



Technique de marquage isotopique



Lalajaona Randriamanantsoa

chercheur au LRI

rlalajaona@yahoo.fr

Plan

- Rappels: atomes, isotopes stables et radioisotopes
- Méthode isotopique: principe de dilution isotopique
- Application 1: Cinétique d'échange isotopique sur des sols très fixateurs
- Application 2 : Evaluation des sources de P prélevé par le riz pluvial utilisant des apports organiques (double marquage isotopique)
- Conclusions

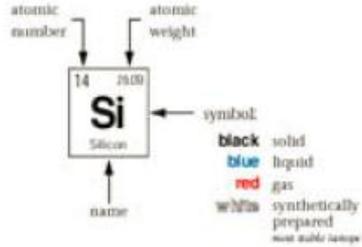
Atomes

Periodic Table of the Elements



Slum 3 Seaborg

1 1.008 H Hydrogen																	2 4.003 He Helium	
3 6.941 Li Lithium	4 9.012 Be Beryllium																	10 20.18 Ne Neon
11 22.99 Na Sodium	12 24.31 Mg Magnesium																	18 39.96 Ar Argon
19 39.10 K Potassium	20 40.08 Ca Calcium	21 44.96 Sc Scandium	22 47.88 Ti Titanium	23 50.94 V Vanadium	24 51.98 Cr Chromium	25 54.94 Mn Manganese	26 55.85 Fe Iron	27 58.93 Co Cobalt	28 58.71 Ni Nickel	29 63.55 Cu Copper	30 65.37 Zn Zinc	31 69.72 Ga Gallium	32 72.64 Ge Germanium	33 74.92 As Arsenic	34 78.96 Se Selenium	35 79.90 Br Bromine	36 83.80 Kr Krypton	
37 85.47 Rb Rubidium	38 87.62 Sr Strontium	39 88.91 Y Yttrium	40 91.22 Zr Zirconium	41 92.91 Nb Niobium	42 95.94 Mo Molybdenum	43 98.91 Tc Technetium	44 101.07 Ru Ruthenium	45 101.07 Rh Rhodium	46 106.42 Pd Palladium	47 106.91 Ag Silver	48 112.41 Cd Cadmium	49 114.82 In Indium	50 118.69 Sn Tin	51 127.46 Sb Antimony	52 127.60 Te Tellurium	53 126.91 I Iodine	54 131.30 Xe Xenon	
55 132.91 Cs Cesium	56 137.33 Ba Barium	57 138.91 La Lanthanum	72 178.49 Hf Hafnium	73 180.95 Ta Tantalum	74 183.85 W Tungsten	75 186.21 Re Rhenium	76 186.21 Os Osmium	77 192.22 Ir Iridium	78 196.09 Pt Platinum	79 196.97 Au Gold	80 200.59 Hg Mercury	81 204.37 Tl Thallium	82 207.19 Pb Lead	83 208.98 Bi Bismuth	84 208.98 Po Polonium	85 209 At Astatine	86 222 Rn Radon	
87 223 Fr Francium	88 226 Ra Radium	89 227 Ac Actinium	104 261 Rf Rutherfordium	105 262 Ha Hassium	106 263 Sg Seaborgium	107 263 Bh Bohrium	108 264 Hs Hassium	109 265 Mt Meitnerium	110 271 Ds Darmstadtium	111 272 Rg Roentgenium	112 277 Cn Copernicium	(113) Nh Nihonium	114 289 Fl Flerovium	(115) Mc Moscovium	116 289 Lv Livermorium	(117) Ts Tennessine	118 294 Og Oganesson	



- alkali metals
- alkaline earth metals
- transitional metals
- other metals
- nonmetals
- noble gases

