

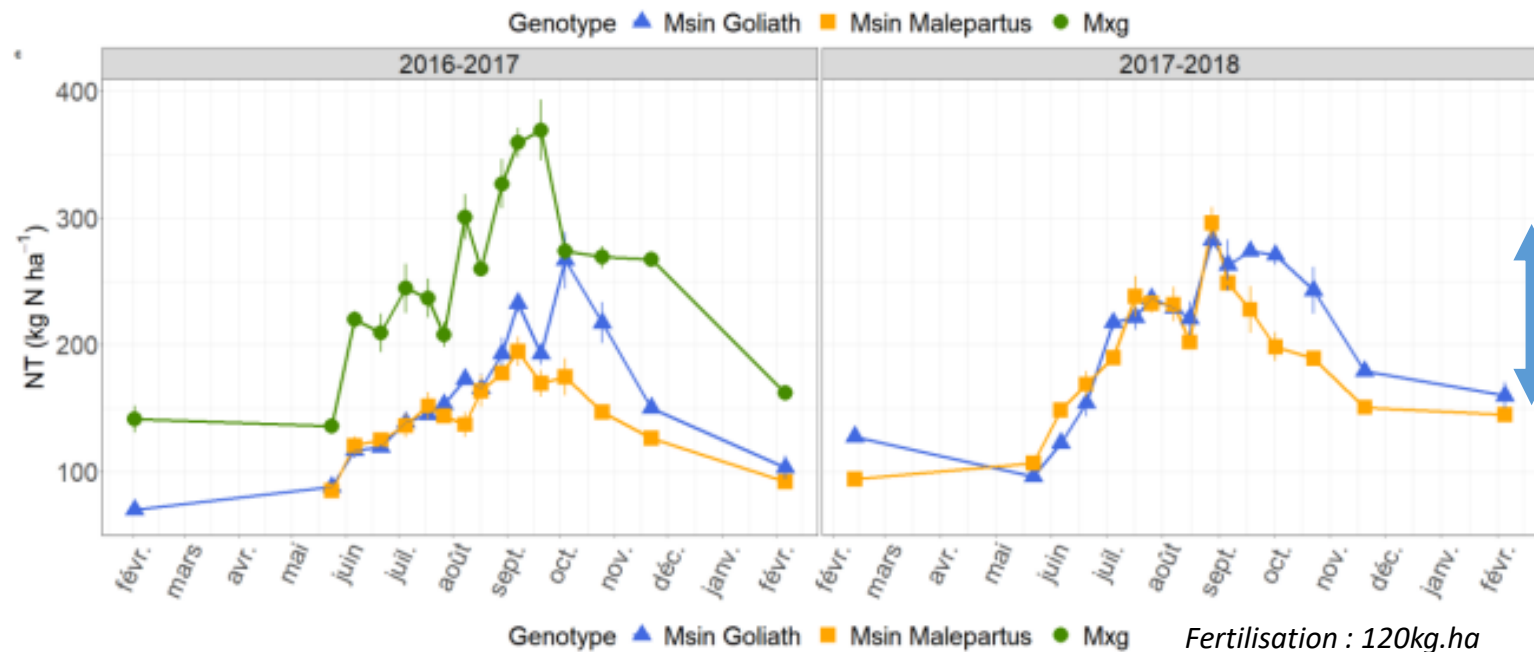
Avancées méthodologiques sur le suivi du devenir de l'azote issu de la plante

Antoine ANDRE et Marion Zapater

INRAE Estrées-Mons - Unité mixte de recherche transfrontalière BioEcoAgro

Contexte : de l'azote est perdu par les miscanthus

Chez le miscanthus, Leroy et al., 2021, ont montré une diminution de la quantité d'azote totale dans la plante pendant la sénescence et le repos hivernal

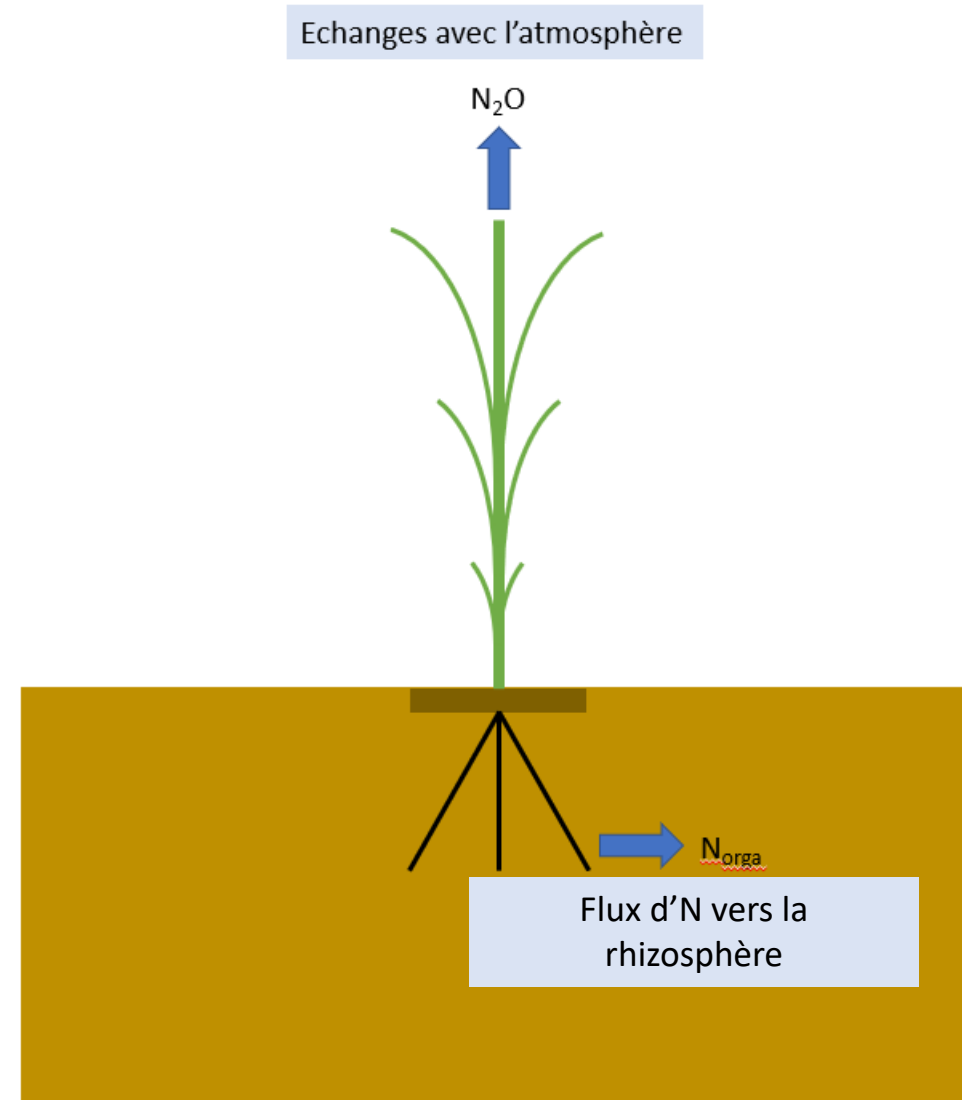


Azote perdu par la plante

Phénomène observé dans d'autres études, que la culture soit fertilisée ou non (Beale et Long 1997, Himken et al 1997; Strullu et al 2011)

