

**ÉCOLE DOCTORALE ÉNERGIE, MATÉRIAUX, SCIENCES
DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

INRA, UR Science du Sol

THÈSE présentée par :

Eva RABOT

soutenue le : **30 octobre 2014**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline/S spécialité : **Science du Sol**

**Le contrôle des émissions de protoxyde d'azote par le
fonctionnement hydrique des sols**

THÈSE dirigée par :

Isabelle COUSIN
Catherine HÉNAULT

Directrice de recherche, INRA Science du Sol, Orléans
Directrice de recherche, INRA Science du Sol, Orléans

RAPPORTEURS :

Philippe BAVEYE
François LAFOLIE

Professeur, AgroParisTech
Chargé de recherche, INRA EMMAH, Avignon

JURY :

Philippe BAVEYE
Ary BRUAND
Isabelle COUSIN
Catherine HÉNAULT
François LAFOLIE
Patricia LAVILLE
Frédéric OTT
Matthieu VALÉ

Professeur, AgroParisTech
Professeur, Université d'Orléans, Président du jury
Directrice de recherche, INRA Science du Sol, Orléans
Directrice de recherche, INRA Science du Sol, Orléans
Chargé de recherche, INRA EMMAH, Avignon
Ingénieure de recherche, INRA EGC, Thiverval-Grignon
Ingénieur de recherche, CEA, Saclay
Ingénieur R&D, SAS Laboratoire

Remerciements

Trois ans de thèse, c'est l'occasion de rencontrer pas mal de monde. Certains m'ont aidé dans le travail, d'autres ont tout simplement été là. J'adresse ici une série de grands mercis :

A mes directrices de thèse, Isabelle Cousin et Catherine Hénault. Isabelle, toujours soucieuse du bon déroulement de la thèse, tes compétences, ton regard critique et ton humanité ont largement contribué à la réussite de ce travail. Discuter science avec toi est toujours un plaisir et je te dois quantité de précieux conseils. Catherine, merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir donné cette entière liberté tout au long de la thèse.

A Philippe Baveye et François Lafolie pour avoir accepté de rapporter cette thèse et à Ary Bruand, Patricia Laville, Frédéric Ott et Matthieu Valé pour avoir accepté de faire partie du jury.

Aux membres de mon comité de pilotage, Yves Coquet, Pierre Levitz et Olivier Mathieu. Nos riches échanges ont permis de valider les orientations à prendre et de faire émerger des idées nouvelles.

A l'équipe CIRE de l'INRA de Tours, Hans Adriaensen, François Lecompte et Dominique Girardeau, pour l'ambiance de travail agréable que vous savez créer, pour le temps passé à optimiser les méthodes d'acquisition et l'intérêt que vous avez porté à cet objet peu classique qu'est pour vous le sol.

A Stéphane Sammartino, spécialiste du traitement d'image. Je te remercie pour tout ton investissement. Grâce à ces précieux conseils, tu m'as permis de devenir autonome dans le traitement d'image.

A l'équipe VSoil. Pour les formations, toujours agréables, sur la plateforme.

Aux trois personnes qui m'ont mis en tête de poursuivre en thèse : Sébastien Salvador-Blanes, Catherine Keller et Samuel Robert. Chacun à votre façon, vous m'avez permis de prendre confiance dans mon travail. Le fait est là, sans vous, je n'aurais sans doute jamais osé franchir le pas. Et aujourd'hui, je ne regrette rien.

A l'ensemble des ingénieurs et techniciens de l'unité, qui m'ont épaulée dans les manip et les prélèvements de terrain : Adeline Ayzac, Christian Le Lay, Guillaume Giot, Laëtitia Gouny, Lionel Cottenot, Olivier Josière et Pierre Courtemanche. Mention spéciale à Guillaume et Pierre, mes collaborateurs du quotidien, pour leur professionnalisme, mais surtout pour les bons moments passés. Je remercie également Marine Lacoste, avec qui j'ai planché sur la tomographie par rayons-X. Travailler avec toi, c'était à la fois agréable et efficace.

A mes collègues de bureau successifs, David, Florian et Jordan, mais aussi à Maud, juste à côté. Chacun dans un genre différent, vous avez participé à construire une bonne ambiance. Nos discussions n'auront sans doute ni changé le monde, ni changé la science, mais elles auront eu le mérite de nous changer les idées.

A l'ensemble du personnel permanent et temporaire de Science du Sol et d'Infosol.

A mes tourangeaux (p'tit Julien, grand Julien, Guillaume, Lauriane, Amandine, Mickaël), mes orléanais (Nico, Nico, Fouf, Choubi, Lydzzie, Damien, Mathieu, Balou, Caro, Max, Marie) et mes aixois (Etienne, Alice, Rémi, Lise, Nico, Julie, Camille, Fabienne, Les Taupinous, Lucie, Mélanie, VDB). J'ai passé pas mal de temps en votre compagnie, parfois même des vacances, de quoi oublier un peu les difficultés de la thèse.

A ma famille, qui m'a toujours laissée libre de faire les études dont je rêvais. Je regrette seulement de n'avoir pu décrocher le grade de docteur à temps pour que mon père le voie. Et enfin, merci à Benjamin pour son soutien de tous les jours.

A mon père

Sommaire

Remerciements	ii
Sommaire	v
Chapitre 1 Synthèse bibliographique : La dynamique des émissions de N₂O et ses déterminismes	1
Chapitre 2 Compréhension du fonctionnement à l'échelle macroscopique : Effet de l'historique hydrique	24
Chapitre 3 Compréhension du fonctionnement à l'échelle macroscopique : Effet du fonctionnement hydrodynamique	43
Chapitre 4 Lien avec la géométrie du réseau poreux : Imagerie par rayons X	61
Chapitre 5 Formalisation du fonctionnement : Simulations numériques	76
Conclusion générale	94
Annexes	100
Références bibliographiques	108
Table des figures	126
Liste des tableaux	127
Table des matières	131

Chapitre 1

Synthèse bibliographique : La dynamique des émissions de N₂O et ses déterminismes

1.1 Introduction

Le protoxyde d'azote (N₂O) est reconnu pour son rôle dans le réchauffement climatique et dans la destruction de l'ozone stratosphérique (Ravishankara et al., 2009; World Meteorological Organization, 2007). Sa concentration atmosphérique est en augmentation depuis l'ère industrielle, en particulier depuis les années 1970, avec une augmentation de 0.2 à 0.3 % par an (Khalil et al., 2002a; Wuebbles, 2009). Son temps de résidence dans l'atmosphère est d'environ 120 ans et son pouvoir de réchauffement global est de l'ordre de 300 fois supérieur à celui du dioxyde de carbone (CO₂) (World Meteorological Organization, 2007), ce qui en fait le troisième gaz contributeur du réchauffement climatique, après le CO₂ et le méthane (CH₄) (Ciais et al., 2013). Depuis l'interdiction des CFC, c'est également le premier composé responsable de la destruction de l'ozone stratosphérique (Ravishankara et al., 2009). Les activités humaines influencent très fortement la production de N₂O par l'écosystème terrestre. Ce gaz est en effet formé lors de procédés industriels, comme ceux liés à la fabrication de fertilisants, la combustion, ou les processus naturels de nitrification et de dénitrification à partir de substrats azotés comme les fertilisants (Ciais et al., 2013). Les sols représentent une grande part des contributeurs à la production de N₂O. En effet, le dernier rapport du Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat (GIEC, 2013), estime que les sols sous végétation naturelle participent à 23 % des sources de N₂O, tandis que les sols agricoles participent à 37 % des sources de N₂O (Tableau 1.1). Ainsi, les sols et les activités agricoles qu'ils supportent, contribueraient à environ 2/3 des émissions globales de N₂O. Actuellement, les estimations des quantités de N₂O émises à l'échelle nationale par l'agriculture s'appuient sur les recommandations du GIEC. Ces estimations sont obtenues en multipliant les quantités d'azote appliquées sur les sols sous forme minérale ou organique par un facteur d'émission de N₂O. L'utilisation de cette méthodologie à l'échelle de la France conduirait à des estimations d'émissions de N₂O par le secteur agricole accompagnées d'incertitudes de l'ordre de 200 % (CITEPA, 2012).

Tableau 1.1 – Estimation de la contribution des différentes sources de N₂O (Ciais et al., 2013).

Sources	Bilan global	
	Tg N an ⁻¹	%
Sources anthropiques		
Utilisation de combustible fossile, procédés industriels	0.7	3.9
Agriculture	4.1	22.9
Combustion de biomasse et de biocarburants	0.7	3.9
Eaux usées	0.2	1.1
Rivières, estuaires, zones côtières	0.6	3.4
Dépôts atmosphériques terrestres	0.4	2.2
Dépôts atmosphériques océaniques	0.2	1.1
Puits de N ₂ O	-0.01	-0.1
Sources naturelles		
Sols sous végétation naturelle	6.6	36.9
Océans	3.8	21.2
Chimie atmosphérique	0.6	3.4
Total	11.0	100

Au regard des enjeux globaux du réchauffement climatique, il apparaît essentiel de disposer de données fiables sur les quantités de N₂O produites. Les besoins en données ont en effet plusieurs objectifs : l'établissement de bilans utilisables dans le cadre de projections sur le climat, l'évaluation de la distribution spatiale et temporelle des sources de N₂O ou la caractérisation de l'efficacité des méthodes d'atténuation. A travers cette synthèse bibliographique, on s'intéressera à l'ensemble des facteurs de contrôle des émissions de N₂O par les sols, en prenant en compte leur aspect dynamique, c'est-à-dire en considérant non seulement l'effet de paramètres du sol à un instant donné, mais aussi l'effet de la variation de ces paramètres en fonction du temps sur les émissions de N₂O. Un accent sera mis sur les expérimentations de laboratoire décrites dans la littérature, en utilisant principalement des références d'études en milieu contrôlé et en dégageant les méthodes les plus fréquemment utilisées. Elles seront présentées dans cette synthèse bibliographique sous forme d'encadrés. Enfin une discussion sera menée, et permettra de faire émerger une problématique spécifique, celle de la thèse, et la démarche envisagée pour l'aborder.

1.2 Le déterminisme des émissions

Démonstrées depuis la fin du XIX^{ème} siècle (Déhérain & Maquenne, 1882; Gayon & Dupetit, 1882), les émissions de N₂O par les sols sont depuis longtemps étudiées au laboratoire, en conditions contrôlées, afin d'identifier et de quantifier l'influence de différents facteurs du milieu sur leur intensité. Ces expérimentations sont réalisées sur des échantillons de sol de différentes tailles et issus de conditionnements divers (agrégats, mottes, cylindres de sols remaniés ou non, d'une dizaine de centimètres de haut à plusieurs décimètres, artificiellement enrichis en azote et/ou en carbone). Ils sont souvent amenés à une teneur en eau cible, voire soumis à des cycles de saturation/désaturation.

Ainsi, un pic de N_2O dès la réhumectation d'un sol sec par les premières pluies ou provoquée en conditions contrôlées est très souvent observé (Groffman & Tiedje, 1988; Harrison-Kirk et al., 2013; Sanchez-Martin et al., 2010; Sexstone et al., 1985). Ce phénomène, aussi observé pour le CO_2 , est connu sous le nom d'« effet Birch » (Birch, 1958). Le temps de réponse par rapport à l'instant de la réhumectation est de l'ordre de la minute ou de l'heure (Borken & Matzner, 2009) et peut durer de un à quatre jours (Fierer & Schimel, 2002). L'effet des cycles de saturation/désaturation est un sujet particulièrement traité dans le but de simuler des conditions hydriques naturelles, et d'envisager l'impact d'un éventuel changement des conditions climatiques sur les émissions de N_2O par les sols. Groffman & Tiedje (1988) observent des réponses d'émissions de N_2O hystérétiques selon qu'un sol sec est réhumecté ou qu'un sol humide est progressivement séché. Les émissions sont réduites lors de la dessiccation alors qu'un pic apparaît après la réhumectation. Guo et al. (2014) constatent par ailleurs que le pic de N_2O est d'autant plus élevé que la dessiccation est forte et que la réhumectation est forte. Un pic d'émissions de N_2O de moins en moins intense au cours de cycles de saturation/désaturation a pu être observé (Muhr et al., 2008). De façon plus générale à l'échelle de la minéralisation de C et de N lors de cycles de saturation/désaturation, la durée et l'intensité de la dessiccation et de la réhumectation semblent affecter les taux de minéralisation mais les résultats apparaissent parfois mitigés (Borken & Matzner, 2009). En effet, les cycles de saturation/désaturation n'ont pas le même effet sur l'activité et la taille de la biomasse bactérienne, par rapport à un sol maintenu à une teneur en eau de référence, selon que l'on envisage le court ou le long terme (Fierer & Schimel, 2002). De plus, ces effets apparaissent dépendants du type de sol (Fierer & Schimel, 2002).

Diverses explications quant à la dynamique des émissions de N_2O ont été émises, et seront présentées dans cette synthèse bibliographique au regard des quatre conditions nécessaires à la production et à l'étude des émissions de N_2O :

- La présence et l'activité d'une biomasse bactérienne ;
- Des conditions d'aérobiose adéquates ;
- La disponibilité d'un substrat azoté ;
- Un temps de résidence dans le sol permettant de mesurer le N_2O produit.

Robertson (1989) a hiérarchisé les facteurs de contrôle de la dénitrification et de la nitrification, en définissant des facteurs de régulation proximaux et distaux (Figure 1.1). Cette distinction est relative à l'échelle du forçage en cause, de l'échelle cellulaire (facteurs proximaux) à celle du paysage (facteurs distaux). Les trois facteurs les plus proximaux sont la pression en dioxygène (conditions d'aérobiose), les teneurs en nitrates (disponibilité d'un substrat azoté), et les teneurs en carbone (pour l'activité de la biomasse bactérienne). Plusieurs variables plus distales apparaissent jouer un rôle sur chacun de ces trois facteurs (Figure 1.1). Certaines variables agissant directement sur les microorganismes, comme la température, le pH, ou la texture du sol, n'apparaissent pas dans la représentation de ce modèle conceptuel. Elles seront présentées dans cette synthèse bibliographique (activité de la biomasse bactérienne).