Lanthanide series →

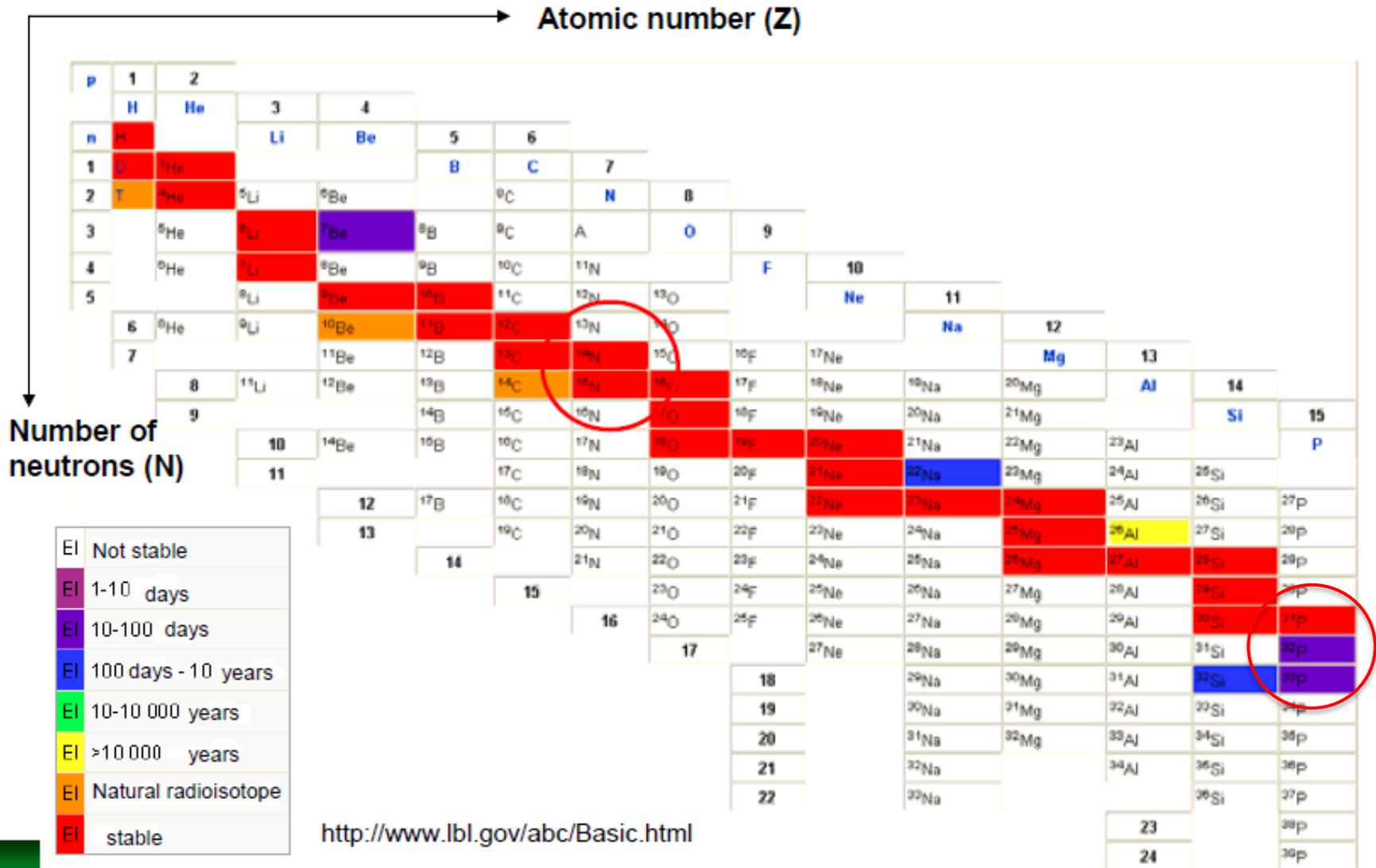
58 140.12 Ce Cerium	59 140.91 Pr Praseodymium	60 140.91 Nd Neodymium	61 140.91 Pm Promethium	62 150.40 Sm Samarium	63 151.96 Eu Europium	64 157.25 Gd Gadolinium	65 158.93 Tb Terbium	66 162.50 Dy Dysprosium	67 164.93 Ho Holmium	68 167.26 Er Erbium	69 168.93 Tm Thulium	70 173.04 Yb Ytterbium	71 174.97 Lu Lutetium
-------------------------------------	---	--	---	---------------------------------------	---------------------------------------	---	--------------------------------------	---	--------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------	--	---------------------------------------

Actinide series →

90 226.04 Th Thorium	91 231.04 Pa Protactinium	92 238.03 U Uranium	93 237.04 Np Neptunium	94 244 Pu Plutonium	95 244 Am Americium	96 244 Cm Curium	97 247 Bk Berkelium	98 247 Cf Californium	99 251 Es Einsteinium	100 252 Fm Fermium	101 257 Md Mendelevium	102 259 No Nobelium	103 261 Lr Lawrencium
--------------------------------------	---	-------------------------------------	--	-------------------------------------	-------------------------------------	----------------------------------	-------------------------------------	---------------------------------------	---------------------------------------	------------------------------------	--	-------------------------------------	---------------------------------------

© 1999 Lawrence Berkeley National Laboratory

Atomes



Isotopes stables

Table 1: Abundance of the stable isotopes (after Hoefs, 1997)

Element	Isotope	Relative abundance (%)	Natural Variation (‰)	Delta Notation
hydrogen	^1H	99.9844	D/H = 700	δD or $\delta^2\text{H}$
	D (^2H)	0.0156		
carbon	^{12}C	98.89	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 100$	$\delta^{13}\text{C}$
	^{13}C	1.11		
nitrogen	^{14}N	99.64	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N} = 50$	$\delta^{15}\text{N}$
	^{15}N	0.36		
oxygen	^{16}O	99.763	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O} = 100$	$\delta^{18}\text{O}$
	^{17}O	0.0375		
	^{18}O	0.1995		
sulfur	^{32}S	95.02	$^{34}\text{S}/^{32}\text{S} = 100$	$\delta^{34}\text{S}$
	^{33}S	0.75		
	^{34}S	4.21		
	^{36}S	0.02		

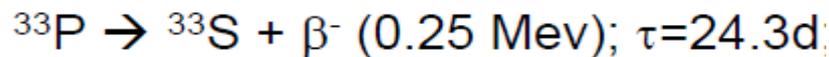
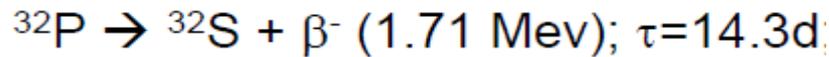
Utilisation du P radioactif comme traceur



- ^{31}P isotope stable
- ^{32}P et ^{33}P radioactifs

✓ Propriétés chimiques identiques

✓ ^{32}P et ^{33}P reviennent à la stabilité en émettant des particules β^-



Traceur



Compteur β (scintillateur liquide)

Utilisation de l'isotope stable ^{15}N comme traceur



- ^{14}N isotope stable
- ^{15}N isotope stable

- ✓ Les isotopes stables sont stables
- ✓ Les isotopes stables d'un même élément sont caractérisés par l'abondance isotopique

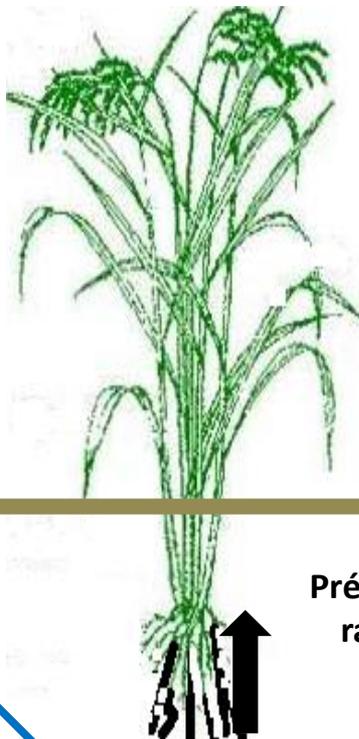
Abondance isotopique du ^{15}N = $\text{atom}\%^{15}\text{N} = 100 * \frac{^{15}\text{N}}{(^{15}\text{N} + ^{14}\text{N})}$