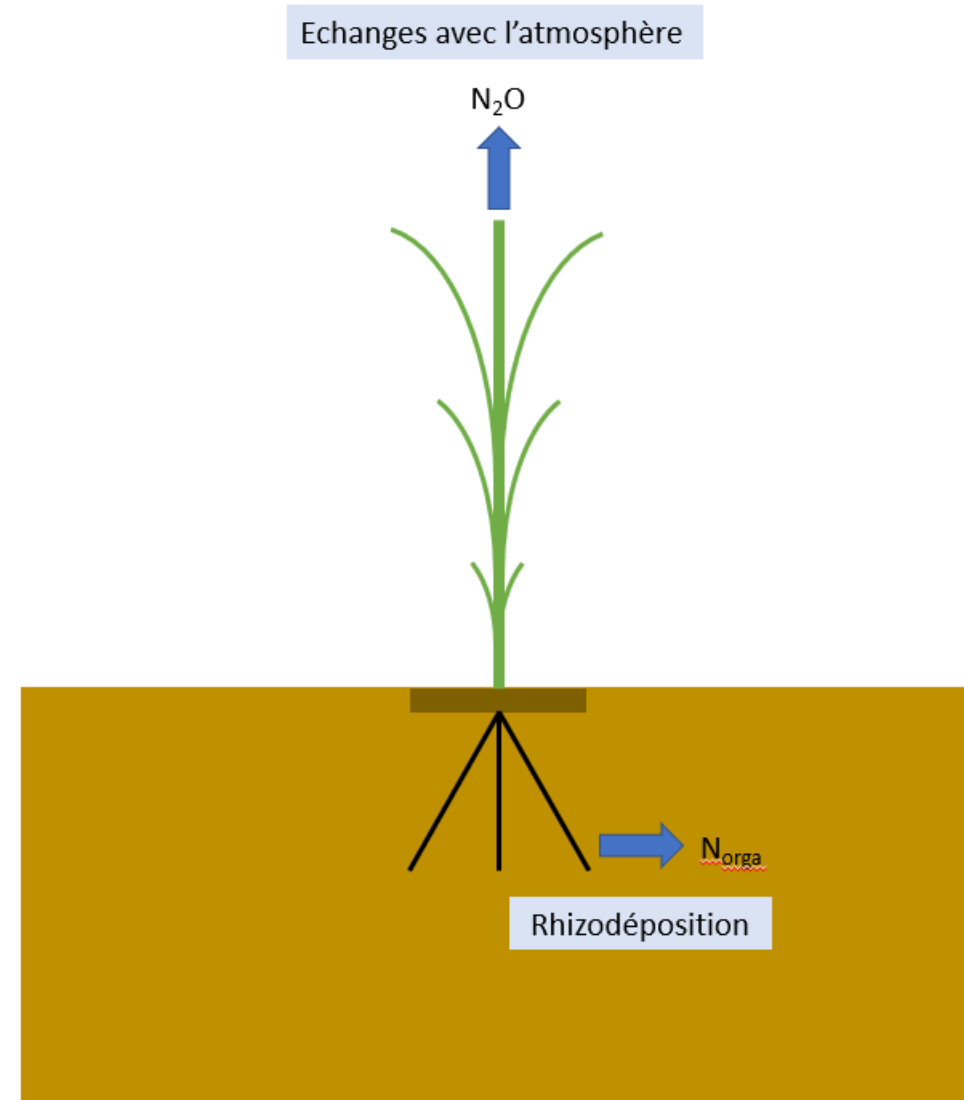
Hypothèses pour expliquer le phénomène

- Rhizodéposition : pertes dans le sol, mortalité racinaire et exsudation racinaire
- Echanges avec l'atmosphère : pertes sous forme de gaz *via* les feuilles



Hypothèses pour expliquer le phénomène

- Rhizodéposition : pertes dans le sol *via* les racines (mortalité racinaire et exsudation)
- Echanges avec l'atmosphère : pertes sous forme de gaz *via* les feuilles



La rhizodéposition en quelques mots

-> libération de composés, organiques ou inorganiques, par les racines des plantes dans leur environnement

Table 1
Compounds released by plant roots included in the concept of rhizodeposition (RD). (hatching = only partly included, unclear)

	Volatile, gaseous compounds	Non-particular compounds				Particular compounds				Comments
		ions	exudates	lysates	secretions	root border cells and root cap cells	sloughed root cells and tissue	root hairs	root fragments, fine roots, decaying roots	
Marschner, 1995										Release of organic C including mineral nutrients (e.g. N, P)
Rovira, 1956										No definition of RD
Curl and Truelove, 1986										No definition of RD
Nguyen, 2003										Organic C lost from living roots
Shamoot et al., 1968										Organic debris released from living roots
Kuzyakov and Domanski, 2000										Organic C lost from living roots
Jones et al., 2004; Kuzyakov and Schneckenberger, 2004										
Meharg, 1994										C lost from living roots
Whipps and Lynch, 1985; Lynch and Whipps, 1990; Whipps, 1990a										C lost from living roots
Uren, 2001										All compounds released by living roots

Selon les auteurs, la définition de la rhizodéposition

- considère ou pas les ions
- considère ou pas les composés volatils (CO², NH₃)
- considère ou pas les racines mortes

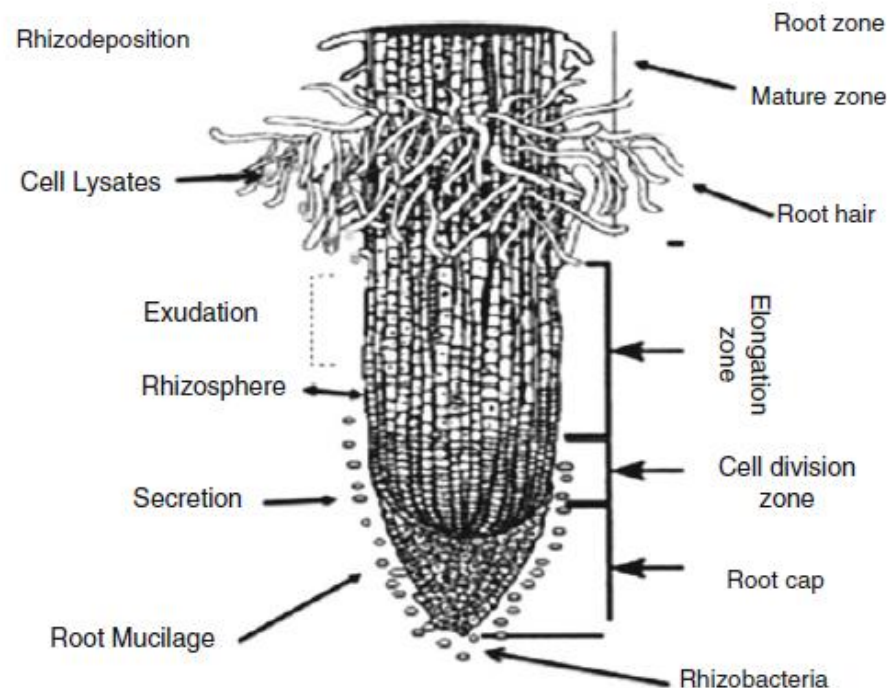
Différents processus sont impliqués dans la rhizodéposition

Différents processus sont impliqués dans la rhizodéposition du carbone et de l'azote

(Cf revues Fustec et al 2010, Nguyen et al 2003, Oburger et al 2008)

Processus liés aux racines vivantes

- Exsudation racinaire
- Desquamation cellules racinaires
- Mucilage



Processus liés aux racines sénescentes et à leur décomposition

Fig. 6.3 Mechanisms of release of rhizodeposition that provide nutrients for plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) root colonization and growth based on classes of compounds, secretions and their functions in the rhizosphere

(Patra et al 2021)

Quelle est l'importance de l'allocation du carbone vers les flux de rhizodéposition ?

Mécanisme en jeux	Importance	référence
Exsudats, sécrétion racinaire, racines fines et poils absorbant	1 à 2% du total du carbone assimilé	Kuzyakov et Domanski, 2000
Exsudats racinaires	1 à 10% du total du C assimilé	Paterson 2003
Débris racinaires	Représente 90% de la rhizodéposition	Uren, 2001
Exsudat vs desquamation des cellules racinaire et mucilage (C) <i>Calcul dans une revue</i> <i>D'après Fustec et al (2010)</i>	10à 100 fois plus de C relâché par exsudation racinaire que par les autres processus liés aux racines vivantes	Nguyen et al 2003

(Cf revues Fustec et al 2010, Nguyen et al 2003)

La libération de carbone est plus importante que la libération d'azote (Fustec et al 2010)

Comment étudier la rhizodéposition ?

