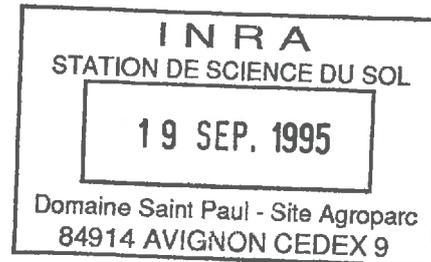


THAC2

Institut National Agronomique Paris - Grignon	Université Pierre et Marie Curie (Paris VI)	Ecole Normale Supérieure
D.E.A. Fonctionnement physique, chimique et biologique de la biosphère continentale		



MEMOIRE

Présenté par Nathalie GUERIN-DACHKEVITCH

**CARACTERISATION EXPERIMENTALE DES FONCTIONNEMENTS
PHYSIQUES ET MICROBIENS D'UN SOL CULTIVE EN VUE D'UNE
MODELISATION MECANISTE DES EMISSIONS DE N2O**

pour l'obtention du diplôme d'étude approfondie
commun à l'INA P-G, Paris VI et l'ENS


**Station de Science du sol
Domaine Saint Paul
Avignon**

Soutenu le : 21/09/95

Sous la responsabilité de : P.Renault

Maître de stage : P.Renault

Responsables du D.E.A : A.Perrier, A.Mariotti, J.C Menault

AVANT-PROPOS

Je souhaite exprimer mes plus vifs remerciements à A.MARIOTTI et A.PERRIER de m'avoir permis de suivre ce D.E.A.

Je tiens à remercier M.Laurent Bruckler, Directeur de l'Unité Science du Sol, de m'avoir accepté dans ce laboratoire

Je remercie M.Pierre Renault pour son aide précieuse, ses bons conseils et sa patience pour répondre à mes questions permanentes.

Je ne voudrais pas terminer ces quelques lignes sans remercier P.CLASTRE pour m'avoir accueillie pour la réalisation de l'analyse d'image et ses précieux renseignements, ainsi que son compagnon de travail, M.JEANDET pour les photographies et la densité au pétrole, B.REBIERE (Mr.Cigale) et enfin Céline (alias cousin Louis) pour sa mauvaise humeur permanente.

INTRODUCTION

Les émissions de N_2O peuvent avoir des conséquences néfastes sur l'environnement. L'accroissement de sa concentration dans l'atmosphère est partiellement responsable de l'effet de serre anthropogénique. Par ailleurs, le N_2O peut participer à la destruction de l' O_3 dans la stratosphère. Une fraction non négligeable des émissions de N_2O semble liée à la dénitrification en milieu cultivé. La confrontation entre modèle mécaniste et expériences peut nous aider à mieux comprendre le déterminisme de ce processus. Mon stage se place dans ce contexte. Il est basé sur des expérimentations de laboratoire visant à renseigner un modèle (structure du sol, paramètres de transferts et paramètres liés aux fonctionnements microbiens) et des expérimentations visant à décrire le fonctionnement du sol non remanié (colonnes). Ces dernières sont en cours de confrontation à des simulations issues d'un modèle mécaniste proposé par l'Unité de Science du Sol d'Avignon.

Dans une première partie, nous présenterons une synthèse bibliographique sur les émissions de N_2O , sur les expérimentations de laboratoire visant à étudier ce processus et les mécanismes sous-jacents (diffusion, activités microbiennes) et sur les modèles existants. Dans une seconde partie, le modèle utilisé sera présenté. Les matériels et méthodes utilisés pour les expérimentations seront présentés dans une troisième partie. En dernier lieu, nous présentons les résultats obtenus et enfin, les conclusions tirées des expériences et des simulations. Nous présentons alors les perspectives de travail pour l'avenir.

CHAPITRE I

BIBLIOGRAPHIE

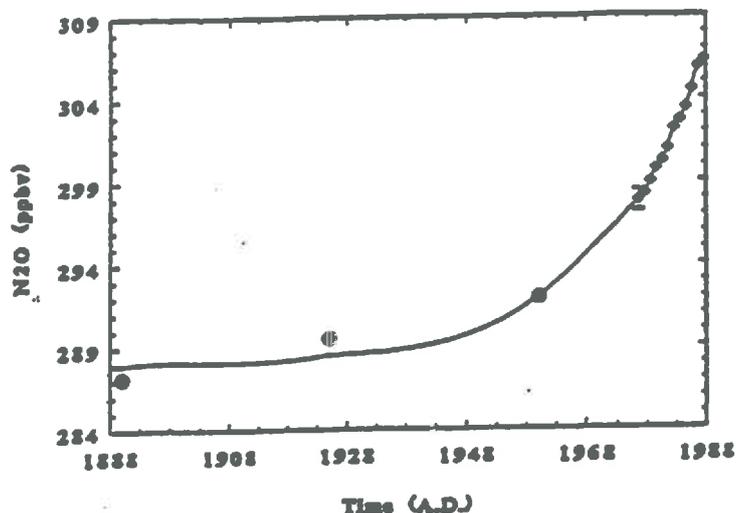


Fig n°1 : évolution de la concentration atmosphérique de N₂O sur les 100 dernières années (Khalil & Rasmussen, 1992).

N ₂ O (Tg/an)	Gamme
Sources :	
Naturelles	
Océans	2 (1.4-5.2 ¹)
Sols tropicaux	2.7-5.7
Forêts tempérées	0.05-2.0
Prairies tempérées	2.2-7.7
Anthropiques	
Sols cultivés	1 (0.4-3)
Irrigation aquifères pollués	0.8-1.7
Combustion biomasse	1.6 (0.2-3.0)
Combustion stationnaire	0-0.2
Automobiles	0.8 (0.1-1.0)
Production acide adipique	0.7
Production acide nitrique	0.1-0.3
Bétail	0.3-0.8
Traitement eaux usées	0.3-3
Réchauffement global	0.3
Puits :	
Dépôts au sol	?
Photolyse stratosphère	7.0-13.0
Augmentation atmosphérique :	3.0-4.5

Khalil et Rasmussen, 1992 ; IPCC, 1992 ; ¹Bouwman, 1993 ; Granli et Beckman, 1994.

I- LES EMISSIONS DE N₂O DANS L'ATMOSPHERE

La teneur de l'atmosphère en protoxyde d'azote (N₂O) a augmenté depuis le premier quart de ce siècle de 0.290 ppmv pour atteindre 0.310 ppmv (Granli & Bøckman, 1994). Khalil et Rasmussen (1992) ont considéré que cette augmentation est à mettre en relation avec l'intensification de l'agriculture dans les pays industriels et l'utilisation de fertilisants azotés (Figure n°1). Son évolution actuelle est de 0.27±0.01% par an (Jambert, 1995). Sa durée de vie est estimée entre 110 et 166 ans, avec un temps de résidence de 25 ans dans la troposphère (Jambert, 1995).

Le N₂O possède un effet radiatif 200 fois supérieure au CO₂ (molécule à molécule), ce qui le rend responsable de 5% de l'effet de serre anthropogénique. De plus, le protoxyde d'azote, stable dans la troposphère, se décompose par photolyse en NO au niveau de la stratosphère où il participe à la destruction de la couche d'ozone (O₃). Ce NO s'oxyde en différents NO_x dans la stratosphère. Les oxydations des NO_x conduisent à la formation dans la troposphère d'acide nitrique (HNO₃) et d'acide nitreux (HNO₂) qui constituent des agents d'acidification des eaux de pluies et sont des composés clés de la production d'O₃ troposphérique (Jambert et al, 1994).

Le N₂O émis par les sols constitue une perte d'azote pour les cultures ; diminuant ainsi les quantités de NO₃ pouvant polluer les nappes phréatiques. Emis au niveau de celle-ci, il peut diminuer leur degré de contamination par les NO₃⁻.

Ce composé est émis par des sources naturelles et anthropogéniques (Figure n°2). Une des principales sources de cette production (9.5 Tg N₂O/an) est directement ou indirectement liée aux pratiques agricoles (0.03-3 Tg N₂O/an) (Granli & Bøckman, 1994). La disparition du N₂O est due essentiellement aux réactions chimiques dans la stratosphère. En condition de fortes humidités, de température voisine de 5-8°C et de faibles concentrations en NO₃⁻, le sol se comporte comme un puit via la réduction par la microflore du N₂O en N₂ (Ryden, 1981).

II- LES EMISSIONS NATURELLES DE N₂O PAR LE SOL

Les processus liés aux émissions de N₂O sont principalement dus à l'activité des microorganismes (dénitrification, nitrification, nitrammonification) mais parfois aussi à de la dénitrification chimique (Figure n°3). Les émissions de N₂O par nitrammonification sont négligeables (Scott Smith & Zimmerman, 1981 ; Knowles, 1982).

La nitrification est due à des bactéries oxydant NH₄⁺ en NO₂⁻ puis en NO₃⁻ en conditions aérobies. Une production parallèle de N₂O et de NO peut être observée.(Freney, 1978 ; Knowles, 1982 ; Germon & Henault, 1994).

La dénitrification correspond à une réduction des NO₃⁻ et/ou NO₂⁻ en composés azotés gazeux. Elle peut être biologique ; elle est alors due essentiellement à des bactéries et éventuellement à des champignons. Dans ce cas, les produits gazeux terminaux sont N₂O et N₂ :

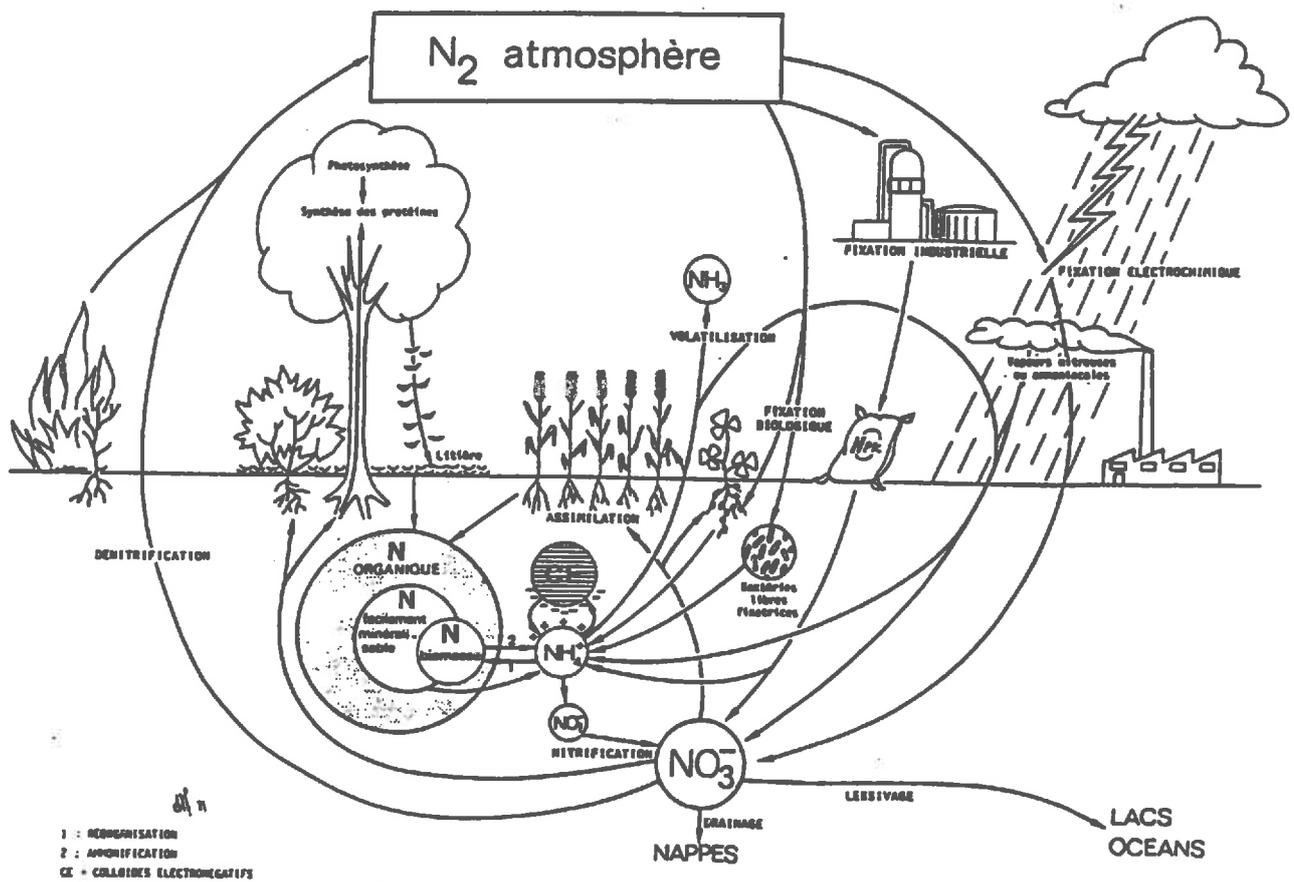
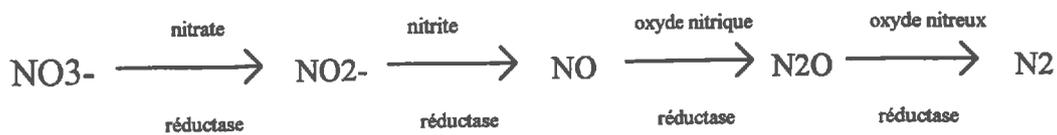


Fig n°3 : cycle de l'azote (Mariotti, 1982)



Il n'est pas certain que le NO soit un intermédiaire obligatoire (Pelmont, 1994; Sahrawat & Keeney, 1986), mais sa mise en évidence par chimioluminescence est de plus en plus fréquente (Germon & Henault, 1994).

Les bactéries dénitrifiantes sont des bactéries aérobies facultatives qui, en absence d'O₂, utilisent NO₃⁻ comme accepteur terminal d'électrons dans la chaîne respiratoire. La dénitrification peut être chimique (via des composés minéraux réducteurs et des produits organiques, en particulier aux pH acides). Dans ce cas, les produits gazeux émis sont le N₂, le N₂O et le NO qui s'oxyde dans l'atmosphère en NO₂.

Dans la suite de ce rapport, nous privilégierons la dénitrification d'origine microbienne et son déterminisme. Celle-ci nécessite la réunion de plusieurs facteurs:

- la présence de microorganismes dénitrifiants ;
- l'anaérobiose ;
- la présence d'accepteurs d'électrons (NO₃⁻ ou NO₂⁻) ;
- la présence de donneurs d'électrons (carbone organique soluble).

III- FACTEURS INFLUENÇANT LA DENITRIFICATION DANS LES SOLS

Plusieurs facteurs agissent directement (facteurs proximaux) ou indirectement (facteurs distaux), avec plus ou moins d'importance sur la dénitrification et la production de N₂O dans les sols (Figure n°4) (Tiedje, 1988). Pour décrire leurs actions sur la réduction du N₂O, le rapport N₂O/N₂ est souvent utilisé (Firestone et al, 1979 ; Ryden et al, 1979) (Tableau 1). Dans la suite de ce paragraphe, nous présenterons les facteurs proximaux.

III-1- LES FACTEURS PROXIMAUX

A- LES BACTERIES DENITRIFIANTES

Les bactéries dénitrifiantes sont en majorité hétérotrophes. Elles tirent leur énergie de la matière organique (organotrophie). Elles peuvent être autotrophe et décomposer des composés minéraux comme Fe₂⁺ et S⁻ (chimiolytrophie). Toutes les étapes de la dénitrification sont productrices d'énergie sous forme d'ATP.

Toutes les bactéries dénitrifiantes correspondent à des bactéries aérobies pouvant s'adapter à une respiration sur NO₃⁻, NO₂⁻ ou sur N₂O quand le milieu devient pauvre en O₂.

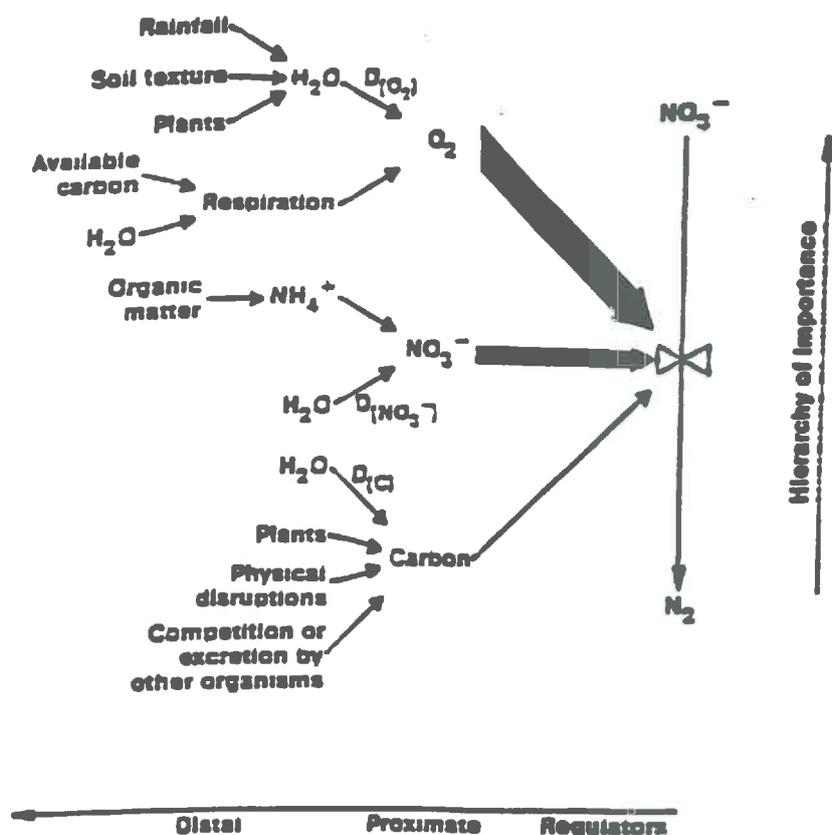


fig n°4 : Modèle conceptuel représentant la régulation environnementale de la dénitrification (Tiedje, 1988)

Facteurs augmentant	O ₂	NO ₃ ⁻	Matière organique	Teneur en eau	Température	pH
N ₂ O/N ₂	+	+	+	-	-	+

Tableau n°1 : facteurs influençant le rapport N₂O/N₂

Milieu	Coefficient de diffusion (m ² s ⁻¹)	Référence
Air (*)	2.2 * 10 ⁻⁵	Leffelaar (1979)
Eau (*)	2.6 * 10 ⁻⁹	Leffelaar (1979)
Sol non agrégé		
saturé en eau	10 ⁻⁹	Collin et Rasmuson (1988)
50% de saturation	10 ⁻⁷	Collin et Rasmuson (1988)
sec	10 ⁻⁶	Collin et Rasmuson (1988)
Agrégat du sol (saturé)	10 ⁻¹⁰	Sextstone et al. (1985)

(*) à 25°C et 1 bar

Les valeurs du coefficient de diffusion ne tiennent pas compte de la solubilité de l'O₂ dans l'eau.

Tableau n°2 : Coefficient de l'O₂ pour différents milieux (Sierra, 1994)

Les 2/3 de la microflore réduisent les NO_3^- en NO_2^- , mais seulement un pourcentage faible semble réaliser toute la chaîne de réactions (Germon & Henault, 1994). Les bactéries dénitrifiantes appartiennent aux genres : Pseudomonas, Achrobacter, Bacillus, Thiobacillus, Achromobacter, ... Certains champignons peuvent être dénitrifiants.

Le nombre de bactéries dénitrifiantes ne reflète pas l'activité dénitrifiante (Parson et al, 1991). La dynamique de ces populations bactériennes constitue sans doute un facteur essentiel pour expliquer les émissions de N_2O par les sols ; mais peu de travaux existent (Granli & Bøckman, 1994).

B- L'ANAEROBIOSE

Le sol est un milieu hétérogène où peuvent se côtoyer des zones aérobie et anaérobies. La dénitrification apparaît à de faibles teneurs en O_2 , (0.2 ppm) (Jambert, 1995 ; Granli et Bøckman, 1994). La dénitrification diminue, ou s'annule, en présence d'oxygène. Le rapport $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ tend à augmenter avec de faibles concentrations d' O_2 . La N_2O -réductase semble plus sensible à la teneur en O_2 que d'autres enzymes de la dénitrification (Betlach & Tiedje, 1981). Ceci permet d'expliquer que la production de N_2O est plus importante en condition d'aération intermédiaire (Khdyer et al, 1983). Les conditions d'anoxie généralisée dans un sol sont exceptionnelles (rizière, marais). Généralement, les sites anoxiques peuvent être présents dans un sol présentant de bonnes conditions d'aération. Ils se situent au cœur des agrégats (Sextone et al, 1985) et au voisinage de la matière organique en décomposition (Parkin, 1987). La taille de ces sites joue sur l'importance de la dénitrification et sur le rapport $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$. En effet, plus le site est petit, plus le N_2O pourra atteindre rapidement les zones aérées sans être réduit.

L'influence de l'aération sur les émissions de N_2O est donc complexe car dépendante de l'interaction de plusieurs facteurs : la consommation d'oxygène par les organismes (microorganismes, racines), les propriétés de transferts de l'oxygène et la structure du sol.

L'anoxie dans le sol peut se développer localement lorsque la consommation maximale en oxygène (respiration) ne peut être compensée par la diffusion.

La respiration microbienne est fortement liée aux concentrations de substrats disponibles (donneurs et accepteurs d'électrons pour le cycle de Krebs).