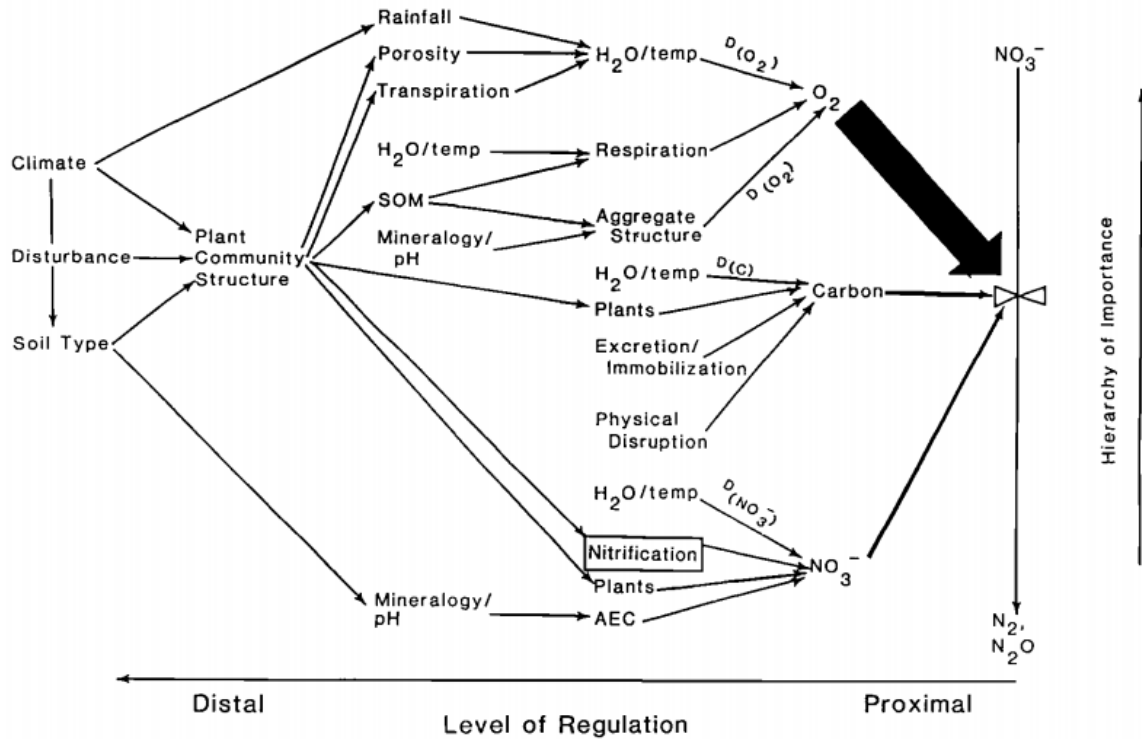


Figure 1.1 – Modèle conceptuel des facteurs distaux et proximaux de la dénitrification (Robertson, 1989).

1.2.1 Présence et activité de la biomasse bactérienne

1.2.1.1 Les processus et organismes impliqués dans les émissions de N₂O

C'est en particulier parce que les émissions de N₂O impliquent des processus microbiologiques, que l'étude de leurs déterminismes doit être vue d'un point de vue dynamique, c'est-à-dire en prenant en compte le facteur temps et l'historique des conditions subies par le sol. Ils déterminent d'une part la structure de la communauté microbienne mais aussi ses formes de métabolismes, notamment énergétiques. Le cycle de l'azote est un cycle complexe, impliquant de nombreuses formes réactives de l'azote. En fonction des conditions du milieu, plusieurs types de réactions induites biologiquement sont impliquées dans leur transformation. On rappelle ici que certains microorganismes du sol ont la capacité d'adapter leur métabolisme énergétique aux conditions d'oxydoréduction du milieu. La production de N₂O est ainsi liée à deux principaux processus de production d'énergie chez les bactéries, la nitrification et la dénitrification.

La nitrification permet la formation des ions nitrates (NO₃⁻) à partir d'ammoniac (NH₃) à l'aide de deux oxydations successives (Figure 1.2). Dans un premier temps, la nitrification conduit à la production de l'ion nitrite (NO₂⁻) grâce à l'action historiquement attribuée aux bactéries aérobies du genre *Nitrosomonas* et *Nitrospira* (van Elsas et al., 2007). Dans un second temps, la nitrification produit l'ion nitrate par l'action des bactéries aérobies du genre *Nitrobacter* et *Nitrospira* (van Elsas et al., 2007). Au sein de la communauté bactérienne des sols, seuls ces quelques genres sont capables de réaliser l'une des étapes de la nitrification. L'oxydation de NH₃ en NO₂⁻ est catalysée par la monooxygénase de l'ammoniac, tandis que l'oxydation de NO₂⁻ en NO₃⁻ est catalysée par la nitrite-

oxydoréductase. La nitrification est dite aérobie : la présence de dioxygène est en effet obligatoire pour l'oxydation de NH_3 et de NO_2^- (Williams et al., 1992). Récemment, après l'identification du *phylum* des Archéobactéries, leur participation à l'oxydation de NH_3 dans les sols en milieu aérobie et probablement anaérobie a été mise en évidence par des approches de métagénomique (Treusch et al., 2005). Leur rôle pourrait être prépondérant sur celui des bactéries (Leininger et al., 2006).

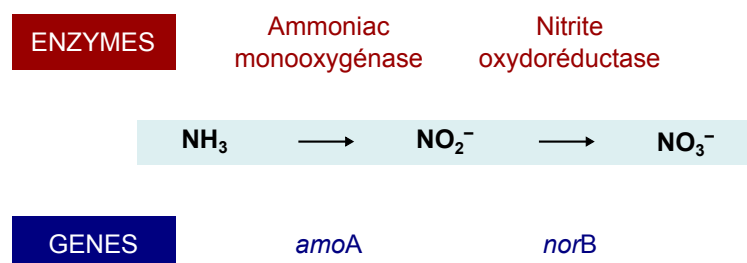


Figure 1.2 – Chaîne de réactions de la nitrification, enzymes et gènes associés (van Elsas et al., 2007).

Diverses hypothèses sont formulées quant au mode de formation de N_2O par l'intermédiaire des bactéries nitrifiantes. Le protoxyde d'azote peut être produit par des mécanismes abiotiques, par le biais de bactéries nitrifiantes autotrophes à l'étape de l'oxydation de NH_4^+ en NO_2^- . L'une des voies est la décomposition chimique des composés intermédiaires comme l'hydroxylamine (NH_2OH) (Otte et al., 1999). Plus rarement, la forme protonée HNO_2^- , formée après équilibre de NO_2^- avec la solution du sol ou avec des surfaces chargées, peut réagir avec les constituants organiques pour former N_2O (Stevenson, 1994). De plus, certaines bactéries nitrifiantes autotrophes, par exemple les bactéries du genre *Nitrosomonas*, sont capables de conduire à la formation de N_2O sous faible pression de dioxygène, voire pour de courtes périodes de limitation en dioxygène (Bock et al., 1995; Poth & Focht, 1985; Wrage et al., 2001). Ce processus est une réelle dénitrification par ces organismes nitrifiants. Ils sont capables de réaliser la nitrification (oxydation de NH_3 en NO_2^-) puis la dénitrification (réduction de NO_2^- en N_2O), en utilisant le nitrite ou le nitrate comme accepteur final d'électrons. Bollmann & Conrad (1998) ont observé que la production de N_2O par la nitrification était le processus prépondérant au-dessus d'une pression de dioxygène de 0.1 à 0.5 %. Bateman & Baggs (2005) ont démontré, au cours de leur expérimentation, que la production de N_2O par la nitrification était prédominante lorsque la part de la porosité occupée par l'eau (ou *water-filled pore space*, WFPS) allait de 35 à 60 %, et permettait la formation de 81 % du N_2O produit pour un WFPS de 60 %. Le WFPS est ici vu comme un proxy des conditions d'aérobiose du milieu. A l'aide d'expérimentations à l'azote marqué, Mathieu et al. (2006a) a déduit que la nitrification représentait 60 % du N_2O produit dans un sol « non saturé » en eau (75 % de la capacité au champ), et 10–15 % dans un même sol « saturé » (150 % de la capacité au champ), tandis que la dénitrification contribuait à 40 % du N_2O produit dans un sol « non saturé », et 85–90 % en sol « saturé ».

La dénitrification en conditions anaérobie est souvent considérée comme le principal processus responsable des émissions de N_2O par les sols (Bateman & Baggs, 2005). C'est une respiration alternative, qui peut être réalisée par certaines bactéries aérobies-anaérobies facultatives en cas

de déficit du milieu en dioxygène. Ainsi, la dénitrification est une chaîne de quatre réductions successives, permettant la transformation de l'azote nitrique (NO_3^- et NO_2^-) en azote gazeux (NO , N_2O , N_2) (Figure 1.3), ces composés étant accepteurs d'électrons. Chaque étape de la dénitrification est catalysée par des enzymes spécifiques, pouvant être codées par au moins deux gènes pour les trois premières étapes de la dénitrification (van Elsas et al., 2007). Une grande diversité de bactéries et archées possède la capacité à dénitrifier. En effet, on trouve des dénitrifiants dans près de la moitié des souches cultivables (van Elsas et al., 2007), cette capacité apparaissant non spécifique. *Pseudomonas* semble le genre dénitrifiant cultivable prépondérant. Entre 10 et 50 % des bactéries du sol seraient capables de réaliser la réduction de NO_3^- en NO_2^- , tandis qu'une très faible proportion des dénitrifiants, à hauteur de 0.1 à 5 %, semble capable d'effectuer la réduction du N_2O en N_2 (Philippot & Germon, 2005).

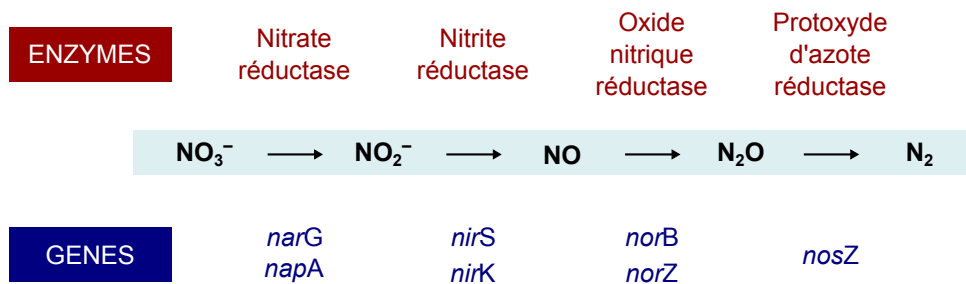


Figure 1.3 – Chaîne de réactions de la dénitrification, enzymes et gènes associés (van Elsas et al., 2007).

Les possibilités d'adaptation des microorganismes aux conditions de leur milieu et la grande hétérogénéité d'un milieu poreux tel que le sol conduisent en réalité à l'existence d'autres processus que la dénitrification en milieu anaérobie et la nitrification en milieu aérobie. Ainsi, plusieurs voies de production de N_2O ont été démontrées (Figure 1.4).

La dénitrification, bien que dite classiquement anaérobie, peut avoir lieu à pression atmosphérique en dioxygène (Khalil et al., 2004) (Figure 1.4). En effet, au cours de la dénitrification aérobie, certaines bactéries dénitrifiantes sont capables d'utiliser le nitrate comme accepteur final d'électrons en présence de dioxygène (ex. : *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Moraxella*, etc.) (Carter et al., 1995; Patureau et al., 2000; Robertson, 1989). Cette propriété leur est conférée par la présence d'une nitrate-réductase périplasmique, dont le fonctionnement n'est pas inhibé par la présence de dioxygène, contrairement à la plus répandue nitrate-réductase membranaire (Bell et al., 1990). Bateman & Baggs (2005) observent de faibles émissions de N_2O par dénitrification pour un WFPS de 20 %, c'est-à-dire en conditions *a priori* aérobies, et les attribuent soit à de la dénitrification anaérobie au sein de microsites anaérobies, soit à de la dénitrification aérobie.

Les organismes nitrifiants hétérotrophes, champignons et dans une moindre mesure les bactéries, sont capables de dénitrifier et d'émettre du N_2O (Figure 1.4). Les bactéries nitrifiantes hétérotrophes dénitrifient en conditions aérobies (Robertson, 1989), tandis que les champignons dénitrifient en conditions anaérobies, la présence d'une faible quantité de dioxygène étant obligatoire pour

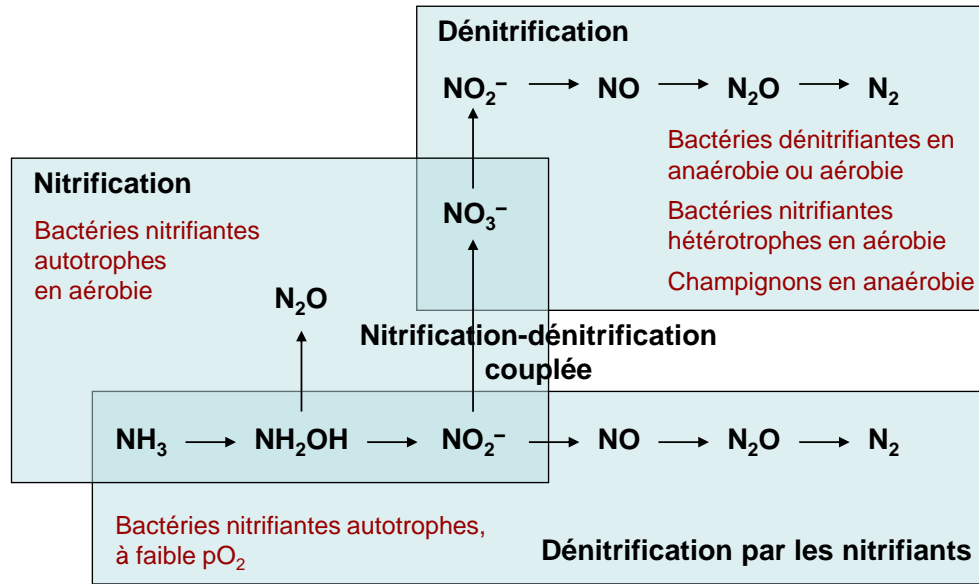


Figure 1.4 – Les différentes voies de production du protoxyde d’azote (N₂O) et les organismes impliqués (modifié d’après Wrage et al., 2001).

certaines espèces (Zhou et al., 2001). La contribution des champignons serait prédominante à faible pH et pour de fortes disponibilités en carbone organique, c’est-à-dire principalement en sols forestiers et de prairies (Chen et al., 2014; Robertson, 1989). Jirout et al. (2013) ont par exemple montré que 64 % des champignons identifiés sur une prairie pâturée étaient capables de produire du N₂O. Comme ils ne possèdent pas de N₂O-réductase, les champignons sont incapables de réduire N₂O en N₂ (Zhou et al., 2001). Bateman & Baggs (2005) ont quantifié des émissions de N₂O par des bactéries nitrifiantes hétérotrophes, mais en assumant une grande incertitude liée à la variabilité des résultats : à un WFPS de 50 %, 20 % du N₂O était produit par des bactéries nitrifiantes hétérotrophes. Des réductions d’émissions de N₂O de l’ordre de 85 % ont été observées après l’application de fongicides sur des sols (Crenshaw et al., 2008; Laughlin & Stevens, 2002).