Etude de la rhizodéposition = challenge

(Kuziakov et Domanski, 2000) :

- 1) Low concentration of root-derived organic substances in the soil in comparison to the content of other organic substances. There are SOM, plant residues, intermediates of SOM decomposition, and products of soil biota metabolism. This problem is particularly noticeable when the samples of rhizosphere soil and bulk soil are taken together and mixed before analysis.
- 2) Fast decomposition ($T_{1/2} = 0.5-10$ days) by soil micro-organisms of all organic substances released from roots (*Paul and Clark, 1996; Kuzyakov, 1997; Kuzyakov and Demin 1998*).
- 3) Appearance of the rhizodeposits in narrow zone of soil adhering the root surface.

- La majorité des études se fait par marquage isotopique de la plante (C ou N)
 - L'idée est de retrouver dans le sol la proportion d'azote qui provient de la plante
- > Nécessite des manipulations de la plante, pour ne pas marquer directement de sol

Quelles techniques de marquage des plantes pour l'azote ?

Wichern et al (2008) ont fait une revue complète des méthodes existantes pour marquer les plantes

Marquage par les parties aériennes

Marquage par les feuilles ou le pétiole

- ✓ Système racinaire intact
- Peut être utilisé sur tout type de plante

- ✗ Voie artificielle d'absorption de l'N
- Enrichissement des parties souterraines moindre
- Possibilité de contamination du sol

Marquage par la tige

- ✓ Système racinaire intact

- ✗ Mécanisme d'absorption de l'N inconnu
- Possible seulement avec des plantes à tige, et pas trop de tiges

Marquage par les parties souterraines

Pré-marquage des plantes

- ✓ Marquage par voie naturelle, homogène

- ✗ Source d'azote marquée diluée par l'absorption d'azote non marqué
- Transplantation obligatoire

Technique de « Split-root »

- ✓ Marquage par voie naturelle

- ✗ Pas de condition *in situ* possible
- Seule une partie du système racinaire est marquée
- Surestimation de la rhizodéposition
- Impossible pour plantes à rhizome

Marquage de l'atmosphère (NH₃)

- ✓ Plantes restent intactes

- ✗ Toxique à haute dose
- Difficile à mettre en place au champ
- Voie artificielle d'absorption de l'N

Mise au point d'une technique de marquage dérivée du split root, adaptable à des plantes à rhizomes



100 mg de ^{15}N par racine, une à deux racines par plante

Marquage sur racine
isolée 9 octobre 2025

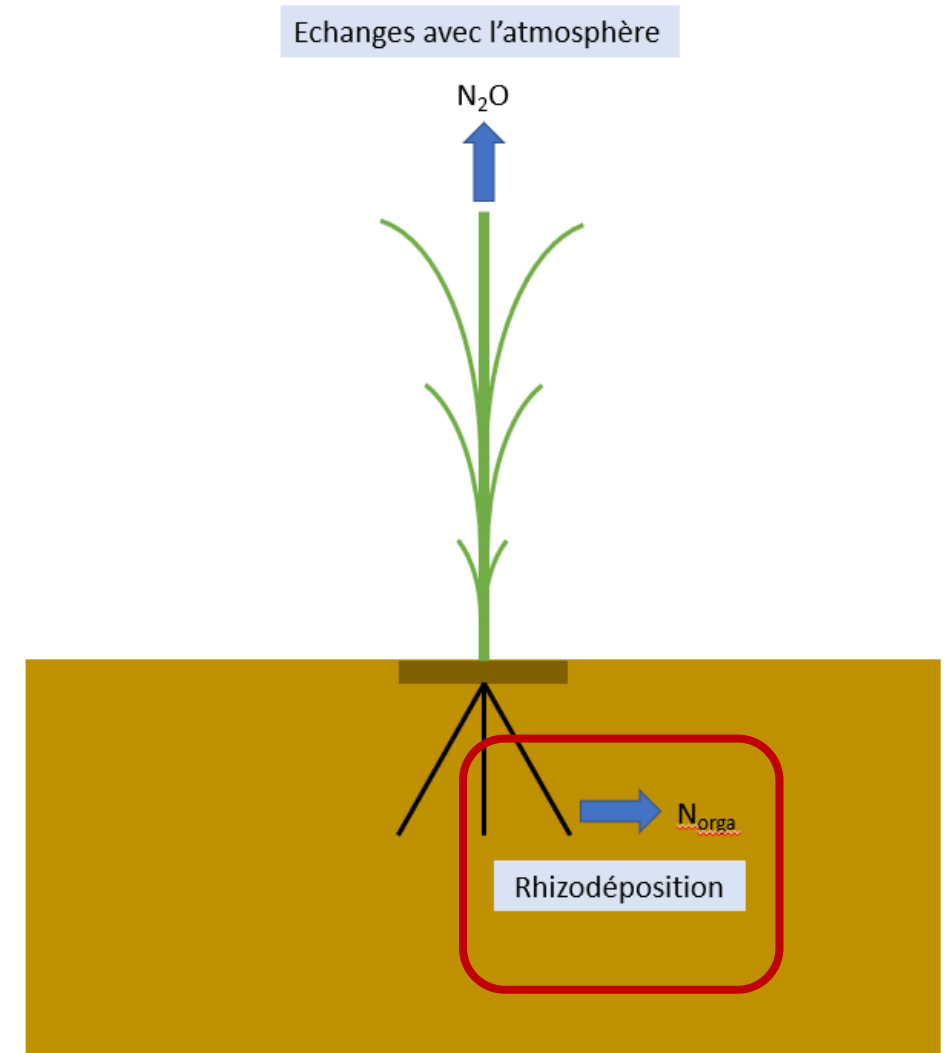
Nature de l'échantillon	Excès Isotopique (%)
Rhizome de la plante marquée	0.37% - 7.42%
Racines éloignées de la plante marquée	0.17% – 1.09%
Plante témoin abondance naturelle	0.0024% – 0.0034%

En manip exploratoire au champ, on retrouve un marquage fort des rhizomes et des racines éloignées de la racine marquée

Quelles méthodologies mettre en œuvre pour étudier les flux d'azote de la plante vers la rhizosphère ?

Objectifs :

- 1 - Quantification de la rhizodéposition (mortalité racinaire + exsudation) par marquage isotopique
- 2 - Caractérisation de l'exsudation racinaire : processus actif de la rhizodéposition