Spectromètre de masse

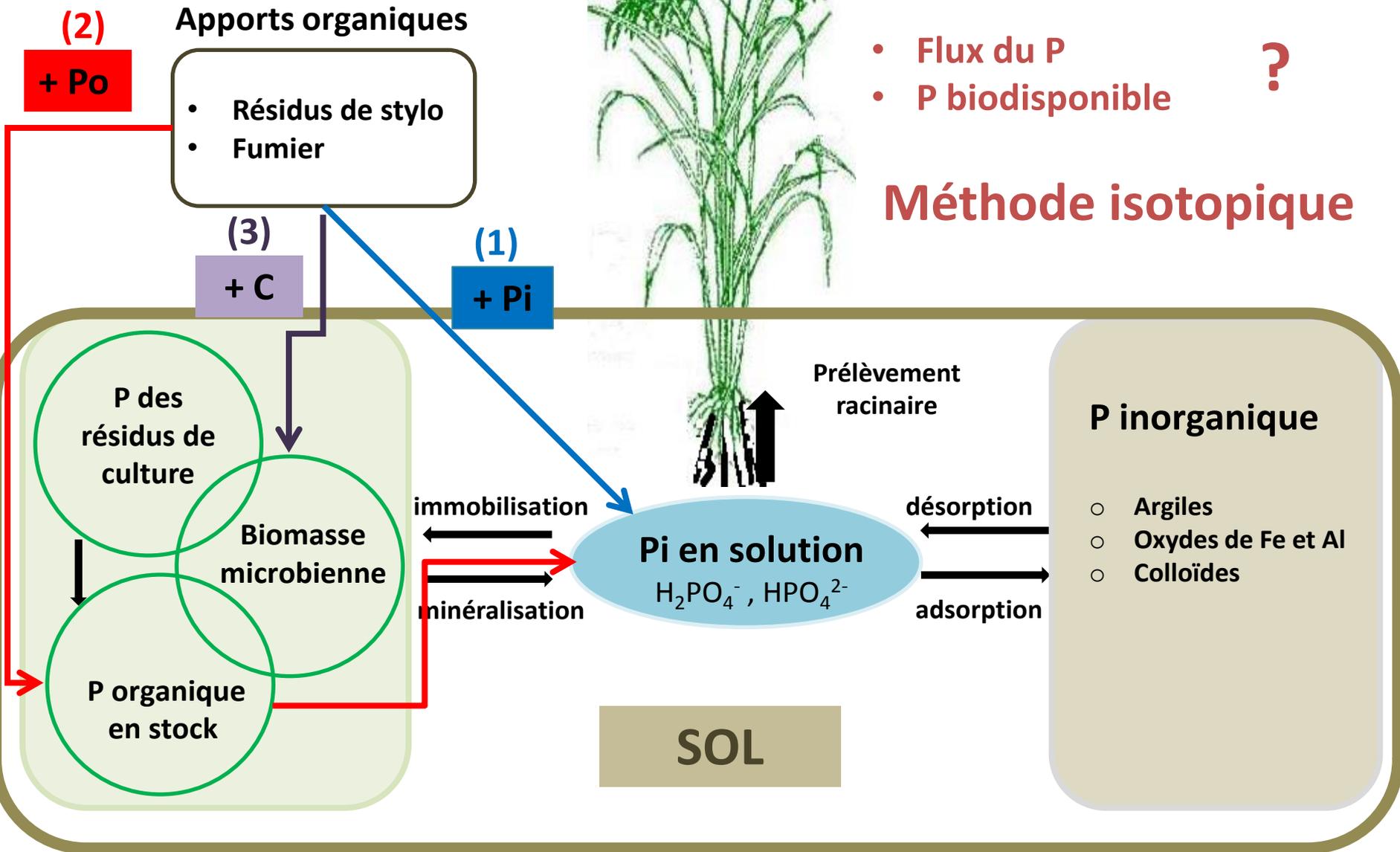
Pourquoi utiliser la méthode isotopique?

- Méthode non destructive et robuste comparée à la méthode d'extraction chimique (méthode de Olsen...)
- Le P (valide aussi pour le N)
 - i) Seulement une petite fraction du P total peut circuler dans le système (sol)
 - ii) P participe à plusieurs réactions dans le sol allant de quelques secondes en années
 - iii) P est distribué dans plusieurs compartiments du sol.