Le processus de nitrification-dénitrification couplée permet quant à lui la production de N₂O par l’intermédiaire de bactéries nitrifiantes et de bactéries dénitrifiantes (Figure 1.4). Le nitrite ou le nitrate produit lors de la nitrification est déplacé par le flux d’eau ou par diffusion vers des sites anoxiques, puis est réduit en N₂O par les microorganismes dénitrifiants (Wrage et al., 2001). Ce type de processus peut avoir lieu lorsque des conditions favorables à la nitrification et à la dénitrification coexistent, préférentiellement aux zones d’interface.

1.2.1.2 Les facteurs environnementaux proximaux

Certains facteurs sont favorables à la croissance et/ou à l’activité de la biomasse bactérienne productrice de N₂O. Le WFPS représente de la part de la porosité occupée par la solution du sol. Il est calculé comme le rapport de la teneur en eau volumique et de la porosité du sol (Linn & Doran, 1984). Le WFPS doit être suffisamment important pour permettre la mobilité active ou passive des microorganismes (Borken & Matzner, 2009). Des variations du potentiel de l’eau représentent

un stress pour les populations bactériennes, et peuvent entraîner une diminution de la biomasse et de l'activité bactérienne (Muhr et al., 2008). Muhr et al. (2008) considèrent à ce titre que la durée de la période de dessiccation d'un sol influence plus fortement les émissions de N_2O que le fait de réhumecter un sol sec. Il est néanmoins nécessaire de prendre en compte la possible sélection de microorganismes résistants aux cycles de saturation/désaturation (Fierer & Schimel, 2002; Groffman & Tiedje, 1988). Fierer & Schimel (2002) envisagent en effet qu'après plusieurs cycles de saturation/désaturation, les communautés bactériennes puissent s'adapter aux variations du potentiel de l'eau. Cette adaptation est consommatrice d'énergie, ainsi, les capacités métaboliques des microorganismes concernés s'en trouvent réduites (Schimel et al., 2007).

La disponibilité en carbone organique joue un rôle prépondérant car la plupart des bactéries dénitrifiantes étant hétérotrophe, le carbone sous forme organique est utilisé comme source d'énergie. Dans la dénitrification, le carbone du sol intervient comme donneur d'électrons (Groffman et al., 2009; Weier et al., 1993; Wrage et al., 2001). A cet égard, la matière organique particulaire peut être considérée comme un support de *hotspot* pour la dénitrification (Lensi et al., 1995; Mathieu et al., 2006b; Parkin, 1987) et l'ajout de carbone sous forme de glucose augmente fortement la dénitrification (Weier et al., 1993). Ainsi une augmentation des flux de N_2O avec la teneur en matière organique a pu être observée (ex. : Harrison-Kirk et al., 2013), ou au contraire une diminution des flux de N_2O par diminution du rapport N_2O/N_2 (ex. : Khalil et al., 2002b; Lopez-Fernandez et al., 2007).

La texture du sol apparaît être un facteur de contrôle du point de vue microbiologique. La distribution spatiale des microorganismes est, entre autres, contrôlée par la teneur en argile (van Gestel et al., 1996). En effet, de fortes teneurs en argile peuvent constituer une protection des bactéries vis-à-vis de la prédation ou de la dessiccation (van Gestel et al., 1996). Elles montrent par ailleurs une forte rétention de l'eau (Bruand et al., 2004), permettant l'établissement de conditions favorables pour la dénitrification. Ainsi, les textures fines favorisent les émissions de N_2O par rapport aux textures grossières (Bollmann & Conrad, 1998; Harrison-Kirk et al., 2013; McTaggart et al., 2002). Lensi et al. (1995) ont montré que la capacité dénitrifiante variait en fonction de la fraction granulométrique considérée : elle est plus importante dans les fractions les plus fines. La fraction $< 20 \mu m$ contribuait à 90 % du potentiel total de dénitrification, les fortes émissions observées étant liées à une forte activité spécifique des microorganismes dénitrifiants pour la fraction $< 2 \mu m$, et à une forte biomasse de dénitrifiants pour la fraction 2–20 μm (Lensi et al., 1995).

La température du sol est un paramètre clé de la distribution et de l'activité des microorganismes (van Elsas et al., 2007). Il existe une corrélation positive entre une augmentation de la température et une augmentation des émissions de N_2O , dans la gamme de températures mesurées normalement au champ (Smith et al., 2003, 1998; Williams et al., 1992). Des processus microbiologiques étant en cause, il existe en effet des températures optimales pour la nitrification et la dénitrification. Malhi & McGill (1982) ont par exemple relevé un optimum de nitrification à 20°C sur des sols canadiens, tandis que Myers (1975) a observé un optimum à 35°C sur un sol tropical. En ce qui concerne la dénitrification, Stanford et al. (1975) proposent un seuil en-dessous duquel le taux de dénitrification décroît fortement à 11°C. Cosentino et al. (2013) ont dérivé par la statistique un seuil de 14°C, séparant les faibles et fortes émissions lors de mesures de terrain. A l'aide d'essais d'activités

enzymatiques, [Braker et al. \(2010\)](#) ont montré une augmentation de l'activité dénitrifiante avec la température, entre 4 et 37°C, ainsi qu'une modification des communautés bactériennes. [Russell et al. \(2002\)](#) a montré que la nitrification tendait à diminuer avec une diminution de la température entre 20 et 5°C. Les microorganismes étant capables d'adaptation à leur milieu, il est néanmoins difficile de définir une fonction universelle de la température ([Farquharson & Baldock, 2008](#)). Les enzymes impliquées dans le processus de dénitrification semblent par ailleurs ne pas réagir de la même façon à des variations de température. A titre d'exemple, la NO_3^- -réductase est plus affectée par un abaissement de la température que la NO_2^- -réductase, tandis que le rapport $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ tend lui à augmenter ([Bailey & Beauchamp, 1973](#); [Holtan-Hartwig et al., 2002](#); [Keeney et al., 1979](#)). D'un point de vue physico-chimique, une augmentation de la température permet l'accroissement de la diffusion et la diminution de la solubilité des gaz, dont le dioxygène et le N_2O ([Heincke & Kaupenjohann, 1999](#)).

Souvent, les expérimentations de laboratoire s'affranchissent de l'effet de la température en opérant autour d'un optimum de température, de 18 à 25°C (ex. : [Bateman & Baggs, 2005](#); [Fierer & Schimel, 2002](#); [Schjønning et al., 2003](#); [Weier et al., 1993](#)).

Le rôle du pH peut être vu à plusieurs égards. Il existe, d'une part, une gamme de pH favorables aux activités bactériennes dénitrifiantes, proche de la neutralité ou légèrement basique ([Šimek & Cooper, 2002](#)). Néanmoins, les champignons seraient moins affectés que les bactéries par la valeur du pH du sol ([Herold et al., 2012](#)). La nitrification par les autotrophes est également affectée par les pH acides, à cause de la faible disponibilité en NO_3^- ([Morkved et al., 2007](#)). D'autre part, de faibles pH, inférieurs à 5, inhibent l'activité de la N_2O -réductase, augmentant le rapport $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ ([Baggs et al., 2010](#); [Morkved et al., 2007](#)). Ainsi, il est possible d'observer une augmentation des émissions de N_2O à ces pH, même si l'activité bactérienne est ralentie ([Knowles, 1982](#)). Au laboratoire, les maximum d'émissions sont obtenus dans les conditions de pH du milieu de prélèvement de l'échantillon, du fait de l'adaptation des microorganismes à leur milieu ([Baggs et al., 2010](#); [Šimek et al., 2002](#)). [Baggs et al. \(2010\)](#) ont mis en évidence une possible adaptation sur le long terme des communautés bactériennes productrices de N_2O à un pH du sol *a priori* défavorable aux émissions de N_2O . Ainsi, une réduction du pH du sol de 7 à 4.5 a conduit à de plus faibles émissions de N_2O qu'un sol maintenu à long terme à un pH de 4.5 ([Baggs et al., 2010](#)). Cette étude a par ailleurs montré qu'une modification du pH pouvait conduire à une modification de la source prédominante de N_2O , de la dénitrification à la nitrification, en augmentant le pH d'un échantillon de sol de 4.5 à 7. Enfin, du point de vue chimique, il convient de noter que N_2O est plus soluble dans les solutions acides que dans les solutions basiques ([Heincke & Kaupenjohann, 1999](#)).

La microbiologie des sols propose de nombreuses méthodes pour estimer expérimentalement la taille, la diversité et l'activité d'une biomasse microbienne. Afin de quantifier la taille de la biomasse microbienne, on peut par exemple citer des méthodes dites pasteuriennes avec culture des souches au laboratoire : le dénombrement par la méthode du nombre le plus probable (ex. : [Braker et al., 2010](#); [Lensi et al., 1995](#)), le dosage du carbone et de l'azote d'origine microbienne après fumigation dans du chloroforme et extraction (ex. : [Beare et al., 2009](#);

Groffman & Tiedje, 1988; Mikha et al., 2005) ou l'extraction d'ADN (ex. : Dequiedt et al., 2011). Les techniques les plus souvent utilisées actuellement pour étudier la diversité microbienne des sols sont l'analyse (1) des acides gras phospholipidiques (PLFA) (ex. : Andersen & Petersen, 2009; Burger et al., 2005), (2) des structures moléculaires de l'ADN ou ARN extrait des sols et (3) des profils métaboliques. Enfin, l'activité globale ou spécifique de la biomasse microbienne peut quant à elle être quantifiée en conditions contrôlées : mesure de la respiration des sols ou mesure d'activités enzymatiques spécifiques, comme c'est le cas pour la dénitrification (ex. : Groffman & Tiedje, 1988; Petersen et al., 2008; Smith & Tiedje, 1979) ou la nitrification (ex. : Fierer & Schimel, 2002).

1.2.2 Conditions d'aérobiose dans le sol et conséquences sur les émissions de N₂O

La dénitrification a principalement lieu en conditions anaérobies ou à de faibles pressions partielles en dioxygène. A l'inverse, la production de N₂O par la nitrification a généralement lieu en conditions aérobies. Ainsi, les pics d'émissions de N₂O s'expliquent en particulier par des modifications des conditions d'aération au sein du sol. Le paramètre le plus observé lors d'expérimentations de terrain ou au laboratoire est sans doute le WFPS. Le coefficient de diffusion du dioxygène étant plus faible dans l'eau que dans l'air, plus le WFPS est élevé et plus la diffusion du dioxygène est lente. Le comportement antagoniste entre les activités de nitrification et de dénitrification vis-à-vis du WFPS est représenté en Figure 1.5. Diverses expérimentations ont montré des optima de WFPS pour la production de N₂O. Beare et al. (2009) ont proposé que l'augmentation du flux de N₂O était une fonction exponentielle du WFPS, dans la gamme 60 à 100 %. Smith et al. (1998) font les mêmes observations dans la gamme 50 à 100 %. Un effet de la texture sur cette réponse exponentielle a pu être montré (Harrison-Kirk et al., 2013). D'autres auteurs préfèrent l'hypothèse d'une évolution gaussienne des émissions (Castellano et al., 2010; Ciarlo et al., 2007). Ciarlo et al. (2007) mesurent ainsi un flux maximum pour un WFPS de 80 %. Ces seuils pourraient cependant être dépendants du type de sol considéré, car le WFPS étant normalisé à la porosité, il ne considère pas l'ensemble d'un volume de sol (Farquharson & Baldock, 2008).

Les expérimentations de McCarty et al. (1999) sur la diffusion du dioxygène dans le sol permettent d'expliquer l'existence d'un seuil pour les émissions de N₂O aux alentours d'un WFPS de 60 %. Selon leurs observations, à un WFPS de 62 %, la pression partielle en dioxygène dans l'atmosphère du sol est proche de celle qui règne en tête de colonne, et l'ensemble du profil de sol étudié est ainsi maintenu en conditions aérobies, peu favorables à la dénitrification. Dès 73 % de WFPS, McCarty et al. (1999) observent le développement d'un gradient de concentration en dioxygène au sein de leur cylindre de sol de 18 cm de haut. Les conditions sont ainsi sub-optimales pour la nitrification et la dénitrification autour de 60 %. En effet, ni la diffusion du substrat azoté, ni celle du dioxygène ne sont limitantes (Bateman & Baggs, 2005). Les micropores sont saturés, ce qui favorise l'activité bactérienne, tandis que les macropores sont remplis d'air, ce qui permet une bonne aération (Davidson et al., 2000).

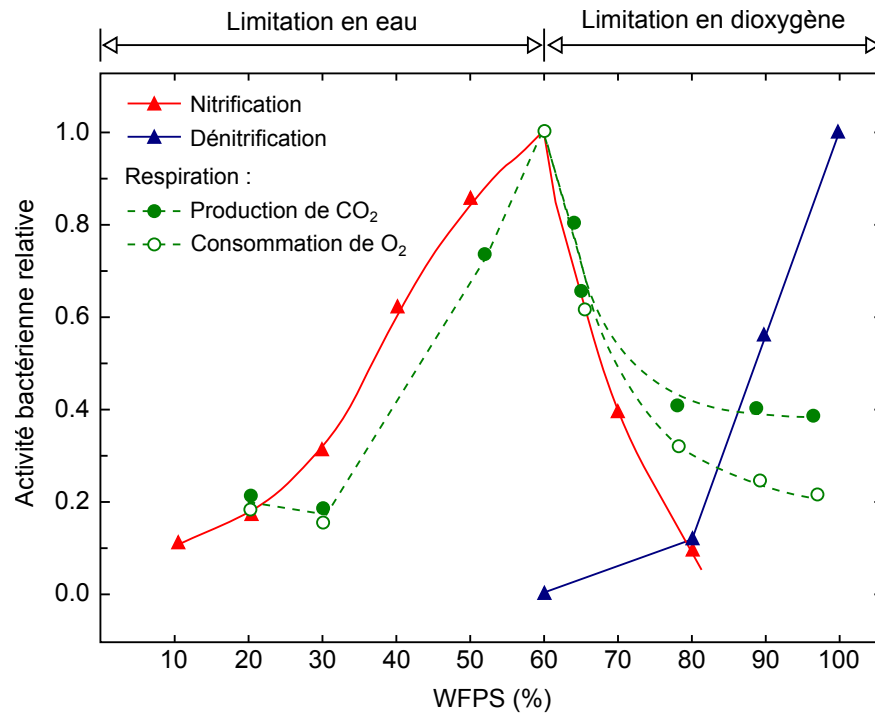


Figure 1.5 – Relation entre le WFPS et l'activité bactérienne relative de nitrification, de dénitrification et de respiration (D'après Linn & Doran, 1984).