La diffusion des gaz dépend de la teneur en eau et de la structure du sol et, dans une moindre mesure de la température. Le contenu en eau au niveau d'un champ est sujet à des concentrations (drainage, évaporation et évapotranspiration) et des dilutions (précipitations, irrigations). Il agit directement sur la réserve en oxygène du sol en diminuant sa diffusion à travers le sol (Tableau n°2) (Sierra, 1994 ; Reddy et al, 1981) et, par conséquent, sur les processus biologiques dont la dénitrification. Il intervient également sur la diffusion des réactifs et des produits dissous ou gazeux, ainsi que sur la vitesse de diffusion et la proportion des produits formés par les différents processus. Une forte corrélation est observée entre le taux de dénitrification et le teneur en eau du sol (Parson, 1991 ; Mosier et al, 1986 ; Rolston et al, 1984 ; Grundman & Rolston, 1987).

Type de milieu	Caractéristiques du milieu utilisé	Points importants du protocole	Analyse de la dénitrification par :	Valeurs de $K_m^{NO_3^-}$ ($\mu g\ NO_3^- -N/g\ sol\ sec$)	Références bibliographiques	
SOL	-sable fin 0.75% matière organique -sable argileux 0.11% matière organique	tamissage <2mm $t^{\circ}=35^{\circ}C$ 100% H2O anaérobie	suitvie de la disparition des NO_3^-	13	(Bowman & Focht, 1974)	
	Champs cultivés argilo-limoneux -2.4% matière organique (Bromus) sans fertilisants -2.2% matière organique (Zea et Glycine en rotation) avec fertilisants N	tamissage <2mm $t^{\circ}=35^{\circ}C$ 167% H2O anaérobie	suitvie de la disparition des NO_3^- pendant 24h et plus	60 4.8	(Kohl & al, 1976)	
	limmo-sableux	tamissage <2mm 35% H2O anaérobie	suitvie de N_2O avec C_2H_2	3.7	(Yoshinari & al, 1977)	
	sol minéral pH=6.4 5.2% matière organique	tamissage <2mm $t^{\circ}=28^{\circ}C$ 200% H2O anaérobie	suitvie de N_2O avec C_2H_2	4	(Klemmedsson & al, 1977)	
	argilo-limoneux	tamissage <2mm $t^{\circ}=20^{\circ}C$ 200% H2O anaérobie +glucose	suitvie de N_2O avec C_2H_2	17	(Myrold & Tiedje, 1984)	
	Champ cultivé (blé d'hiver et orge de printemps en alternance) et jachère limono-argileux pH=7.1	colonne de sol de 20cm $t^{\circ}=20^{\circ}C$ $^{+}NO_3^-$	suitvie de N_2O avec C_2H_2	22	(Hénault, 1993)	
	CULTURE DE CELLULES DE BACTERIES DENITRIFIANTE	Alcaligenes sp. Flavobacterium sp. Pseudomonas fluorescens	culture en phase exponentielle de croissance $t^{\circ}=25^{\circ}C$ anoxie +carbone $^{+}NO_3^-$	suitvie de la disparition des NO_3^-	0.04	(Belach & Tiedje, 1981)

Tableau n° 3: Quelques évaluations bibliographiques du $K_m^{NO_3^-}$ sur des sols.

La dénitrification apparaît dès que l'oxygène devient limitant pour des taux de saturation variables. Suivant les auteurs, on note des valeurs de 0.6 pour Grundman & Rolston (1987) et (Terry et al, 1981), 0.8 pour Rolston et al (1984). Elle croît ensuite exponentiellement jusqu'à la saturation du sol (Terry et al, 1981). Un sol inondé sera donc plus apte à dénitrifier en raison d'une mauvaise aération (Reddy et al, 1981). Le rapport N_2O/N_2 diminue avec une augmentation de la teneur en eau du sol (Terry et al, 1981; Weier et al, 1993).

D'autres facteurs comme l'état de compaction (Bakken et al, 1987) et la texture du sol se combinent avec l'effet de la teneur en eau sur la dénitrification.

C- LA PRESENCE DE NO_3^- ET NO_2^-

Les bactéries dénitrifiantes ont la capacité en absence d' O_2 d'utiliser les NO_3^- , NO_2^- et N_2O comme accepteur d'électrons. La dénitrification suit une cinétique de Michaelis Menten, qui se caractérise par une dépendance du processus aux faibles $[NO_3^-]$ et une indépendance aux plus fortes teneurs (Kohl et al, 1976 ; Betlach & Tiedje, 1981 ; Myrold & Tiedje, 1984 ; Sahrawat & Keeney, 1986). Des constantes de Michaelis de dénitrification sont ainsi déterminées sur différents sols (Tableau 3)

La réduction des NO_3^- se réalise rapidement dès que l'anaérobiose est initiée, alors que la réduction du N_2O est plus de temps (Letey et al, 1980). De plus NO_3^- provoque une inhibition de la N_2O -réductase à de fortes concentrations d'où une diminution du rapport N_2O/N_2 (Weier et al, 1993 ; Firestone et al, 1979 ; Gaskell et al, 1981). Cette inhibition est due pour Firestone et al (1979) à une accumulation de NO_2^- provenant de la réduction des NO_3^- , mais Gaskell et al (1981) suggèrent une action inhibitrice des NO_3^- indépendante de celle des NO_2^- . Si le milieu est très réducteur, l'effet inhibiteur peut diminuer ou devenir nul en raison de la présence d'accepteurs d'électrons en quantité importante (Terry & Tate, 1980).

L'apport d'engrais amoniaux peut provoquer la production de N_2O et de NO_3^- due à la nitrification. Ces NO_3^- utilisés par la dénitrification peuvent permettre l'émission de N_2O (Granli & Bøckman, 1994).

D- CARBONE ORGANIQUE SOLUBLE

La matière organique exerce une forte influence sur les processus bactériens du sol, tel que la formation et la réduction de N_2O . Le carbone organique possède un double rôle sur la dénitrification. Indirectement, la dégradation de la matière organique engendre une forte activité microbienne, d'où une respiration importante et la création de sites en anaérobiose (Parkin, 1987). De plus, le carbone organique est nécessaire comme donneurs d'électrons pour les bactéries dénitrifiantes. Le taux de dénitrification est donc corrélé au carbone disponible (Paul & Beauchamp, 1988; Smith & Arah, 1990) aussi bien sur sol organique que sur sol minéral (Reddy et al, 1981). En revanche sa relation avec la dénitrification semble dépendre d'autres facteurs (Weier et al, 1993). Le type de carbone agissant sur la dénitrification semble être important

(Standford et al, 1975). Plus le carbone est facilement minéralisable, plus il sera disponible comme accepteur d'électrons pour les bactéries dénitrifiantes. Le rapport N_2O/N_2 diminue avec l'accroissement de la source carbonée. La biomasse bactérienne est mieux corrélée avec le taux de dénitrification que le carbone hydrosoluble (Hénault, 1993) a ce rapport..

La matière organique est essentiellement située préférentiellement dans l'horizon de surface des sols, due au retour de la biomasse végétale et animale, mais aussi aux apports organiques superficiels facilement métabolisable sur les champs cultivés.

Parkin (1987) décrit la présence de sites à forts potentiels de dénitrification dit "hot-spots", qui correspondent à des zones de décomposition de la matière organique. Il observe que leurs distributions décrivent une loi Log-normale, identique à celle de l'activité dénitrifiante. La quantité de matière organique d'un sol dépend de son histoire culturale et plus particulièrement des apports en fertilisants et des types de cultures. Sa distribution spatiale est très hétérogène et expliquerait la variabilité spatiale de la dénitrification.

Lors des cycles de gels-dégels et des cycles d'humectation-dessiccation, la disponibilité en matière organique est augmentée en raison de la mort d'une partie des bactéries ; la dénitrification est donc favorisée (Christensen & Christensen, 1991).

E- LA TEMPERATURE

En globalité, les émissions de N_2O augmentent avec la température (Focht, 1974 ; Smith & Arah, 1990 ; Sahrwaht et al, 1986), tandis que N_2O/N_2 tend à diminuer (Granli et Bøckman). Une augmentation de température engendre une croissance de la population bactérienne et de son activité décrite par la loi d'Arrhénius (Smith & Arah, 1990), d'où une respiration accrue pouvant entraîner la formation de zones anoxiques. Dans une moindre mesure, la température provoque un accroissement de la diffusion et une diminution de la solubilité des gaz. La dénitrification est une réaction ayant une gamme de températures allant de 10 à 75-85°C, avec un optimum situé entre 30 et 67°C (Smith & Arah, 1990 ; Granli & Bøckman, 1994). Son influence est faible dans un sol bien aéré et de pH légèrement acide (Focht, 1974). Aux champs, les émissions de N_2O sont favorisées par des conditions humides et chaudes. Généralement, elles sont accrues au printemps, mais des pics très importants peuvent être observés l'été après de fortes pluies.

F- LE PH

Le pH optimal d'une culture bactérienne dénitrifiante se situe à la neutralité. Klemmedson et al (1977) ont trouvé de fortes émissions de N_2O en utilisant de la tourbe. En effet, une acidité (pH<5) provoque une inhibition de la N_2O -réductase (Koskinen, 1982 ; Knowles, 1982), d'où une augmentation du rapport N_2O/N_2 . Le pH acide agirait aussi en sélectionnant les bactéries et limiterait la taille de la population de bactéries dénitrifiantes par la disponibilité du carbone (Hénault, 1993).

III-2-AUTRES FACTEURS AFFECTANT LA DENITRIFICATION ET LES EMISSIONS DE N₂O

A- TEXTURE ET TRAVAIL DU SOL

La dénitrification varie avec la nature du sol et des pratiques culturales. Les sols argileux peuvent maintenir de fortes teneurs en eaux, augmentant éventuellement l'anoxie. Les facteurs influençant la diffusion dans un sol sont la porosité et sa teneur en eau. La taille des agrégats a aussi une grande importance sur la dénitrification et les émissions de N₂O. Le volume anoxique augmente avec la taille de l'agrégat. En effet l'O₂ aura plus de difficulté à diffuser au sein d'un agrégat de grande taille. La diffusion des solutés sera toute aussi lente. Plus la taille de l'agrégat est grande, plus le N₂O produit "à de chance" d'être réduit en N₂ avant d'atteindre les régions oxygénées de l'agrégat et l'air ambiant.

La compaction d'un sol réduit sa porosité et le rend ainsi plus favorable à la dénitrification (Bakken et al, 1987).

La fertilisation joue un rôle très important. Une fertilisation minérale apportera les NO₃⁻ nécessaires (directement ou par voie nitrifiante) et une fertilisation organique apportera le carbone disponible ainsi que des NO₃⁻.

La présence de sulfure à 0.3mM inhibe la réduction de N₂O en N₂ (Pelmond, 1993 ; Knowles, 1982). Certains pesticides (Dalapon, Vapam, et les dérivés de Toluidine) inhibent à de faibles doses (de l'ordre de 10-20ppm) la dénitrification (Pelmond, 1993 ; Knowles, 1982).

B- LA VEGETATION

La végétation a des effets multiples sur le milieu :

- compétition pour les NO₃⁻ et pompage de l'eau du sol ;
- disponibilité du carbone via la rhizosphère et les résidus végétaux (Scott Smith et Tiedje, 1979) ;
- modification de l'humidité et de la température du sol (protection contre l'évaporation directe)
- modification de la structure du sol ;
- modification du pH.

Au niveau de la rhizosphère, la dénitrification semble être favorisée par une source abondante de carbone et par une anoxie provoquée par une respiration importante des racines et de la microflore abondante. En général, la dénitrification y est accrue (Rolston et al, 1978).

IV- INVESTIGATIONS EXPERIMENTALES DES FONCTIONNEMENTS MICROBIENS

Les fonctionnements microbiens dans le sol sont nombreux, seule la respiration et la dénitrification nous intéresseront dans ce document.

Les relations de Michaelis Menten ont été souvent utilisées pour modéliser des processus biologique à des échelles plus importantes que celle des processus enzymatique. Pour estimer les paramètres nécessaires aux équations de Michaelis Menten et les taux de productions, il faut doser des composés impliqués dans les processus étudiés.

IV-1- LA RESPIRATION

La respiration est évaluée par des cinétiques de production de CO_2 et de consommation d' O_2 (Arah, 1988 ; Sierra, 1994). Le CO_2 peut inhiber la respiration dans certains sols (Macfadyen, 1973). Ces deux gaz sont mesurés par chromatographie en phase gazeuse.

IV-2- LA DENITRIFICATION

La dénitrification est un processus microbiologique difficile à quantifier car :

- la production de N_2 se dilue dans l'azote atmosphérique ;
- le N_2O obéit à des lois biologiques, physiques et chimiques complexes ;
- les NO_3^- participent à plusieurs voies de transformations simultanées.

Le N_2O peut être doser par plusieurs techniques (Germon & Henault, 1994):

- la chromatographie en phase gazeuse ;
- la spectrométrie de masse (^{15}N) ;
- la spectrométrie à infra-rouge ;
- la diode laser accordable ;

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer les pertes par dénitrification:

- le défaut de bilan (Kohl et al, 1976) ;
- l'utilisation du ^{15}N sur des gaz marqués (Siegel et al, 1982) ou sur du ^{15}N naturel (Mariotti et al., 1982 cité par Hénault, 1993) ;
- l'inhibition par C_2H_2 de la N_2O -réductase, permettant ainsi de considérer le N_2O comme produit final de la dénitrification (Klemmedson et al., 1977 ; Ryden et al., 1979 ; Yeomas et Beauchamps, 1982 ; Mosier et al., 1986 ; Tiedje et al., 1989 ; Becker, 1990).

Les pressions requises de C_2H_2 pour inhiber la N_2O -réductase sont de l'ordre de 10^{-3} atm (Knowles, 1982).

Les méthodes de dosage utilisant C_2H_2 présentent des avantages et des inconvénients (Tableau 4):

<p>AVANTAGES D'UTILISATION DE C_2H_2 :</p> <ul style="list-style-type: none"> ↳ possibilité d'utiliser la chromatographie en phase gazeuse ↳ facile à utiliser ($\neq 15N$) ↳ faible coût ($\neq 15N$) , d'où possibilité de répétition ↳ travaille sur le sol directement, sans ajout de NO_3^- marqué (très cher) ↳ respecte la structure du sol lors de l'injection <p>PROBLEME D'UTILISATION DE C_2H_2 :</p> <ul style="list-style-type: none"> ↳ adaptation des bactéries à C_2H_2 si utilisation pendant des temps trop longs ↳ autres effets inhibiteurs sur la population bactérienne (Pelmond, 1993) dont la nitrification à de plus faible pression que la dénitrification ↳ les sulfures inhibent l'action de C_2H_2 et inhibent partiellement la N_2O-réductase ↳ trace d'acétone (souvent associée à C_2H_2) ↳ impossible d'utiliser dans certains sols (sols argileux) ↳ difficile à utiliser dans des sols à fortes teneurs en eau

Tableau 4 : Avantages et inconvénients de l'utilisation de C_2H_2

En fonction des objectifs, les mesures peuvent être faites sur de très petits agrégats de sol (Sierra, 1994), sur des boues en anaérobiose (Stanford et al., 1975) ou sur des sols prélevés sans remaniements (Parkin et al, 1984 ; Ryden et al., 1987 ; Tiedje et al., 1989 ; Hénault, 1993). Pour ces derniers, l'incubation peut être statique ou avec homogénéisation des gaz (Tiedje et al., 1989; Hénault, 1993). Les avantages et les inconvénients de ces incubations de sol non remanié (Hénault, 1993) :

INCUBATION STATIQUE		INCUBATION AVEC HOMOGENEISATION	
AVANTAGES	INCONVENIENTS	AVANTAGES	INCONVENIENTS
<ul style="list-style-type: none"> -facile à utiliser, d'où possibilité de répétitions (Tiedje et al, 1989) -utilisation au laboratoire ou sur le terrain -mesures successives sur le même sol 	<ul style="list-style-type: none"> -mauvaise distribution de C_2H_2 et de N_2O dans le sol, d'où une erreur importante 	<ul style="list-style-type: none"> -dénitrification mesurée plus précisément (Tiedje et al, 1989) -mesure avec un temps plus court, d'où moins de variation du milieu au cours de l'expérience -mesures successives sur le même sol (Groffman & Tiedje, 1988) 	<ul style="list-style-type: none"> -convection des gaz engendrant une aération variable et pouvant être perturbatrice de la dénitrification (Tiedje et al, 1989 ; Parkin et al, 1984)

Tableau 5 : Avantages et inconvénients des différentes techniques d'incubation

Une combinaison de plusieurs paramètres régule la dénitrification dans les sols. Tout ces facteurs rendent difficiles l'établissement de relations quantitatives et explicatives entre ces paramètres et le taux de dénitrification d'un sol et l'extrapolation des mesures ponctuelles à des échelles spatiales et temporelles plus grandes. Dans le but de remédier à ces problèmes, des modèles ont été créés.

V- LES MODELES

Dans la littérature, différents types de modèles sur la dénitrification ont été décrits au niveau d'une parcelle cultivée : stochastique, empirique et mécaniste

V-1- LES MODELES STOCHASTIQUES DE LA DENITRIFICATION

Un modèle stochastique tient compte de la variabilité spatiale du processus étudié. Plusieurs modèles présentés comme mécanistes auparavant sont aussi stochastiques en ce sens qu'ils prennent en compte explicitement la variabilité de plusieurs paramètres. Parkin (1987) a décrit l'influence de la variabilité de la matière organique, en particulier la variabilité spatiale due à des "hot-spots" sur la variabilité spatiale de la dénitrification. Son modèle consiste à distribuer de manière log-normale des activités dénitrifiantes sur des microsites distribués au hasard dans un champ artificiel simulé. Cette distribution Log-Normale a été préalablement décrite par Parkin (1987) pour l'activité enzymatique dénitrifiante. Il obtient ainsi une bonne corrélation entre expériences et modèle. Par ailleurs, Parkin et al (1987) ont étudié l'influence de la taille de l'échantillon sur la variabilité du taux de dénitrification. Ils ont pu ainsi déterminer la taille minimale de l'échantillon de sol nécessaire pour avoir une bonne représentabilité.

V-2- LES MODELES EMPIRIQUES SUR LA DENITRIFICATION

Il s'agit de modèles ne cherchant pas à décrire des processus, mais à rendre compte de la dénitrification en tenant compte des principaux facteurs qui l'affectent et qui sont aisés à mesurer. Ainsi certains facteurs proximaux comme la teneur en eau. D'autres facteurs proximaux, comme le NO_3^- , sont souvent pris en compte mais souvent moyennés sur l'ensemble du sol et non sur les seules régions anoxiques. Pratiquement, les modèles empiriques sont des produits de fonctions décrivant l'action de différents facteurs (teneur en eau, température, concentration en NO_3^- et en M.O. Le type de fonctions entraîne la non-prise en compte d'interactions entre facteurs. Ces modèles se différencient essentiellement par la nature des facteurs et le mode d'obtention des fonctions décrivant l'action de ces facteurs. Ce type de modèle est fonctionnel à de grandes échelles (parcelle), mais ils ne sont pas généralisables.

Le modèle de Rolston et al (1984) décrit le taux de dénitrification, comme une multiplication de fonctions empiriques décrivant la teneur en eau, la température et la concentration en NO_3^- . Cette dernière est représentée par une cinétique d'ordre 0 ou 1. Hénault (1994) a amélioré ce modèle en y ajoutant une fonction liée à la vitesse de dénitrification décrite par une cinétique de Michaelis-Menten. Cette fonction prend en compte la disponibilité du carbone.

Elliott & Dejong (1993) ont proposé de prendre en compte les fonctions "enveloppes" pour décrire l'influence du facteur lorsque les autres ne sont pas limitant. Elliott & Dejong (1993) explique par leur modèle 50% de la variabilité spatiale de la dénitrification observée sur le terrain.

V-3- LES MODELES MECANISTES SUR LA DENITRIFICATION

Les modèles mécanistes se proposent de décrire la dénitrification en tenant en compte des processus de base essentiels qui l'influencent. Ces mêmes processus sont souvent eux même décrits de manière schématique, et empirique. Un modèle étant étant une représentation simplifiée de la réalité, plusieurs hypothèses caractérisant le milieu et les mécanistes physiques, chimiques et biologiques sont posées. En premier lieu, le modèle mécaniste doit décrire par une formulation mathématique le milieu, puis les lois prises en compte pour le phénomène étudié. Plusieurs modèles traitent de l'anoxie et/ou de la dénitrification.

A- DESCRIPTION DU MILIEU

Plusieurs hypothèses caractérisant le milieu physique du sol ont été proposées. Les premiers modèles supposaient le sol comme un milieu homogène pour les transferts. Le transport de l' O_2 était caractérisé par une diffusion verticale uniquement (Van Bavel, 1951). Cette représentation peut correspondre à ce qui se passe dans des sols inondés comme celui des rizières ou des marais. Plus récemment le milieu a été considéré comme agrégé et hétérogène pour les transferts d' O_2 (Currie, 1961 ; Greenwood et Berry, 1962 ; Leffelaar, 1979 ; Smith, 1980 ; Arah, 1988 ; Arah et Smith, 1989 ; Renault et Sierra, 1994 ; Renault et Stengel, 1994). Ce type de milieu permet de décrire 2 modes de transferts : l'un aisé au niveau des pores inter-agrégats et l'autre lent au sein des agrégats. Ces modèles reposent sur la formulation initiale de Currie (1961) et de Greenwood et Berry (1962). Les autres modèles se différencient par des hypothèses sur la forme des agrégats : parallélépipédique (Mc.Connaughey et Bouldin, 1985), cylindrique (Leffelaar, 1986-b ; Leffelaar et Wessel, 1988). Certains prennent en compte indirectement la surface bloquée en 1 dimension à la périphérie de l'agrégat (Leffelaar, 1979) ou directement en 3 dimensions (Renault et Stengel, 1994) Un milieu agrégé pose des problèmes pour expliquer l'anoxie en raison de la distribution des pores. C'est pourquoi, quelques modèles considèrent le sol comme un milieu mal structuré et hétérogène pour les transferts d' O_2 à l'aide d'une distribution aléatoire de pores (Arah, 1988).

