool important (cas de la réorganisation dans un sol).

Au cours d'un essai au champ, un apport de lisier marqué a été effectué sur une parcelle enherbée en ray-grass (parcelle Solepur). Après cinq semaines d'expérimentation, les microparcelles ont été sacrifiées et un bilan sol-plante-air a été réalisé.



Au début de l'essai, le  $^{15}\text{N}$  contenu dans le lisier est sous forme ammoniacale. La volatilisation de l'ammoniac, mesurée pendant 48 h après l'application du lisier, représente 24 % de l'azote  $^{15}$  apporté. À la récolte du ray-grass, 17 % de l'azote  $^{15}$  apporté ont été utilisés par la plante pour sa croissance (coefficient réel d'utilisation, CRU lisier) et 38 % sont retrouvés dans le sol : 14 % sous forme de nitrate, 24 % sous forme d'azote organique et moins de 1 % sous forme ammoniacale. Le pourcentage de recouvrement de l'azote  $^{15}$  apporté se situe à 80 %.

des éléments traces (cuivre, zinc...). Le retour au sol de ce sous-produit doit permettre le recyclage, par les végétaux, d'une fraction de ces éléments.

Pour un lisier, les quantités d'azote disponibles à l'échelle d'un cycle cultural vont dépendre prioritairement du devenir de la forme ammoniacale, lui-même contrôlé par des mécanismes concurrents : volatilisation, assimilation, nitrification et absorption par les végétaux. Un essai au champ, couplant la technique du tunnel de ventilation avec un apport d'azote marqué  $^{15}\text{N}$ , nous a permis de réaliser un bilan sol-plante-atmosphère et de caractériser ainsi, le devenir de l'ensemble de l'azote appliqué sous forme de déjections animales (encadré 5). La volatilisation, caractérisée par une forte variabilité, représente de 3 % à 85 % de l'azote ammoniacal apporté : 70 % de l'ammoniac est volatilisé dans les 24 heures qui suivent l'épandage et 90 % dans les cinq jours (Jarvis et Pain, 1990, Moal et al., 1995). Le devenir de l'azote ammoniacal est également dépendant de son assimilation et de la nitrification. L'assimilation, déterminée par marquage isotopique  $^{15}\text{N}$ , se déroule exponentiellement au cours des jours suivant l'apport et représente 25 à 35 % de l'azote apporté (Morvan et al., 1996). L'apport, par le lisier, de composés organiques labiles stimule l'immobilisation. Ainsi au cours d'une incubation en laboratoire, nous avons pu mesurer un taux d'immobilisation deux fois plus élevé avec du lisier de porc qu'avec du sulfate d'ammonium (Martinez et al., 1997).

### Conclusion et perspectives

L'objet de cet article n'est pas d'affirmer que l'utilisation du couple de traceurs  $^{14}\text{N}$ - $^{15}\text{N}$  est l'unique technique permettant d'appréhender le cycle de l'azote. Il s'agit plutôt d'illustrer que sa contribution peut être déterminante pour l'élucidation et la quantification de certains

#### Résumé

La connaissance du cycle de l'azote des déjections animales (lisiers) est un enjeu primordial au regard de préoccupations environnementales : accroissement de l'efficacité agronomique et/ou réduction des pollutions atmosphériques. Dans ce contexte, l'utilisation du traceur isotopique  $^{15}\text{N}$  permet de quantifier les différents mécanismes (assimilation et réorganisation, minéralisation, volatilisation, nitrification-dénitrification) et d'étudier les voies de transferts possibles. La technique développée consiste notamment à marquer la fraction azote ammoniacal du lisier par ajout direct de sulfate d'ammonium ou d'urée enrichis en  $^{15}\text{N}$ . Des essais en laboratoire illustrent les processus de nitrification-dénitrification ainsi que les transferts d'azote sous forme de protoxyde d'azote ( $\text{N}_2\text{O}$ ). Par ailleurs le suivi du devenir de l'azote après épandage de lisier au champ, permet d'établir un bilan sol-plante-air. Au travers de ces expériences, l'utilisation du marquage isotopique  $^{15}\text{N}$  de l'azote des déjections animales apparaît comme un outil de première importance.