A teneur en eau fixe, des conditions anaérobies peuvent être atteintes par consommation du dioxygène par les bactéries du sol pour la respiration aérobie (Del Grosso et al., 2000; Groffman & Tiedje, 1988; Weier et al., 1993) (Figure 1.5). Certaines modifications de la structure du sol peuvent également modifier les conditions d'aérobiose. Le tassement du sol permet le maintien d'un WFPS plus élevé qu'en sol non tassé pendant les périodes de sécheresse (Beare et al., 2009), ce qui conduit souvent à de plus fortes productions de N₂O par les sols compacts (ex. : Balaine et al., 2013; Beare et al., 2009; Hansen et al., 1993; Ruser et al., 2006; Yamulki & Jarvis, 2002). A l'inverse, le retrait lié aux argiles lors de cycles de saturation/désaturation peut causer une diminution des flux de N₂O (Huang et al., 2007; Singurindy et al., 2008).

Les conditions favorables à l'émission de N₂O peuvent concerner l'ensemble d'un volume de sol, ou seulement quelques microsites présentant des taux de réaction anormalement élevés comparés au milieu avoisinant, appelés *hotspots* (Groffman & Tiedje, 1988; McClain et al., 2003). C'est le cas par exemple de l'intérieur d'agrégats saturés en eau au sein d'un sol non saturé (Khalil et al., 2004; Kremen et al., 2005; Smith, 1980). Le schéma d'un agrégat de sol est présenté en Figure 1.6. De nombreux processus biogéochimiques ont lieu à cette échelle, comme le transport de gaz, d'eau et de solutés. Ainsi, au sein de l'agrégat, il existe des gradients de teneur en eau, de dioxygène, de CO₂ ou de N₂O (van Elsas et al., 2007), créant ainsi des conditions plus ou moins favorables aux microorganismes nitrifiants et dénitrifiants et à l'émission de N₂O.

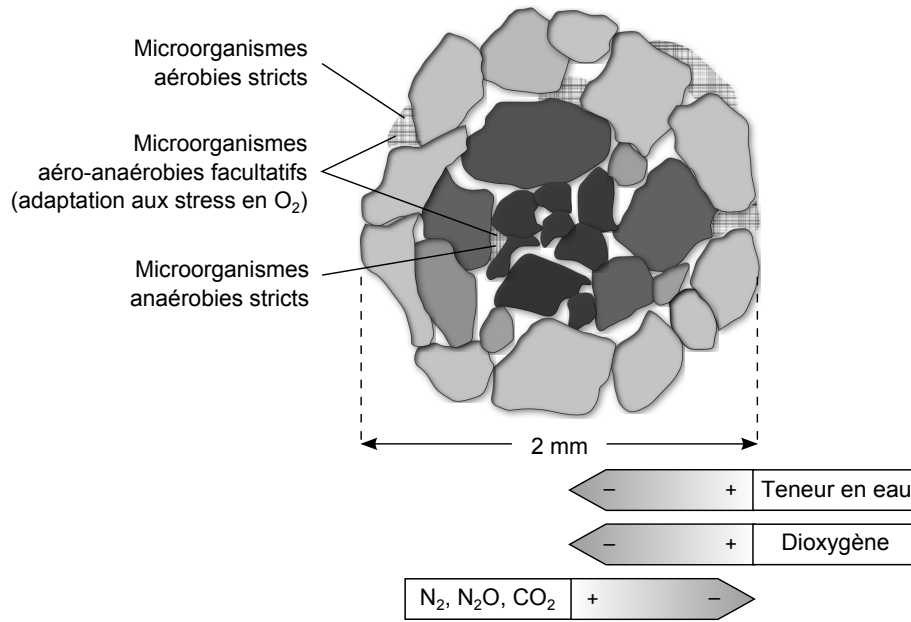


Figure 1.6 – Section schématique d’un agrégat de 2 mm de diamètre illustrant la distribution des microorganismes du point de vue des conditions d’aérobiose et l’existence de gradients biogéochimiques (D’après van Elsas et al., 2007).

Le suivi instrumental des conditions d’aérobiose est souvent estimé par la mesure du WFPS. Le potentiel matriciel est également suivi comme meilleur indicateur du statut hydrique du sol (ex. : Castellano et al., 2010; Kroeckel & Stolp, 1986; Petersen et al., 2008; Smith et al., 1998; Woltersheim et al., 1987). Ces derniers auteurs ajustent le potentiel matriciel de leurs échantillons à une valeur déterminée ou le suivent à l’aide de tensiomètres au cours de la saturation ou de la désaturation des échantillons. Le WFPS et le potentiel matriciel ont pour avantage de permettre la comparaison entre plusieurs types de sols, contrairement au paramètre teneur en eau. Ciarlo et al. (2007) et McNicol & Silver (2014) mesurent également le potentiel d’oxydoréduction. La consommation du dioxygène par la respiration aérobie est contrôlée directement (ex. : Kroeckel & Stolp, 1986) ou par la mesure des flux de CO₂ produits (ex. : Groffman & Tiedje, 1988). Lors de certaines expérimentations, des échantillons de sol sont placés en conditions contrôlées en dioxygène à l’aide de mélanges avec N₂ (ex. : Khalil et al., 2004; McNicol & Silver, 2014), l’argon (ex. : Sexstone et al., 1988), ou l’hélium (ex. : Braker et al., 2010). En anaérobiose complète, cette technique permet de séparer l’effet de l’eau des autres facteurs de contrôle de la dénitrification.

1.2.3 Disponibilité des substrats azotés dans le sol et conséquences sur les émissions de N₂O

Un substrat azoté, sous forme minérale ou organique, doit être présent et disponible. Sa quantité et sa disponibilité évoluent au cours du temps en fonction de l’apport de fertilisants, de la teneur en eau, de la dynamique des populations bactériennes en réponse aux variations des conditions du milieu et des facteurs physiques.

En sol cultivé, la synthèse de Stehfest & Bouwman (2006) a pu définir que le facteur d'émission du N_2O , c'est-à-dire la part de fertilisant azoté appliqué qui est transformée en N_2O , était autour de 0.9%. Shcherbak et al. (2014), à l'aide d'une méta-analyse de 233 sites testant l'effet de la dose d'azote appliquée et du type de fertilisant, ont montré que la réponse moyenne en termes d'émissions de N_2O était non-linéaire croissante (Figure 1.7). Le facteur d'émission de 1% utilisé dans les estimations du GIEC aurait ainsi tendance à sous-estimer les émissions pour des doses de fertilisation inférieures à 200 kg N ha^{-1} , tandis qu'il les surestimerait pour des doses de supérieures à 200 kg N ha^{-1} .

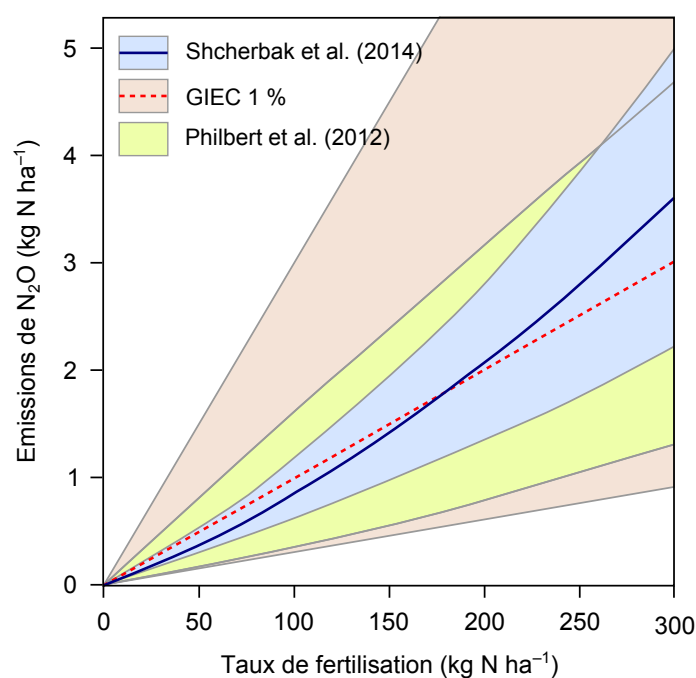


Figure 1.7 – Comparaison des incertitudes sur les facteurs d'émission de protoxyde d'azote (Shcherbak et al., 2014).

Fierer & Schimel (2002) mettent en cause la disponibilité du substrat azoté pour expliquer des variations de l'intensité des émissions au cours du temps. Un pic de N_2O est souvent observé à la suite d'une fertilisation minérale ou organique, et peut se prolonger dans le temps à mesure que les résidus organiques se minéralisent (ex. : Laville et al., 2011; Sanchez-Martin et al., 2010). Par ailleurs, nombre d'auteurs observent une augmentation de la quantité de substrat azoté disponible après la saturation en eau d'un sol et l'attribuent au choc osmotique créé lors de l'augmentation du potentiel de l'eau. Ce choc entraîne soit une lyse cellulaire, soit une libération de solutions intracellulaires comme adaptation des communautés bactériennes au stress hydrique, évitant ainsi la rupture des parois cellulaires (Kieft et al., 1987; van Gestel et al., 1992). Le pic de CO_2 , de carbone organique dissous et de nutriments observé après saturation (Birch, 1958; Gordon et al., 2008) est composé en majorité de matériel intracellulaire bactérien et peu de cellules lysées (Fierer & Schimel, 2003; Halverson et al., 2000). De l'azote bactérien est alors directement disponible pour la minéralisation (Birch, 1958; Groffman & Tiedje, 1988; Kieft et al., 1987). Une extrême dessiccation, entraînant la formation d'un gradient de concentration entre la solution du sol et le

cytoplasme des cellules bactériennes, peut elle aussi conduire à une lyse cellulaire et à la fourniture d'un substrat d'origine organique (Borken & Matzner, 2009; Stark & Firestone, 1995; van Gestel et al., 1996). En cas de sécheresse chronique, les microorganismes sont capables de s'adapter par l'accumulation de solutés, réduisant ainsi leur potentiel interne et évitant la déshydratation (Schimel et al., 2007). L'effet de la variation du potentiel de l'eau sur les populations bactériennes est d'autant plus grand que cette variation est grande, et dépend de leur degré d'adaptation aux alternances saturation/désaturation (Borken & Matzner, 2009).

Certaines modifications de la structure du sol lors de la dessiccation (ex. : fentes de retrait, agrégats brisés), permettent une exposition de matières organiques initialement protégées (Appel, 1998; Deneff et al., 2001; van Gestel et al., 1991). A l'inverse, le tassement du sol entraîne une modification de la distribution de la taille des pores vers des pores plus fins et augmente la protection physique de la matière organique vis-à-vis de l'attaque bactérienne (Breland & Hansen, 1996; van Veen & Kuikman, 1990). L'intensité du retrait et la stabilité des agrégats sont liés à la nature des argiles et à leur teneur, à la teneur en matière organique et à la biomasse bactérienne (Borken & Matzner, 2009; Mikha et al., 2005). Ainsi, les sols de texture fine ont un fort potentiel à la libération de substrat par ce type de modification physique (Borken & Matzner, 2009). Cependant, l'exposition croissante de matières organiques initialement protégées n'a lieu que pour les quelques premiers cycles de saturation/désaturation (Deneff et al., 2001). Il convient de noter qu'une destruction artificielle de la structure du sol comme la désagrégation et le tamisage lors de la préparation d'échantillons remaniés peut être à l'origine d'une libération de substrat d'origine organique (Powelson, 1980; van Veen & Kuikman, 1990). De nombreuses études utilisent pourtant des échantillons reconstitués, dans le but de mieux contrôler les différents facteurs et d'homogénéiser la réponse des répliquats (ex. : Balaine et al., 2013; Bateman & Baggs, 2005; Weier et al., 1993).

La disponibilité du substrat en solution pourrait être le principal facteur limitant de l'activité bactérienne aérobie dans les sols secs (Schjønning et al., 2003; Sexstone et al., 1988). En effet, à faible potentiel de l'eau, les films d'eau discontinus empêchent le transport par diffusion du substrat azoté en solution (Borken & Matzner, 2009). Ainsi, la disponibilité du substrat peut être reliée à la valeur du WFPS. Il doit être suffisamment important (> 20 %) pour permettre le transport du substrat azoté en solution, ainsi que celui des enzymes extracellulaires (Bateman & Baggs, 2005; Borken & Matzner, 2009; Stark & Firestone, 1995). A l'inverse, un sol maintenu longtemps dans un état d'humidité important restreint les possibilités de production de NO_3^- par la nitrification (Batjes & Bridges, 2002). De plus, la disponibilité du substrat peut être affectée par les propriétés hydrophobiques du sol. Lors de la dessiccation, ces propriétés sont modifiées. La réhumectation peut ainsi avoir lieu de façon hétérogène, laissant une partie du sol à l'état sec durant les premiers moments de la réhumectation, diminuant ainsi la disponibilité du substrat (Muhr et al., 2008). L'hydrophobicité de la surface du sol est causée par la présence de substances organiques, et augmente avec l'intensité de la dessiccation. En conséquence, l'influence de l'hydrophobicité sur la minéralisation du carbone et de l'azote est surtout importante pendant les phases de réhumectation, pour des sols riches en matière organique (Borken & Matzner, 2009).