B- LES FONCTIONNEMENTS PHYSIQUES, CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES

B-1 les transferts

La loi de Fick est très généralement utilisée pour caractériser les transferts par diffusion. La convection n'est généralement pas prise en compte.

B-2 les processus biologiques

La respiration est décrite par la loi de Michaelis Menten (Greenwood et Berry, 1962 ; Leffelaar et Wessel, 1988 ; Grant, 1991). Sierra (1994) a essayé de caractériser l'effet inhibiteur du CO₂ sur la respiration. Il trouve une inhibition de type compétitif sur des agrégats d'un sol remanié. Sur le même sol non remanié, il trouve une activation aux faibles teneurs de CO₂ et une inhibition aux fortes teneurs. La dénitrification peut aussi être décrite par la loi de Michaelis Menten. Leffelaar (1986-a et b) et Leffelaar et Wessel (1988) prennent en considération la croissance bactérienne et la dépendance à la concentration de substrat disponible. Arah et Smith (1989) ont utilisé une fonction Log-normale pour décrire la respiration maximale des agrégats pour tenir compte de la variabilité de la respiration entre les agrégats.

B-3 les processus chimiques

Sierra (1994) a pris compte de manière empirique du rôle du CO₂ dans les équilibres physico-chimiques du CO₂ dans le sol pour mieux cerner son influence au sein de l'agrégat.

CHAPITRE II

MODELISATION MECANISTE DE L'ANOXIE, DE LA DENITRIFICATION ET DES EMISSIONS DE N₂O

Nous décrirons les émissions de N_2O à l'aide d'un modèle mécaniste en cours d'amélioration à l'Unité de Science du Sol de l'I.N.R.A. d'Avignon.

I- PRINCIPES DE BASE DU MODELE

Le modèle utilisé au cours de notre stage permet la simulation des transferts et des transformations de différentes espèces chimiques (O_2 , NO_3^- et N_2O) dans un milieu dont la structure s'apparente à celle du sol étudié. Ce modèle est donc l'association :

- d'un modèle décrivant la structure du milieu ;
- d'un modèle décrivant les transferts dans ce milieu ;
- d'un modèle de transformations biologiques des espèces concernées (créations et/ou pertes).

La géochimie n'est pas incluse dans celui-ci. Elle pourrait être importante à prendre en compte pour les transformations du CO_2 afin de mieux appréhender :

- la respiration microbienne lorsque celle-ci dépend fortement du taux de CO_2 ;
- la réduction du N_2O en N_2 , cette réduction dépendant du pH du milieu qui est lui-même fortement corrélé de la concentration en CO_2 .

II- LE MODELE

II-1- LA STRUCTURE DU MILIEU

Le sol est assimilé à un ensemble de mottes de formes cubiques ménageant entre elles une porosité inter-mottes (ou porosité structurale) ϵ_{struct} . D'autres formes peuvent être générées par le modèle (parallélépipédiques, cylindriques, sphériques et ellipsoïdales). Elles ne l'ont pas été en raison des temps de calcul très élevés.

La taille des mottes est caractérisée par une fonction de distribution volumique F_v :

$$F_v(L) = \frac{\sum V_i(l \geq L)}{\sum V_i} \quad (1)$$

où $\sum V_i$ est la somme des volumes des mottes d'un volume de sol donné (m^3) et $\sum V_i(l \geq L)$ est la somme des volumes des mottes du même volume de sol dont la longueur l (m) est supérieure à une longueur fixée L (m).

Pratiquement, F_v représente la proportion volumique des mottes dont le côté a une longueur supérieure ou égale à L .

De cette fonction F_v , nous pouvons déduire une fonction de densité volumique f_v :

$$f_v(L) = \frac{\partial F_v}{\partial l}(L) \quad (2)$$

$f_v(L).dl$ correspond à la fraction volumique de mottes dont le côté est compris entre L et $L+dl$. Cette fonction a été étudiée expérimentalement dans le passé par Gardner (1956) qui a obtenu sur différents types de sols des distributions volumiques Log-normales. Smith (1980) et Renault & Sierra (1994) ont utilisé ce type de distributions pour simuler l'anoxie dans les sols. Dans ce travail, cette fonction a été déterminée par analyse d'image sur les rangs et les inter-rangs en début de culture.

Les transferts d' O_2 et de N_2O entre les mottes et l'espace poral structural dépendent des surfaces d'échanges entre les 2 milieux. Ces surfaces sont supposées égales à la surface totale des mottes S_t (m^2) diminuées des surfaces de contact entre mottes S_c (m^2) et des surfaces externes des mottes recouvertes par de l'eau S_w (m^2).

La surface totale externe d'une motte est donnée par la formule suivante :

$$S_t = 6L^2 \quad (3)$$

Les surfaces de contact entre agrégats sont estimées d'après la formule de Tamari (1994) cité par Renault & Sierra (1994) :

$$\frac{S_c}{S_t} = \frac{(0.44 - \varepsilon_{struct})}{0.44} \quad (4)$$

Les surfaces couvertes par de l'eau ont été obtenues par traitement en analyse d'images. Pratiquement, nous avons analysé indirectement les variations du rapport $S_w/(S_t - S_c)$ en fonction de taux de saturation simulés (cf. Chapitre III).

La somme des surfaces $S_c + S_w$ est simulée par une tache circulaire de rayon r centrée sur chacune des faces des cubes représentant les mottes avec :

$$r = \sqrt{\frac{(S_c + S_w)/S_t}{\pi}} \quad (5)$$

II-2- LES TRANSFERTS

A- LES TRANSFERTS DANS L'ESPACE PORAL STRUCTURAL

Les transferts d' O_2 et de N_2O dans l'espace poral inter-mottes sont supposés suffisamment rapides pour qu'il n'y ait pas de gradient de concentration entre la surface et la profondeur limite de l'horizon travaillé. Ceci revient à faire l'hypothèse que les concentrations en O_2 et N_2O sont égales aux concentrations atmosphériques à la périphérie des mottes au niveau des surfaces où les échanges sont possibles avec l'espace poral structural ($S_c + S_w$).

Nous supposons qu'il n'y a pas de transfert de NO_3^- dans cet espace poral.

II-2-B- LES TRANSFERTS AU SEIN DES AGREGATS

La description des transferts est réalisée dans le cas de mottes saturées en eau. Au sein des mottes, les transferts d'O₂, de NO₃⁻ et de N₂O sont décrits par la loi de Fick :

$$\bar{\Phi}_{O_2} = -D_{ag-O_2} \bar{\nabla}[O_2] \quad (6.a)$$

$$\bar{\Phi}_{NO_3^-} = -D_{ag-NO_3^-} \bar{\nabla}[NO_3^-] \quad (6.b)$$

$$\bar{\Phi}_{N_2O} = -D_{ag-N_2O} \bar{\nabla}[N_2O] \quad (6.c)$$

où $\bar{\Phi}_{O_2}$, $\bar{\Phi}_{NO_3^-}$, $\bar{\Phi}_{N_2O}$ sont respectivement les flux d'O₂, de NO₃⁻ et de N₂O (mol.m⁻².s⁻¹), [O₂], [NO₃⁻] et [N₂O] leur concentration en solution dans l'agrégat (mol.s⁻¹) et D_{ag-O₂}, D_{ag-NO₃⁻} et D_{ag-N₂O} leur coefficient de diffusion (m².s⁻¹).

Implicitement, nous admettons que les propriétés de transfert sont isotropes et homogènes au sein de l'agrégat.

II-3- LES ACTIVITES MICROBIENNES

Les processus biologiques nous intéressant dans ce modèle sont la respiration, la réduction de NO₃⁻ en N₂O et la réduction ultérieure du N₂O en N₂.

II-3-A- LA RESPIRATION

La respiration est décrite par une cinétique de Michaelis Menten :

$$R_{O_2} = R_{O_2 \max} \left[\frac{[O_2]}{[O_2] + K_{mO_2}} \right] \quad (7)$$

où R_{O₂} est la respiration réelle du sol (mol.m⁻³.s⁻¹), R_{max-O₂} sa respiration maximale (mol.m⁻³.s⁻¹) et K_{mO₂} la constante de Michaelis pour la respiration (mol.m⁻³).

Nous pouvons y adjoindre un effet inhibiteur du CO₂ (inhibitions compétitive, non-compétitive ou "uncompétitive"). Une inhibition compétitive avait ainsi été mise en évidence par Sierra (1994) sur agrégats de sol remanié :

$$R_{O_2} = R_{\max O_2} \left[\frac{[O_2]}{[O_2] + K_{mO_2} \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_{iCO_2}} \right)} \right] \quad (8)$$

où K_{iCO₂} est la constante d'inhibition de la respiration par le CO₂ (mol.m⁻³).

II-3-B- LA DENITRIFICATION

La dépendance de la réduction de NO_3^- en N_2O à la concentration en NO_3^- est décrite par une cinétique de Michaelis Menten :

$$R_{\text{NO}_3^-} = R_{\text{max NO}_3^-} \left[\frac{[\text{NO}_3^-]}{[\text{NO}_3^-] + K_{m\text{NO}_3^-}} \right] \quad (9)$$

où $R_{\text{NO}_3^-}$ et $R_{\text{NO}_3\text{max}}$ sont respectivement les taux de dénitrification et de dénitrification maximale ($\text{mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$), $K_{m\text{NO}_3^-}$ la constante de Michaelis de la dénitrification (mol.m^{-3}) et $[\text{NO}_3^-]$ la concentration en NO_3^- (mol.m^{-3}).

La réduction de N_2O en N_2 est décrite de la même façon avec addition d'un terme d'inhibition non compétitive du à la présence de NO_3^- :

$$R_{\text{N}_2\text{O}} = \frac{R_{\text{max N}_2\text{O}}}{\left(1 + \left([\text{NO}_3^-]/K_{i\text{NO}_3^-}\right)\right)} \left[\frac{[\text{N}_2\text{O}]}{[\text{N}_2\text{O}] + K_{m\text{N}_2\text{O}}} \right] \quad (10)$$

où $R_{\text{N}_2\text{O}}$ et $R_{\text{max N}_2\text{O}}$ sont respectivement les taux de réduction et de réduction maximale de N_2O en N_2 ($\text{mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$), $K_{m\text{N}_2\text{O}}$ est la constante de Michaelis Menten correspondante (mol.m^{-3}), $K_{i\text{NO}_3}$ la constante d'inhibition du N_2O (mol.m^{-3}) par NO_3^- et $[\text{N}_2\text{O}]$ est la concentration en N_2O (mol.m^{-3}).

II-4- LA CONSERVATION DE LA MASSE

Les équations caractérisant les transferts de gaz et de soluté au sein des agrégats et celles décrivant les processus microbiens sont incluses dans des équations de conservation de la masse en 3 dimensions (x,y et z) :

$$\varepsilon_{agr} \frac{\partial [\text{O}_2]}{\partial t} = \text{div} \left[(D_{agr-\text{O}_2}) \vec{\nabla} [\text{O}_2] \right] - R_{\text{O}_2} \quad (11.a)$$

$$\varepsilon_{agr} \frac{\partial [\text{NO}_3^-]}{\partial t} = \text{div} \left[D_{agr-\text{NO}_3^-} \vec{\nabla} [\text{NO}_3^-] \right] - R_{\text{NO}_3^-} \quad (11.b)$$

$$\varepsilon_{agr} \frac{\partial [\text{N}_2\text{O}]}{\partial t} = \text{div} \left[D_{agr-\text{N}_2\text{O}} \vec{\nabla} [\text{N}_2\text{O}] \right] - R_{\text{N}_2\text{O}} \quad (11.c)$$

où ε_{agr} est la porosité interne aux agrégats et aux mottes de sol.

Types d'entrée	Notations	Significations	Unités	Obtentions
Caractérisation du sol	$F_v(L)$	fonction de distribution volumique de motte	-	Analyse d'image
	L	longueur du cube	m	Analyse d'image
	r	rayon de la surface où les flux sont nuls	m	Analyse d'image
	ϵ_{agr}	porosité intra-agrégat	-	expérimentale
Les transferts dans le sol	D_{O_2}	coefficient de diffusion de l' O_2	$m^2 \cdot s^{-1}$	expérimentale + bibliographie
	D_{CO_2}	coefficient de diffusion du CO_2	$m^2 \cdot s^{-1}$	expérimentale + bibliographie
	D_{NO_3}	coefficient de diffusion des NO_3^-	$m^2 \cdot s^{-1}$	expérimentale + bibliographie
	D_{N_2O}	coefficient de diffusion du N_2O	$m^2 \cdot s^{-1}$	expérimentale + bibliographie
Les paramètres biologiques	S_{O_2}	solubilité de O_2	$m^3 \text{ gaz} \cdot m^{-3} \text{ eau}$	expérimentale + bibliographie
	S_{CO_2}	solubilité du CO_2	$m^3 \text{ gaz} \cdot m^{-3} \text{ eau}$	expérimentale + bibliographie
	S_{N_2O}	solubilité de N_2O	$m^3 \text{ gaz} \cdot m^{-3} \text{ eau}$	expérimentale + bibliographie
	R_{O_2max}	respiration maximale	$mole \cdot m^{-3} \cdot s^{-1}$	expérimentale
Concentrations initiales	K_{mO_2}	constante de Michaelis de la respiration	$mole \cdot s^{-1}$	expérimentale
	K_iCO_2	constante d'inhibition du CO_2 sur la respiration	$mole \cdot s^{-1}$	expérimentale
	R_{NO_3max}	dénitrification maximale	$mole \cdot m^{-3} \cdot s^{-1}$	expérimentale ou bibliographie
	K_{mNO_3}	constante de Michaelis de la dénitrification	$mole \cdot s^{-1}$	expérimentale ou bibliographie
Concentrations initiales	R_{N_2Omax}	réduction de N_2O en N_2 maximale	$mole \cdot m^{-3} \cdot s^{-1}$	expérimentale ou bibliographie
	K_{mN_2O}	constante de Michaelis de la réduction de N_2O en N_2	$mole \cdot s^{-1}$	expérimentale ou bibliographie
	K_{iNO_3}	constante d'inhibition des NO_3^- sur la réduction de N_2O en N_2	$mole \cdot s^{-1}$	expérimentale ou bibliographie
	$[O_2]_{r=0}$	concentration initiale de O_2	$mole \cdot m^{-3}$	expérimentale
	$[N_2O]_{r=0}$	concentration initiale des NO_3^-	$mole \cdot m^{-3}$	expérimentale

Tableau n°6 : Données d'entrées du modèle

II-5- CONDITIONS INITIALES ET AUX LIMITES

II-5-A- CONDITIONS INITIALES AU SEIN DES AGREGATS

Les concentrations initiales en O_2 et en N_2O sont les concentrations en solution en équilibre avec l'air :

$$[O_2]_{t=0} = S_{O_2} \times [O_2]_{air} \quad (12.a)$$

$$[N_2O]_{t=0} = S_{N_2O} \times [N_2O]_{air} \quad (12.b)$$

où t est la date (s), $[O_2]_{air}$ et $[N_2O]_{air}$ sont les concentrations dans l'air en O_2 et N_2O ($mol.m^{-3}$) et S_{O_2} et S_{N_2O} leur solubilités.

La concentration initiale en NO_3^- est supposée distribuée uniformément au sein des mottes.

II-5-B- CONDITIONS AUX LIMITES

Pour l' O_2 et le N_2O , nous considérons qu'il n'y a pas de flux entre l'intérieur et l'extérieur des mottes au niveau des surfaces de contact entre agrégats et au niveau des surfaces couvertes par de l'eau. Cette condition peut s'exprimer par les équations suivantes :

$$\vec{\nabla}[O_2] \times \vec{n} = 0 \quad (13.a)$$

$$\vec{\nabla}[N_2O] \times \vec{n} = 0 \quad (13.b)$$

où \vec{n} représente le vecteur normal à la surface des cubes.

Au niveau des autres surfaces, nous considérons que les concentrations en gaz sont égales à celle présentes dans l'espace poral inter-agrégat à la solubilité près :

$$[O_2] = S_{O_2} \times [O_2]_{air} \quad (14.a)$$

$$[N_2O] = S_{N_2O} \times [N_2O]_{air} \quad (14.b)$$

Pour NO_3^- , nous considérons qu'il n'y a pas de flux entre l'intérieur et l'extérieur des mottes au niveau de toute la surface externe de ces mottes :

III- PARAMETRES D'ENTREES ET SORTIES DU MODELE

Les paramètres d'entrées du modèle que nous avons définis précédemment sont résumés dans le Tableau 6.

Echelle des sorties	Notations	Significations	Unités
Au niveau local dans la motte (millimétrique)	$[O_2]_m$	concentration en O_2 à tn	mole.m ⁻³
	$[NO_3^-]_m$	concentration en NO_3^- à tn	mole.m ⁻³
	$[N_2O]_m$	concentration en N_2O à tn	mole.m ⁻³
Au niveau de la motte	Vanox/Vagr.	fraction anoxique du sol	-
	Ro2	taux de consommation d' O_2	mole.m ⁻³ .s ⁻¹
	RNO3 ⁻	taux de dénitrification	mole.m ⁻³ .s ⁻¹
	ϕ_{N_2O}	flux de N_2O	mole.m ⁻³
	Vanox/Vagr.	fraction anoxique du sol	-
Au niveau du sol	Ro2	taux de consommation d' O_2	mole.m ⁻³ .s ⁻¹
	RNO3 ⁻	taux de dénitrification	mole.m ⁻³ .s ⁻¹
	ϕ_{N_2O}	flux de N_2O	mole.m ⁻³

Tableau n°7 : Données de sorties du modèle

Le modèle permet d'estimer la respiration globale des mottes du sol, leur fraction anoxique, leur taux de dénitrification total et les flux sortant de N_2O pour différentes conditions (teneurs en eau, teneur en NO_3^- , température, ...). Intégrés sur la distribution volumique des tailles de mottes, nous aboutissons à une estimation de ces mêmes valeurs pour un volume de sol donné. Ces données peuvent être comparées aux données expérimentales que nous avons obtenues. Le modèle nous permet par ailleurs de suivre les évolutions de concentrations en différents points de l'agrégats. Pour notre étude, nous nous sommes limités à des suivis en leur centre. Les sorties du modèle se situent à ces 3 échelles spatiales : échelle locale (ou millimétrique), échelle de la motte et échelle de la carotte de sol. L'ensemble des sorties est résumé dans le Tableau 7.

IV- MISE EN ŒUVRE DU MODELE

Il n'existe pas de méthode de résolution analytique adaptée à la complexité mathématique du problème, plus particulièrement en raison de la géométrie du modèle de sol. La résolution est donc de type numérique. Elle est basée sur la méthode des éléments finis. Cette méthode nous permet de trouver des solutions approchées en un nombre fini de points (noeud).

La mise en œuvre de ce modèle se déroule en 4 étapes :

- ① la création d'un maillage : chaque motte cubique est divisée en un ensemble de tétraèdres (domaines élémentaires) dont les sommets représentent les noeuds du maillage. On admet que les variations des fonctions utilisées (concentrations, fonctionnements microbiens entre autres) varient linéairement sur chacun des domaines élémentaires. La qualité de la solution dépendra donc de la validité de cette hypothèse et de la finesse du maillage choisi. Dans la mesure du possible, on limite le nombre de noeuds du maillage en raison des temps de calcul qui en dépendent fortement ;
- ② la définition des noeuds aux frontières de la motte qui correspondent aux plans de flux nuls. Ces plans sont représentés par des disques centrés sur les 6 faces du cubes (figure n°5);

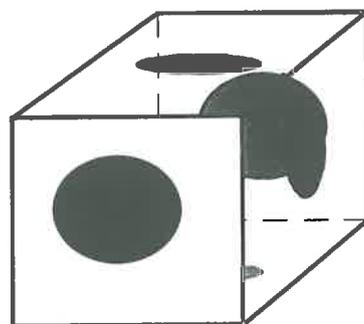


Figure 5 : exemple de représentation d'un cube avec ses surfaces bloquées

- ③ la simulation des transferts et des processus microbiens dans les milieux précédemment définis ;
- ④ l'intégration des résultats sur les différentes tailles de mottes pour aboutir à des fonctionnements à l'échelle de la carotte de sol.