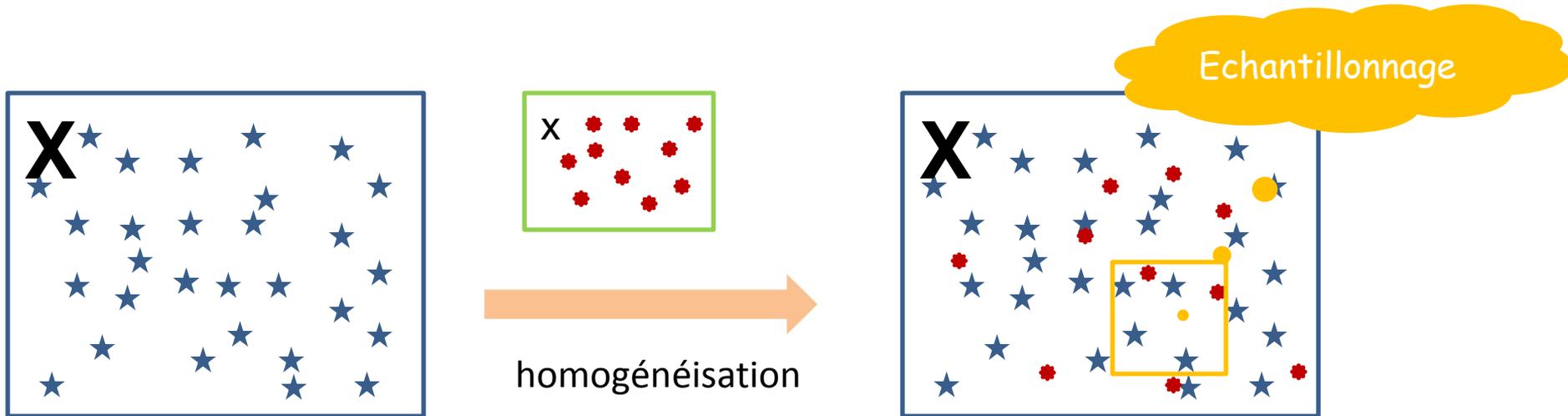
- Flux du P
 - P biodisponible
- ?

Méthode isotopique

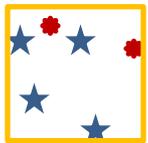


Principe de dilution isotopique

Dénombrement d'une population inconnue



Prélèvement



N, n

$$\frac{N}{X+x} = \frac{n}{x}$$

X = Nombre de population (inconnu)

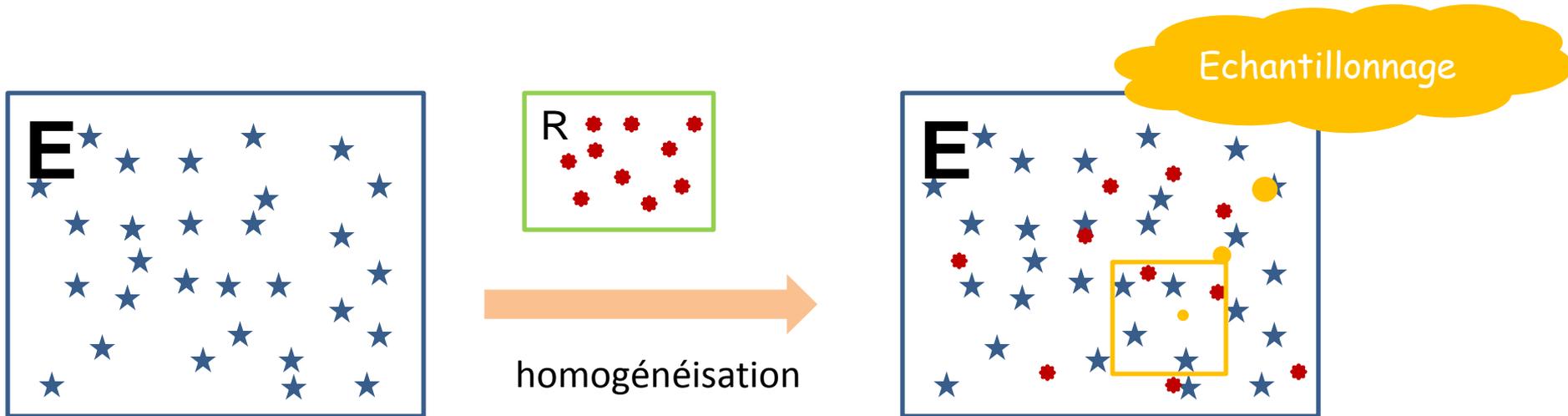
x = Nombre d'échantillon marqué introduit (connu)

N = Nombre d'échantillon prélevé non marqué

n = Nombre d'échantillon prélevé marqué

Application 1: La cinétique d'échange isotopique (CEI)

Détermination des ions phosphates (Pi) isotopiquement échangeable (valeur E)



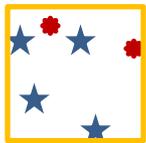
E = Pi isotopiquement échangeable (inconnu)

R = ³³P Radioactif total introduit (connu)