Afin de suivre la disponibilité du substrat, il est possible de doser l'azote sous sa forme NO_3^- et/ou NH_4^+ (ex. : Bateman & Baggs, 2005; Beare et al., 2009; Fierer & Schimel, 2002; Groffman & Tiedje, 1988), ou la biomasse microbienne C et N (ex. : Beare et al., 2009; Groffman & Tiedje, 1988; Mikha et al., 2005). La plupart des expérimentations de laboratoire impliquent une fertilisation azotée du sol, afin de se placer en conditions favorables pour la production de N_2O . Diverses méthodes peuvent être employées. Il est possible de déposer le fertilisant à la pipette à la surface du sol (ex. : Beare et al., 2009; Clough et al., 2000), mais cette méthode ne favorise pas une bonne diffusion du substrat dans l'ensemble du profil de sol. Une seconde méthode consiste à saturer le sol par le bas avec une solution azotée (ex. : Castellano et al., 2010). Enfin, il est également possible de fabriquer un cylindre de sol à l'aide d'une solution enrichie en azote (ex. : Kroeckel & Stolp, 1986; Laville et al., 2011) ou d'injecter la solution au milieu du cylindre (ex. : Fierer & Schimel, 2002), en particulier pour les cylindres de grande taille. La forme du substrat choisie influe sur le temps nécessaire pour que les premières émissions de N_2O soient observées et sur le type de réaction favorisée : l'apport de NH_4^+ favorise à la fois la nitrification et la dénitrification, tandis que l'apport de NO_3^- favorise la dénitrification. Divers types de fertilisants minéraux sont utilisés : NH_4NO_3 (ex. : Bateman & Baggs, 2005), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (ex. : Khalil et al., 2004), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4:\text{KNO}_3$ (ex. : Mathieu et al., 2006b) ou encore KNO_3 (ex. : Laville et al., 2011; Weier et al., 1993), directement disponibles pour les nitrifiants ou les dénitrifiants. Les fertilisants d'origine organique, de par leur richesse en carbone organique, ont quant à eux tendance à favoriser la dénitrification et à conduire à l'utilisation du N_2O par les dénitrifiants pour former N_2 (Khalil et al., 2002b; Lopez-Fernandez et al., 2007). Les fertilisants organiques avec de faibles C/N peuvent favoriser les émissions de N_2O , car ils sont facilement dégradables (Khalil et al., 2002b). Certains auteurs utilisent des concentrations importantes afin d'éviter que le substrat azoté ne devienne un facteur limitant au cours de l'expérience (ex. : Hénault & Germon, 2000), tandis que d'autres utilisent des concentrations se rapprochant d'une fertilisation classique en sol agricole (ex. : Weier et al., 1993).

1.2.4 Temps de résidence du N_2O dans le sol et conséquences sur l'intensité des émissions de N_2O

Si la réaction de réduction du N_2O en N_2 a lieu, c'est-à-dire si la réaction de dénitrification est complète, les concentrations en N_2O mesurées seront faibles. Le sol est alors considéré comme un puits de N_2O et des flux négatifs peuvent être observés (Chapuis-Lardy et al., 2007). La consommation du N_2O débute trois ou quatre jours après la saturation en eau d'échantillons de sol (Letey et al., 1980). Mathieu et al. (2006b) ont observé la production de N_2 après 12 heures. Des WFPS > 90 % favorisent la réduction de N_2O en N_2 (Ruser et al., 2006). La N_2O -réductase est en effet inhibée plus fortement que les autres réductases impliquées dans la dénitrification en présence de dioxygène, même en faibles quantités (Knowles, 1982). De plus, des teneurs en nitrate élevées peuvent inhiber la réduction de N_2O en N_2 , car le nitrate est alors utilisé comme accepteur final d'électrons à la place de N_2O (Blackmer & Bremner, 1978; Gaskell et al., 1981; Letey et al., 1980; Weier et al., 1993). C'est pourquoi, tandis que la teneur en nitrate tend à diminuer après un apport en fertilisant lors

des premières étapes de la dénitrification, le rapport N_2O/N_2 tend lui à diminuer au cours du temps (Weier et al., 1993). En conditions de faible pH, la N_2O -réductase est inhibée et la proportion de N_2O par rapport à N_2 est plus grande (Blackmer & Bremner, 1978; Knowles, 1982). De même, de fortes températures peuvent inhiber cette réaction (Keeney et al., 1979). La disponibilité en carbone organique influe également sur le rapport N_2O/N_2 (Mathieu et al., 2006b). Ainsi, la sensibilité des enzymes impliquées dans la réduction des nitrates et du N_2O aux différents facteurs du milieu implique que le rapport N_2O/N_2 n'est pas stable au cours du temps.

En outre, il peut exister un délai non négligeable entre le moment où N_2O est produit et le moment où il est mesuré en tête de colonne, en particulier lorsque les horizons anoxiques sont en profondeur (McCarty et al., 1999). Le N_2O produit peut en effet être piégé et accumulé dans le sol puis libéré lentement par diffusion ou plus brutalement par modification des conditions du milieu. Il peut par exemple être produit pendant la phase de saturation et dissous dans la solution du sol. Sa diffusion lente dans la solution ne permet pas d'observer d'émission à la surface de la colonne de sol (Kroeckel & Stolp, 1986). Clough et al. (1998) ont observé que 2 % de l'azote ajouté en début d'expérience étaient retrouvés dissous dans la solution du sol sous forme de N_2O après 38 jours d'incubation. Le N_2O peut également être piégé sous forme gazeuse dans les pores occlus. Clough et al. (1998) ont également observé que 7.4 % de l'azote ajouté étaient retrouvés piégés dans les pores 38 jours après l'ajout de nitrate. Heincke & Kaupenjohann (1999), dans leur revue de la littérature, ne notent pas de tendance franche quant à la localisation des zones de fortes concentrations en N_2O dans l'atmosphère du sol le long de profils de sol. La vitesse de diffusion du N_2O est dépendante, entre autres, de l'état d'humidité du sol. Ainsi, la présence de pores « ouverts », connectés à la surface du sol au moment de la nitrification, favorise la diffusion du N_2O vers l'atmosphère (Batjes & Bridges, 2002) et diminue ses chances d'être réduit en N_2 contrairement au N_2O produit lors de la dénitrification (Smith et al., 2003). Ainsi, Clough et al. (1998) observent une réduction du rapport N_2O/N_2 de la profondeur vers la surface après un apport de nitrate marqué à 80 cm de profondeur (Figure 1.8). Cette réduction est liée à la diffusion lente du N_2O dans un sol humide, laissant l'opportunité de sa réduction en N_2 . Ainsi, 11 jours ont été nécessaires pour que le N_2O produit à 80 cm de profondeur soit mesurable à la surface du sol. L'observation de décalages temporels entre production et émission ont plus rarement été expliqués par des phénomènes d'adsorption sur les argiles (Stegemann & Cammenga, 1990). Afin de limiter la sous-estimation des émissions, Jury et al. (1982) recommandent de mesurer les émissions sur une période suffisamment longue pour permettre l'établissement d'un état d'équilibre après une modification des conditions du milieu.

L'étude de la consommation du N_2O pendant la dénitrification est réalisée à l'aide de composés inhibiteurs sélectifs comme l'acétylène qui empêche la réduction de N_2O en N_2 lorsqu'il est apporté à forte concentration, ou d'azote marqué afin d'observer à la fois la formation de $^{15}N_2O$ et de $^{15}N_2$ (Chapuis-Lardy et al., 2007). Afin de recueillir le N_2O piégé sous forme gazeuse, Weier et al. (1993) et Clough et al. (2000) désagrègent leurs échantillons. Clough et al. (1998) insèrent des tubes à différentes profondeurs de sol et recueillent les gaz à la seringue. McCarty et al. (1999) prélèvent les gaz du sol à différentes profondeurs à l'aide de tubages insérés entre

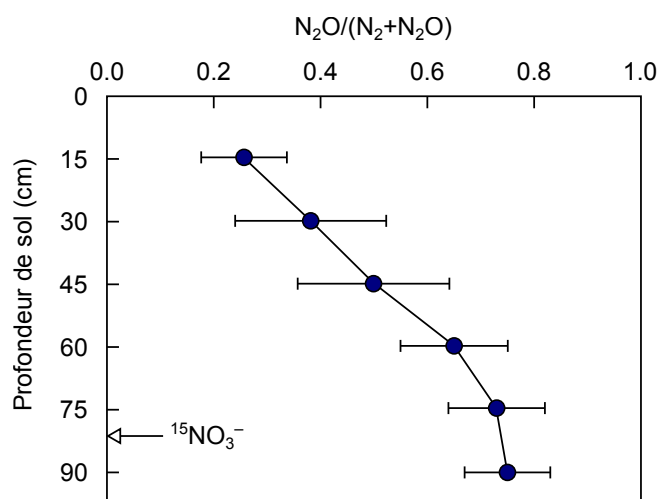


Figure 1.8 – Evolution du rapport $N_2O/(N_2+N_2O)$ avec la profondeur, après un apport de nitrate marqué à 80 cm de profondeur (Clough et al., 1998, 2005).

plusieurs étages de sol reconstitué et d'une circulation forcée de l'air. Concernant le N_2O dissous, Huang et al. (2007) mesurent le N_2O dans l'eau de surface et dans la solution percolée selon la méthode de l'équilibre phase liquide-phase gazeuse.

1.3 Synthèse

1.3.1 Importance de l'historique hydrique du sol

Même si la gamme de conditions du milieu autorisant les émissions de N_2O est réduite, ses limites apparaissent encore floues et mal comprises. En effet, il apparaît de cette revue de la littérature une extrême complexité des processus mis en cause dans les émissions de N_2O . Cette complexité est en premier lieu attribuable à la diversité des microorganismes capables d'induire des émissions de N_2O (nitrifiants/dénitrifiants, autotrophes/hétérotrophes, aérobies/anaérobies), à la diversité de leurs conditions optimales de vie et aux adaptations dont ils sont capables. D'autre part, de nombreux facteurs de contrôle ont pu être listés. La complexité de leur étude naît d'interactions et d'antagonismes, mais surtout du fait que leur réponse est une fonction du temps. Au cours de cette synthèse bibliographique, l'accent a été mis sur le caractère dynamique des processus mis en cause. L'interprétation de pics ou d'une décroissance des émissions faite par « l'augmentation de du WFPS », « la consommation du dioxygène pour la respiration aérobie », « la réutilisation d'azote bactérien », *etc.*, fait appel implicitement à la notion de mémoire, c'est-à-dire à la dépendance d'un état actuel avec un état antérieur. Un lien étroit a pu être observé entre la dénitrification, la nitrification et la respiration aérobie, qui présentent pourtant des conditions optimales très différentes, pouvant être atteintes l'une après l'autre par modification de quelques paramètres du milieu. L'historique du sol doit être explicitement pris en considération comme créateur de déterminismes, à l'aide de méthodes permettant le contrôle fin de la variation des différents paramètres au cours du temps et de traitements temporels des données recueillies. Comme le

soulignaient Groffman & Tiedje (1988), sans ce préalable, toute tentative de modélisation possédant une dimension temporelle ne pourra qu'échouer.

Robertson (1989) a schématisé la hiérarchie des facteurs de contrôle de la dénitrification et de la nitrification, en définissant des facteurs de régulation distaux et proximaux (Figure 1.1). En se concentrant sur le facteur de contrôle lié à la teneur en eau du sol, il est possible d'illustrer les interactions entre phénomènes par le Tableau 1.2. Les facteurs les plus proximaux, présentés tout au long cette synthèse bibliographique, y sont mis en avant, puisqu'ils sont les plus actifs à l'échelle des expérimentations de laboratoire. Ce tableau permet d'ajouter la dimension temporelle, ou historique du sol, à la figure de synthèse de Robertson (1989), par l'intermédiaire de la notion d'effets directs et indirects. Ainsi, des phénomènes qui favorisent les émissions de N_2O à court terme ont des conséquences à plus long terme pouvant tendre à diminuer ces émissions, et inversement. La prise en compte de l'historique du sol pour appréhender les émissions de N_2O par les sols semble ainsi essentielle.

1.3.2 Les pistes de recherche

La synthèse bibliographique effectuée au cours de ce premier chapitre a permis d'appréhender les différents facteurs de contrôle des émissions de N_2O , et d'apprécier en particulier les connaissances actuelles sur l'impact de l'eau du sol. L'intensité des émissions ainsi que leur évolution au cours du temps sont essentiellement interprétées par la dynamique des populations bactériennes face aux variations des conditions du milieu. Quelques hypothèses d'ordre physico-chimique sont apportées par les différents auteurs. Nous dégagons ici deux pistes de recherche principales. La première concerne une approche fine du rôle de l'eau du sol dans son caractère dynamique. La seconde piste de recherche concerne la prise en compte de processus physiques, liés à la présence de l'eau dans le sol, sur la variabilité temporelle des émissions de N_2O .

Le paramètre WFPS apparaît l'un des facteurs essentiels des émissions de N_2O , sans qu'aucune loi universelle n'ait pu être établie. Le WFPS conditionne non seulement l'état d'aérobiose au sein du sol, mais également le transport du substrat et des microorganismes, la diffusion du N_2O produit, la quantité de N_2O dissous dans la solution du sol, l'inhibition de la N_2O -réductase, et la possible libération de substrat d'origine organique par des variations des potentiels matriciel et osmotique (Tableau 1.2). Ainsi, Andersen & Petersen (2009) observent une différence d'émissions importante entre des WFPS de 87 et de 90 %, à hauteur de 30 %. Au vu du rôle clé de la teneur en eau dans les émissions de N_2O , une compréhension fine des déterminismes liés aux propriétés hydriques des sols semble requise. A titre d'exemple, l'utilisation du paramètre potentiel matriciel, vu comme variable et non plus comme proxy de la teneur en eau, peut apporter des informations sur l'état énergétique de l'eau au sein d'un échantillon de sol, avec une précision géométrique améliorée par rapport à la mesure de la teneur en eau. En effet, du point de vue de la métrologie, les temps d'équilibre des dispositifs de mesure de la teneur en eau (ex. : méthode gravimétrique, méthodes diélectriques) et du potentiel matriciel (ex. : tensiomètres) ne sont pas équivalents, tout comme leur volume d'investigation. Par ailleurs, le suivi du potentiel matriciel est d'autant plus pertinent qu'une relation hystérétique est reconnue avec la teneur en eau, opposant la saturation

Tableau 1.2 – Exemples d’effets directs et indirects de l’augmentation ou de la diminution de la teneur en eau du sol sur les facteurs de contrôle des émissions de N₂O (+ : favorise les émissions de N₂O, – ne favorise pas les émissions de N₂O).