NIVEAU DE CARACTERISATION	HYPOTHESES
<p>CARACTERISATION</p> <p>DU</p>	<p>subdivision du sol : - espace poral structural (inter-agrégat)</p> <p>- milieu textural (intra-agrégat) continué : - espace poral textural (intra-agrégat)</p> <p>- phase solide</p>
<p>SOL</p>	<p>agrégats saturés</p> <p>paramétrisation du modèle par analyse d'image : - un biais lors du passage de 2D en 3D</p>
<p>CARACTERISATION</p>	<p>au niveau structural : - transfert facile</p> <p>- composition gazeuse constant et égale à celle de l'atmosphère</p>
<p>DES</p>	<p>au niveau textural : - homogénéité</p> <p>- surfaces de plan de nul</p>
<p>TRANSFERTS</p>	<p>régime permanent : - phase transitoire négligée</p> <p>convection négligée</p>
<p>CARACTERISATION</p> <p>DES</p>	<p>agrégats homogènes : - intra-agrégat (matière organique, population microbienne d'où une respiration et unedénitrification homogène)</p> <p>- inter-agrégats (aucune variabilité entre agrégats)</p>
<p>PROCESSUS MICROBIENS</p>	<p>description des processus biologiques : - des cinétiques de Michaelis Menten</p> <p>seuil de caractérisation de l'anoxie à $[O_2] < K_{mO_2}$</p>

Tableau 8 : Résumé des hypothèses du modèle.

V- SYNTHÈSE SUR LE MODÈLE ET SES HYPOTHÈSES

Comme tous les modèles, le modèle présenté précédemment est une représentation simplifiée de la réalité. Il essaye de décrire certains fonctionnements globaux en tenant compte de la structure du sol et des principaux mécanismes qui lui sont sous-jacents. En ce sens, nous pouvons considérer qu'il s'agit d'un modèle mécaniste. Mais comme tous les modèles qui appartiennent à cette famille de modèles, il s'appuie sur des fonctionnements élémentaires décrits par des équations empiriques (loi de Fick et cinétiques de Michaelis Menten). Les principales hypothèses du modèle sont résumées dans le Tableau 8.

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALES

Notre travail nécessitait de caractériser la structure du sol en différenciant rangs et inter-rangs. Il nécessitait l'obtention des paramètres associés à la description des transferts et à la description des fonctionnements microbiens tels qu'ils ont été définis précédemment (cf. Chapitre II). Enfin, il nécessitait l'obtention de résultats sur colonnes de sols. Ces résultats comparés à des simulations, issues du modèle présenté dans le chapitre II et paramétrisé à l'aide des expériences précédentes, doivent nous permettre d'analyser les hypothèses incluses dans le modèle et par voie de conséquence le fonctionnement du sol proprement dit.

I- LE SOL

Les prélèvements de sol ont eu lieu sur une parcelle située dans la vallée de la Vistrenque (Gard, 30). Des salades ont été cultivées sur cette parcelle avec fertilisation minérale et organique, irrigation par asperseur et absence de paillage. L'horizon de surface est de texture argilo-limoneuse. Ses caractéristiques essentielles sont présentées dans le Tableau 9. Son pH est de 8.2, valeur favorable à la réduction du N_2O en N_2 . Deux colonnes de sol ont été prélevées en début et fin de culture pour caractériser la structure de cet horizon dans les rangs et inter-rangs. Un prélèvement (aléatoire) de sol dans la parcelle a été effectué sur ce même horizon en début de culture. Ce prélèvement nous a permis de déterminer expérimentalement certains paramètres physiques et biologiques du modèle. Ce prélèvement a été homogénéisé et stocké entre 0 et 9°C dans son état d'humidité au champ pour éviter des perturbations trop importantes des populations microbiennes. Des carottes de sol ont été prélevées toutes les semaines durant le deuxième mois de culture à raison de 3 dans les rangs et 3 dans les inter-rangs pour y mesurer les émissions de N_2O , la dénitrification globale, et cette même dénitrification en condition d'anaérobiose.

Granulométrie sans décarbonatation ‰		Calcaire ($CaCO_3$)	414g.kg ⁻¹
argile	297	N organique méthode Kheldahl	1.31 g.kg ⁻¹
limon fin	395	C organique méthode Anne	10.7g.kg ⁻¹
limon grossier	189	matière organique	18.4g.kg ⁻¹
sable fin	74	Rapport C/N	8.17g.kg ⁻¹
sable grossier	45	Azote nitrique (N- NO_3)	5.70g.kg ⁻¹
pH eau	8.2	Azote ammoniacal (N- NH_4^+)	2.90g.kg ⁻¹

Tableau 9 : Caractéristiques essentielles du sol utilisé

II- DESCRIPTION DE LA STRUCTURE DU SOL

La structure du sol a été caractérisée en début et fin d'expérimentation de terrain car elle influence son aération et les possibilités de réduction de N_2O en N_2 . Nous voulions caractériser ainsi les différences entre les rangs et les inter-rangs et l'évolution du sol au cours d'un cycle cultural (avril-juin). Ces analyses nous ont servis par ailleurs à paramétriser le modèle.

Pratiquement, des mesures de densité apparente ont été réalisées *in situ* et sur des agrégats de sol. Elles nous permettent d'obtenir des estimations des porosités totales et structurales nécessaires au modèle et pour certaines opérations préliminaires à l'analyse d'image présentée ci-dessous. De plus, des analyses de surfaces polies ont été réalisées sur les colonnes prélevées en début de culture. Ces colonnes étaient auparavant incluses dans de la résine après adjonction d'un azurant puis découpées selon un diamètre et la surface d'une des deux sections ainsi créée était polie. Le logiciel d'analyse d'image **MAPSAT** a été utilisé pour cette étude.

II-1- MESURE DES POROSITES TOTALE ET STRUCTURALES

La détermination de la porosité totale (ϵ_T) nécessite l'obtention de la densité apparente d_a et de la densité de solide d_s :

$$\epsilon_T = 1 - \frac{d_a}{d_s} \quad (1)$$

La densité apparente a été déterminée entre 0 et 30 cm de profondeur par l'utilisation d'une sonde gamma par C.Gueguen (Gueguen, 1995) au niveau des rangs et des inter-rangs. La densité de solide a été supposée égale à 2.65.

La porosité inter-motte (ϵ_{struct}) peut être déterminée de manière analogue :

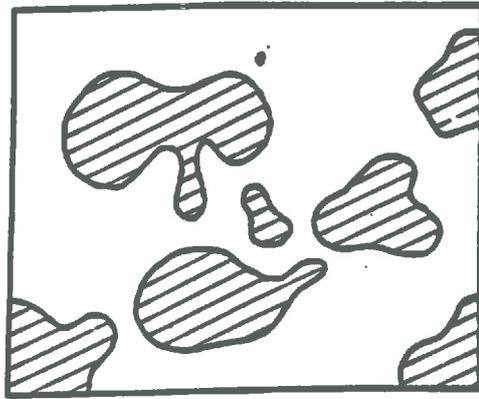
$$\epsilon_{struct} = 1 - \frac{d_a}{d_{agr}} \quad (2)$$

où d_{agr} est la densité d'agrégat. Elle a été mesurée par C.Jeandet (T.R.) par la méthode au pétrole.

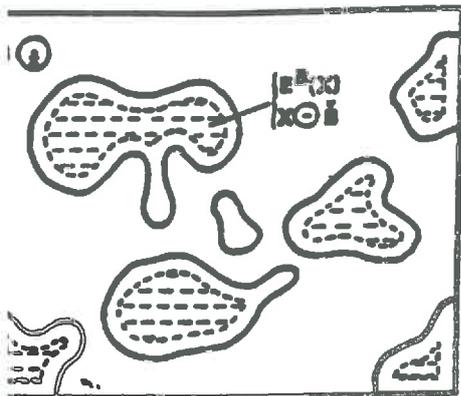
II-2- CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE DU SOL

II-2-A- OBTENTION DES IMAGES

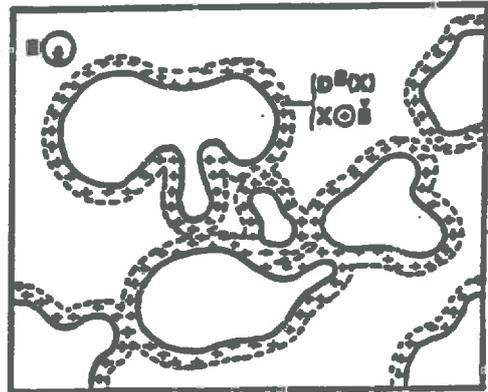
Nous avons réalisé des surfaces polies nous permettant de décrire la structure de l'horizon de surface des rangs et des inter-rangs. En raison de l'adjonction d'un azurant, les pores grossiers émettent de la lumière sous éclairage U.V.. Nous obtenons ainsi des photographies où les régions claires correspondent à des pores et les régions foncées à des régions occupées par la phase solide ou par des pores de petite taille (photo n°1 et 2). Nous assimilons les pores grossiers aux pores inter-mottes (espace poral structural) et les surfaces foncées aux agrégats et mottes du sol. Ainsi, nous disposons d'images ayant approximativement 300 pixels de largeur pour 10 cm de diamètre et 900 pixels de hauteur pour 30 cm de profondeur de sol. Chaque pixel avait une valeur entre 0 et 255 correspondant à son niveau de gris (0 pour le noir et 255 pour le blanc).



Ensemble d'objets X.



Erosion de l'ensemble d'objets de la figure III.7 par un élément structurant circulaire.



Dilatation de l'ensemble d'objets par un élément structurant circulaire.

fig n°6 : une érosion et une dilatation (Coster M & Chermant J.L, 1989)

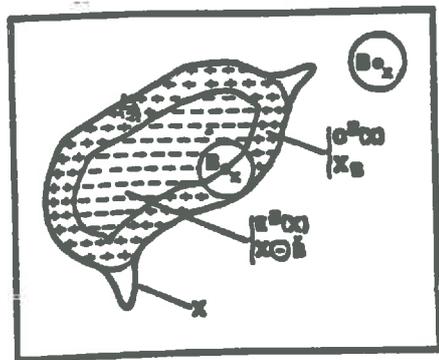


fig n°7 : une ouverture (Coster M & Chermant J.L, 1989)

Ces images ont d'abord été binarisées de façon à ce que tous les pixels prennent soit la valeur 0, soit la valeur 255 en fonction de l'appartenance supposée du pixel aux mottes ou aux pores structuraux. Pratiquement, nous avons été amenés à définir une valeur - le seuil - pour chaque image. Tous les pixels inférieurs ou égaux à ce seuil se sont vus attribuer la valeur 0 (ou 255 selon le traitement) et tous les autres la valeur 255 (ou 0 selon le traitement). Le choix du seuil a été réalisé de façon à ce que la porosité inter-mottes issue de l'analyse d'image soit similaire à la porosité structurale calculée à l'aide des densités.

B- L'ANALYSE D'IMAGE

L'analyse d'images est basée sur des concepts mathématiques permettant de décrire de manière quantitative des images. Elle nous a permis d'établir des relations entre des paramètres morphologiques et les propriétés du sol.

Une des idées de base de la morphologie mathématique est de comparer les objets que l'on veut analyser (X) à un autre objet de forme connue, appelé élément structurant (B_x). Ces éléments sont des objets 2-D dont le centre est x. Ces objets sont déplacés par translation sur l'ensemble de l'image et nous permettent de définir plusieurs opérations de base de transformation de l'image (Figure n°6):

- l'érosion : il s'agit d'une opération permettant de passer d'un objet X (l'ensemble des mottes ou l'espace poral inter-motte dans notre étude) à un ensemble Y inclus dans X et tel que :

$$Y = \{x: B_x \subset X\} \quad (3)$$

Pratiquement, ne sont conservés que les centres des éléments structuraux totalement inclus dans X.

- la dilatation : il s'agit d'une opération permettant de passer d'un objet X à un ensemble Y contenant X et tel que :

$$Y = \{x: B_x \cap X \neq \emptyset\} \quad (4)$$

Pratiquement, sont conservés tous les centres des éléments structuraux touchant l'ensemble X).

- l'ouverture (Figure n°7) : il s'agit de la réalisation successive d'une érosion et d'une dilatation par le même élément structurant. Pratiquement, faire une ouverture d'un ensemble X par un élément structurant B_x revient à conserver tous les points des éléments structuraux totalement inclus dans X. Ainsi, cette opération nous permet d'éliminer tous les sous-ensembles non significatifs (élimination des bruits, des points ou des îlots isolés) à l'intérieur desquels B_x ne peut pas être inclus et toutes les régions de dimensions trop petites. Elle a donc un rôle de filtre. Réalisée de plusieurs fois avec des éléments structuraux de tailles croissantes, elle nous permet d'arriver à des granulométries de mottes ou de pores.

C- GRANULOMETRIE DE MOTTES ET DE PORES

Nous avons réalisé des ouvertures sur les mottes pour des élément structurants de formes carrées dont les dimensions allaient de 3×3 à 13×13 pixels avec un intervalle de 2 pixels, puis pour des dimensions de 25×25, 37×37, 49×49, 61×61, 73×73 et 85×85.

La même opération est effectuée sur les pores.

D- PERIMETRE DES PORES LIBRES A L'AIR ET TAUX DE SATURATION

Nous supposons que chaque ouverture sur l'espace poral par l'élément structurant B_x correspond à simuler sa saturation partielle par de l'eau : le taux de saturation de l'espace poral structural est alors égal à la surface de l'espace poral qui a disparu lors de l'ouverture rapportée à la surface totale du même espace poral. A chaque taux de saturation, nous pouvons calculer le périmètre des pores non disparus (supposés libres à l'air). Nous avons admis que la variation relative de périmètre était proportionnelle à la variation relative des surfaces non couvertes par de l'eau :

$$\frac{S_w(\theta_{s-struct})}{S_t - S_c} = \frac{P(\theta_{s-struct})}{P_{sec}} \quad (5)$$

où $\theta_{s-struct}$ est le taux de saturation de l'espace poral structural et P le périmètre des pores structuraux libres à l'air.

F- INCERTITUDES ET BIAIS ENGENDRES PAR L'ANALYSE D'IMAGE

Plusieurs types de biais ou incertitudes peuvent exister pour différentes raisons (Coulomb, 1991 ; Cosner et Chermant, 1989) :

- la représentativité de l'image analysée dépend de sa dimension et de variations à plus grande échelle spatiale : pour notre étude, aucune répétition n'a été envisagée et les surfaces analysées sont de 10 cm × 30 cm environ ;
- la digitalisation et le seuillage peuvent modifier l'image réelle ;
- le travail sur des représentations 2-D d'un milieu réel 3-D ;
- la forme de éléments structurant (le carré provoque un biais d'environ -7% par rapport au disque pour des opérations de granulométrie).

III- ESTIMATION DES COEFFICIENTS DE DIFFUSION ET DES CONSTANTES DE SOLUBILITE AU SEIN DES MOTTES

Les gaz peuvent circuler dans le sol au sein de la phase gazeuse mais aussi dans la phase liquide sous forme dissoute et parfois sous d'autres formes (ionisées et/ou complexée dans le cas

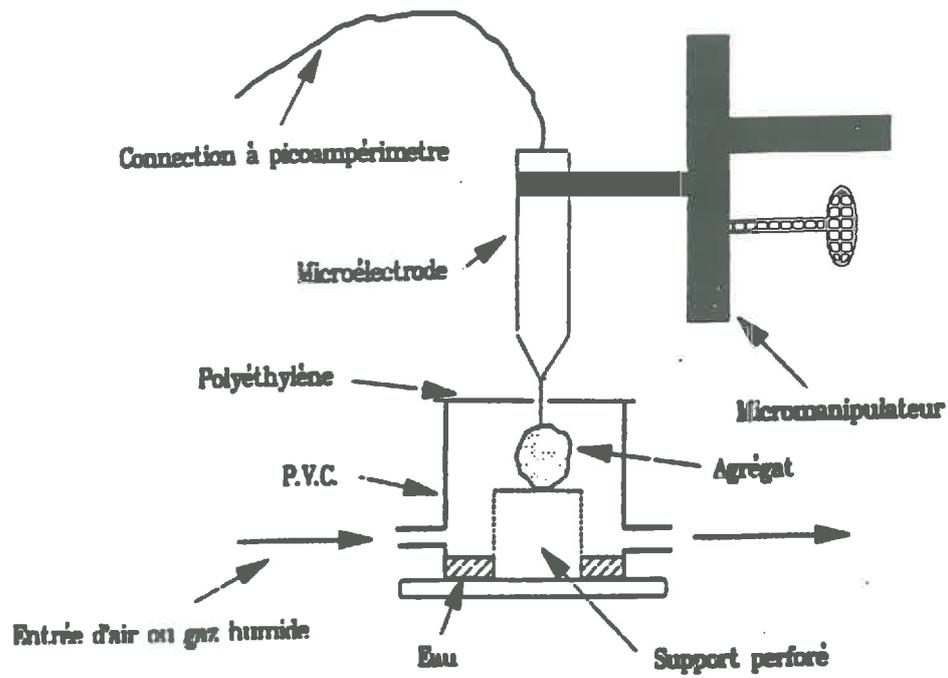


Figure n°8 : Dispositif expérimental utilisé pour l'estimation du coefficient de diffusion de l' O_2

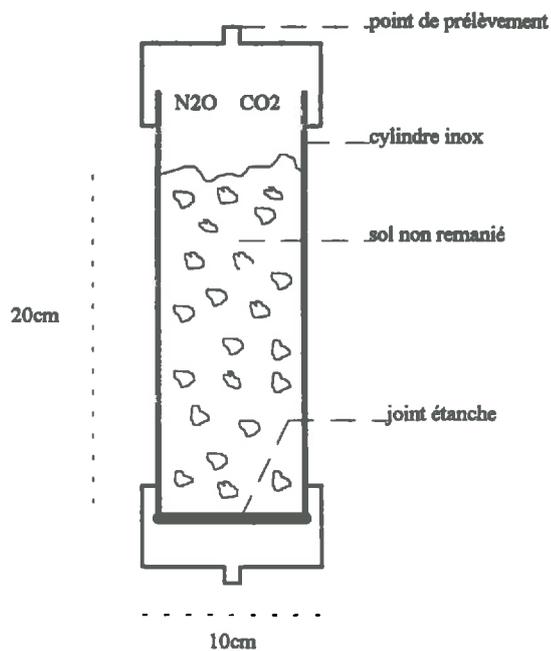


Figure n°9 : colonne statique d'incubation des carotte de sol

du CO₂). Afin de renseigner le modèle présenté dans le chapitre précédent, nous avons déterminé les coefficients de diffusion de l'O₂, du N₂O et des ions NO₃⁻, au sein des mottes saturées. Nous avons par ailleurs estimé les constantes de solubilité de l'O₂ et de N₂O dans l'eau.

III-1- ESTIMATION DU COEFFICIENT DE DIFFUSION DE L'O₂ DANS LE SOL

Pour cette estimation, nous avons utilisé une motte saturée d'environ 2 cm de côté et présentant une surface plane dont la structure semblait relativement homogène. L'air ambiant au voisinage de cette motte a été brutalement modifié pour passer d'environ 21% d'O₂ à presque 100% en quelques dizaines de secondes. Nous avons répété cette procédure 4 fois. L'évolution de la concentration en O₂ a été suivie à l'aide d'une microélectrode dans l'air à proximité immédiate de la motte et en 3 points de l'agrégat à 0.5 mm de profondeur (Figure n°8). La durée du suivi était de 3 minutes.

L'estimation du coefficient de diffusion s'est faite par comparaison des données expérimentales à des données simulées par un modèle de fonctionnement monodimensionnel correspondant à l'équation (11.a) du chapitre II :

$$\varepsilon_{agr} \frac{\partial [O_2]}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(D_{agr-O_2} \frac{\partial [O_2]}{\partial z} \right) - R_{O_2} \quad (6)$$

La description de la respiration R_{O₂} a été simplifiée pour cet ajustement :

$$R_{O_2} = R_{maxO_2} \quad si [O_2] \geq 0.5\% \quad (7)$$

$$R_{O_2} = \frac{[O_2]}{0.5} R_{maxO_2} \quad si [O_2] < 0.5\% \quad (8)$$

La distribution initiale de l'O₂ au sein de la motte était calculée en fonction des valeurs fixées pour D_{agr-O₂} et R_{maxO₂} en supposant le régime permanent (absence d'évolution de [O₂] en fonction du temps en tout point de la motte). A 1cm de profondeur dans la motte, nous supposons que le flux d'O₂ était nul. A la surface de la motte, nous supposons que la concentration en O₂ variait comme dans l'air à proximité de celle-ci.

Pour chaque suivi de [O₂] au sein de la motte, nous avons donc ajusté D_{agr-O₂} et R_{maxO₂} par minimisation des carrés des écarts entre données expérimentales et données simulées. La respiration microbienne n'étant pas décrite exactement comme dans le modèle présenté dans le chapitre précédent, nous avons par ailleurs estimé le poids de celle-ci sur l'ajustement du coefficient de diffusion.

III-2- ESTIMATION DES COEFFICIENTS DE DIFFUSION DE N₂O ET NO₃⁻ ET DES CONSTANTES DE SOLUBILITE DE O₂ ET N₂O

Nous pouvons définir un facteur de proportionnalité entre le coefficient de diffusion d'une espèce *i* dans un sol saturé (D_{agr-i}) et le coefficient de diffusion de la même espèce dans l'eau (D_{gw-i}) :

$$f = \frac{D_{agr-i}}{D_{w-i}} \quad (9)$$

En première approximation, *f* peut être considéré comme indépendant de l'espèce considérée. Il varie en fonction de la géométrie de l'espace poral, donc de la granulométrie du sol et de la densité. Plus généralement, il dépend fortement de la teneur en eau du sol.

Les estimations du coefficient de diffusion de l'O₂ nous permettent donc d'arriver à des estimations des coefficients de diffusion de N₂O et de NO₃⁻ grâce à l'équation suivante :

$$D_{agr-i} = D_{w-i} \left(\frac{D_{agr-O_2}}{D_{w-O_2}} \right) \quad (10)$$

Des estimations des coefficients de diffusion des NO₃⁻ et du N₂O dans l'eau sont présentées dans le Tableau 10.