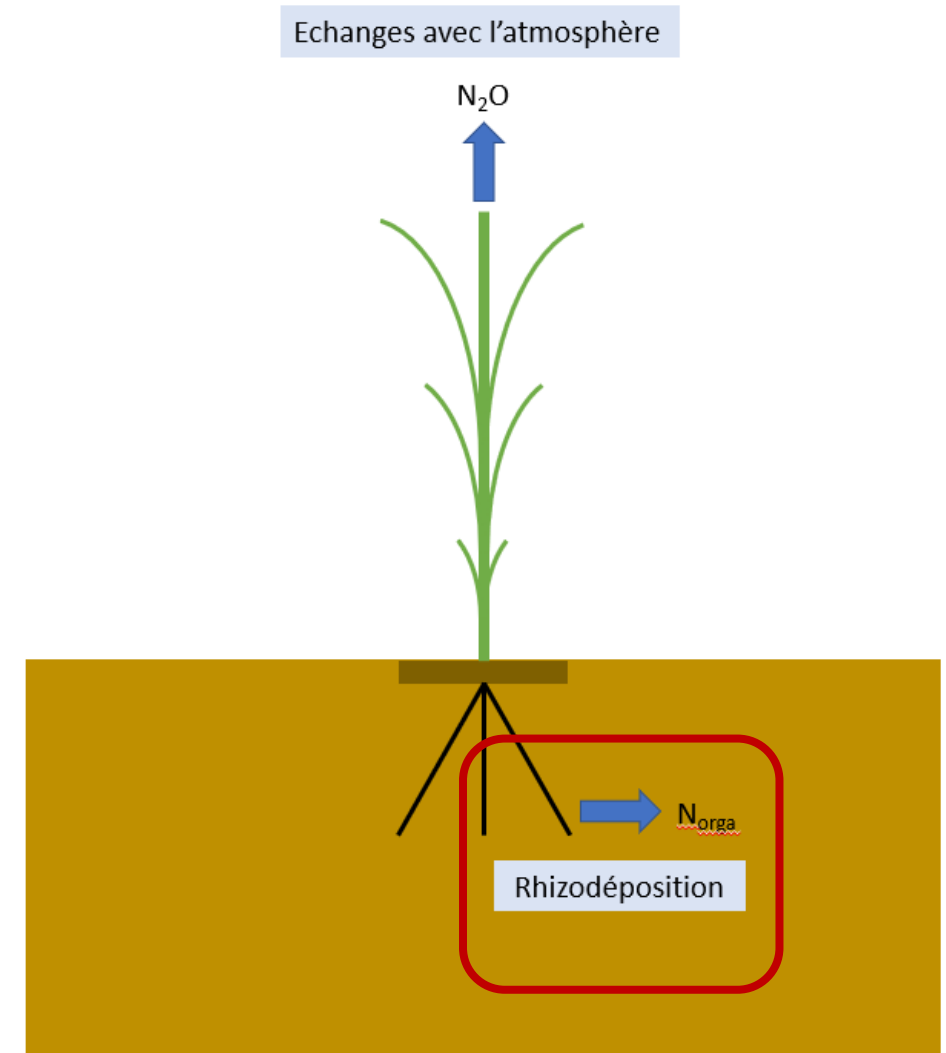


Quelles méthodologies mettre en œuvre pour étudier les flux d'azote de la plante vers la rhizosphère ?

Objectifs:

1 - Quantification de la rhizodéposition (mortalité racinaire + exsudation) par marquage isotopique

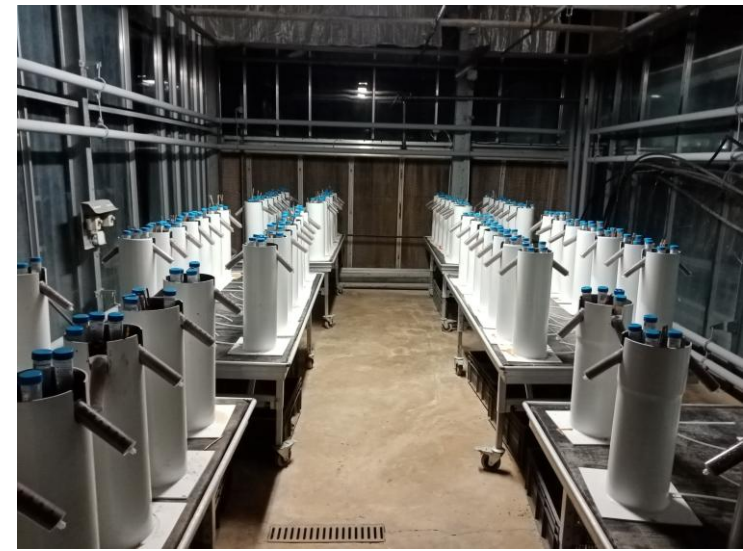
2 - Caractérisation de l'exsudation racinaire : processus actif de la rhizodéposition



Comment quantifier la rhizodéposition azotée du miscanthus à l'aide d'un marquage isotopique au ^{15}N ?

- **1. Création des pots**

Concilier réalisme agronomique et contrôle expérimental, isoler des racines



Comment quantifier la rhizodéposition azotée du miscanthus à l'aide d'un marquage isotopique au ^{15}N ?

2. Préparation du marquage

Vérification des racines en seringue



Organisation spatiale de l'essai :

3 blocs, 3 dates de prélèvement

66 plantes étudiées (54 marquées, 12 non marquées)



Comment quantifier la rhizodéposition azotée du miscanthus à l'aide d'un marquage isotopique au ^{15}N ?

3. Marquage isotopique

- Apport 100 mg ^{15}N par plante
- Fractionné entre Juin, Juillet, Août, Septembre 2026



Comment quantifier la rhizodéposition azotée du miscanthus à l'aide d'un marquage isotopique au ^{15}N ?

3. Principe de quantification de la rhizodéposition

Hypothèses générales

- La plante constitue la source d'azote marqué (^{15}N)
- Le ^{15}N est supposé se comporter de manière identique au ^{14}N (naturel) dans les processus physiologiques et biogéochimiques

Principe conceptuel

Azote marqué injecté → redistribution dans la plante → transfert vers le sol → quantification par bilan isotopique

Bilan isotopique



Comment quantifier la rhizodéposition azotée du miscanthus à l'aide d'un marquage isotopique au ^{15}N ?

- Calendrier

Déc. 2025

Mai 2026

Ju 2026

Automne
2026

Fév 2027

Préparation des plantes



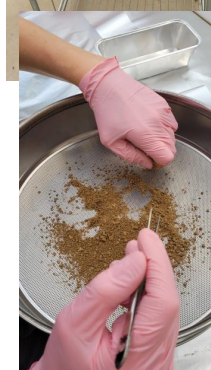
Préparation du dispositif



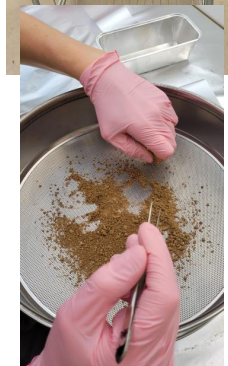
Campagne 0 : J+1
Contrôle



Campagne 1 :
Avant sénescence



Campagne 2 :
Dormance

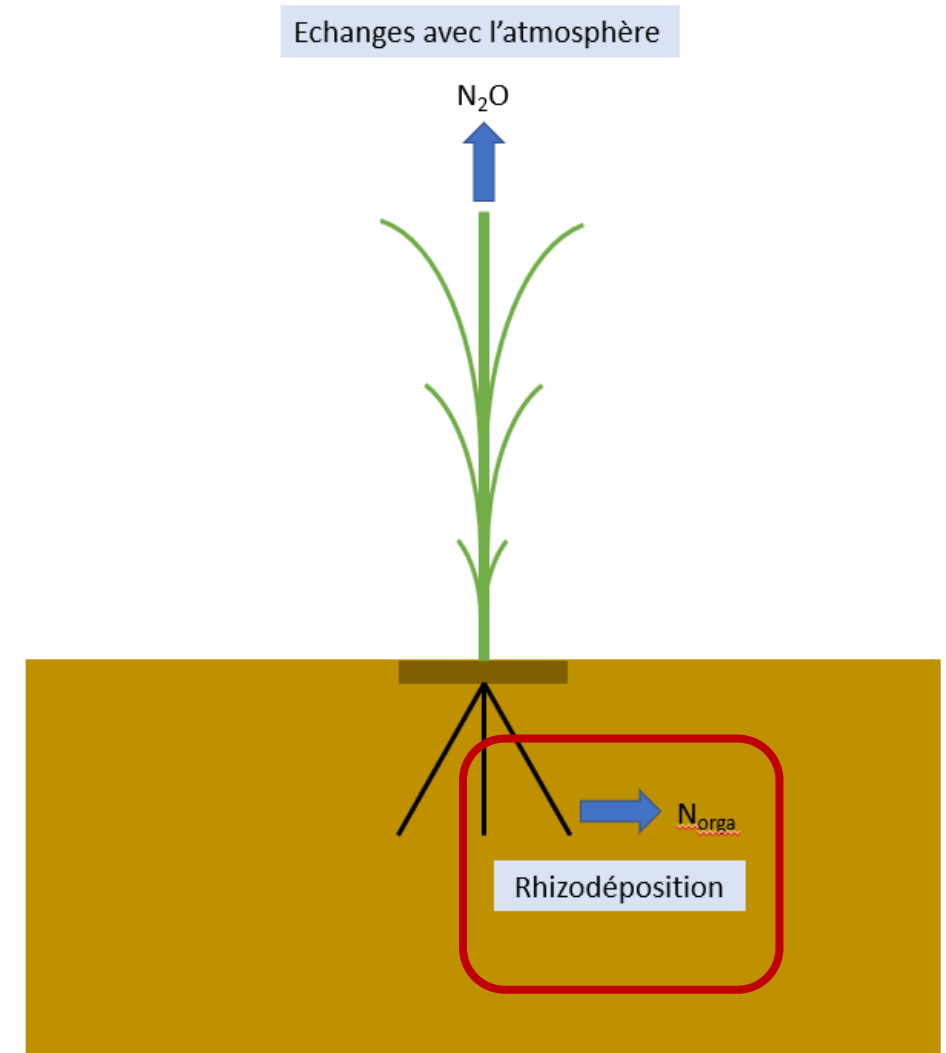


Quelles méthodologies mettre en œuvre pour étudier les flux d'azote de la plante vers la rhizosphère ?