Cp = Pi dans la solution de sol

r = ³³P radioactif restant dans la solution de sol

Solution du sol



Cp, r

$$\frac{C_p}{E} = \frac{r}{R}$$

Hypothèse de base

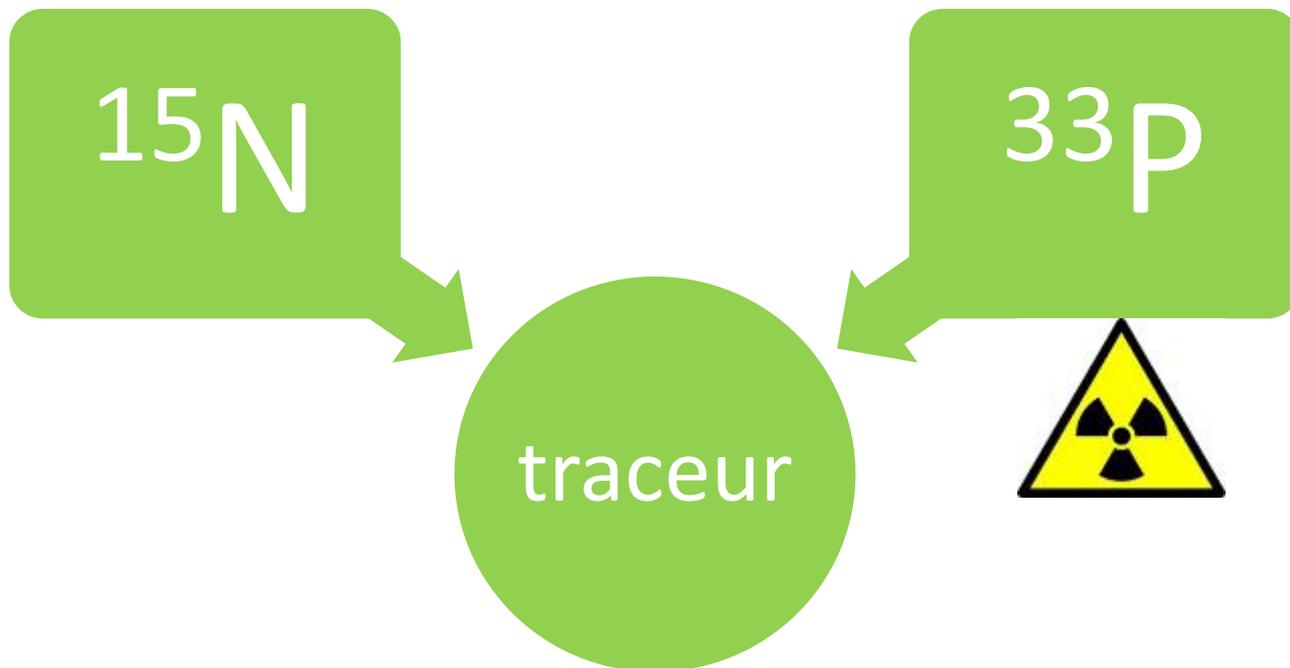
- (1) Le traceur et l'élément tracé doivent avoir le même comportement dans le système sol/solution
- (2) Le traceur et l'élément tracé doivent être mesurés dans le même et accessible compartiment (ex. la solution de sol)



Sol très fixateur vis –à-vis des Pi

?

Application 2: Double marquage isotopique



Sol très fixateur:

- Application en condition contrôlée

Sol (Ivory: 19°40'S, 46°24'E, 900m)



- pH (H₂O) = 5,2
- C organique = 9900 mgC/kg sol
- N total = 700 mgN/kg sol
- P total = 161 mgP/kg sol
- P organique = 65 mgP/kg sol

- Sol dégradé (érosion, sol acide qui contient des oxydes de Fer et Al)
- Faible disponibilité des éléments nutritifs (faibles intrants)



N et P: facteurs limitants (Rabeharisoa et al.,2012)

Source de N et P prélevé par le riz pluvial utilisant des apports organiques

Objectifs:

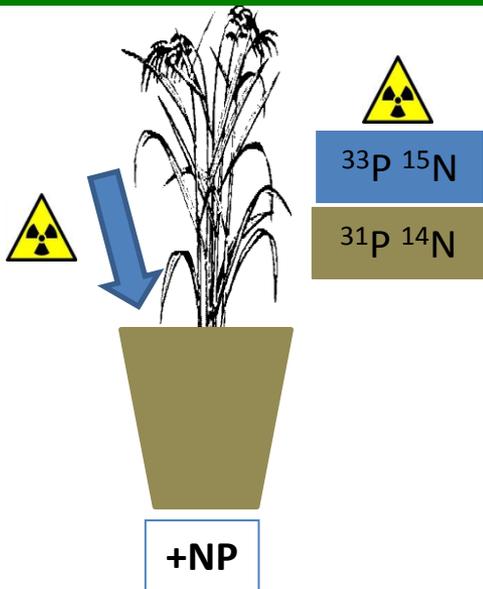
- Comparer la méthode isotopique de marquage direct (D) et indirect (ID)
- Déterminer par la méthode isotopique les sources de N et P prélevé par le riz pluvial en fonction des apports organiques (fumier ou résidus de stylo)

Quelques notions:

- $Pdff/Ndff$ = Proportion de P/N prélevé provenant de l'engrais
- $Pdfs/Ndfs$ = Proportion de P/N prélevé provenant du sol
- CUP/CUN = Coefficient d'utilisation du P/N ajouté
- AS = Activité spécifique (rapport entre $^{33}P/^{31}P$), $Atom\%^{15}N$ = excès en azote 15
- P résine = Quantité de P phytodisponible mesuré par une membrane échangeuse d'anion (résine) (Kuono et al., 1995)
- N minéral = Quantité de N phytodisponible

Technique isotopique (système sol-engrais-plante)

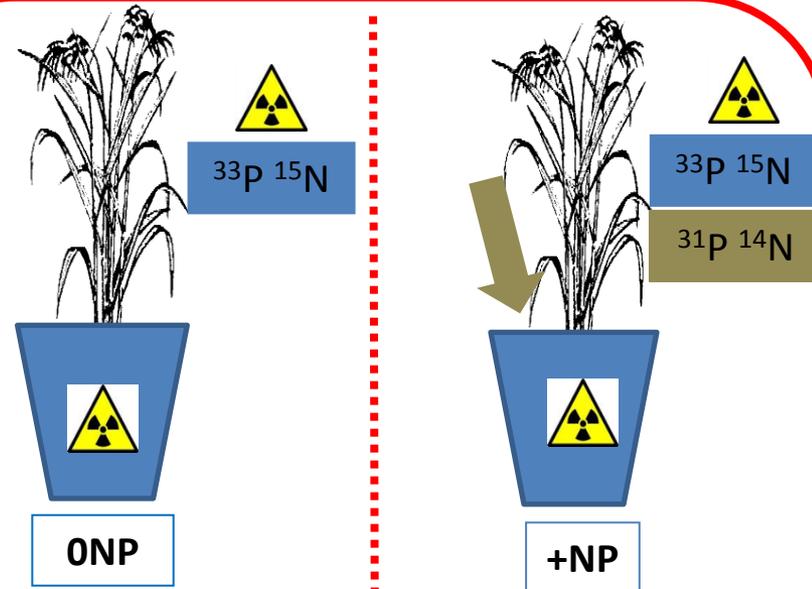
Marquage direct (D)