états	espèces	valeurs	unités	Références
Gaz	O ₂	2.01 10 ⁻⁹	m ² /s	(Himmelblau, 1964)
	N ₂ O	2.11 10 ⁻⁹	m ² /s	(Himmelblau, 1964)
Soluté	NO ₃ ⁻	1.60 10 ⁻⁹	m ² /s	(Handboock, 1975)

Tableau n°10 : Les coefficients de diffusions dans l'eau à 20°C.

Pour définir les conditions aux limites des mottes (Equations (12.a) et (12.b) du chapitre II), nous proposons une estimation les solubilités de l'O₂ et du N₂O à 20°C dans le Tableau 11.

espèces	valeurs	unités	références
O ₂	0.033	m ³ gaz/m ³ eau	(Wilhelm et al, 1977 cité dans Leffelaar, 1986-b)
N ₂ O	0.017	m ³ gaz/m ³ eau	(Wilhelm et al, 1977 cité dans Leffelaar, 1986-b)

Tableau n°11 : Les constantes de solubilité dans l'eau à 20°C.

La température agit à la fois sur la solubilité et sur les coefficients de diffusion.

IV- ESTIMATION DES PARAMETRES BIOLOGIQUES

IV-1- LA RESPIRATION

L'anaérobiose a lieu lorsque la diffusion ne peut plus compenser le déficit en O_2 dû à une forte consommation d'oxygène. Il est important d'estimer la respiration maximale et la constante d'affinité de la respiration pour l'oxygène en absence et en présence de CO_2 .

Pour réaliser nos expériences, des agrégats saturés à 90% (25g) sont placés dans une atmosphère contenant le mélange gazeux désiré (Tableau 11) pendant une nuit pour acclimater les microorganismes avant le début des expériences. La concentration maximale du mélange est de 21% pour l' O_2 et 5% pour le CO_2 car, généralement, l'accroissement de concentration du CO_2 est beaucoup plus faible que la baisse de concentration en O_2 en raison de solubilité très différentes et de la physico-chimie en solution du CO_2 . Un renouvellement de l'air du flacon (36 ml) et une injection de 1ml de Krypton (test sur l'absence de fuites) sont effectués 30 minutes avant la première mesure, soit 12 heures après le début de l'expérience. La non-saturation permet de limiter les gradients d' O_2 au sein des agrégats. Nous considérons l'activité biologique identique à saturation totale et à 90% de saturation.

mélange gazeux	0% O_2	1% O_2	2% O_2	5% O_2	10% O_2	15% O_2	20% O_2
0% CO_2	X	X	X	X	X	X	X
5% CO_2	X	X	X	X	X	X	X

Tableau 12 : Différents mélanges gazeux pour l'étude de la respiration

Les mesures des concentrations en O_2 , N_2 , CO_2 et Kr ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse muni d'un catharomètre (H.P. 5890 série2). La mesure est effectuée sur un prélèvement de 0.3ml. La précision relative est de 0.5%. Des cinétiques de production de CO_2 et de consommation d' O_2 ont ainsi été réalisées sur 3 jours. Trois répétitions ont été effectuées par atmosphère désirée. La respiration a été analysée au moyen de l'équation de Michaelis Menten sans y adjoindre finalement la prise en compte d'une inhibition par le CO_2 . La détermination de R_{O_2-max} et de K_{m-O_2} est réalisée par un ajustement non linéaire des données expérimentales aux données simulées par l'équation de Michaelis Menten.

IV-2- LA DENITRIFICATION

La dépendance de la dénitrification à la concentration en NO_3^- est généralement décrite par une cinétique de Michaelis Menten. Elle se caractérise alors par une constante de Michaelis pour NO_3^- ($K_{mNO_3^-}$) et par une dénitrification maximale ($R_{max}NO_3^-$). Nous nous sommes proposés de déterminer ces paramètres par dosage des émissions de N_2O à différentes concentrations de NO_3^- pendant 3 heures sur des agrégats saturés (2g) et placés en anaérobiose en présence de C_2H_2 (0.6

ml). Le N_2O a été dosé par chromatographie en phase gazeuse muni d'un détecteur à capture d'électrons (H.P. 5890 série II). La précision relative de la mesure est de l'ordre de 1%. Le prélèvement est de 0.3ml.

La même expérience a été répétée en absence de C_2H_2 pour estimer les possibilités de réduction de N_2O par le sol sachant pertinemment que cette dernière expérience ne nous offrait pas les moyens de déterminer rigoureusement la réduction maximale de N_2O en N_2 ($R_{max}N_2O$), sa constante de Michaelis K_{mN_2O} et la constante d'inhibition associée à la présence de NO_3^- .

V- EMISSIONS DE N_2O ET DENITRIFICATION GLOBALE SUR COLONNES

Elles ont été quantifiées par des expériences sur colonnes statiques de 30 cm au laboratoire (Figure n°9) représentant donc la zone du profil cultural de notre parcelle de salades. Ces colonnes de sol sont prélevées de manière aléatoire à 4 reprises au cours de la culture sur la parcelle au niveau des rangs (3) et des inter-rangs (3) et ne sont pas remaniées. Elles sont placées 12h à une température de $20^\circ C$ permettant ainsi une température homogène dans toute la colonne.

Les cinétiques de production de N_2O seront réalisées sur 6 heures sans C_2H_2 , puis sur 6 heures avec C_2H_2 (35ml). Les émissions de N_2O seront aussi évaluées en condition d'anoxie obtenue par une purge d'1h30 avec C_2H_2 . Du Krypton est injecté pour mettre en évidence des fuites lors des expériences. Le N_2O sera quantifié grâce au chromatographe en phase gazeuse munie d'un détecteur à électrons. Le poids de sol frais et l'humidité pondérale sont quantifiées en fin d'expériences. Nous avons donc une approche de la dénitrification globale.

Les concentrations en NO_3^- seront évaluées par électrode spécifique (Orion, modèle 93.07). La répétabilité des mesures est estimée à 1%. Pour ces dosages 100g de sol haché est placé dans un flacon en présence d'inhibiteur biologique ($HgCl_2$ à 1g/l). Après agitation pendant 1 heure, la solution de sol est filtrée. Le dosage est effectué sur 10ml du filtrat auquel on ajoute 1ml d'un correcteur d'interférences aux ions Cl^- : I.N.R.A. (constitué de H_2SO_4 ($10^{-3}M$), $CuSO_4$ (5g/l) et Ag_2SO_4 (3g/l) et $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ (9.5g/l)).

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSION



Rang



Inter-rang

Photo n°1 : photographie des coupes de sol en début de culture.



Rang



Inter-rang

Photo n°2 : photographie des coupes de sol en fin de culture.

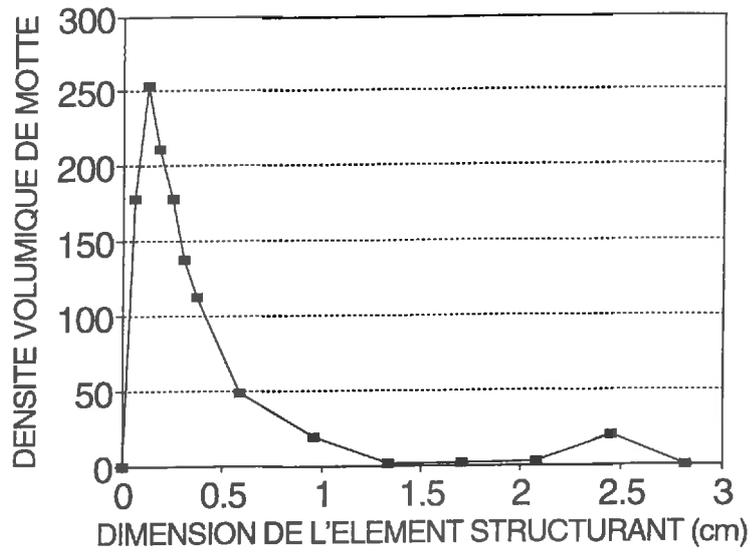


Figure n°10.a : Granulométrie de mottes par analyse d'images dans les rangs

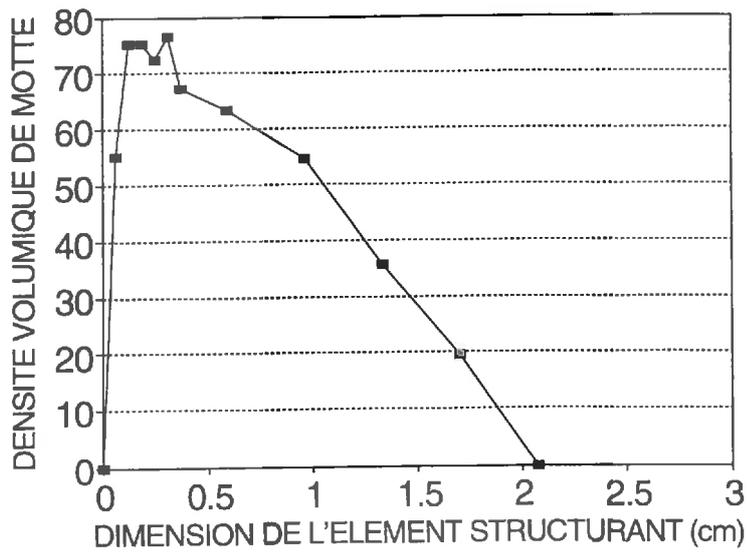


Figure n°10.b : Granulométrie de mottes par analyse d'image sur l'inter-rang

I- DESCRIPTION DE LA STRUCTURE DU SOL

I-1- MESURE DES DENSITES ET ESTIMATION DES POROSITES

Les densités apparentes *in-situ* ont été mesurées tous les 5 cm par C. Gueguen (stagiaire D.E.A.) dans les rangs et dans les inter-rangs. L'intégration des 6 premières mesures (de 2.5 à 27.5 cm) nous permet d'accéder à des estimations des densités apparentes moyennes dans ces deux milieux. Ces valeurs sont respectivement de 1.54 et 1.6 pour les rangs et inter-rangs. Admettant que la densité de solide est de l'ordre de 2.65, les porosités totales correspondantes sont de 0.42 et 0.39.

La densité a été mesurée par C. Jeandet (T.R.) sur un ensemble d'agrégats pris à partir de sol pris au hasard dans les rangs et inter-rangs, admettant que cette valeur ne dépend que de la composition du sol en première approximation. Sa valeur est de 1.87 nous amenant à estimer la porosité texturale égale à 0.29.

Admettant que la densité d'agrégats est égale à celle des mottes, on parvient aisément à des estimations des porosités inter-mottes (ou porosités structurales). Ces valeurs sont respectivement de 0.17 et 0.14 pour les rangs et inter-rangs (correspondant à des indices de vide structuraux de 0.20 et 0.16). Ces valeurs correspondent à des sols relativement peu compactés (comparaison avec la porosité structurale trouvée par Stengel, 1976 et Stengel, 1990). Ce degré de compaction est favorable à une bonne aération du sol.

I-2- DISTRIBUTION GRANULOMETRIQUE DE TAILLE DES MOTTES

Des images ont été obtenues sur des prélèvements de sol réalisés en début de culture (Photos 1 et 2) et binarisées de façon à ce que l'espace poral inter-mottes ait des porosités égales aux porosités calculées précédemment (seuillage). Des granulométries de motte ont été réalisées sur chacune de ces images binarisées. Pour l'image obtenue sur le rang (Photo 1), nous avons par ailleurs éliminé le bas du profil avant traitement, celui-ci correspondant à la couche non travaillée du sol.

L'image obtenue sur rang présente des mottes dont la dimension dépasse les 2.5 cm (Figure 9.a). Le pic existant au voisinage de cette valeur ne correspond en réalité qu'à une motte de cette dimension qui est facilement visible sur l'image de départ. Si l'on excepte cette motte, la distribution granulométrique de celles-ci montre une distribution présentant des mottes beaucoup plus grosses dans le rang (Figure 10.a) que dans l'inter-rang (Figure 10.b). La distribution volumique des mottes semble être de type Log-normale dans le rang (distribution rencontrée dans la littérature comme Gardner(1956) cité par Renault & Stengel, 1994). Les résultats obtenus dans l'inter-rang semblerait être contraires mais la représentativité de l'image est plus faible en raison d'une plus grosse la taille des mottes. Les biais obtenus sur les distributions surfaciques sont de l'ordre de -10 à -20% par rapport aux distributions volumiques (Renault comm. personnelle).

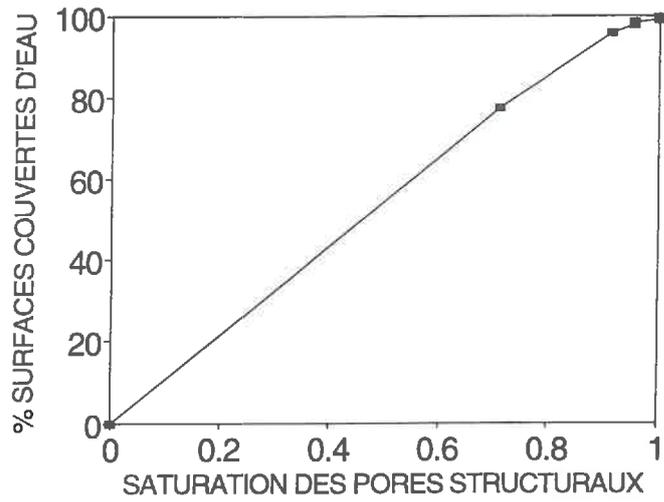


Figure n°11a : Périmètre en fonction du taux de saturation inter-motte dans le rang

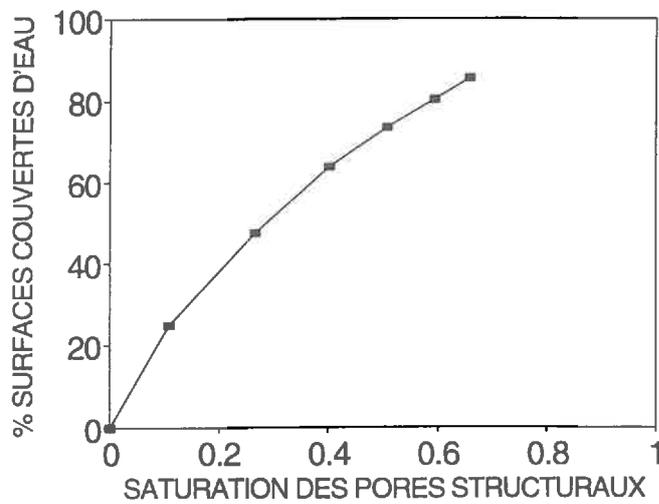


Figure n°11b : Périmètre en fonction du taux de saturation inter-motte dans l'inter-rang

Bien que ces seuls résultats ne soient pas suffisants pour parler d'anoxie et de dénitrification, la taille des mottes apparaît très faible et peu propice à l'installation de l'anoxie dans le rang tant qu'il n'y a pas d'eau en quantité importante dans le rang. Au contraire, Il semble qu'il puisse y avoir de l'anoxie dans les mottes de l'inter-rang (sous réserve que celles-ci soient saturées en eau) sans qu'il y ait d'eau dans l'espace poral inter-motte. Ces conclusions dépendent bien sur fortement des transferts et de l'activité microbienne au sein de la motte. La dénitrification dépendra encore de la possibilité pour NO_3^- d'atteindre les régions anoxiques et la production nette de N_2O dépendra des possibilités de sortie des régions anoxiques de ce composé.

Pour la modélisations, 5 classes d'agrégats seront définies. Elles seront centrées sur les dimensions 0.5, 1, 1.5, 2 et 2.5 cm.

I-3- RELATION ENTRE PERIMETRE ET TAUX DE SATURATION DE L'ESPACE PORAL INTER-MOTTE

Nous avons obtenu des relations entre le périmètre des pores couvert par de l'eau et le taux de saturation simulé de l'espace poral inter-mottes (Figures 11.a et 11.b). Cette relation est très dépendante de la provenance de l'échantillon (rang ou inter-rang).

Pour l'inter-rang, il y a presque proportionnalité entre les deux variables. Ce type de relation peut être obtenu pour un espace poral dont la dimension des pores est presque unique. Ce type de relation pourrait probablement être obtenu pour des pores fissuraux. Au contraire, il n'y a pas proportionnalité entre ces deux variable. Le type de relation obtenu est très similaire au type de relation proposé par Renault & Sierra (1994). Il s'appliquait à des arrangements de mottes sphériques. Nos résultats montrent qu'en début de saturation de l'espace poral inter-motte, il est plus facile de couvrir par de l'eau la surface des mottes qu'à des taux de saturation plus importants. Ces résultats nous ont permis d'estimer le rapport $S_w/(S_t-S_c)$ présenté dans le Chapitre II. A l'heure actuelle, nous n'avons aucune idée sur les biais que peut induire le passage du 3-D au 2-D pour ce type d'analyse.

II- ESTIMATION DU COEFFICIENT DE DIFFUSION DE L'O₂ DANS LE SOL

Les données expérimentales sont présentées dans les Figures 12.a, 12.b et 12.c. Dans les 3 cas, la concentration initiale en O_2 au sein de la motte est de l'ordre de 12% en raison de la respiration microbienne qui provoque un gradient initial de concentration.

Il est possible de simuler des données similaires aux données expérimentales. Les valeurs ajustées du coefficient de diffusion ($D_{\text{ag-O}_2}$) et de la respiration maximale (R_{maxO_2}) sont présentées dans le Tableau 13. Elles sont différentes d'un profil à l'autre. Néanmoins, les respirations maximales ajustées sont du même ordre de grandeur que les estimations obtenues au cours d'autres mesures (cf. paragraphe III-1). Par ailleurs, les intervalles de confiance sur les coefficients de diffusion ajusté sont petits et laissent présager de la qualité de nos estimations.

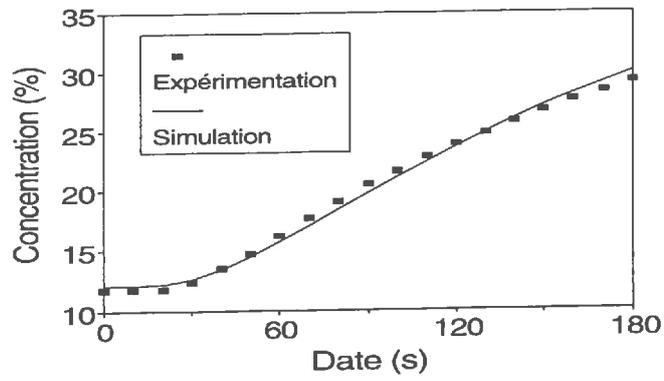


Fig.a : Profil 1

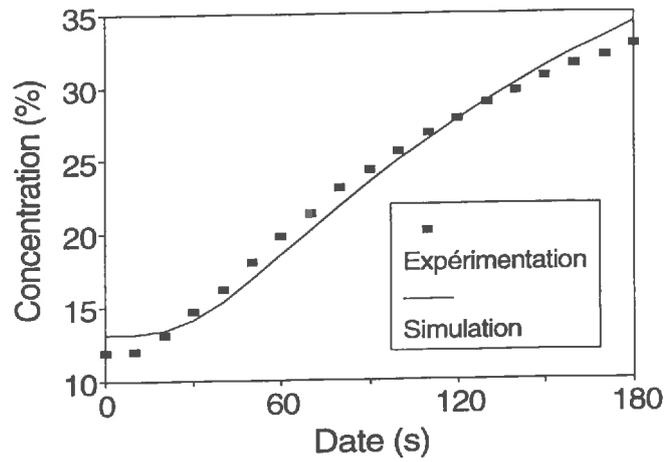


Fig.b : Profil 2

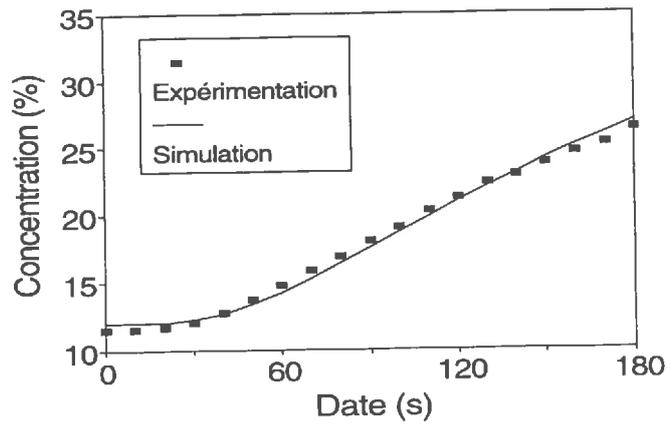


Fig.c : Profil c

Figures 12.a, 12.b et 12.c : Evolutions expérimentales et simulées des concentrations en O_2 .

Paramètre estimé		Profil 1	Profil 2	Profil 3
Coefficient de diffusion ($10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	Valeur estimée	1.67	2.04	1.38
	Intervalle de confiance	1.61	1.88	1.33
		1.74	2.20	1.44
Respiration maximale ($10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$)	Valeur estimée	2.11	1.93	1.78
	Intervalle de confiance	1.79	1.25	1.54
		2.43	2.60	2.01

Tableau 13 : Valeurs ajustées et intervalles de confiance lorsque le coefficient de diffusion pour l'O₂ et la respiration maximale sont ajustés simultanément

Néanmoins, les estimations du coefficient de diffusion et de la respiration maximale sont fortement corrélées. Afin de tester l'influence de la respiration maximale ajustée sur l'estimation du coefficient de diffusion, nous avons ajusté un coefficient de diffusion pour différentes valeurs de respiration maximale imposée à partir des données expérimentales de la figure 11. a.