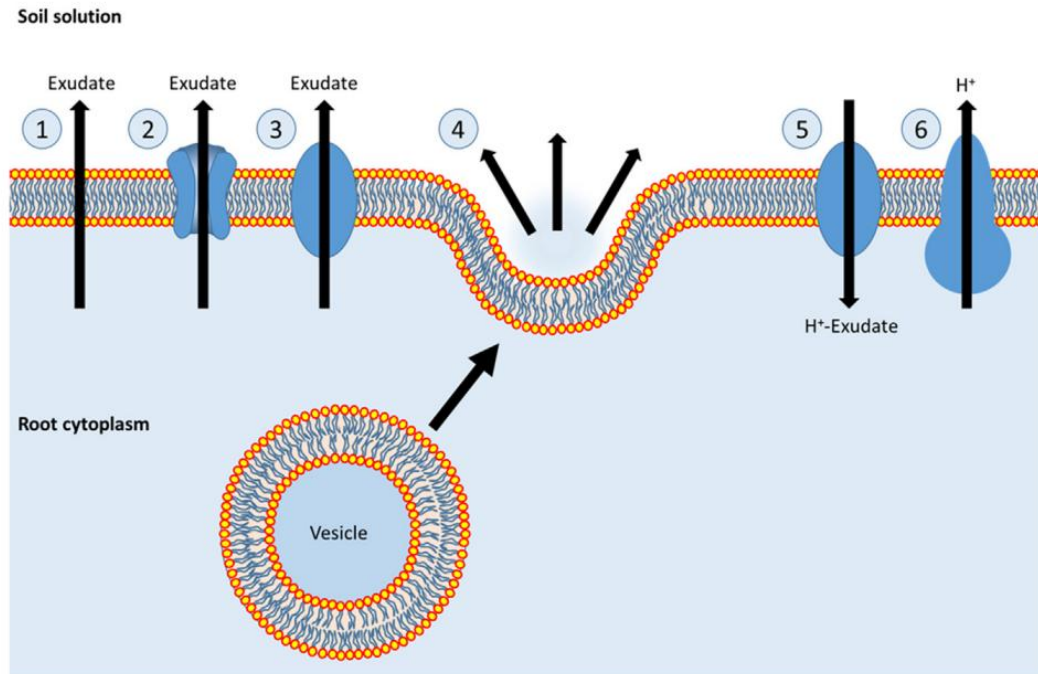
Objectifs:

1- Quantification de la rhizodéposition (mortalité racinaire + exsudation) par marquage isotopique

2- Caractérisation de l'exsudation racinaire : processus actif de la rhizodéposition



Exsudation racinaire : partie active de la rhizodéposition



Oburger and
Jones, 2018

1. Diffusion passive à travers la membrane suite à un gradient de concentration
2. Transport facilité
3. Transport actif
4. Exocytose
5. Re-uptake par co-transport
6. Co-transport

Mesure	Intégration temporelle
Rhizodéposition	Somme de la matière organique déposée entre deux dates de mesure
Exsudation	Flux d'exsudation à un moment précis

Exsudation et rhizodéposition : ordres de grandeur et références

Exsudation

Auteurs et dates	Conditions de l'expérience	Élément mesuré	Unité	Valeur
Hromadko et al., 2010	Racines coupées puis incubées 2h	Total organic carbon (TOC)	$\text{mg}_C * \text{g}_{\text{root}}^{-1} * \text{h}^{-1}$	2,64
Zadel et al., 2022	Système racinaire (toujours attaché à la plante) incubé en entier pendant 2h	TOC	$\text{mg}_C * \text{g}_{\text{root}}^{-1} * \text{h}^{-1}$	2,1
		Total nitrogen	$\text{mg}_N * \text{g}_{\text{root}}^{-1} * \text{h}^{-1}$	0,3
von Haden et al., 2024	Incubation <i>in situ</i> de racines individuelles pendant 24h	TOC	$\text{mg}_C * \text{g}_{\text{root}}^{-1} * \text{h}^{-1}$	0,04

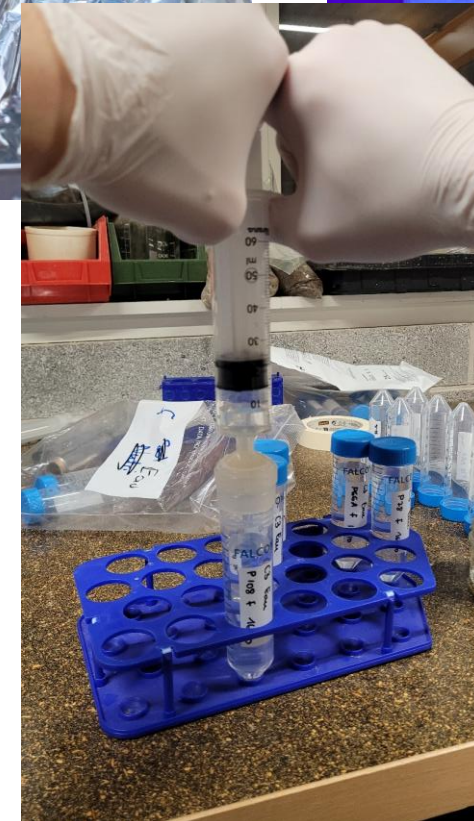
+/- 4 à 270
(!!)
tC/ha/an

+/- 32 (!!)
tN/ha/an

Rhizodéposition

Auteurs et dates	Conditions de l'expérience	Élément mesuré	Unité	Valeur
Gioacchini et al., 2016	En champ, utilisation de l'abondance naturelle d'isotopes sur 9 ans	Carbone	$\text{t} * \text{ha}^{-1} * \text{an}$	1,29
Kuzyakov et al., 2004	En champ, abondance naturelle sur 9 ans	Carbone	$\text{t} * \text{ha}^{-1} * \text{an}$	1,21