Augmentation de la teneur en eau (WFPS < 60 % vers WFPS > 60 %)		
Effets directs		Effets indirects
Anaérobiose	+	Limitation de la production de substrat sous forme NO ₃ ⁻ par la nitrification –
Lyse cellulaire ou libération de solutions intracellulaires	-	Azote bactérien directement disponible pour la minéralisation, croissance rapide des communautés bactériennes +
Adaptation/sélection des microorganismes aux changements de potentiel de l’eau	+	Capacités métaboliques réduites, moins d’azote bactérien disponible pour la minéralisation –
Modification de la structure (ex. : gonflement des argiles) : création de sites anaérobies	+	
Diminution de la diffusion du substrat	-	
Augmentation de la mobilité active ou passive des microorganismes	+	
Diminution de la teneur en eau (WFPS > 60 % vers WFPS < 60 %)		
Effets directs		Effets indirects
Aérobiose	-	Respiration aérobie favorisée : consommation de O ₂ et création de sites anaérobies Production de substrat sous forme NO ₃ ⁻ par la nitrification +
Lyse cellulaire	-	Azote bactérien directement disponible pour la minéralisation, croissance rapide des communautés bactériennes +
Adaptation/sélection des microorganismes aux changements de potentiel de l’eau	+	Capacités métaboliques réduites, moins d’azote bactérien disponible pour la minéralisation –
Modification de la structure (fentes de retrait, agrégats brisés) : diffusion de O ₂	-	Exposition des MO, substrat azoté et carboné disponible +
Inhibition de la N ₂ O-réductase : diminution du rendement de la réaction de réduction de N ₂ O en N ₂	+	
Diminution de la mobilité active ou passive des microorganismes	-	

et la désaturation d'échantillons de sols. Cette caractéristique n'a pourtant jamais été étudiée dans le cadre des émissions de N_2O .

Ainsi, on conduira des expérimentations de laboratoire permettant le contrôle fin de la dynamique hydrique au cours de cycles de saturation/désaturation de cylindres de sols de grande taille, associée à des mesures d'émissions de N_2O . On étudiera ainsi (1) le rôle de l'historique hydrique, (2) le rôle des propriétés hydrodynamiques, (3) l'existence de processus hystérétiques du point de vue hydrique et (4) la taille des pores impliqués dans la production de N_2O .

La seconde piste de recherche concerne la prise en compte de processus physiques, liés à la présence de l'eau dans le sol. Les phénomènes de transport de N_2O sont en effet souvent négligés par rapport aux processus de production (Heincke & Kaupenjohann, 1999). Parmi les interprétations d'ordre physico-chimique des variations d'émissions de N_2O , il convient de noter l'importance des phénomènes de piégeage dans la solution du sol et dans les pores occlus, fortement liés aux conditions de teneur en eau des sols. Ces phénomènes, bien décrits par les équations de diffusion (ex. : loi de Fick) et de dissolution (ex. : loi de Henry, coefficient d'absorption de Bunsen) ont pour effet de décaler le moment où N_2O est produit et le moment où il est émis à la surface du sol, et donc mesurable aisément par les méthodes les plus classiques. La compréhension des déterminismes d'émission de N_2O doit pourtant considérer les différents facteurs de contrôle au moment où N_2O est produit, et non au moment où il est mesurable à la surface du sol. Connaître le décalage temporel lié au piégeage du N_2O est donc un préalable indispensable.

Ce type d'étude sera réalisé à travers le paramètre complémentaire du volume d'eau, la porosité libre à l'air, et de ses descripteurs qualitatifs calculés à l'aide de l'imagerie. De plus, la modélisation des concentrations de N_2O gazeux et dissous au sein de cylindres de sol par les équations de diffusion et de dissolution permettra ainsi la prise en compte du transport du N_2O et l'établissement de ces relations de retard dans les émissions.

1.3.3 Représentativité et généralité des expérimentations

Les très grandes variabilités spatiale et temporelle des émissions de N_2O observées sur le terrain ou au laboratoire constituent l'une des difficultés majeures à l'étude de leurs facteurs de contrôle. En effet, une grande part de l'activité de dénitrification peut n'être attribuable qu'à des zones de petite dimension (*hotspots*) et des périodes brèves (*hot moments*) (Groffman et al., 2009; McClain et al., 2003). Parkin (1987) a par exemple montré que plus de 90 % de l'activité dénitrifiante d'un échantillon (15 cm de haut) avait lieu dans moins de 1 % du volume de sol considéré dans l'expérience. Il a pu relier ce taux élevé de dénitrification à la présence d'une feuille en décomposition. Ainsi, le suivi instrumental peut ne pas être représentatif de l'ensemble d'un échantillon, de par l'existence de microsites plus actifs (Ciarlo et al., 2007). Dans leur étude sur le terrain, Molodovskaya et al. (2012) ont quantifié la part des *hot moments* dans les flux totaux : ils ont contribué jusqu'à 51 % des émissions annuelles cumulées de N_2O , bien qu'ils ne représentaient que 7 % du temps d'observation total. Les auteurs ont conclu que les augmentations rapides de température et de teneur en eau du sol étaient responsables du déclenchement des *hot moments*, tandis que la disponibilité en azote contrôlait leur intensité. A l'échelle du paysage, cette variabilité est attribuée à la

variabilité des paramètres du sol selon la distribution spatiale des types de sols, à la variabilité de la végétation implantée et à la microtopographie (Groffman et al., 2009). Cette variabilité spatiale est d'autant plus forte que les émissions de N_2O sont élevées (Goodroad & Keeney, 1985). Des questions quant à la représentativité des échantillons de sol à étudier, à la généralité des expérimentations de laboratoire et à la transférabilité au terrain des tendances observées émergent alors.

La question d'un volume de sol représentatif a beaucoup été étudiée pour la détermination des propriétés hydriques des sols. Dans nos expérimentations de laboratoire, on choisira de se rapprocher de ces volumes d'échantillons, et d'utiliser préférentiellement des échantillons non perturbés. Néanmoins, afin de contraindre certains facteurs de contrôle, des expérimentations sur échantillons reconstitués seront également conduites. Enfin, le sol étudié sera choisi pour ses fortes émissions mesurées sur le terrain, et on favorisera l'étude approfondie des processus sur ce même sol, plutôt que de multiplier les facteurs de variabilité par l'étude de plusieurs types de sol.

1.3.4 Démarche de recherche et plan du manuscrit

L'objectif principal de la thèse est d'affiner la compréhension du rôle du fonctionnement hydrique des sols, dans son aspect dynamique, sur les émissions de N_2O . Un schéma conceptuel de la démarche de recherche et de ses outils est ainsi dressé en Figure 1.9. Des expérimentations de laboratoire seront mises en place sur des cylindres de sol (Chapitres 2 et 3). Elles permettront le contrôle fin de certains paramètres hydriques du sol et de leur historique au cours de cycles de saturation/désaturation. Au vu de la signification, intégratrice de larges volumes, des paramètres hydriques classiquement mesurés au cours des expérimentations de laboratoire, on mettra en œuvre une expérimentation d'imagerie par rayons X (Chapitre 4). L'imagerie, permettant des observations spatialisées, d'échelle plus fine et un suivi au cours du temps, a pour objectif d'évaluer les hypothèses émises à partir des observations au laboratoire à l'aide d'indicateurs spécifiques. Enfin, une formalisation de ce fonctionnement sera fournie par l'intermédiaire de la modélisation et servira de support de discussion de la relation entre les émissions de N_2O et le WFPS (Chapitre 5). Les expérimentations de laboratoire constituent à la fois les données d'entrée et d'évaluation du modèle.

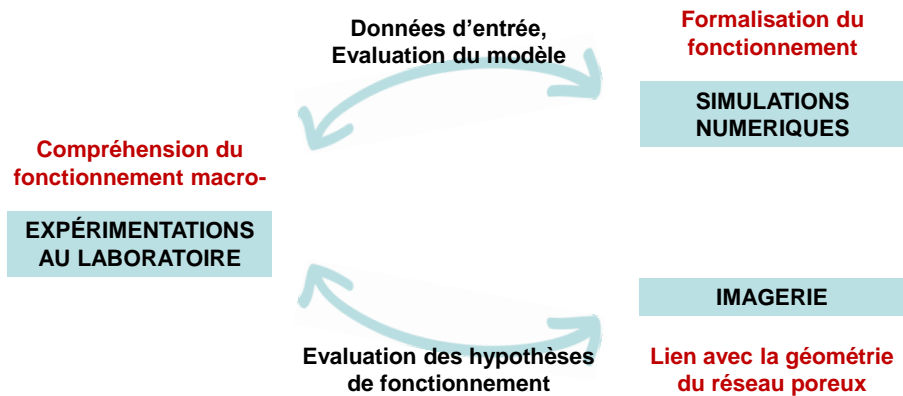


Figure 1.9 – Schéma conceptuel de la démarche de recherche et de ses outils.

Le manuscrit de cette thèse se présente ainsi sous la forme de quatre articles, dont les trois premiers concernent des expérimentations de laboratoire tandis que le dernier est une approche par la modélisation basée sur les expérimentations. L'ensemble des échantillons utilisés provient d'une même parcelle agricole, dont les sols sont classés comme Haplic Albeluvisols (WRB, 2006) ou Glossic Retisols (WRB, 2014) dans la suite du manuscrit. Les échantillons de sol ont été recueillis au cours de campagnes de terrain précédant chaque expérimentation de laboratoire. Le protocole expérimental a différé du point de vue de l'état des échantillons, de la méthode de contrôle hydrique et des paliers hydriques appliqués lors des cycles de saturation/désaturation (Tableau 1.3). Afin de faciliter les comparaisons, d'autres paramètres (teneur en nitrates, température), connus comme étant des facteurs de contrôle des émissions, ont été invariants, ainsi que les méthodes d'étude mises en œuvre. Pour les trois expérimentations, la méthode des chambres statiques a été adoptée, c'est-à-dire qu'une chambre étanche a été placée à la surface de l'échantillon de sol pour permettre l'accumulation du N_2O émis. La mesure de la concentration en N_2O au cours du temps a été réalisée avec le même analyseur (N_2O Analyzer, modèle 46i, Thermo Scientific).

Tableau 1.3 – Présentation des méthodes utilisées dans les expérimentations de laboratoire.

	Chap. 2 “Table à succion”	Chap. 3 “MSO”	Chap. 4 “Scanner”
Nombre d'échantillons	12	24	1
Etat de l'échantillon	Non perturbé	Reconstitué	Non perturbé
Taille de l'échantillon	15 cm × 7 cm	15 cm × 7 cm	13.2 cm × 7 cm
Contrôle hydrique	Table à succion	Multistep outflow	Multistep outflow
Instrumentation	3 tensiomètres, 1 TDR	3 tensiomètres, 1 balance	3 tensiomètres, 1 balance, scanner
Paliers hydriques	Saturation directe, désaturation par paliers	Saturation directe, désaturation directe	Saturation directe, désaturation directe
Nombre de cycles de saturation/désaturation	2	2	2
Durée de chaque expérimentation	12 à 18 jours	14 jours	8 jours

Chapitre 2

Compréhension du fonctionnement à l'échelle macroscopique : Effet de l'historique hydrique

La synthèse bibliographique (Chapitre 1) a permis de mettre en évidence le rôle de l'historique du sol dans la dynamique des populations microbiennes productrices de N_2O , et notamment face aux variations de teneur en eau du sol. Dans ce second chapitre, on a choisi de tester expérimentalement l'effet de l'historique hydrique du sol au cours de cycles de saturation/désaturation. On s'intéresse au fonctionnement des émissions de N_2O à l'échelle macroscopique, en analysant la réponse globale d'échantillons de sol au cours d'une expérimentation de laboratoire. Ce chapitre est rédigé sous la forme d'un article scientifique, publié dans la revue *Soil Science Society of America Journal* sous la référence : Rabot, E., Hénault, C., Cousin, I., 2014. Temporal variability of nitrous oxide emissions as affected by soil hydric history. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 78, 434–444. doi :10.2136/sssaj2013.07.0311.

2.1 Résumé

Le WFPS est reconnu comme étant un facteur de contrôle prépondérant des émissions de N_2O . Des relations entre les émissions de N_2O et le paramètre WFPS ont, en effet, souvent été construites à l'aide de la mesure de flux de N_2O à l'équilibre hydrique. Plusieurs auteurs décrivent cette relation comme étant une fonction exponentielle, débutant à un WFPS d'environ 0.6. Cependant, cette vision statique pourrait conduire à des estimations erronées. Le comportement de l'eau du sol étant dynamique, les émissions de N_2O doivent, en effet, être vues et donc étudiées comme un processus dynamique.

Dans ce chapitre, on s'est intéressé au rôle de l'historique hydrique du sol sur les émissions de N_2O , en faisant varier l'intensité et la vitesse de désaturation d'échantillons de sol lors d'une

expérimentation de laboratoire. Douze échantillons ont été prélevés sur une parcelle agricole connue pour ses fortes émissions de N_2O mesurées au champ, sous la forme de cylindres de sol non perturbé. Le contrôle des conditions hydriques en limite inférieure des échantillons a été réalisé à l'aide d'une table à succion, un dispositif classiquement utilisé pour la mesure de la courbe de rétention en eau des sols. Trois traitements de charges hydrauliques décroissantes ont été appliqués, différant du point de vue du nombre de paliers nécessaires pour couvrir la gamme de charges hydrauliques 0 à -100 cm (traitement Fast : 3 paliers, Medium : 4 paliers, Slow : 6 paliers). Tout d'abord, chaque échantillon a été saturé quatre jours à l'aide d'une solution enrichie en nitrates, puis désaturé par paliers successifs de 24 heures. Deux cycles de saturation/désaturation ont été appliqués successivement, selon le même schéma. Les échantillons ont été instrumentés de trois tensiomètres, disposés à trois profondeurs, et d'une sonde d'humidité. Le flux de N_2O a été mesuré à pas de temps fin, par la méthode des chambres statiques et à l'aide d'un analyseur à corrélation infrarouge.