**Mots clés :** cycle de l'azote, effluents d'élevage, émissions azotées atmosphériques, azote  $^{15}$ .

processus importants à la fois pour la conduite des cultures et la limitation des impacts environnementaux. On peut alors déplorer le manque d'engouement pour l'utilisation de cette méthode, notamment dans les études relatives aux flux d'azote destinées à améliorer la gestion de l'azote des effluents d'élevage.

En effet, l'application des différentes réglementations et protocoles internationaux en cours et à venir, exige des estimations globales de l'origine des flux de composés gazeux azotés à impact environnemental atmosphérique. Ainsi, la partie du protocole de Kyoto relative à l'émission des gaz à effet de serre prévoit que les pays industrialisés doivent réduire leurs émissions d'oxydes d'azote, dont celles de  $N_2O$ . Cette réduction, pour la période 2008–2012, doit être au minimum de 5 % de la valeur du seuil estimé en 1990 : des bilans seront établis entre zones sources (émissions effectives) et zones puits (moyens de fixation). Le protocole de Göteborg, dit « Multi-polluants-Multi-effets », traite de la vulnérabilité des écosystèmes naturels à l'acidification et à l'eutrophisation et l'aborde en utilisant le concept de charges critiques ; la répartition des efforts à faire entre les pays émetteurs est décidée sur ces critères. La France s'est engagée, dans le cadre de ce protocole, à réduire d'ici 2010 les émissions de gaz ammoniac,  $NH_3$ , de plus de 4 % par rapport aux émissions de 1990.

Il s'agit donc de mettre au point des modes de gestion de l'azote provenant des élevages pratiqués en système développé, qui conduiront à des réductions de la pollution par un accroissement du recyclage agricole raisonné (sol/plante) de cet élément. C'est un des objectifs de notre travail de recherche.

## Remerciements

Les travaux sur le traçage isotopique en France ont été largement influencés par les contributions de deux personnalités scientifiques, Gérard Guiraud pour l'azote ( $^{15}N$ ) et Jean-Claude Fardeau pour le phosphore ( $^{32}P$ ). Nous tenons à leur témoigner à travers cette note notre gratitude et notre amicale admiration.

## BIBLIOGRAPHIE

Béline F., 1998. Étude des transformations de l'azote par nitrification/dénitrification ( $NH_3$ ,  $N_2O$ ,  $N_2$ ) au cours du traitement et du stockage des lisiers de porcs. Essais avec  $^{15}N$ . Thèse, université de Perpignan, France, 153 pp.

Béline F., Martinez J., Marol C., Guiraud G., 1998. Nitrogen transformations during anaerobically stored  $^{15}N$ -labelled pig slurry. *Bioresource Technology*, 64, 83-88.

Béline F., Martinez J., Marol C., Guiraud G., 2001. Application of the  $^{15}N$  technique to determine the contributions of nitrification and denitrification to the flux of nitrous oxide from aerated pig slurry. *Water Research*, 35, 11, 2474-2778.

Chadwick D.R., Van der Weerden T.J., Martinez J., Pain B.F., 1998. Nitrogen transformations and losses following pig slurry applications to a natural soil filter system (Solepur process) in Brittany, France. *J. agric. Engng Res.* 69, 85-93.

Ditter K., Goerges T., Sattelmacher B., 1998. Nitrogen turnover in soil after application of animal manure and slurry as studied by the stable isotope  $^{15}N$ ; a review. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, 161, 453-463.

Duxbury J.M., 1994. The significance of agricultural sources of greenhouse gases. *Fertilizer Research*, 38, 151-163.