Collecte des exsudats racinaires

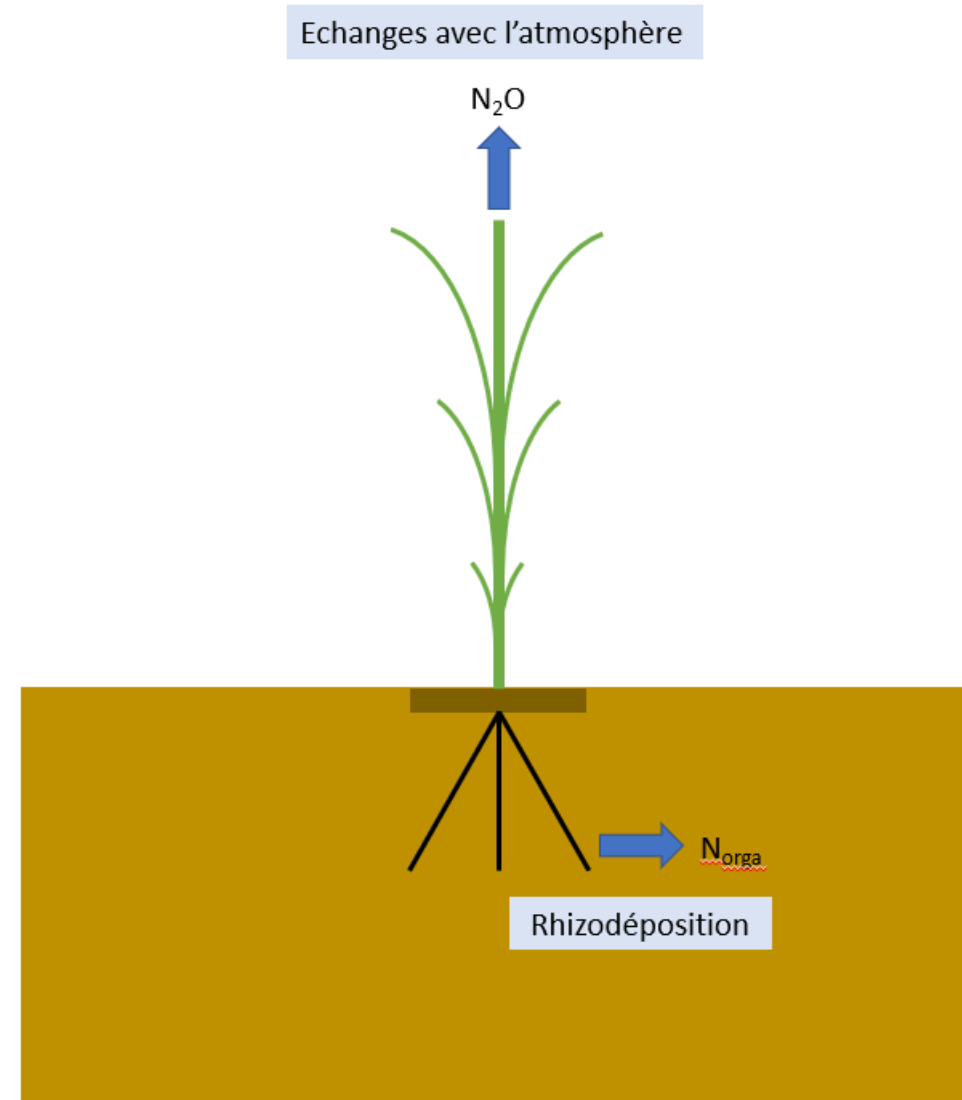


Pour analyses métabolomiques

A tester : effet de la lignification des racines sur l'exsudation ?

Hypothèses pour expliquer le phénomène

- Rhizodéposition : pertes dans le sol *via* les racines (mortalité racinaire et exsudation)
- Echanges avec l'atmosphère : pertes sous forme de gaz *via* les feuilles



Emissions de N_2O par la plante : Mécanismes

Transfert depuis le sol *via* la transpiration :

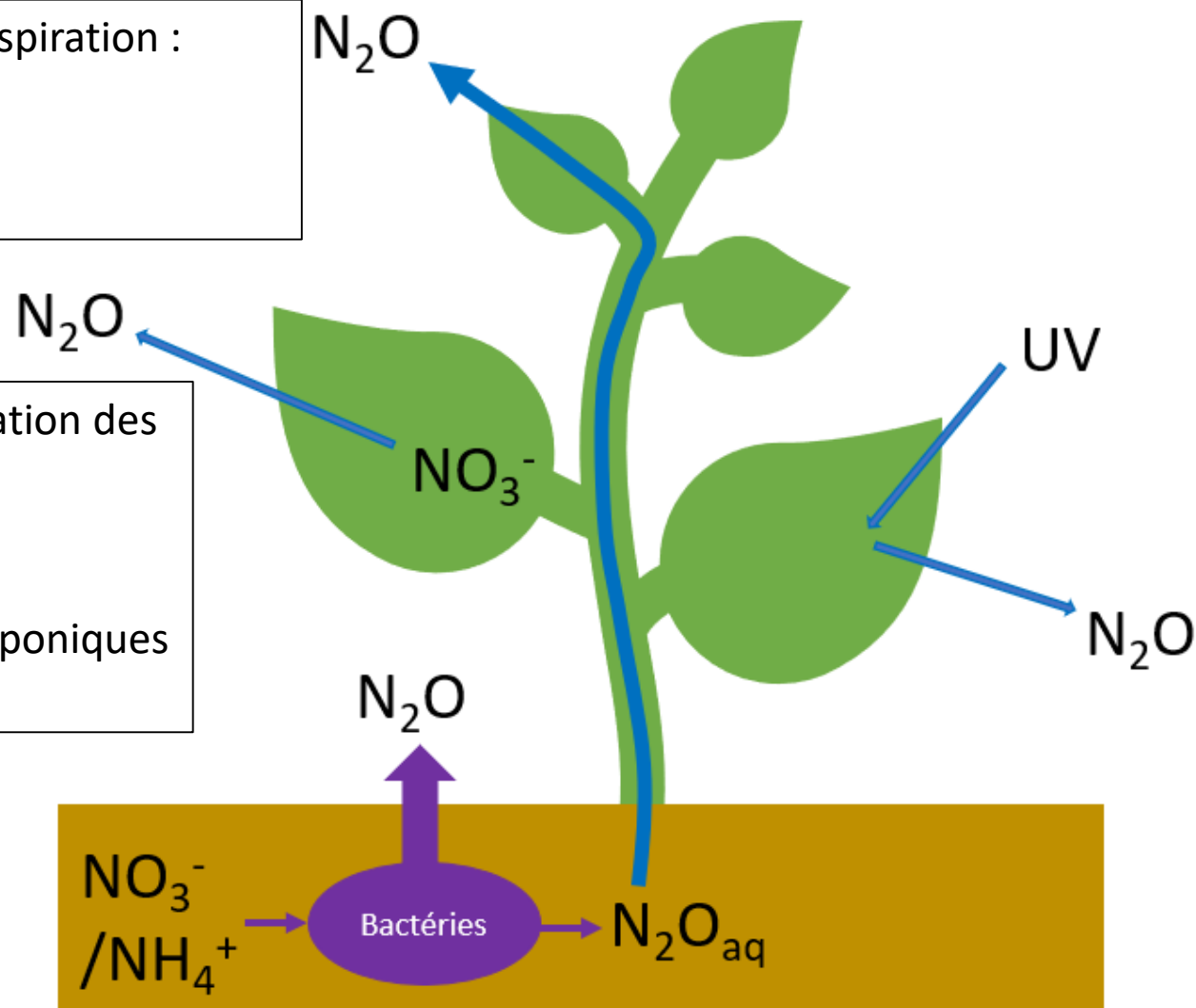
- Chang et al., 1998
- Pas de quantification donnée
- Colza et orge en pot

Formation lors de l'assimilation des nitrates :

- Smart & Bloom, 2001
- $717 \text{ pgN} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
- Blé en conditions hydroponiques

Formation par exposition aux UVs :