$$\text{Ndff (\%)} = 100 * \text{atom\%}^{15}\text{N}(+\text{N})/\text{atom\%}^{15}\text{N} (\text{f})$$

$$\text{Pdff(\%)} = 100 * \text{SA}(+\text{P})/\text{SA}(\text{f})$$

Marquage indirect (ID)



$$\text{Ndff (\%)} = 100 * [1 - \text{atom\%}^{15}\text{N}(+\text{N})/\text{atom\%}^{15}\text{N} (\text{ON})]$$

$$\text{Pdff(\%)} = 100 * [1 - \text{SA}(+\text{P})/\text{SA}(\text{OP})]$$

 Engrais marqué

 Engrais non marqué

- $\text{CUN (\%)} = 100 * \text{Ndff (mgN kg}^{-1} \text{ sol)} / \text{N}_{\text{apporté}}$
- $\text{CUP (\%)} = 100 * \text{Pdff (mgP kg}^{-1} \text{ sol)} / \text{P}_{\text{apporté}}$

Hood, 2001; Morel et al., 1989

Double marquage ^{15}N - ^{33}P (essai en serre)

- **Traitements:** ONOP, résidus de stylo, fumier et minéral ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$)
- **Éléments nutritifs ajoutés:** 17 mgP kg⁻¹ sol (fixé) ; 173 mgN kg⁻¹ sol (stylo + minéral) et 92 mgN kg⁻¹ sol (fumier)



Méthode directe ^{15}N et ^{33}P (D)

ONOP, résidus de stylo et minéral

Expérience en pot

- N et P prélevé par le riz pluvial

Incubation

- Respiration, Nmin,
- Nmic, Pmic, Présine

Méthode indirecte ^{15}N et ^{33}P (ID)

ONOP, résidus de stylo, fumier et minéral

Expérience en pot

- N et P prélevé par le riz pluvial

Incubation

- Respiration, Nmin,
- Nmic, Pmic, Présine

Stylo = *Stylosanthes guianensis* var. CIAT 184

Riz pluvial = *Oriza sativa* var. NERICA 4

Fumier provenant de l'essai au champ à Ivory

Resumé des M & M

Sol, Ivory

- pH (H₂O) = 5,2
- C organique = 9900 mgC/kg sol
- N total = 700 mgN/kg sol
- P total = 161 mgP/kg sol