Firestone M.K., Davidson E.A., 1989. Microbiological basis of  $NO$  and  $N_2O$  production and consumption in soil. In : Andreae M.O., Schimel D.S. (Eds), *Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere*, Wiley, Chichester, pp. 7-21.

Firestone M.K., Firestone R.B., Tiedje J.M., 1979. Nitric oxide as an intermediate in denitrification : evidence from nitrogen-13 isotope exchange. *Biochemical and Biophysical research Communications*, 91, 10-16.

Galloway J.N., 1998. The global nitrogen cycle : changes and consequences. *Environmental Pollution* 102, S1, 15-24.

Gayon U., Dupetit G., 1886. Recherches sur la réduction des nitrates sur les infirmes petits. *Mem Soc Sci Phys Nat Bord*, 3, 201-307.

Goering J., Wallen D., Naumann R., 1970. Nitrogen uptake by phytoplankton in the discontinuity layer of the eastern subtropical pacific ocean. *Limnology and Oceanography*, 15, 789-796.

Goreau T.J., Kaplan W.A., Wofsy S.C., McElroy M.B., Valois F.W., Watson S.W., 1980. Production of  $NO_2^-$  and  $N_2O$  by nitrifying bacteria at reduced concentration of oxygen. *Applied and Environmental Microbiology*, 40, 526-532.

Guiraud G., 1984. Contribution du marquage isotopique à l'évaluation des transferts d'azote entre les compartiments organiques et minéraux dans les systèmes sol-plante. Thèse de Doctorat d'État, université Pierre et Marie Curie, Paris VI. 335 pp.

Hevesy G., 1923. The absorption and translocation of lead by plants. *Biochem. J.*, 17, 439-448.

Jarvis S.C., Pain B.F., 1990. Ammonia volatilisation from agricultural land. *Proceedings n° 298. The Fertilizer Society*, 35 pp.

Jenkinson D.S., 1990. An introduction to the global nitrogen cycle. *Soil Use and Management*, 6, 56-60.

Kirchmann H., 1990. Nitrogen interactions and crop uptake from fresh and composted  $^{15}N$ -labelled poultry manure. *Journal of Soil Science*, 41, 379-385.

Liu F., Mitchell C.C., Odom J.W., Hill D.T., Rochester E.W., 1997. Swine lagoon effluent disposal by overland flow : effects on forage production and uptake of nitrogen and phosphorus. *Agronomy Journal*, 89, 900-904.

Lockyer D.R., 1984. A system for the measurement in the field of losses of ammonia through volatilization. *J. Sci. Food Agric.*, 35, 837-848.

Martinez J., 1999. Connaissance et maîtrise des émissions gazeuses en système d'élevage développé. In : Montalescot J.B. (coord.), *Comment concilier production porcine et protection de l'environnement*, colloque Cemagref, SIMA Paris, 3 mars 1999, Cemagref Éditions, pp. 27-46.

Martinez J., Béline F., Peu P., Guiziou F., 1999. Émissions de méthane ( $CH_4$ ) et de protoxyde d'azote ( $N_2O$ ) au cours du stockage, du traitement et de l'épandage de déjections animales. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, 85, (6), 87-101.

Martinez J., Guiraud G., 1990. A lysimeter study of the effects of a ryegrass catch crop, during a winter wheat/maize rotation, on nitrate leaching and on the following crop. *Journal of Soil Science* 41, 5-16.

Martinez J., Moal J.F., Marol C., Guiraud G., 1997. Contribution of  $^{15}N$  labelling techniques to the study of nitrogen gaseous emissions from animal manures. In : Jarvis S.C., Pain B.F. (Eds), *Gaseous nitrogen emissions from grasslands*, North Wyke, GBR, 20-22 may 1996, CAB International, Wallingford, pp. 303-306.

Mc Carty J., Eppley R., 1972. A comparison of chemical isotopic and enzymatic methods for measuring nitrogen assimilation of marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 17, 371-382.