Ces résultats sont présentés dans la Figure 13 L'estimation du coefficient de diffusion dépend bien de l'estimation de la respiration maximale. Néanmoins, pour une variation de 25% de la respiration maximale ($2 \pm 0.5 \cdot 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$), une variation inférieure à 10% du coefficient de diffusion ajusté est observée.

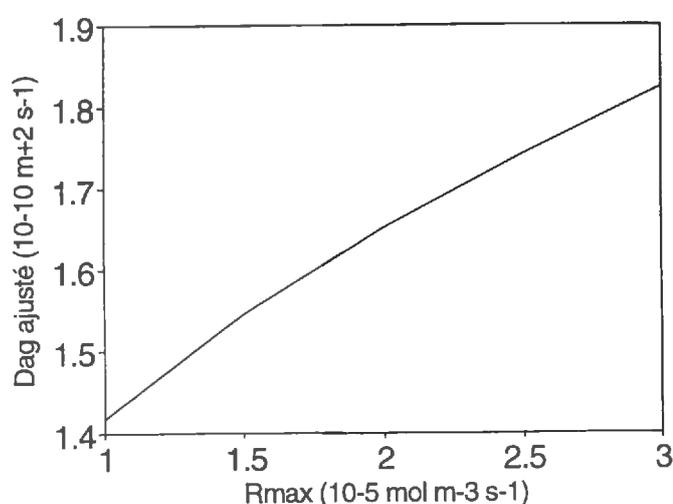


Figure 13 : Influence de la valeur de la respiration maximale sur l'estimation du coefficient de diffusion de l'O₂ pour le premier profil.

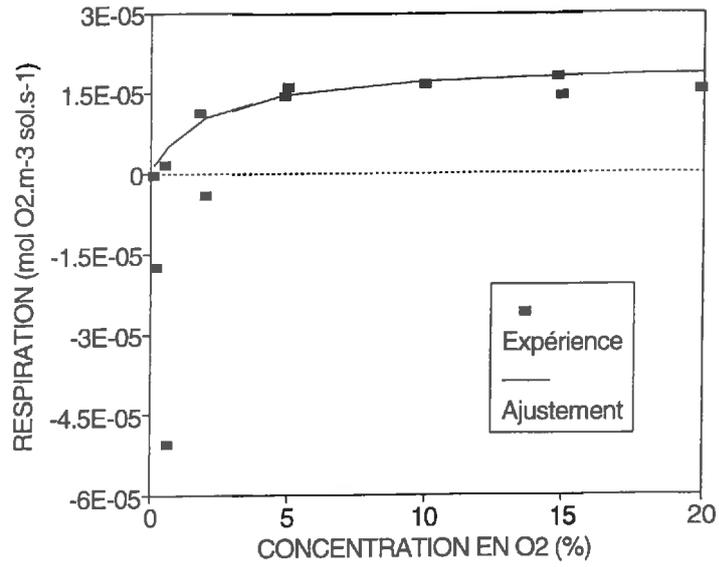


Figure n° 14 : Respirations expérimentales et simulées à 0%CO2 et à différents taux d'O2

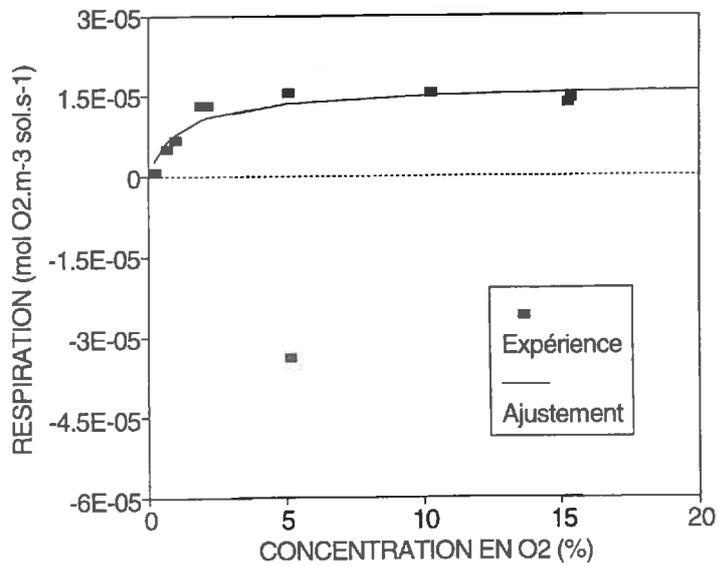


Figure n° 15 : Respirations expérimentales et simulées à 5%CO2 et à différents taux d'O2

En imposant une respiration maximale proche des valeurs obtenues au cours d'autres expériences ($1.9 \cdot 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$), nous obtenons des valeurs très voisines aux valeurs présentées dans le Tableau 14 .

D_{O_2}	Profil 1	Profil 2	Profil 3
Valeur estimée ($10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	1.63	2.03	1.41
Intervalle de confiance	1.61	1.97	1.39
($10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	1.66	2.09	1.43

Tableau 14 : Coefficients de diffusion ajustés lorsque la respiration maximale est fixées à $1.9 \cdot 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$

Pour le modèle, nous avons pris la moyenne des valeurs présentées dans le Tableau 13 ($1.7 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$). Ceci nous amène à retenir les valeurs de pour NO_3^- et de pour N_2O .

III- LES PROCESSUS MICROBIENS

III-1- LA RESPIRATION

Les résultats des expériences réalisées sur des agrégats de sol non remaniés et placés dans différentes ambiances gazeuses ont montré que l'effet de l' O_2 sur la respiration pouvait être décrit par l'équation de Michaelis Menten (Figures n°14 et 15). En effet, R_{O_2} augmente avec $[\text{O}_2]$ pour atteindre un plateau dès 5 % d' O_2 .

Aux faibles $[\text{O}_2]$, il existe quelques valeurs aberrantes, dues probablement à de plus grands risques de contamination des gaz par l'air ambiant lors de leur prélèvement par seringue.

Paramètres ajustés	intervalle de confiance borne inférieure	intervalle de confiance borne supérieure	ddl	Valeurs
R_{maxO_2} à 0% CO_2 ($\text{mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$)	$0.1651 \cdot 10^{-4}$	$0.243 \cdot 10^{-4}$	10	$0.2041 \cdot 10^{-4}$
R_{maxO_2} à 5% CO_2 ($\text{mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$)	$0.1417 \cdot 10^{-4}$	$0.1942 \cdot 10^{-4}$	7	$0.1679 \cdot 10^{-4}$
Moyenne du $R_{\text{O}_2,\text{max}}$	-	-	-	$1.86 \cdot 10^{-5}$

Tableau 15 : Résultats et ajustements de R_{maxO_2}

Types de milieu	Conditions expérimentales	Inhibition du CO2	KmO2 (mol.m ⁻³)	Bibliographie
CULTURE	-	-	0,1	(Greewood, & ç- & cité dans Leffelaar, 1988)
PURE	-	-	0.6	(Griffin, 1972 cité dans Grant, 1991)
AGREGATS REMANIES	t°=20°C 1.62-0.6% m.o	compétitive	0.754	(Sierra, 1994)
AGREGATS NATURELS	t°=20°C 1.62-0.6% m.o	compétitive	2.589	(Sierra, 1994)

Tableau 17 : Quelques données bibliographique de KmO2

Types de milieu	Conditions expérimentales	Inhibition du CO2	RmaxO2 (mol.m ⁻³ .s ⁻¹)	Bibliographie
CAROTTE DE SOL	évolution du CO2	-	8.92 10 ⁻³ 4.44 10 ⁻⁵	(Elliott & Dejong, 1993)
AGREGATS REMANIES	t°=20°C 1.62-0.6% m.o	compétitive	2.71 10 ⁻⁵	(Sierra, 1994)
AGREGATS NATURELS	t°=20°C 1.62-0.6% m.o	compétitive	6 10 ⁻⁶	(Sierra, 1994)

Tableau 18 : Quelques données bibliographique de RmaxO2

Paramètres ajustés	intervalle de confiance borne inférieure	intervalle de confiance borne supérieure	ddl	Valeurs
KmO ₂ à 0% CO ₂ (%)	0.143	3.73	10	1.938
KmO ₂ à 5% CO ₂ (%)	0.193	3.32	7	1.132
Moyenne du KmO ₂	-	-	-	1.535

Tableaux 16 : Résultats des ajustements des paramètres liés à la respiration

Les expériences réalisées avec 5% de CO₂ n'ont pas amené à des ajustements de paramètres significativement différents (Tableaux 15 et 16). Il semble que le CO₂ n'ait pas de rôle inhibiteur significatif dans notre sol. Ses effets sur la respiration des micro-organismes semblent variables (Sierra, 1994). L'existence ou l'absence d'inhibition de la respiration par le CO₂ peut varier au cours du temps. Elle peut dépendre des populations microbiennes et de la nature du sol. Il peut s'agir d'effets directs ou indirects (par l'intermédiaire du pH entre autre). Nos résultats ne sont donc pas généralisables à d'autres sols, ni à d'autres périodes sur le même sol.

La valeur estimée de KmO₂ est 1.54%. Elle est forte par rapport aux valeurs annoncées dans plusieurs travaux, bien qu'aucune donnée expérimentale n'y soit présentée (Currie , 1961 ; Greenwood & Berry, 1962 ; Smith , 1977 ; Smith, 1980 ; Arah & Smith, 1989). Elle est similaire à la valeur trouvée par Siera (1994) sur agrégats de sol remanié. La valeur estimée de RmaxO₂ est de $1.86 \cdot 10^{-5}$ (mol.m⁻³.s⁻¹). Elle correspond à une valeur moyenne, voire élevée par rapport aux données de la littérature pour un sol non remanié (Tableau 18).

III-2 LA DENITRIFICATION

Les Figures n°16 et 17 montrent respectivement les résultats expérimentaux obtenus à de faibles concentrations au mois de juin et des expériences réalisées pour des concentrations en NO₃⁻ plus élevées aux mois de juillet-août. Ces résultats ne nous permettent pas d'estimer les paramètres avec un ajustement de type Michaelis Menten comme dans le cas de la respiration. Un exemple de cinétique est présenté à la Figure n°18. Ces cinétiques correspondent bien à des accroissements de type linéaire. L'absence de relation simple entre la concentration en NO₃⁻ et la dénitrification n'est donc pas à rechercher dans des problèmes de qualité des données de base, mais bien plutôt dans des problèmes de variabilité entre échantillons (2 grammes de sol naturel pour chaque mesure) et/ou dans une évolution du sol pendant sa durée de stockage (des champignons se sont développés à certaines périodes sur le dessus des poubelles servant au stockage du sol dans les enceintes climatisées ; la température de ces enceintes a fluctué entre 0 et 9°C).

Pour les faibles concentrations en NO₃⁻ (Figure n°16), une dépendance a été observée entre [NO₃⁻] et le taux de N₂O émis ; l'accroissement de la concentration en NO₃⁻ en solution

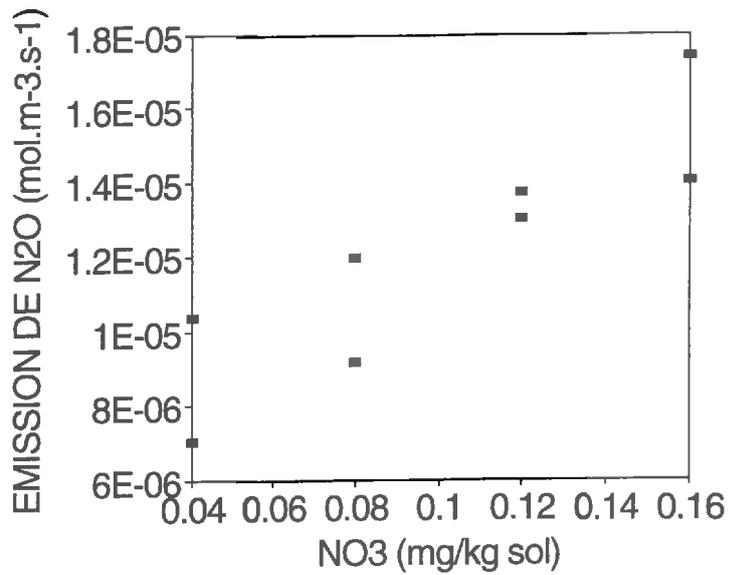


Figure n°16.a : Effets des $[\text{NO}_3^-]$ sur les émissions de N_2O .
(faibles concentrations- expériences de juin)

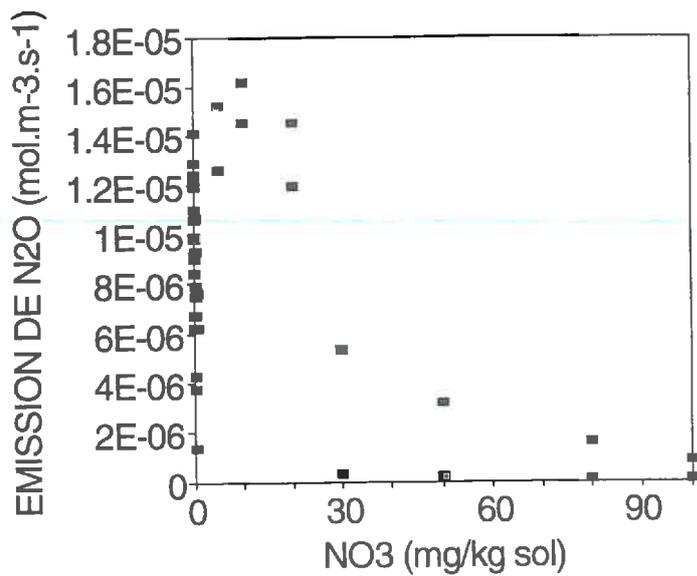


Figure n°16.b : Effets des $[\text{NO}_3^-]$ sur les émissions de N_2O .
(expériences sur une gamme plus grande de concentration- juillet-août)

provoque une croissance des émissions de N_2O . Aux fortes concentrations en NO_3^- , nous observons un plateau, puis une diminution du taux de dénitrification. Ces résultats laisseraient à penser à une toxicité (jamais rencontrée dans la littérature) ou à une inhibition des NO_3^- à de fortes concentrations, ce qui paraît peu probable pour notre domaine de concentrations.

Nous avons donc choisi d'estimer $R_{max}NO_3^-$ à $10^{-5} \text{ mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$. Une erreur de conversion d'unité nous a amené à faire tourner le programme de simulation avec la valeur de $5 \cdot 10^{-7} \text{ (mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1})$. La valeur de $K_mNO_3^-$ a été fixée arbitrairement à $3 \cdot 10^{-2} \text{ (mol.m}^{-3})$. Cette valeur correspondrait à 1.5 fois la valeur proposée par Betlach et Tiedje (1981) cité par Myrold et Tiedje (1985). Ces valeurs sont très incertaines, mais leurs ordres de grandeurs semblent possibles.

III-3- LA REDUCTION DE N_2O EN N_2

Les résultats des expériences sans C_2H_2 sont présentés dans la Figure 17 et sont à comparer avec ceux obtenus en présence de C_2H_2 (paragraphe précédent pour la dénitrification). Nous savions dès le départ que de tels résultats seraient difficiles à exploiter pour caractériser la réduction du N_2O en N_2 . Nos mesures sont très incomplètes pour permettre une telle estimation. Leffelaar (1987) considérait comme égaux les constantes associées à la dénitrification et à la réduction de N_2O en N_2 dans son modèle. De la même façon, nous avons considéré comme égales les valeurs de $R_{max}N_2O$ et $R_{max}NO_3^-$ d'une part, ainsi que les valeurs de K_mN_2O et $K_mNO_3^-$. Nous avons fait la même hypothèse (et la même erreur sur $R_{max}N_2O$ qu'auparavant). $K_iNO_3^-$ a été estimé par la formule proposée par McConnaughey & Bouldin (1985) en calculant la concentration en NO_3^- permettant une inhibition de 50%. Cette valeur est de $1 \text{ mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$. Aucune valeur de $K_iNO_3^-$ n'a été relatée pour des sols dans la littérature à notre connaissance.

III-4- DISCUSSION SUR LES ESTIMATIONS DES PARAMETRES BIOLOGIQUES

Les K_mO_2 et les $K_mNO_3^-$ de la littérature sont très variables. Une grande différence est observée entre K_m obtenus sur cultures pures, sur des agrégats et sur des cylindres de sol non remaniés (Tableau 17 et Tableau 3).

Les valeurs estimées de $K_mNO_3^-$ avec des expériences sur agrégats et sur colonnes de sol sont plus importantes (Tableau 3). Cet écart serait peut-être dû à une diffusion limitante de O_2 et des NO_3^- au sein des agrégats. Si c'est le cas, la valeur estimée ne représentera donc pas la vraie constante d'affinité entre le substrat et les bactéries, mais un K_mO_2 apparent. Myrold et Tiedje (1985) expliquaient ce phénomène par des problèmes de diffusion de NO_3^- entre les zones aérées et les zones dénitrifiantes.

La loi de Michaelis Menten a été proposée à la base pour décrire une activité enzymatique d'une réaction limitée seulement par un substrat. Elle a été utilisée pour modéliser des processus correspondant à plusieurs réactions enzymatiques au niveau cellulaire et même à des échelles plus importantes pour la respiration comme celles des fruits et des volumes de sol (Sierra, 1994) ainsi que pour la dénitrification (Kohl et al, 1976). Des mécanismes très différents peuvent montrer des

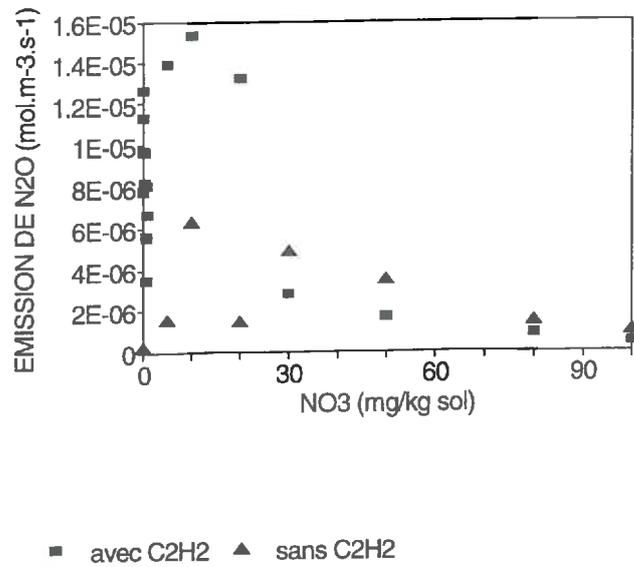


Figure n°17 : Emissions de N₂O moyennées avec et sans C₂H₂

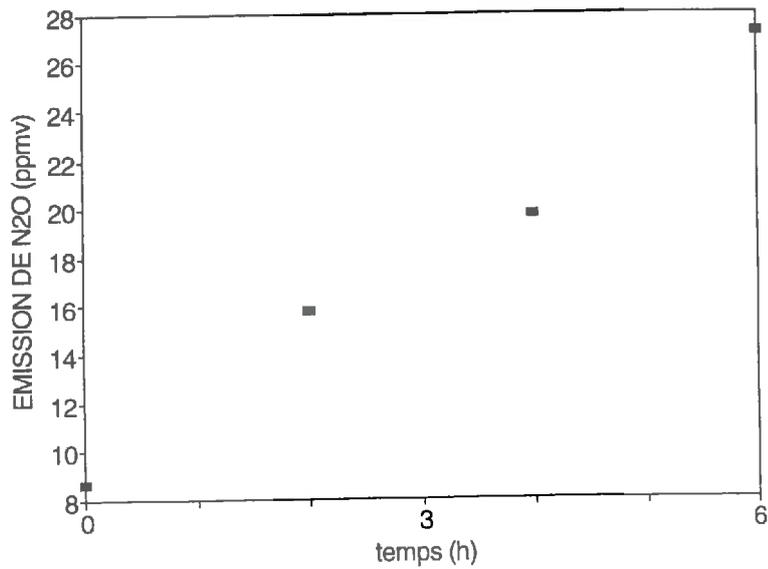


Figure n°18 : cinétique des émissions N₂O de à [NO₃⁻]=0.05mgN/kg sol

résultats proches de ceux issus des cinétiques Michaéliennes (Kohl et al, 1976). L'utilisation de cette relation ne nous permet donc pas de déduire le mécanisme du fonctionnement.

III-4 LA DENITRIFICATION GLOBALE

Les résultats des expériences de dénitrification sur colonnes sont présentés dans les Tableaux 20 et 21 et sur les Figures 19 et 20. Les émissions de N_2O et de N_2 ont toujours été plus importantes sur les inter-rangs que sur les rangs. Les concentrations en NO_3^- et les humidités pondérales n'expliquent pas ce résultat. Ils s'expliquent probablement par une compaction plus importante des inter-rangs par rapport aux rangs (entraînant des taux de saturation plus importants) et par la distribution des tailles de mottes de ces deux milieux. Ce résultat n'a pas pu être observé de façon nette pour les émissions de N_2O sur le terrain par C.Gueguen (stagiaire de DEA) en raison des très faibles émissions dans ces conditions. Les valeurs négatives sont sûrement dues à des problèmes métrologiques. Dans ces cas, les valeurs absolues sont de toute façon très faibles.