On a proposé une méthode d'analyse des données originale, utilisant le paramètre de pente du flux de N_2O . Ce paramètre est en particulier adapté à l'étude des flux de N_2O en conditions dynamiques, puisqu'il intègre à la fois une information de durée et d'intensité du flux de N_2O . Deux types de pics de N_2O ont été observés. Un pic est apparu dans les deux premiers jours après la saturation en eau des échantillons. Ce pic est classiquement décrit dans la littérature et sa dynamique a été expliquée par l'adaptation progressive du métabolisme des microorganismes aux conditions anaérobies. Le second type de pic a été détecté aux deux premiers paliers de charges hydrauliques décroissantes. Ce second type de pic est particulièrement furtif, son maximum ayant été atteint en moyenne 1.6 heures après la modification de l'équilibre hydrique. On a pu le relier à la phase de décroissance rapide du potentiel matriciel au début de la phase de désaturation. Ce type de pic a été favorisé par la création de chemins gazeux avec le drainage de l'eau, et son intensité a été corrélée avec la quantité d'eau drainée. Ainsi, on a décrit le fonctionnement du sol pendant les cycles de saturation/désaturation comme suivant le modèle d'un réservoir qui se remplit et se vide de N_2O . Les conditions étant favorables à la production microbiologique de N_2O pendant la phase de saturation, le N_2O est produit, mais piégé dans les pores du sol ou en solution. Lorsque les conditions deviennent favorables à son transport rapide lors du drainage, il est émis à la surface du sol. Les plus fortes intensités de flux de la phase de désaturation ont été observées à des potentiels matriciels de -50 et de -100 cm, ce qui correspond à des diamètres de pores saturés d'eau de 60 et de 30 μm . La production de N_2O semble ainsi avoir lieu dans des pores de diamètre < 60 μm , lorsqu'ils sont remplis d'eau. Enfin, on a comparé l'intensité des flux de N_2O entre les deux cycles de saturation/désaturation. Ces flux tendent à diminuer au second cycle. Les hypothèses classiquement données dans la littérature concernent la dynamique du carbone et de l'azote au cours des cycles de saturation/désaturation. On a ajouté l'hypothèse du rôle d'une hystérèse hydrique, qui conduit entre autres au piégeage d'air dans les pores du sol lors de la seconde saturation en eau, réduisant ainsi la part des zones anoxiques favorables à la production de N_2O par la dénitrification.

Ces résultats ont montré que le paramètre WFPS seul ne permettait pas de prédire efficacement les émissions de N₂O par les sols, des processus de production et de transport devant être distingués. Ceci est particulièrement vrai en cas de modification de l'équilibre hydrique.

2.2 Introduction

Nitrous oxide has long been recognized as playing a role in stratospheric ozone depletion and global warming (World Meteorological Organization, 2007; Ravishankara et al., 2009). The increase in the N₂O atmospheric concentration during recent decades, at a rate of approximately 0.2% yr⁻¹ (Khalil et al., 2002a; Wuebbles, 2009), has made N₂O a matter of concern. Its atmospheric lifetime is approximately 120 yr, and its global warming potential is 300 times higher than that of CO₂ (World Meteorological Organization, 2007). Anthropogenic sources, primarily agricultural practices and their use of fertilizers, are estimated to account for approximately 40% of the N₂O emissions (Denman et al., 2007).

The water in soil is known to be a key factor for controlling N₂O emissions. The water-filled pore space (WFPS), i.e., the proportion of soil pore space filled with water (Linn & Doran, 1984), is often used to explain trends in N₂O emissions by soil. Indeed, WFPS directly determines the soil aerobic conditions because of its role as a barrier to O₂ diffusion (Grundmann & Rolston, 1987), gas diffusion and dissolution (Clough et al., 2005), microbial dynamics (Kieft et al., 1987; Stark & Firestone, 1995; Borken & Matzner, 2009), structural stability (van Gestel et al., 1991; Appel, 1998; Deneff et al., 2001), and substrate and microorganism transport (Stark & Firestone, 1995; Bateman & Baggs, 2005). Other indirect effects can also be linked to the water in soil, for example, the inhibition of N₂O reductase by O₂ (Knowles, 1982).

Consequently, water is of primary importance in models that predict N₂O emissions. A response function depending on the soil water content is often implemented in these models. The response function formulation is derived from experiments conducted at hydric equilibrium, i.e., without any macroscopic water flux in the soil. In these experiments, water is added to soil samples to reach a target water content, and the N₂O fluxes are then measured. One widely accepted water content response function has an exponential form starting at approximately 60% WFPS (Grundmann & Rolston, 1987; Hénault & Germon, 2000; Beare et al., 2009). Indeed, these hydric conditions create anaerobic sites that are favorable for denitrification and are not limiting for substrate diffusion or microbial transport (Bateman & Baggs, 2005). Other researchers have suggested a Gaussian relationship between WFPS and N₂O emissions (Davidson et al., 2000; Ciarlo et al., 2007; Castellano et al., 2010), driven by the reduction of N₂O to N₂ at WFPS > 90% and/or by the slower gas diffusion coefficient in soil with high water contents. Because of its shape, and despite numerous attempts to model N₂O emissions, the high sensitivity of the response function to soil water content is still responsible for prediction errors (Grundmann & Rolston, 1987; Heinen, 2006b).

Moreover, Groffman et al. (2009) noted the need for data to predict “hot moments”, i.e., high N₂O fluxes produced at the soil surface during brief periods. These fluxes are related to the temporal variability of N₂O emissions. Models often assume that N₂O emissions change immediately with

the variation of an environmental factor (Xing et al., 2011), and the temporal variability is usually taken into account in models through fertilization and meteorological input data. However, there is a need to account for the importance of time because soil water is characterized by a dynamic behavior. Thus, a hydric event should be considered to cause direct and also indirect effects with a substantial time lag.

The dynamic nature of N₂O emissions in response to water content changes can be demonstrated by the N₂O peak that is frequently observed from the rewetting of a dry soil, either by rain or as simulated under laboratory conditions (e.g., Sexstone et al., 1985; Groffman & Tiedje, 1988; Sanchez-Martin et al., 2010) as a consequence of the “Birch effect” (Birch, 1958). This phenomenon lasts 1 to 4 d after wetting (Fierer & Schimel, 2002). Some studies have tried to compare the effect of the direction of a hydric change, i.e., wetting or drying. Groffman & Tiedje (1988) reported hysteretic responses in N₂O emissions depending on whether a dry soil was rewetted or a wet soil was gradually dried: a peak appeared after rewetting, while emissions were lowered during desiccation. In addition, Kroeckel & Stolp (1986) recorded N₂O emissions following the rewetting of a dry soil that started at a lower water content compared with the case of the further wetting of an already wet soil. Some researchers have also reported that the N₂O peaks become less intense after several wetting-drying cycles (Muhr et al., 2008; Borken & Matzner, 2009). However, the effects of wetting-drying cycles on biomass and bacterial activity could lead to more contrasting results depending on whether the short or the long term is considered (Fierer & Schimel, 2002). In sum, these findings suggest a change from a static to a dynamic point of view. As highlighted by Groffman & Tiedje (1988), “models of denitrification driven by water content will not be accurate unless they consider the wetting history of the soil”.

Because the water in soil plays a key role in N₂O emissions, a detailed understanding of soil water dynamics is required to describe N₂O emissions as a dynamic process. In this study, we attempted to highlight the role of the hydric history on N₂O emissions by applying wetting-drying cycles to soil samples and determining the relative importance of N₂O emissions during wetting and drying. This study focused on the desaturation period, where we investigated the role of the intensity and the speed of soil drying.

2.3 Material and methods

2.3.1 Soil sampling

The study site is a commercial agricultural field covered by wheat (*Triticum aestivum* L.), located near Chartres, in the northwest of France (1.196°N, 48.376°E). It was chosen for the high N₂O emissions recorded in the field (Gu et al., 2011). The soils are classified as Haplic Abeluisols. Two sets of undisturbed soil cores (15-cm inner diameter by 7-cm height) were collected in January and May 2012 from the surface horizon (1–8 cm). The samples had the following properties: clay, 13.7%; silt, 82.0%; sand, 4.3%; soil pH, 6.0. The soil organic C (SOC) and total N contents are given in Table 2.1. The average bulk density (BD) of the soil samples was 1.32 ± 0.01 g cm⁻³ in January and 1.37 ± 0.01 g cm⁻³ in May (Table 2.1). The volumetric water content (VWC) at the sampling time

was $37.2 \pm 1.5\%$ in January and $36.8 \pm 0.7\%$ in May (equivalent to $73.8 \pm 2.5\%$ and $76.0 \pm 2.4\%$ WFPS, respectively). Samples were conditioned in plastic bags and stored field moist at 5°C . Before the start of the experiments, the samples were trimmed on each end and maintained at 20°C for 24 h.

Table 2.1 – Physical and chemical properties of the study site (initial) and of the soil samples at the end of the experiment.

Sample	Sampling period	Bulk density g cm^{-3}	Modal pore diameter μm	Soil organic C g kg^{-1}	Total N g kg^{-1}	C/N ratio	$\text{NO}_3\text{-N}$ mg kg^{-1}
Initial	Jan.	–	–	8.08	0.90	8.98	18.7
Initial	May	–	–	9.13	1.10	8.30	22.0
Fast-A	Jan.	1.32	3.10	8.78	1.00	8.78	84.0
Fast-B	Jan.	1.33	3.47	8.78	1.00	8.78	58.0
Fast-C	May	1.33	2.99	9.53	1.10	8.67	46.6
Fast-D	May	1.42	3.21	10.12	1.10	9.20	44.7
Medium-A	Jan.	1.30	3.72	8.26	0.90	9.17	43.1
Medium-B	Jan.	1.34	3.74	9.30	1.10	8.46	49.6
Medium-C	May	1.39	3.21	9.53	1.10	8.67	29.5
Medium-D	May	1.36	3.71	9.36	1.00	9.36	58.4
Slow-A	Jan.	1.28	3.46	7.67	0.90	8.53	38.0
Slow-B	Jan.	1.33	4.10	8.55	1.00	8.55	51.8
Slow-C	May	1.37	3.45	11.57	1.10	10.52	51.7
Slow-D	May	1.33	3.71	10.87	1.10	9.88	48.5

2.3.2 Experimental setup

2.3.2.1 Hydric control and monitoring

Our experimental design used a tension table (Eijkelkamp, Sandbox, 1.4-m air-entry value) which allows the study of N_2O emissions under a non-steady-state equilibrium near saturation with control of the bottom boundary conditions. A schematic overview of the experimental setup is given in Fig. 2.1. The tension table uses the principle of hydrostatic equilibrium to apply a target pressure head on a soil core placed on a layer of fine synthetic sand (Kutílek & Nielsen, 1994, p. 73–74). The negative pressure head applied to the bottom boundary of the soil core causes its drainage.

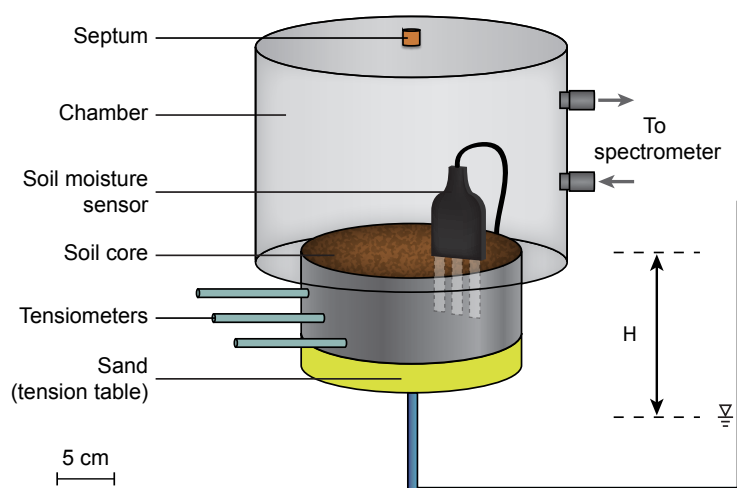


Figure 2.1 – Schematic overview of the experimental setup for hydric control and N₂O measurements (H : pressure head).

The matric potential of the soil cores was monitored with time using three homemade microtensiometers (porous ceramic cup, 20-mm length, 2.2-mm diam., 150-kPa air-entry value) inserted at three depths from the soil surface (3, 4, and 5 cm), thoroughly measured for each sample. The VWC was monitored with a soil moisture sensor (5TE, Decagon Devices) calibrated to assume an accuracy of 2% VWC (Decagon Devices, 2010). The temperature was also recorded at the soil surface by the soil moisture probe. The experiment was conducted under laboratory conditions, with the temperature ranging between 20 and 21°C. Data were recorded every 10 min with a datalogger (CR1000, Campbell Scientific). The calibration of the soil moisture probe was performed under the same conditions as our experimental setup (i.e., wetting solution, range of soil moisture, insertion of the probe, room temperature) on three undisturbed soil samples from the study site. The soil samples were first gradually saturated by adding solution from the bottom. They were then freely drained while the water content was controlled gravimetrically.

2.3.2.2 Wetting and drying cycles

Wetting-drying cycles using a KNO₃ solution were performed on each sample. Given that we worked in the near-saturation range, which is a level of water content that is typically involved in the denitrification process (Mathieu et al., 2006a), we used NO₃ as the substrate of N₂O production. The KNO₃ solution was prepared with deaired water to prevent air bubble formation. Its concentration ($4.1 \times 10^{-2} \text{ mol N L}^{-1}$) was assumed to be large enough so that it was not a limiting factor for N₂O emissions (Hénault & Germon, 2000).

Two wetting-drying cycles were performed on each sample to simulate a water table fluctuation in the soil cores (the first cycle is referred to as C1, and the second cycle is referred to as C2). The zero pressure reference level was the cylinder surface, and the initial water content in each soil sample was its water content at sampling. First, the level of the KNO₃ solution was raised to 1 cm

below the top of the soil cores to allow the samples to saturate for 4 d (C1 wetting phase). Raising the solution level from the bottom allowed quasi-saturation of the soil sample by avoiding air entrapment. Drying was then performed stepwise by applying a decreasing pressure head level once a day across the range 0 to –100 cm (C1 drying phase). A second cycle of saturation (C2 wetting phase) and desaturation (C2 drying phase) similar to the C1 cycle was then performed. Evaporation was prevented by keeping a chamber closed above the soil surface.