Moal J.F., Martinez J., Marol C., Guiraud G., 1994. A direct incorporation of  $N-15$  labelled ammonium sulphate into a pig slurry : a laboratory experiment on  $NH_3$  volatilization. *Bioresource Technology*, 48, 87-89.

Moal J.F., Martinez J., Guiziou F., Coste C.M., 1995. Ammonia volatilization following surface-applied pig and cattle slurry in France. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 125, 245-252.

Morvan T., Leterme P., Mary B., 1996. Quantification des flux d'azote consécutifs à un épandage de lisier de porc sur triticale en automne par marquage isotopique  $^{15}N$ . *Agronomie*, 16, 541-552.

Muck R.E., Steenhuis T.S., 1982. Nitrogen losses from manure storages. *Agricultural Wastes*, 4, 41-54.

- Nelson D.W., 1982. Gaseous losses of nitrogen other than through denitrification. Nitrogen in agricultural soils. Agronomy monograph N °22, ASA CSSA SSSA, 677 South segoe Road, Madison WI 53711, USA, pp 327-363.
- Olivier J.G.L., Bouwman A.F., Van der Hoek K.W., Berdowski J.J.M., 1998. Global air emission inventories for anthropogenic sources of NO<sub>x</sub>, NH<sub>3</sub> and N<sub>2</sub>O, 1990. Proceedings of the First International Nitrogen Conference, 23-27 March 1998, Noordwijkerhout, The Netherlands, Elsevier Science, pp.135-148.
- Payne W.J. Pasteur, Gayon, Dupetit et le cycle de Reiset. Annales de l'institut Pasteur/Actualités, pp. 31-44.
- Payne W.J., 1973. Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms. Bacteriological Review, 37, 409-452.
- Peu P., Beline F., Martinez J., 1999. A floating chamber for estimating nitrous oxide emissions from farm scale treatment units for livestock wastes. J. agric. Engng. Res., 73, 101-104.
- Recous S., 1988. Dynamique de l'azote en sol cultivé : organisation microbienne des formes ammoniacale et nitrrique, conséquences sur l'utilisation de l'azote des engrais par une culture de blé. Thèse de l'université Claude Bernard, Lyon I.
- Reiset J., 1856. Expériences sur la putréfaction et sur la formation des fumiers. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 42, 53-59.
- Remde A., Conrad R., 1990. Production of nitric oxide in Nitrosomonas europaea by reduction of nitrite. Archives of Microbiology, 49, 1134-1141.
- Richtie G.A.F., Nicholas D.J.D., 1972. Identification of the sources of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in Nitrosomonas europaea. Biochemical Journal, 126, 1181-1191.
- Schloesing A.T., Müntz C.A., 1877. Sur la nitrification par les ferments organiques. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 84, 301-303.
- Sorensen P., Jensen E.S., Nielsen N.E., 1994. Labelling of animal manure nitrogen with <sup>15</sup>N. Plant and Soil, 162, 31-37.
- Sorensen P., Jensen E.S., 1998. The use of <sup>15</sup>N labelling to study the turnover and utilization of the ruminant manure N. Biol. Fertil. Soils, 28, 56-63.
- Sotiriou N., Scheunert I., 1994. Longterm experiments on the fate of <sup>15</sup>N urea in soil/plant-systems under outdoor conditions. Chemosphere, 28, 333-340.
- Thomsen I.K., Kjellerup V., Jensen B., 1997. Crop uptake and leaching of <sup>15</sup>N applied in ruminant slurry with selectively labelled faeces and urine fractions. Plant and Soil, 197, 233-239.
- Vallis I., Catchpoole V.R., Weier K.L. 1996. Recovery in plants and soils of <sup>15</sup>N applied as surface bands of urea to sugarcane. Australian Journal of Agricultural Research, 47, 355-370.
- Weissenberg H., 1902. Über die Denitrifikation. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk II, Abt. 8, 166.
- Winogradsky S., 1890. Sur les organismes de la nitrification. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 110, 1013-1016.