Sur les 3 dernières dates, les résultats montrent des émissions de N_2O fortes et presque identiques en présence de C_2H_2 sur l'inter-rang. Ces valeurs sont très faibles et ne correspondent pas aux taux de dénitrification attendus en début de stage.

Peu de données sur les émissions en anaérobiose sont utilisables pour diverses raisons.

Les émissions de N_2 sont beaucoup plus importantes que celles de N_2O entraînant de faibles rapports $N_2O/(N_2+N_2O)$ (cf Tableau 21 et Figure n°20.b). Certains des rapports des rangs sont inférieurs à 0 en raison des flux négatifs sans C_2H_2 . Les faibles rapports $N_2O/(N_2+N_2O)$ peuvent être expliqués par des conditions d'anoxie importantes permettant la réduction partielle de N_2O en N_2 avant qu'il n'atteigne les régions aérées du sol, par les faibles concentrations en NO_3^- qui semblent insuffisantes pour inhiber la N_2O -réductase et par le pH du sol qui est élevé et qui semble favorable à une telle réduction.

DATES	Prélèvement	$[NO_3^-]$ (mol.m ⁻³)	HP	N_2O émis sans C_2H_2 (gN/hect/j)	N_2O émis avec C_2H_2 (gN/hect/j)	N_2O émis avec C_2H_2 et anoxie (gN/hect/j)
04/05/95	rang	2.35	20.64	-1.36	-0.10	
	inter-rang	1.16	20.96	6.80	12.23	
15/06/95	rang	0.60	18.98	1.39	8.46	
	inter-rang	0.80	14.88	14.75	85.50	
06/06/95	rang	0.46	13.53	-0.11	1.38	
	inter-rang	0.59	17.72	15.24	85.35	
15/06/95	rang	0.68	17.06	-0.89	22.82	43.45
	inter-rang	0.74	18.79	8.99	93.24	299.97

Tableau 19 : Résultats expérimentaux des émissions de N_2O et N_2O+N_2 sur colonnes de sol et des $[NO_3^-]$ et humidités pondérales.

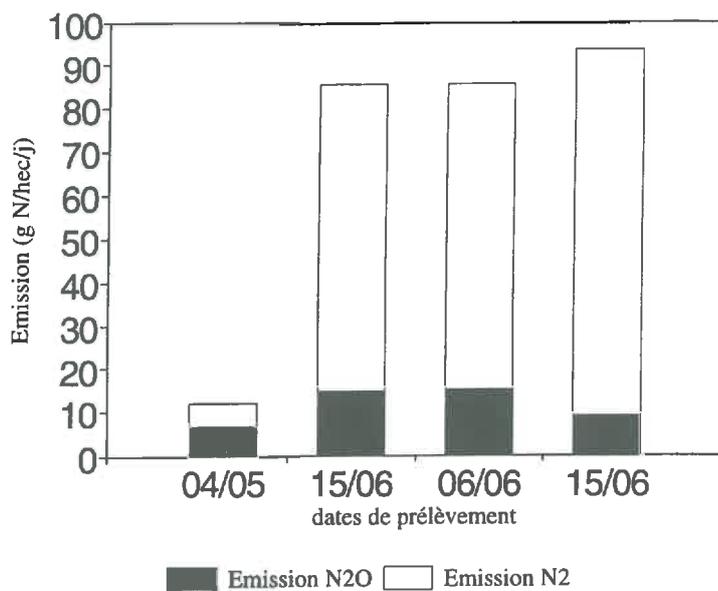


Figure n°19 : Emission de N2O et N2

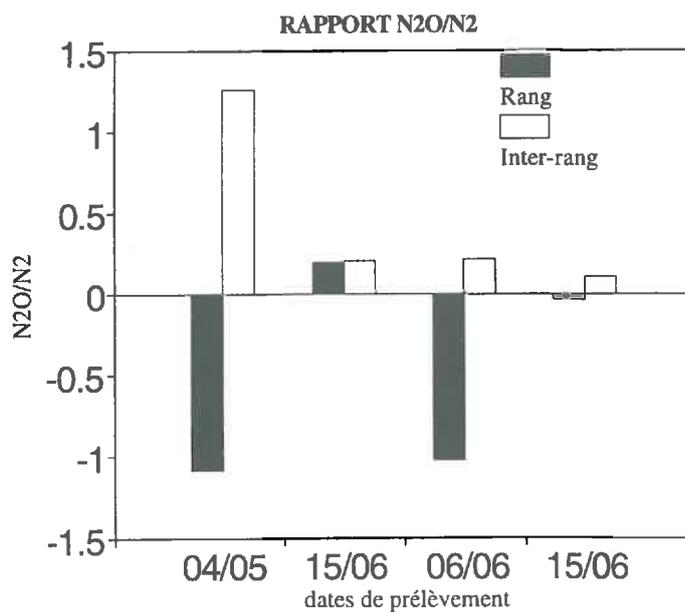


Figure n°20 : Rapport N2O/N2

DATES	RESULTATS	RANG	INTER-RANG
04/05/95	N ₂ O (gN/hect/j)	-1.35	6.81
	N ₂ (gN/hect/j)	1.25	5.42
	N ₂ O/N ₂	-1.08	1.25
15/06/95	N ₂ O (gN/hect/j)	1.39	14.75
	N ₂ (gN/hect/j)	7.06	70.75
	N ₂ O/N ₂	0.19	0.21
06/06/95	N ₂ O (gN/hect/j)	60.11	15.24
	N ₂ (gN/hect/j)	-58.732	70.11
	N ₂ O/N ₂	-1.023	0.22
15/06/95	N ₂ O (gN/hect/j)	-0.89	8.99
	N ₂ (gN/hect/j)	23.71	84.25
	N ₂ O/N ₂	-0.04	0.11

Tableau 20 : Résultats expérimentaux des émissions de N₂O et de N₂ et du rapport N₂O/N₂

En résumé, la dénitrification et les émissions de N₂O nous semblent faibles dans ce sol. Le modèle doit nous aider à mieux comprendre les raisons de ces observations.

II- RESULTATS ISSUS DE SIMULATIONS NUMERIQUES BASEES SUR LE MODELE

Dans cette partie, nous avons utilisé les estimations des paramètres d'entrée définis pour le modèle présenté dans le chapitre II pour simuler le fonctionnement global de notre sol (Tableau24). Certaines de ces estimations sont issues de la bibliographie (solubilités par exemple). D'autres sont issues des mesures que nous avons effectuées au cours de notre stage (morphologie du sol, diffusion de l'O₂ et respiration microbienne). Enfin, certains paramètres n'ont pas pu être estimés correctement et nous avons été amenés à faire des choix arbitraires en nous basant, dans la mesure du possible, sur des indications de la bibliographie (paramètres associés à la dénitrification et, surtout, à la réduction du N₂O en N₂).

Ce travail nécessitait de nombreuses simulations dans des milieux tri-dimensionnels de tailles variées et pour différentes conditions. La durée très importante de chaque simulation numérique réalisée sur une station de travail SUN (SPARC 10 - bi-processeur) ne nous a pas permis d'achever l'ensemble du travail prévu. Nous présentons donc des résultats partiels en en dégageant, dès maintenant, les aspects convergents et divergents avec les données expérimentales. Par ailleurs, nous rappelons que la dénitrification maximale a été mal estimée pour ces simulations en raison d'une erreur dans une conversion d'unités.

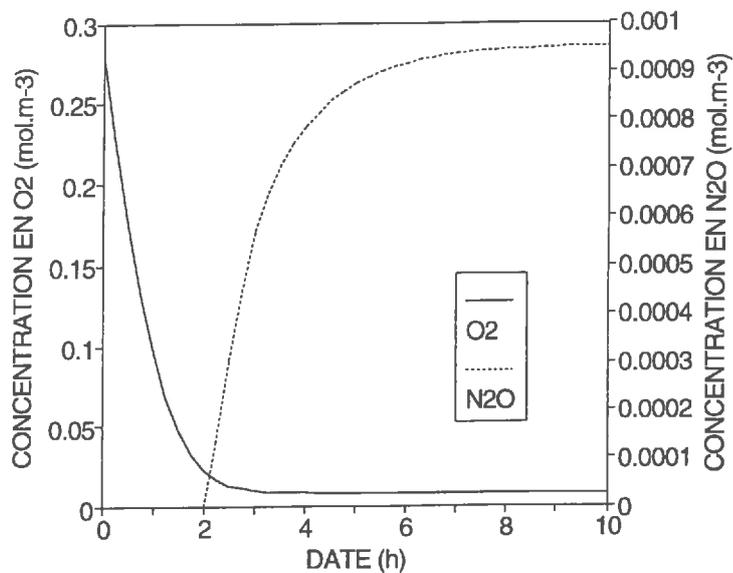


Figure n°21.a : Evolution des [N2O] ET [O2] au centre d'un agrégat de 5mm dans le rang à 59% de taux de saturation

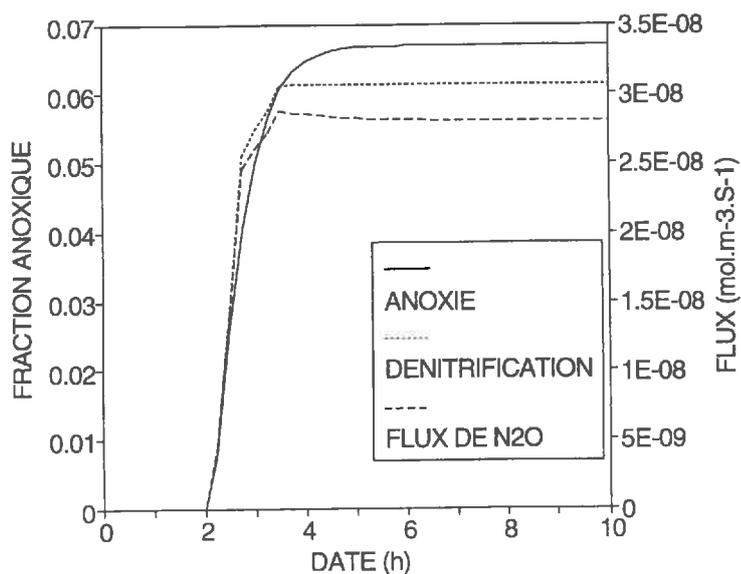


Figure n°21.b : Evolution des fractions anoxiques, la dénitrification et les flux de N2O au centre d'un agrégat de 5mm dans le rang à 59% de saturation

II-1- DUREE DU REGIME TRANSITOIRE

Nous avons analysé l'évolution dans le temps des différentes variables qui nous intéressent (concentrations et fonctionnements microbiens). Quelques résultats sont présentés dans les Figures 21.a et 21.b pour l'agrégat de 5 mm de côté et pour un taux de saturation global dans le rang égal à 0%. Les résultats nous montrent que les concentrations évoluent de manière significative pendant 5 à 6 heures au centre de cet agrégat. L'anoxie, la dénitrification globale et les émissions de N_2O se stabilisent pendant une durée légèrement plus faible.

Ces résultats ne sont pas forcément généralisables à d'autres conditions. Néanmoins, nous pensons que, pour notre sol, les ordres de grandeurs doivent rester les mêmes. Cette durée nous semblant petite, nous avons privilégié dans la suite de ce travail les fonctionnements à l'équilibre obtenus pour toutes les simulations après 10 heures.

II-2- INFLUENCE DU TAUX DE SATURATION SUR L'ANOXIE, LA DENITRIFICATION ET LES EMISSIONS DE N_2O

Dans l'état actuel de ce travail, nous ne disposons que de résultats partiels pour des agrégats ayant 5 mm et 1 cm de côté.

L'anoxie débute à un taux de saturation global du sol dépendant de la taille de l'agrégat (Figure 22.a et 22.b). Il serait d'environ 60% pour l'agrégat de 5 mm de côté. Logiquement, il semble diminuer avec l'accroissement de la taille de l'agrégat. La dénitrification semble, dans nos simulations, directement proportionnelle à la fraction anoxique du sol. Cette relation est liée à l'aspect non limitant des concentrations en NO_3^- dans nos simulations, et peut être à la sous-estimation de la dénitrification maximale ($4 \cdot 10^{-7}$ au lieu de 10^{-5}). La fraction des produits terminaux de la dénitrification émise sous forme de N_2O diminue avec l'accroissement de la saturation du sol. Cette réduction est directement liée à l'accroissement de la fraction anoxique du sol augmentant la probabilité de réduction de N_2O avant qu'il puisse atteindre les régions aérées de l'agrégat et l'air ambiant. L'accroissement de la taille de l'agrégat diminue aussi le rapport $N_2O/(N_2O+N_2)$ car la taille de l'agrégat est elle même directement corrélée à sa fraction anoxique. Nos pensons que l'erreur engendrée sur la dénitrification maximale ne remet pas en cause ce rapport (la réduction maximale de N_2O en N_2 étant supposée égale à la dénitrification maximale).

Comparées à nos données expérimentales obtenues sur colonnes, deux points essentiels se dégagent de nos simulations :

- le rapport $N_2O/(N_2O+N_2)$ simulé est du même ordre de grandeur que les valeurs obtenues sur colonnes dans l'inter-rang. Ce résultat doit être confirmé par l'ajout des résultats des autres simulations en cours, nous permettant ainsi de faire une intégration en tenant compte de la granulométrie de mottes de notre sol. Néanmoins, quelque soit le résultat définitif, il sera à prendre avec beaucoup de réserves tant qu'une bonne étude de sensibilité ne nous aura pas permis de cerner l'influence des différents paramètres du modèle, en

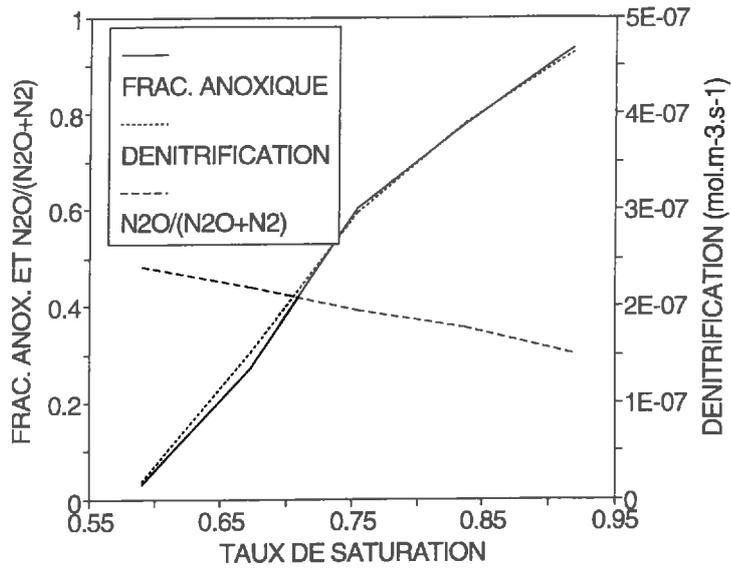


Figure n°22.a : Influence du taux de saturation sur la fraction anoxique et la dénitrification globale dans le rang pour un ensemble d'agrégats de 5mm

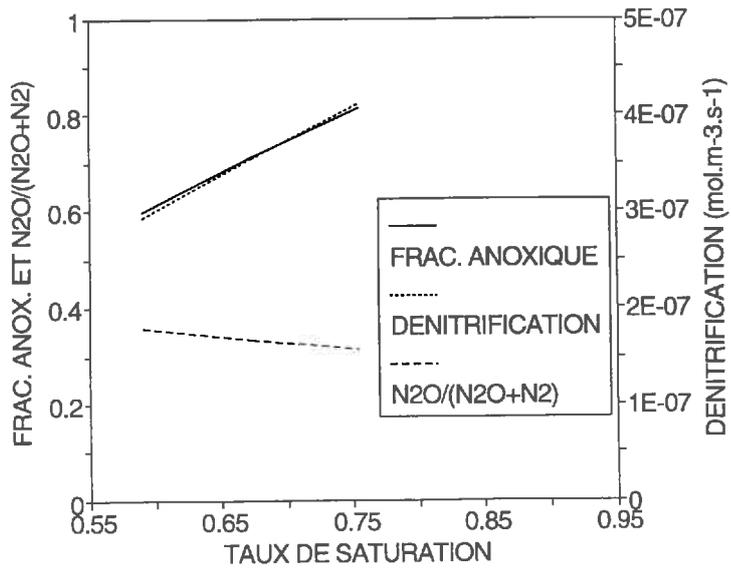


Figure n°22.b : Influence du taux de saturation sur la fraction anoxique et la dénitrification globale dans le rang pour un ensemble d'agrégats de 10mm

particulier des paramètres les plus mal estimés (paramètres relatifs à la dénitrification et à la réduction de N_2O en N_2) ;

- les ordres de grandeur de la dénitrification obtenus par simulation semblent supérieurs aux ordres de grandeurs réellement mesurés. Ils le seraient bien plus encore avec une dénitrification maximale de $10^{-5} \text{ mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$. Ainsi, la valeur de $3 \cdot 10^{-7} \text{ mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$ obtenue dans les simulations correspond-t'elle à une dénitrification globale d'environ $1 \text{ kg N.ha}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour une épaisseur de sol de 30 cm. Cette différence essentielle peut s'expliquer soit par la mauvaise estimation des paramètres biologiques relatifs à la dénitrification, soit par une définition pas suffisamment précise des images nous ayant permis de faire nos granulométries de mottes. En effet, la digitalisation des images que nous avons obtenues n'est pas forcément suffisante pour faire apparaître de petits pores inter-mottes. En ce sens, elle pourrait biaiser leur distribution granulométrique en la surévaluant.

II-3- COMPARAISON DES SIMULATIONS SUR RANG ET SUR INTER-RANG

Nous avons comparé les résultats des simulations pour des mottes de 1 cm de côté placées dans le rang et pour des mottes dimension placées dans l'inter-rang. A même taux de saturation de l'espace poral inter-mottes, les résultats sont très similaires car ils correspondent à des surfaces bloquées presque identiques. En fait, les résultats finaux se différencient quand même car à des taux de saturation de l'espace poral inter-mottes identiques correspondent des taux de saturation globaux du sol différents. Ainsi, nous obtenons les taux de dénitrification et les rapports $N_2O/(N_2O+N_2)$ présentés dans les Figures 23.a et 23.b. De manière plus générale, ces écarts sont à mettre en relation avec des différences de porosité structurale et avec des différences de relation entre taux de saturation de l'espace poral structural et surfaces des agrégats couvertes par de l'eau. Par ailleurs, nous présentons des résultats pour des mottes d'une taille fixée. Rangs et inter-rangs se différencient aussi par leur distribution de tailles de mottes.

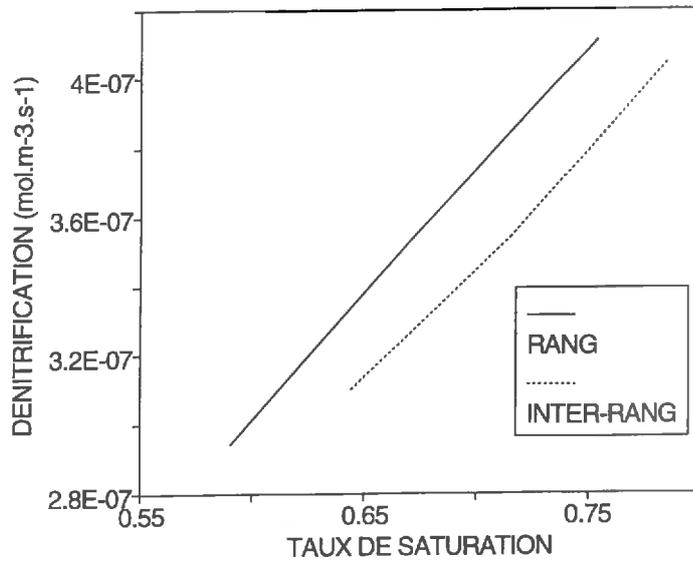


Figure n°23.a : Comparaison de la dénitrification globale dans le rang et l'inter-rang pour un ensemble d'agrégats de 5mm

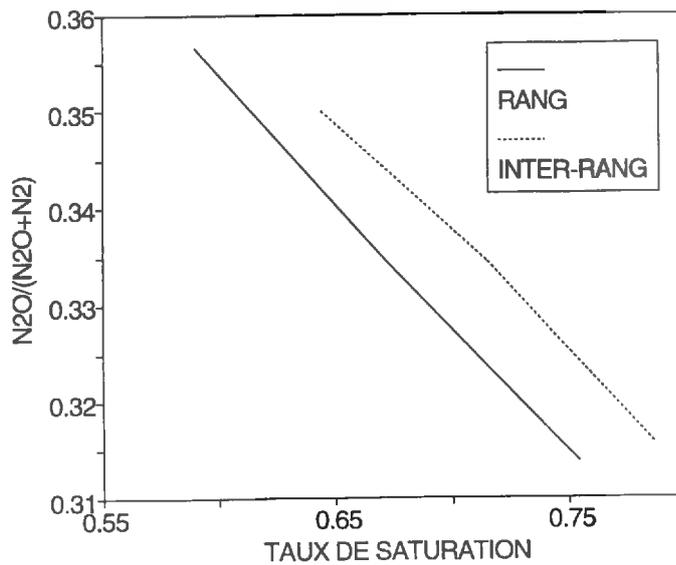


Figure n°23.b : Comparaison du rapport N₂O/(N₂O+N₂) dans le rang et l'inter-rang pour un ensemble d'agrégats de 5mm

CONCLUSION

Dans ce travail, nous devions paramétriser et tester un modèle mécaniste décrivant l'anoxie, la dénitrification et les émissions naturelles de N_2O dans un sol cultivé en salade dans le sud-est de la France. Il n'a pas été totalement achevé pour des raisons de temps.