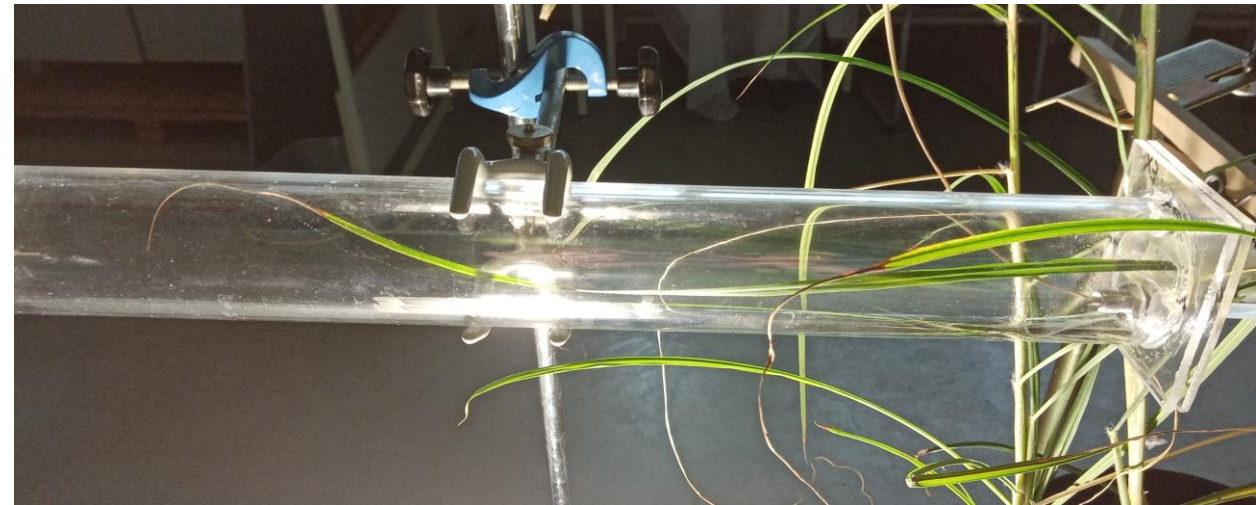
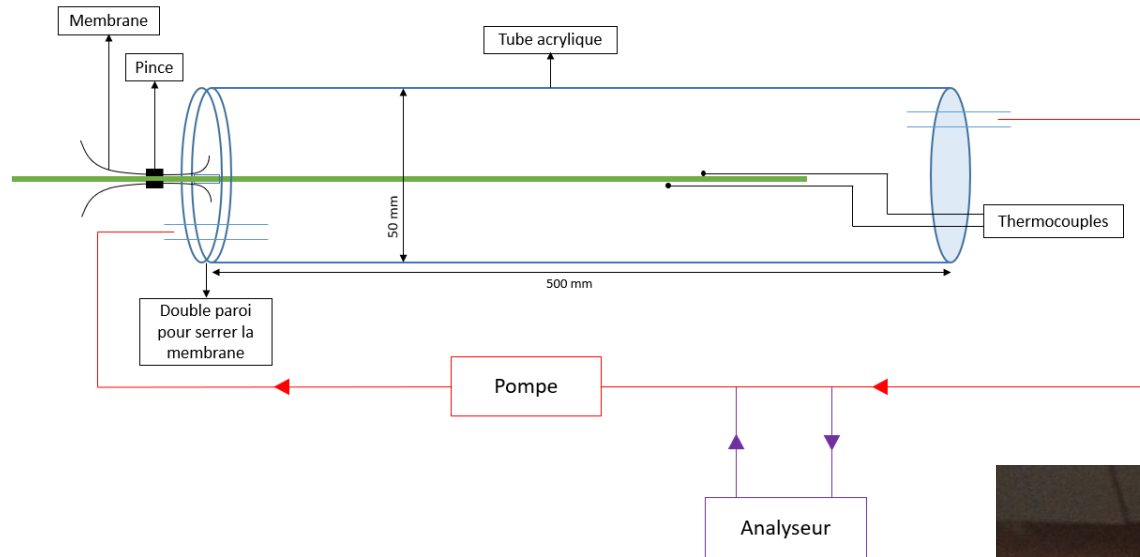
- Bruhn et al., 2014
- $264 \text{ pgN} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
- Prairie *in situ*



Emissions de N₂O par la plante : ordres de grandeur et références

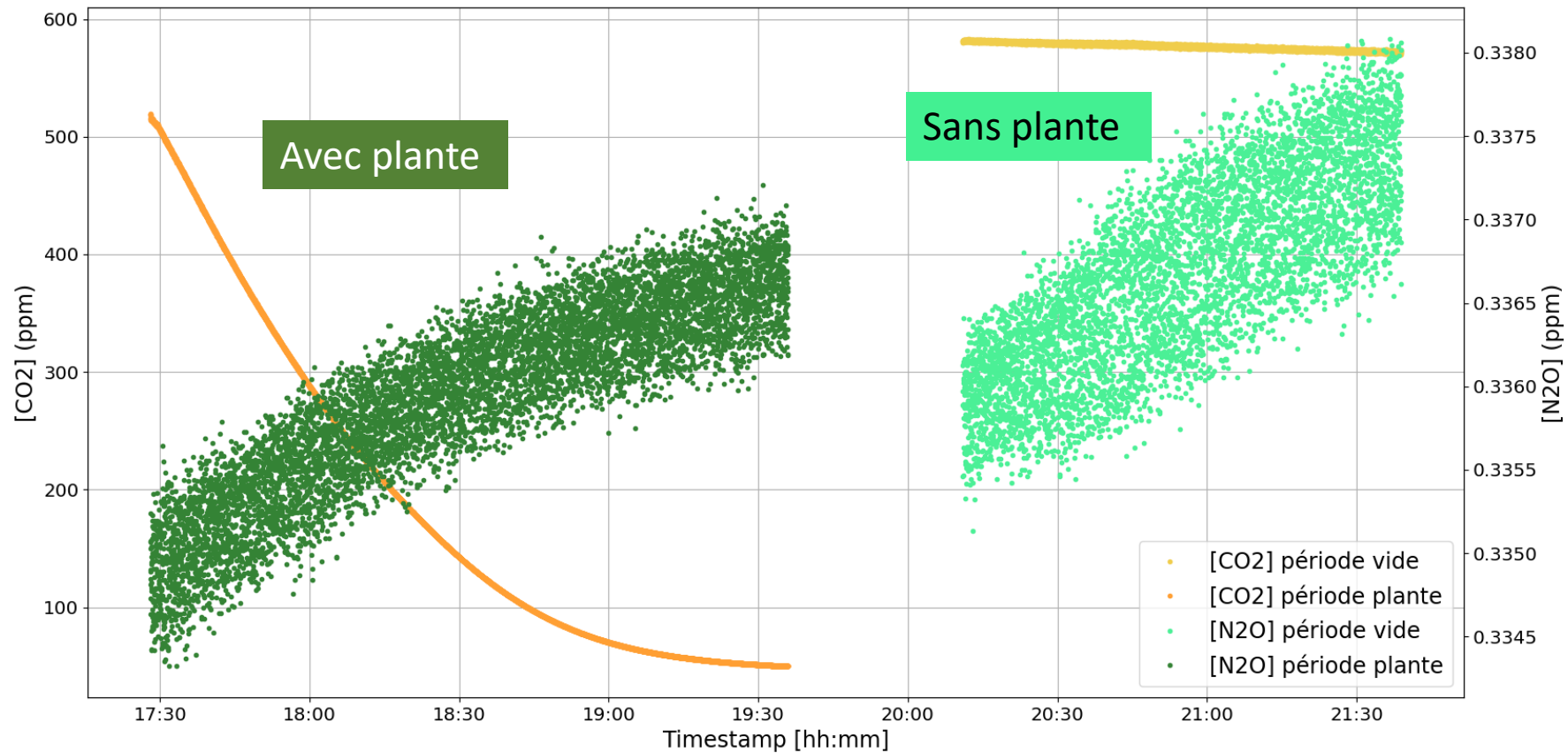
Auteur et date	Conditions de l'expérience	Élément mesuré	Unité	Valeur	
Lenhart, 2019	<i>In vitro</i> , conditions stériles	Emissions de N ₂ O	ng*g _{leaf} ⁻¹ *h ⁻¹	151,3	⇒ 6 kgN/ha/an
Qin, 2024	Mesures <i>in situ</i> sur 24 plantes pérennes (pas du misc.), à l'aide de sac autour de feuilles + tige	Emissions de N ₂ O	ng*g _{leaf} ⁻¹ *h ⁻¹	Entre 3,2 et 9,2	⇒ 140 à 400 gN/ha/an (!! En considérant un feuillage constant sur l'année)