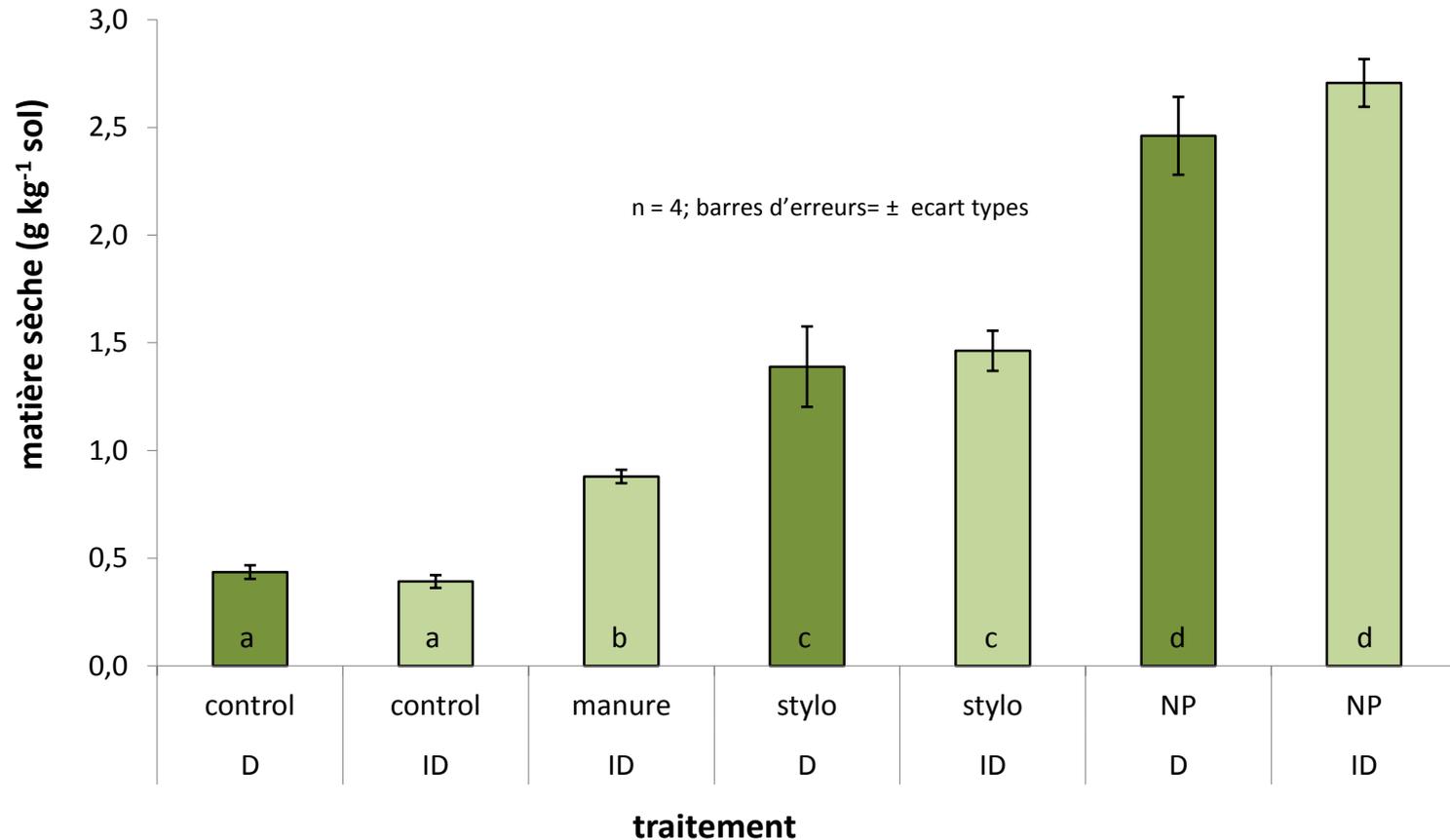


	P%	N%	C%	C:N
Fumier	0,15	0,85	13,25	16
Stylo	0,44	4,50	39,57	9



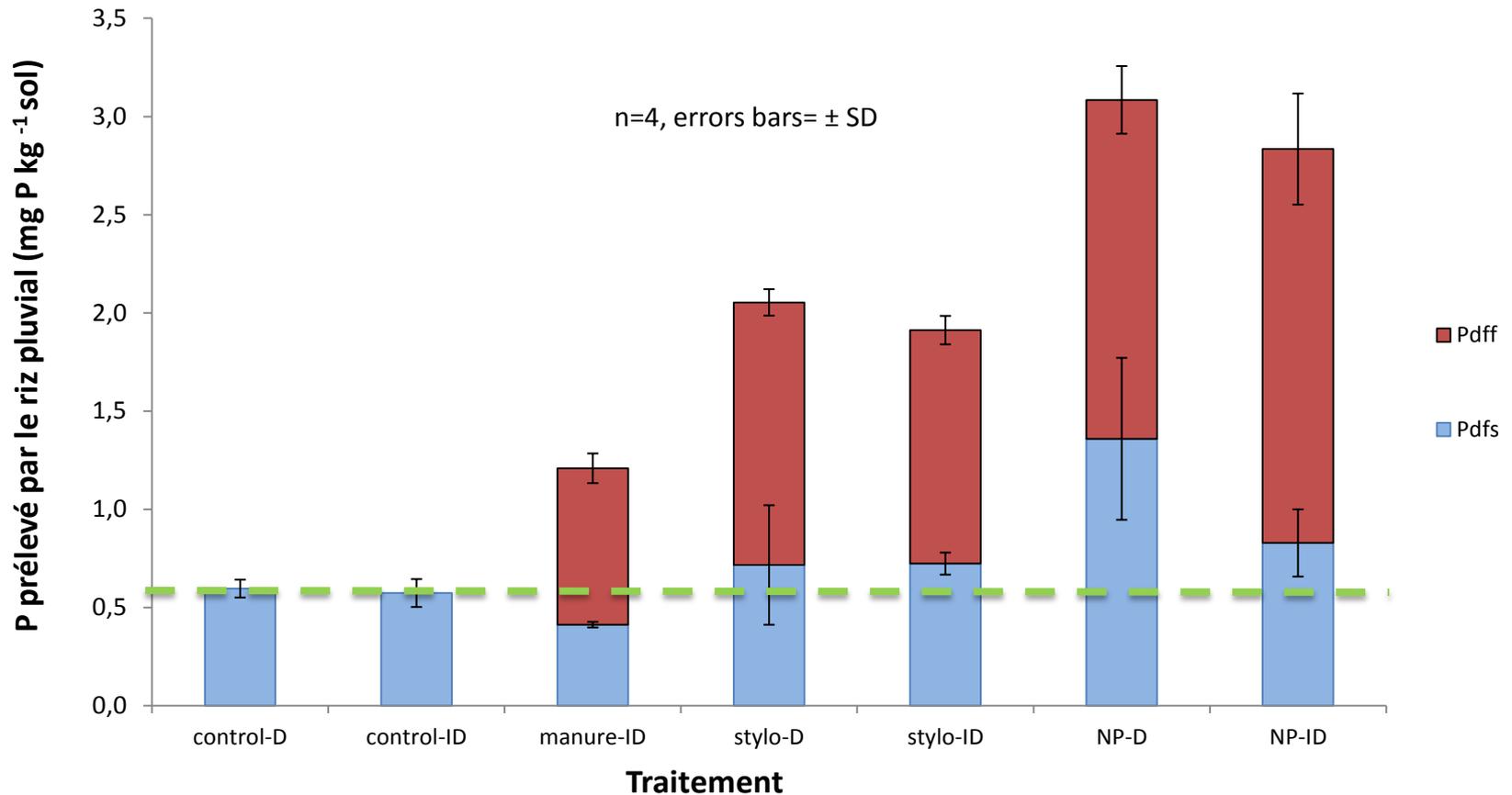


Biomasse aérienne du riz pluvial (40 jours après le transfert)