Au regard des densités apparentes de sol et de données issues d'analyses d'image, nous avons montré que la structure du sol variait fortement entre rangs et inter-rangs par les porosités et, surtout, par les distributions de tailles de mottes. Les paramètres physiques et biologiques de notre sol ont été estimés expérimentalement. Les coefficients de diffusion des agrégats sont relativement faibles par rapport aux données disponibles en milieux saturés. Les respirations correspondent à des valeurs moyennes par rapport aux données de la littérature. La paramétrisation de la dénitrification n'a pas été facile en raison de mauvaises relations entre NO_3^- et dénitrification. La constante de Michaelis a été choisie arbitrairement au vu des données de la bibliographie. Aucun des paramètres décrivant la réduction de N_2O en N_2 n'a été directement obtenu au cours de ce travail. Leurs estimations sont basées sur des considérations bibliographiques. Les données de dénitrification et d'émissions de N_2O sur colonnes de sol montrent une dénitrification globale très faible et un rapport $N_2O/(N_2O+N_2)$ très inférieur à 1.

L'utilisation du modèle est incomplète actuellement. Elle nous permet de retrouver approximativement les valeurs du rapport $N_2O/(N_2O+N_2)$ mais les ordres de grandeur de la dénitrification restent élevés par rapport aux données obtenues sur colonnes. Il faut néanmoins moduler ces conclusions en sachant que les simulations ont été faites avec des teneurs en eau et des concentrations en NO_3^- moyennes.

Il nous semble important de poursuivre ce travail en insistant sur les points suivants :

- la réalisation d'études de sensibilité très complètes sur le modèle. De telles études nous permettraient de mieux cerner l'influence des divers paramètres et les besoins de précision quant à leur obtention expérimentale ;
- la réalisation d'études préalables en analyse d'image. Il semble en effet très facile de cacher toute une famille de pores au cours des phases de digitalisation et/ou de seuillage changeant totalement la distribution de taille des mottes et ses conséquences sur le degré d'anoxie du sol ;
- la distribution des substrats dans le sol, plus particulièrement pour NO_3^- ;
- la distribution spatiale des fonctionnements microbiens.

Types d'entrée	Notations	Données	Unités	Obtentions
Caractérisation du sol	L	Paramètre variable	m	Analyse d'image
	τ	Paramètre variable	m	Analyse d'image
	ϵ_{agr}	0.2950	-	expérimentale
Les transferts dans le sol	$D_{O_2*SO_2}$	1.7 10-10	$m^2.s^{-1}$	expérimentale + bibliographie
	$D_{NO_3*SO_2}$	1.30 10-10	$m^2.s^{-1}$	expérimentale + bibliographie
	$D_{N_2O*SO_2}$	1.7 10-10	$m^2.s^{-1}$	expérimentale + bibliographie
Les paramètres biologiques	R_{O_2max}	1.90 10-5	$mole.m^{-3}.s^{-1}$	expérimentale
	K_{mO_2}	2 10-2	$mole.s^{-1}$	expérimentale
	K_iCO_2	0	$mole.s^{-1}$	expérimentale
Concentrations initiales	R_{NO_3max}	5 10-7	$mole.m^{-3}.s^{-1}$	expérimentale
	K_{mNO_3}	8 10-3	$mole.s^{-1}$	expérimentale
	R_{N_2Omax}	5 10-7	$mole.m^{-3}.s^{-1}$	expérimentale et bibliographie
	K_{mN_2O}	8 10-3	$mole.s^{-1}$	expérimentale et bibliographie
	K_{iNO_3}	1	$mole.s^{-1}$	expérimentale et bibliographie
	$[O_2]_{t=0}$	0.2800	$mole.m^{-3}$	expérimentale
	$[N_2O]_{t=0}$	0.0000	$mole.m^{-3}$	expérimentale

Tableau 24 : Données d'entrées du modèle

LISTES DES ABREVIATIONS

$[O_2]$	Concentration en O_2	$(mole.m^{-3})$
$[CO_2]$	Concentration en CO_2	$(mole.m^{-3})$
$[N_2O]$	Concentration en N_2O	$(mole.m^{-3})$
$[NO_3^-]$	Concentration en NO_3^-	$(mole.m^{-3})$
$[O_2]_{air}$	Concentration en O_2 dans l'air	$(mole.m^{-3})$
$[N_2O]_{air}$	Concentration en N_2O dans l'air	$(mole.m^{-3})$
$[O_2] _{t=0}$	Concentration initiale en O_2	$(mole.m^{-3})$
$[CO_2] _{t=0}$	Concentration en initiale CO_2	$(mole.m^{-3})$
$[N_2O] _{t=0}$	Concentration en initiale N_2O	$(mole.m^{-3})$
da	Densité apparente	
ds	Densité de solide	
dagr	Densité d'agrégat	
Dagr- O_2	Coefficient de diffusion de l' O_2	$m^2.s^{-1}$
Dafr- N_2O	Coefficient de diffusion de N_2O	$(m^2.s^{-1})$
Dagr- NO_3^-	Coefficient de diffusion de N_2O	$(m^2.s^{-1})$
Dagr-i	Coefficient de diffusion de l'espèce i dans un sol saturé	$(m^2.s^{-1})$
Dw-i	Coefficient de diffusion de l'espèce i dans l'eau	$(m^2.s^{-1})$
ϵ_{agr}	Porosité interne aux agrégats et aux mottes de sol	
ϵ_{truc}	Porosité structurale (inter-motte)	
ϵ_T	Porosité totale	
$f_v(l)$	Densité volumique	
$F_v(L)$	Fonction de distribution volumique	
ϕ_{O_2}	Flux d' O_2	$(mol.m^{-2}.s^{-1})$
ϕ_{N_2O}	Flux de N_2O	$(mol.m^{-2}.s^{-1})$
$\phi_{NO_3^-}$	Flux de NO_3^-	$(mol.m^{-2}.s^{-1})$
$KiCO_2$	Constante de Michaelis d'inhibition du CO_2 sur la respiration	$(mol.m^{-3})$
$KiNO_3^-$	Constante de Michaelis d'inhibition des NO_3^- sur la dénitrification	$(mol.m^{-3})$
KmO_2	Constante de Michaelis de la respiration	$(mol.m^{-3})$
$KmNO_3^-$	Constante de Michaelis de la dénitrification	$(mol.m^{-3})$
KmN_2O	Constante de Michaelis de la réduction de N_2O	$(mol.m^{-3})$
l	Longuer de la motte	(m)
L	Longeur de la motte fixée	(m)
\vec{n}	Vecteur normal à la surface des cubes	
r	Rayon de la tâche circulaire bloquant une face du cube	(m)
RO_2	Respiration	$(mol.m^{-3}.s^{-1})$
$RmaxO_2$	Respiration maximale	$(mol.m^{-3}.s^{-1})$
RNO_3^-	Dénitrification	$(mol.m^{-3}.s^{-1})$
$RmaxNO_3^-$	Dénitrification maximale	$(mol.m^{-3}.s^{-1})$
RN_2O	Taux de réduction du N_2O en N_2	$(mol.m^{-3}.s^{-1})$
$RmaxN_2O$	Taux de réduction maximale	$(mol.m^{-3}.s^{-1})$

Sc	du N ₂ O en N ₂ Surface de contact entre agrégats	(m ²)
St	Surface totale externe	(m ²)
Sw	Surface externe des mottes recouverte par de l'eau	(m ²)
SO ₂	Solubilité de l'O ₂	(m ³ .m ⁻³)
SN ₂ O	Solubilité de N ₂ O	(m ³ .m ⁻³)
SNO ₃ -	Solubilité des NO ₃ -	(m ³ .m ⁻³)
Vt	Volume total de mottes pour un volume de sol donné	(m ²)

Les références bibliographiques

- ARAH J.R.M. 1988. Modelling denitrification in an aggregated and structureless soils.p 433-444. En D.S. Jenkinson et K.A.Smith (Ed). Nitrogene efficiency in agricultural soils. Elsevier Applied Science, London.
- ARAH J.R.M ,SMITH K.A. 1989. Steady-state denitrification in aggregated soils : a mathematical model. J. Soil. Sci. 40 : 139-149.
- BAKKEN L.R., BØRRESEN T., NJØS A. 1987. Effect of soil compaction by tractor traffic on soil structure, denitrification, and yield of wheat (*Triticum aestivum*). J. Soil. Sci. 38 : 541-552.
- BECKER K.-W., HÖPER., MEYER B.1990. Rates of denitrification under field conditions as indicated by the acetylene inhibition technique : A critical review. Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft. 60 : 25-30.
- BETLACH M.R., TIEDJE J.M. 1981. Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide during bacterial denitrification. Appl.Env.Micr. 42 : 1074-1084.
- COSTER M., CHERMAN J.L. 1989. Précis d'analyse d'images. Presses du C.N.R.S.p1-138.
- COULOMB I. 1991. Analyse quantitative du comportement du sol au labour : rôle et état structural initial. Thèse de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon. Annexes : 7-17.
- CURRIE J.A. 1961. Gaseous diffusion in the aeration of diffusivity models for unsaturated porous media. Soil Sci. 92 : 40-45.
- CHRISTENSEN S , CHRISTENSEN B.T , 1991. Oganic matter available for denitrification in different soil fractions : effect of freeze/thaw cycles and straw disposal. J of Soil.Sc. 42 : 637-647.
- ELLIOT J.A., DEJONG E. 1993. A boundary-line approach. Soil Sci. Soc. Am. J. 57 : 82-87.
- FIRESTONE M.K., SMITH M.S., FIRESTONE R.B., TIEDJE J.M. 1979. The influence of nitrate, and oxygen of the gaseous products of denitrification in soil. Soil Sci. Soc. Am. J. 43 : 1140-1144.
- FOCHT D.D. 1974. The effect of temperature, pH and aeration of the production of N₂O and gaseous nitrogen-a zero order kinetic model. Soil Sci. 18 : 173-179.
- FRENEY J.R., DENMEAD O.T., SIMPSON J.R. 1978. Soil as a ,source or sink for atmospherique Nitrous Oxide. Nature. 273 : 530-532.
- GASKELL J.F., BLACKMER A.M., BREMNER J.M. 1981. Comparaison of effects of nitrate, nitrite and nitric oxide on reduction of nitrous oxide to dinitrogene by soil microorganisms. Soil Sci. Soc. Am. J. 45 : 1124-1127.
- GERMON J.C., HENAULT C. 1994. Quantifier la dénitrification et la production naturelle de N₂O dans les sols; Synthèse bibliographique; p.1-37.
- GRANLI T., BØCKMAN O.C. 1994. Nitrous oxide from agriculture. Norwegian Journal of Agricultural Sciences. supplement. 12 : 7-128.
- GRANT R.F. 1991. A technique for estimating denitrification rates at different soil temperatures, water contents, and nitrate concentrations. Soil Sci. 152 : 41-51.
- GREENWOOD D.S, BERRY G. 1962 : Aerobic respiration in soil crumbs. Nature. 195 : 161-163.
- GROFFMAN P.M., TIEDJE J.M. 1988. Denitrification hysteresis during wetting and cycles in soil. Soil Sci.Soc. Am. J. 52 : 1626-1629.
- GRUNDMANN G.L , ROLSTON D.E ,1987. A water function approximation to degree of anaerobiosis associated with denitification gaz fluxes.Soil Sci.Soc.Am.J. 52 : 1351-1355.
- HENAULT C. 1993. Quantification de la dénitrification dans les sols à l'échelle de la parcelle cultivée, à l'aide d'un modèle prévisionnel. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard Lyon I, p 108.

- HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS, 1988-1989. 69TH Ed. Robert C. Weast, Ph.D. CRC Press.
- HIMMELBLAU D.H. 1964. Diffusion of dissolved gases in liquids. *Chem. Rev.* 64 : 527-550.
- JAMBERT C. 1995. Emissions de composés gazeux dans l'atmosphère par les agrosystèmes fertilisés : maïsiculture dans les landes de Gascogne. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier, p 1-38.
- JOUZEIN M. 1985. Etude sur la diffusion de solutés dans des milieux poreux non saturés. DAA "milieu physique". : 24
- KHALIL M.A.K., RASMUSSEN R.A. 1992. The global sources of nitrous oxide. *J. of Geophys. Res.* 97 : 651-660.
- KHDYER I.I., CHO C.M. 1983. Nitrification and denitrification of dinitrogen fertilizers in a soil column. *Soil Sci. Am. J.* 47 : 1134-1139.
- KLEMEDTSSON L., SVENSSON B.H., LINDBERG T., ROSSWALL T., 1977. The use of acetylene inhibition of nitrous oxide reductase in quantifying denitrification in soils. *Swedish J. agr. Res.* 7 : 179-185.
- KNOWLES R. 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46 : 43-70.
- KOHL D.H., VITHAYATHIL F., WHITLOW P., SHEARER G.; CHIEN S.H. 1976. Denitrification kinetics in soil systems : The significance of good fits of data to mathematical forms. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40 : 249-253.
- KOSKINEN W.C., KEENEY. 1982. Effect of pH on the rate of gaseous products of denitrification in a silt loam soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46 : 1165-1167.
- LALISSE-GRUNDMAN G., CHALAMET A. 1987. Diffusion de C₂H₂ et de N₂O dans le sol en vue de la mesure de la dénitrification. *Agronomie.* 7 : 297-301.
- LEFFELAAR P.A. 1979. Simulation of partial anaerobiosis in a model soil in respect to denitrification; *Soil Science* 128 : 110-120.
- LEFFELAAR P.A. 1986-a. Dynamics of partial anaerobiosis, denitrification, and water in soil aggregate : experimental. *Soil Science* 142 : 352-366.
- LEFFELAAR P.A. 1986-b. Dynamics of partial anaerobiosis, denitrification, and water in soil aggregate : simulation. *Soil Science* 142 : 427-444.
- LEFFELAAR P.A. 1987. Dynamic simulation of multinary diffusion problems related to soil. *Soil Science* 143 : 43-55.
- LEFFELAAR P.A., WESSEL W.W. 1988. Denitrification in a homogeneous, closed system : experiment and simulation; *Soil Science* 146 : 335-349.
- LETEY J., VALORAS N., HADAS A., FOCHT D.D. 1980. Effect of air-filled porosity, nitrate concentration, and time on the ratio of N₂O/N₂ evolution during denitrification.
- MARIOTTI A. 1982. Apports de la géochimie isotopique à la connaissance du cycle de l'azote. Thèse, Paris 6. p 476.
- MACFADYEN A. 1973. Inhibitory effects of carbon dioxide on microbial activity in soil. *Pedobiologia* 13 : 140-149.
- Mc CONNAUGHEY P.K., BOULDIN D.R. 1985. : Transient microsite models of denitrification : I Model Development. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49 : 886-891.
- MOSIER A.R, GUENZI W.D., SCHWEIZER E.E. 1986. Field denitrification estimation by nitrogen-15 and acetylene inhibition techniques. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50 : 831-833.
- MYROLD D., TIEDJE J.M. 1985. Diffusional constraints on denitrification in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49 : 651-657.
- PARKIN T.B. 1987. Soil microsites as a source of denitrification variability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51 : 1194-1199.
- PARKIN T.B., STARR J.L., MEISINGER J.J. 1984. Influence of sample size on measurement of soil denitrification. *Soil Sci. Am. J.* 51 : 1492-1501.
- PARKIN T.B., KASPAR H.F., SEXTONE A.J., TIEDJE J.M. 1987. A gas flow soil core method to measure field denitrification rates. *Soil Biol. Biochem.* 16 : 323-330.

- PARSONS L.L., MURRAY R.E., SMITH M.S. 1991. Soil denitrification dynamics : Spatial and temporal variations of enzyme activity, populations, and nitrogen gas loss. *Soil Sci.Soc.Am.J.* 55 : 90-95.
- PAUL J.W.,BEAUCHAMPS E.G. 1988. Effect of carbon constituents in manure on denitrification in soil. *Can.J.Soil.Sci.* 69 : 49-51.
- PELMONT J. 1993. Bactéries et environnement. Collection Grenoble Sciences. 575-632.
- REDDY K.R., RAO P.S.C., JESSUP R.E. 1981. The effect of carbon mineralization on denitrification kinetic in mineral and organic soils. *Soil Sci.Am.J.* 46 : 62-68.
- RENAULT P., STENGEL P. 1994. Modelling O₂ diffusion in aggregated Soils : I. Anaerobiosis inside the agregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58 : 1017-1023.
- RENAULT P., SIERRA J. 1994. Modelling O₂ diffusion in aggregated Soils : II. Anaerobiosis in Topsoil layers. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58 : 1023-1030.
- ROLSTON D.E , HOFFMAN D.L. ; TOY D.W. 1978. Field measurement of denitrification.I Flux of N₂ and N₂O. *Soil Sci.Am.J.* 40 : 259-266.
- ROLSTON D.E., RAO P.S.C., DAVIDSON J.M., JESSUP R.E. 1984. Simulation of denitrification losses of nitrate fertilizer applied to uncropped, cropped, and manuremended fields plots. *Soil Sci.* 137 : 270-279.
- RYDEN J.C , LUND L.J., FOCHT D.D.1979. Direct measurement of denitrification loss from soils : I.Laboratory evaluation of acetylene inhibition of N₂O reduction. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43 : 104-117.
- RYDEN J.C , SKINER J.H.,NIXON D.J. 1987. Soil core incubation systeme for the measurement of denitrification using acetylene-inhibition. *Soil Biol. Biochem.* 19 : 753-757.
- RYDEN J.C , 1981. N₂O exchange between a grassland soil and the atmosphere. *Nature.* 292 : 235-237.
- SAHRAWAT K.L , KEENEY D.R , 1986. Nitrous oxide emission from soils. Departement of Soil.Sc ; Univ.of Wisconsin-Madison-WI53706 USA. : 104-148.
- SCOTT SMITH M , TIEDJE J.M , 1979. The effect of roots soil denitrification. *Soil Sci.Soc.Am.J.* 43 : 951-955.
- SCOTT SMITH M , ZIMMERMAN K. 1981. Nitrous oxide production by non denitrifying Soil Nitrate Reducers. *Soil Sci. Soc.Am.J.* 45 : 865-871.
- SEXSTONE A.J.,REVSBECH N.P., PARKIN T.B., TIEDJE J.M. 1985. Direct measurement of O₂ profiles and denitrification rates in soil aggregates; *Soil Sci. Soc. Am. J* 49 : 645-651.
- SIEGEL R.S , HAUCK R.D , KURTZ L.T , 1982. Determination of ³⁰N₂ and application to measurement of N₂ evolution during denitrification. *Soil Sci.Am.J.* 46 : 68-74.
- SIERRA J. 1994. Etude de l'anoxie dans des sols à structure agrégée en relation avec la respiration microbienne. Thèse Doctorat, Université Claude Bernard Lyon I, p 234.
- SIERRA J., RENAULT P. 1995. Oxygene consumption by soil microorganisms as affected by O₂ and CO₂ levels. *Applied Soil Ecology* (sous presse).
- SMITH K.A. 1980. A model of the extent of anaerobic zones on aggregated soils, and its potential application to estimates of denitrification. *J. Soil. Sci.* 31 : 263-277.
- SMITH K.A. 1990. Anaerobic zones and denitrification in soils : modelling and measurement, 229-244. En : N.P. Revsbech et J.Sorensen (Ed.). *Denitrification in soil and sediment.* Plenum Press, New-York.
- SMITH K.A., ARAH J.R.M. , 1990. Losses of nitrogen by denitrification and emissions of nitrogen oxides from soils. Greehill house. Thorpe wood. Peterborough. PE3ggf. The fertiliser Society in London. 27p.
- STANDFORD G., DZIENA S., VANDERPOL R.A. 1975. Effect of temperature on denitrification rate in soil. *Soil Sci. Amer. Proc.* 39 : 867-870.

- STENGEL P. 1976. Incidence de la simplification du travail du sol sur la porosité de la couche arable. I.T.C.F. PARIS 5FRA°. 134-149.
- STENGEL P, 1990. Caractérisation de l'état structural du sol. Objectifs et méthodes. La structure du sol et son évolution, Laon (France) , 9 janvier 1990. Ed. INRA, PARIS 1990 (Les colloques de l'INRA, n°53).
- TERRY R.E , TATE R.L.III, 1980. The effect of nitrate on nitrous oxide reduction on organic soils and sediments. Soil Sci.Am.J. 144 : 744-746.
- TERRY R.E , TATE R.L.III , DUXBURY J.M. 1981 : The effect of flooding on N₂O emission from an organic soil. Soil.Science. : 132 : 228-232.
- TIEDJE J.M. 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate réduction to ammonium, 179-244. En : A.J.B. Zehnder (Ed) Biology of an aerobic microorganisms. J. Wiley & Sons, New-York.
- TIEDJE J.M., SIMKINS S., GROFFMAN P.M. 1989. Perspectives on measurement of denitrification in the field including recommended protocols for acetylene based methods. Plant and Soil. 115 : 261-284.
- VAN BAVEL C.H.M; 1951. A soil aeration theory based on diffusion. Soil Sci. 72 : 33-46.
- WEIER K.L , DORAN j.w , POWER J.F , WALTER D.T, 1993. Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon, and nitrate. Soil Sci.Soc.Am.J.57 : 66-72.
- YEOMAS J.C., BEAUCHAMPS E.G. 1982. Sulfur in acetylene inhibition of N₂O reduction by microorganisms. Soil Sci. Soc. Am. J. 46 : 75-77.