Emissions de N_2O par la plante : méthode



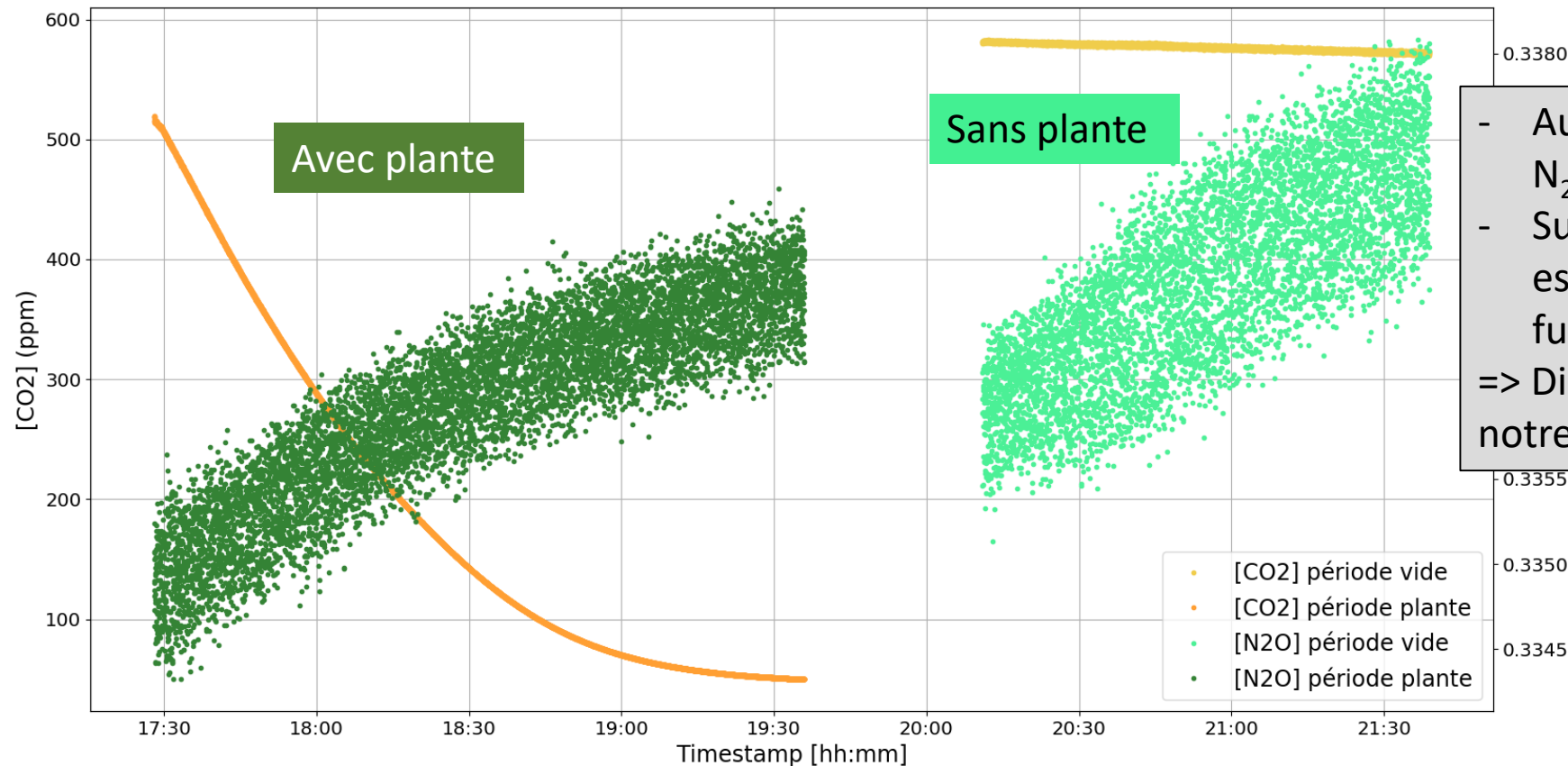
Résultats des tests : non concluants !!

Evolution des concentrations en gaz en fonction du temps



Résultats des tests : non concluants !!

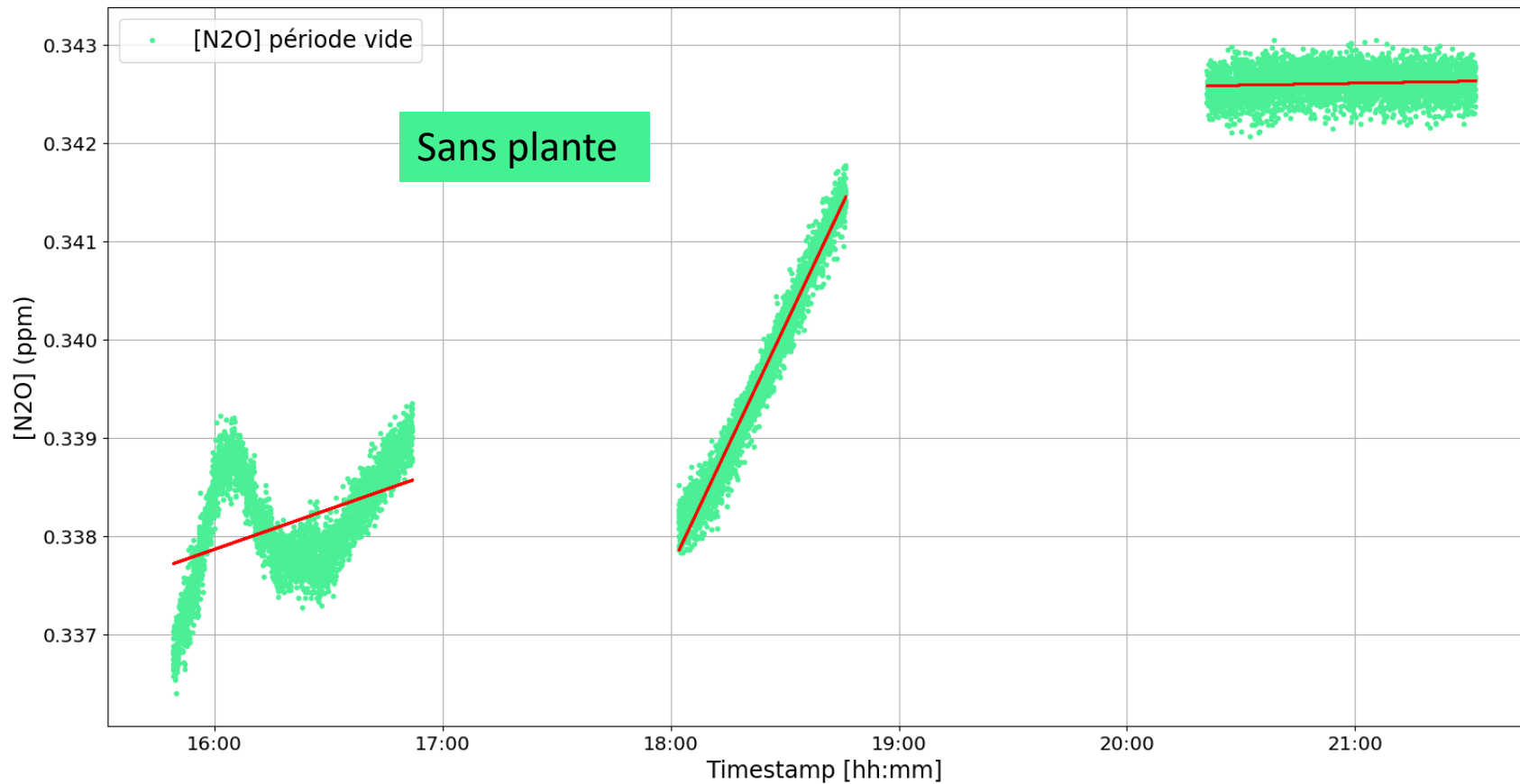
Evolution des concentrations en gaz en fonction du temps



- Augmentation similaire du N_2O avec et sans la plante
 - Sur le CO_2 , le comportement est normal et ne révèle pas de fuite
- => Dispositif inadéquat pour notre mesure

Augmentation irrégulière

Évolutions des concentrations en N_2O au cours du temps



- Pas toujours d'augmentation quand la chambre est vide
 - Augmentation variable
- ⇒ ***Pas possible de corriger l'augmentation de la concentration***

!! Peu de temps
après le
démarrage

Conclusion sur la méthode

- Dérive du système jusqu'à $5 \text{ ng}_{\text{N-N}_2\text{O}} \cdot \text{h}^{-1}$ pour une feuille de 0,5-1 g_{MS}
=> ordre de grandeur similaire à ce qu'on veut mesurer
- Irrégularité de l'augmentation => pas possible de corriger l'augmentation de la concentration

⇒ Méthode inadaptée pour notre problème

- Solution envisagée : utilisation d'un appareil Licor 6400 couplé à un analyseur N_2O MAIS encore à développer

www.licor.com



+



Merci pour votre attention