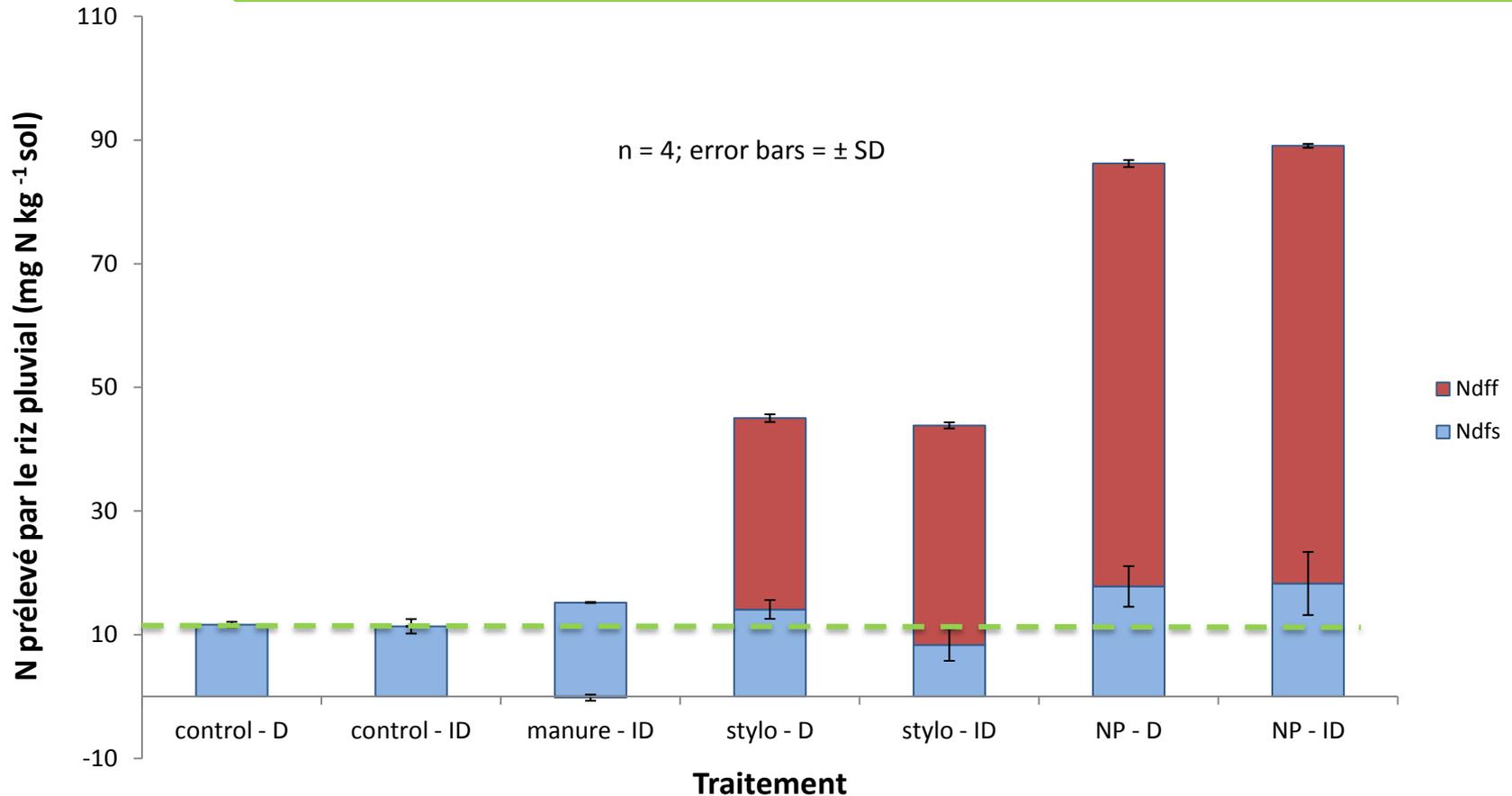
- Effet significatif des apports en N et P sur la biomasse aérienne :
Contrôle < Fumier < Stylo < Minéral
- **Méthodologie:** D = ID

P prélevé par la partie aérienne du riz (40 jours après le transfert)



- **P prélevé:** Minéral > Stylo > Fumier > Contrôle
- **Pdff:** 60% (élevé): bonne disponibilité des apports (minéral et organique)
- **Pdfs:** Priming effects des apports
- **Méthodologie:** D = ID

N prélevé par la partie aérienne du riz (40 jour après le transfert)



- **N prélevé:** Contrôle < Fumier < Stylo < Minéral
- **Ndff:** bonne disponibilité du N sauf pour le traitement fumier
- **Ndfs:** Priming effects des apports
- **Méthodologie:** D = ID

Apports organiques

(mg N/P kg⁻¹ sol)

Fumier

- P_{tot} **17**
- N_{tot} **92**

Stylo

- P_{tot} **17**
- N_{tot} **173**

Prélèvement par la plante(40 DAS)

(mg N/P kg⁻¹ sol)

Fumier

- CUP **5 %**
- CUN **0 %**
- Pdff **0.8 ± 0.1**
- Ndff **0 ±**

Stylo

- CUP **8 %**
- CUN **19 %**
- Pdff **1.3 ± 0.1**
- Ndff **33 ± 1.2**



Sol

Prélèvement racinaire

Solution du sol

Fumier

(mg N/P kg⁻¹ soil)

- P_{tot} **161 ± 17**
- N_{tot} **744 ± 2**
- P_{resine} **4.7 ± 0.7**
- N_{min} **13 ± 1**

Stylo

(mg N/P kg⁻¹ soil)

- P_{tot} **161 ± 17**
- N_{tot} **778 ± 5**
- P_{resine} **3.3 ± 0.3**
- N_{min} **52 ± 15**



- Résultat comparable avec D et ID (méthode isotopique)
- La proportion du P prélevé provenant de l'engrais (Pdff) et du N prélevé provenant de l'engrais (Ndff) est élevé sauf pour le fumier
- Pour le traitement fumier, il y a une limitation en N (application d'une dose d'urée pour le compenser)

Conclusion sur utilisation des radioisotopes (^{33}P ou ^{32}P)

Avantages

- Robuste
- Sensible
- Non destructive
- ✓ Phytodisponibilité des éléments pour la plante
- ✓ Transfert des éléments dans le système sol-engrais-plante

Limites

- Utilisation très règlementée
- Temps de demi-vie courte
- ✓ 14 jours pour le ^{32}P
- ✓ 25 jours pour le ^{33}P
- Plante ne pousse pas
- Concentration des éléments en solution est trop faible
- Présence de colloïdes dans la solution du sol

Conclusion sur utilisation des isotopes stables (^{15}N)

Avantages

- Robuste
- Sensible
- Non destructive
- Ne présente pas de danger
- Expérimentation non limité par la décroissance radioactive

Limites

- Contamination (persistance dans le temps)
- Cout élevé du traceur
- Moins sensitive que les traceurs radioisotopes
- Hypothèse difficile à verifier

Merci beaucoup!