Three types of wetting-drying cycles were applied to study the effect of the intensity of a pressure head decrease (Table 2.2). The cycles varied by the number of water pressure head steps needed to reach the maximum –100 cm step. The cycles are hereafter referred as the Fast treatment (three values of pressure head), Medium treatment (four values), and Slow treatment (six values), and they lasted for 12, 14, and 18 d respectively. These variations in the pressure head are typical of those measured in the field during winter (data not shown). For each treatment, the beginning of a cycle was (i) saturation up to 0 cm and (ii) drainage down to –7 cm to ensure that all the samples experienced the same hydric history before applying larger pressure heads. This is a method of addressing the known heterogeneity in N₂O emissions by fixing at least the recent soil hydric history.

Table 2.2 – Treatments of decreasing pressure heads (one cycle). The reference level for zero pressure is the cylinder surface.

Treatment	Pressure heads applied successively (cm water column)
Fast	0, –7, –100
Medium	0, –7, –50, –100
Slow	0, –7, –25, –50, –75, –100

2.3.2.3 Gas measurements

The cover of the tension table was modified to fit airtight chambers over the soil cores. Leaks in the chambers were tested daily by adding 5 mL of the inert gas krypton to the headspace. Gases were sampled for krypton measurements in evacuated vials, and its concentration was determined by gas chromatography (μ GC Gas Analyzer T-3000, SRA Instruments). Nitrous oxide emissions were monitored by infrared correlation spectroscopy (Model 46i, Thermo Scientific) from the beginning of the experiment. The emissions were measured three to eight times a day for 30 min periods, and the concentration value was recorded every minute. Nitrous oxide fluxes were then calculated linearly from the observed change in concentration during 10 min for the first 20 min after the chamber was closed. The chambers were removed before each measurement to restore the atmosphere to ambient concentrations of gases. The possible N₂O production by the sand of the tension table was also evaluated by regularly sampling gases above areas of the tension table that were not covered by soil cores and analyzing them with gas chromatography. Throughout the experiments, the emissions by the sand were considered to be negligible.

2.3.2.4 Soil physical and chemical characterization

At the end of the experiment, the soil cores were disrupted and oven dried (48 h at 105°C) to determine their BD and porosity, assuming a particle density of 2.65 g cm⁻³. The WFPS was then calculated as the ratio between the VWC and porosity (Linn & Doran, 1984). The water outflow during the drying phase was determined from the soil moisture sensor data. The characterization of the pore size distribution of the soil samples in the pore diameter range 430 to 0.006 µm was performed by Hg intrusion porosimetry (AutoPore IV 9500, Micromeritics) on oven-dried aggregates of approximately 1 cm³. Two replicates for each soil core were measured. At a given pressure head step value, the maximum water-filled pore radius (r) was derived from the Jurin equation:

$$r = \frac{2\sigma \cos \gamma}{\rho g |h|} \quad (2.1)$$

where σ is the surface tension of water at 20°C, γ is the contact angle of water at 20°C, ρ is the density of water, g is the gravitational acceleration, and h is the soil matric potential recorded at a given pressure head.

The soil NO₃ content was determined by colorimetric analysis (Hach Lange, DR 2800) after the extraction from an 8-g soil sample using 0.5 mol L⁻¹ K₂SO₄. Total N was measured by the Dumas method, and SOC was measured by sulfochromic oxidation. Analyses were performed before (for each of the sampling periods) and after the experiment on the tension table.

2.3.3 Data analyses

Cumulative N₂O fluxes were calculated by linearly interpolating the N₂O flux values that were recorded with time, then integrating the area under the curve (Castellano et al., 2010; Dobbie et al., 1999).

Due to the discontinuity in N₂O emission measurements, the maximum intensity of emissions was not always captured during our experiments. We then analyzed the contribution of each pressure head step to the global N₂O emissions by calculating the slope of the N₂O flux curve just after the application of a pressure head step:

$$a_h = \frac{F(t_h) - F(t_{0,h})}{t(h) - t(0,h)} \quad (2.2)$$

where a is the N₂O flux slope (mg N m⁻² d⁻²), F is the N₂O flux (mg N m⁻² d⁻¹), h is the pressure head step, $t_{0,h}$ is the time of the first flux measurement of a given pressure head step (d), and t_h is the time of the last flux measurement to consider (d). Such a parameter allows quantitative comparison of N₂O emissions between samples and decreasing pressure head steps even when there are incomplete flux chronicles, i.e., without knowing the maximum flux of a step. Furthermore, this parameter is well adapted to the study of N₂O emissions dynamics because it combines the notions of time and flux intensity.

The effect of hydric cycles, sampling periods, pressure head steps or treatments were assessed by a Mann-Whitney U test or a Kruskal-Wallis test at the 5% level. Correlations were assessed by the calculation of Spearman correlation coefficients. Both the means and their associated standard errors of means are reported.

2.4 Results

2.4.1 Soil physical and chemical properties

The average BD of the soil samples collected in January was a little but significantly lower than that of the samples collected in May ($p < 0.01$, Table 2.1). The modal pore diameter as determined by porosimetry analysis was in the range of 2.99 to 4.10 μm (Table 2.1). These small differences between soil samples on small aggregates led us to hypothesize that differences in the BD were caused by differences in the macroporosity. Total N and SOC at the sampling time were in the same order of magnitude in January and May but were slightly higher in May. This trend remained the same after the experiment on the tension table ($p < 0.05$, Table 2.1). There was no statistically significant difference in SOC or total N between treatments ($p > 0.05$). Before the experiments, the NO_3 content of the soil cores was in the same order of magnitude in January and May. At the end of the experiment, the soil NO_3 concentrations ranged between 28.5 and 84.0 mg N kg^{-1} , which confirms that NO_3 was supplied in excess (Table 2.1). No trend was observed between the final nitrate concentration and the N_2O emissions, the sampling period or the treatment applied ($p > 0.05$).

2.4.2 Hydric control

After the hanging water column was moved to a lower pressure head step, the soil matric potential decreased abruptly and then reached a plateau (Fig. 2.2). The time needed for the matric potential to reach the plateau was computed from tensiometer records (Table 2.3). The plateau was reached within approximately 5, 7, and 10 h after lowering the pressure head to -7 , -25 and -50 cm, respectively, and was reached more rapidly during C2 than during C1 (not significant, $p > 0.05$). The 24-h increments between the pressure head steps were not always long enough for the matric potential to stabilize, especially for the -75 and the -100 cm pressure head steps. The phase of steep decline in the matric potential was defined by fitting the best linear regression to the tensiometer records at the beginning of a pressure head step (mean $R^2 = 0.91$). The time of the end of this phase was reported in Table 2.3.

The mean WFPS values at the matric potential plateau were calculated for each wetting-drying cycle (Table 2.3). The WFPS was $> 60\%$ for all pressure head steps in the 0 to -100 cm range and throughout all of the cycles. The hydric conditions were thus favorable for denitrification (Grundmann & Rolston, 1987; Hénault & Germon, 2000). Moreover, for a given pressure head step, we did not find any significant difference in WFPS between treatments ($p > 0.05$), which demonstrated a good reproducibility between experiments. No significant difference in WFPS was observed between the two cycles for a given pressure head step ($p > 0.05$); however, the WFPS

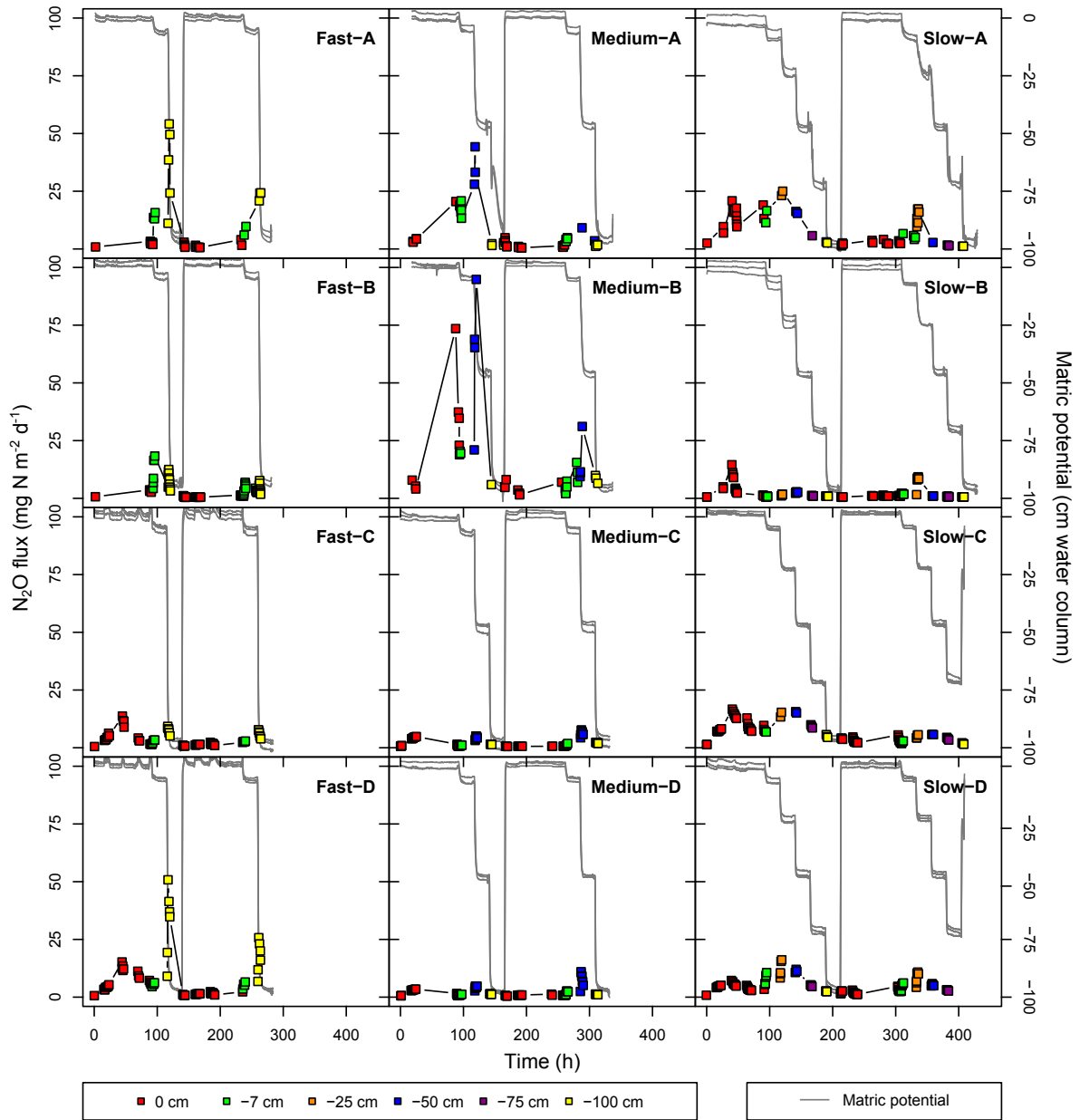


Figure 2.2 – Monitoring of the N₂O fluxes of the 12 soil samples and of the soil matric potential by the three tensiometers (Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values). For the sake of readability, the measurement points are linearly interpolated.

Table 2.3 – Evolution of the water-filled pore space (WFPS) and characterization of the soil matric potential dynamics (average \pm standard error) at each pressure head step from 0 to -100 cm.

Cycle	0 cm <i>n</i> = 15	-7 cm <i>n</i> = 12	-25 cm <i>n</i> = 4	-50 cm <i>n</i> = 8	-75 cm <i>n</i> = 4	-100 cm <i>n</i> = 12
WFPS, %						
C1	98.3 \pm 1.5	88.4 \pm 2.0	83.4 \pm 2.3	80.3 \pm 2.5	77.9 \pm 2.3	76.6 \pm 2.2
C2	95.1 \pm 2.1	85.9 \pm 2.4	81.0 \pm 3.3	78.1 \pm 2.2	75.9 \pm 3.1	75.2 \pm 2.5
Time to reach equilibrium, h						
C1	–	6.1 \pm 0.5	8.5 \pm 1.3	11.2 \pm 1.1	15.1 \pm 2.7	15.4 \pm 1.1
C2	–	5.1 \pm 0.4	5.7 \pm 0.7	9.3 \pm 1.1	19.2 \pm 1.8	15.8 \pm 1.0
End of the phase of steep decline in water potential, h						
C1	–	2.2 \pm 0.2	1.1 \pm 0.1	1.6 \pm 0.3	1.2 \pm 0.3	1.0 \pm 0.1
C2	–	2.0 \pm 0.1	2.5 \pm 0.8	1.6 \pm 0.3	0.9 \pm 0.2	1.0 \pm 0.1

appeared to be consistently lower during C2. This difference was equal to -3.2% WFPS at the 0 cm step and to -1.1% WFPS at the -100 cm step. Although the experiment was designed to limit air entrapment by using an upward saturation, a small hydric hysteresis occurred.

2.4.3 Nitrous oxide emissions

The intensity of N_2O fluxes was highly variable among the sampling periods and among the treatments (Fig. 2.2). The mean cumulative N_2O fluxes were $63.1 \pm 18.0 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ for the Fast treatment, $100.1 \pm 60.0 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ for the Medium treatment, and $96.9 \pm 25.2 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ for the Slow treatment (not significant, $p > 0.05$). The lowest emissions were recorded for the Medium-C and Medium-D samples, whereas the highest emissions were recorded for the Medium-B sample.

Emissions were not monotonic with time and exhibited peaks induced by the pressure head steps (Fig. 2.2). Two types of N_2O peaks could be identified:

1. During the wetting phase (C1-0 or C2-0), the N_2O fluxes first increased slowly to reach a maximum and then decreased. For the Fast-D sample, for example, the N_2O fluxes increased from 0.2 to $14.8 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ during 44 h after rewetting (P_{sat} peak) and then decreased to $5.1 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, 90 h after the application of the pressure head (Fig. 2.3). The mean time for the peak to occur in all samples was 51.1 ± 21.7 h after rewetting.
2. During the drying phase, the N_2O fluxes first increased rapidly and then decreased. For the Fast-D sample, the N_2O fluxes at the -100 cm step reached a maximum only 1.2 h after the application of the pressure head at $50.4 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. They then decreased to $34.4 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at 3.9 h after the application of the pressure head (Fig. 2.3). For all of the samples, these P_{desat} peaks reached their maximum value within 1.6 ± 0.2 h after the pressure head was decreased. A linear relationship can be observed between the time of the maximum N_2O flux and the end of the phase of steep decline in the matric potential, taking into account all of the steps ($R = 0.61$, $p < 0.01$). The P_{desat} peaks were not observed in every pressure head step, especially the last pressure head steps of a cycle.

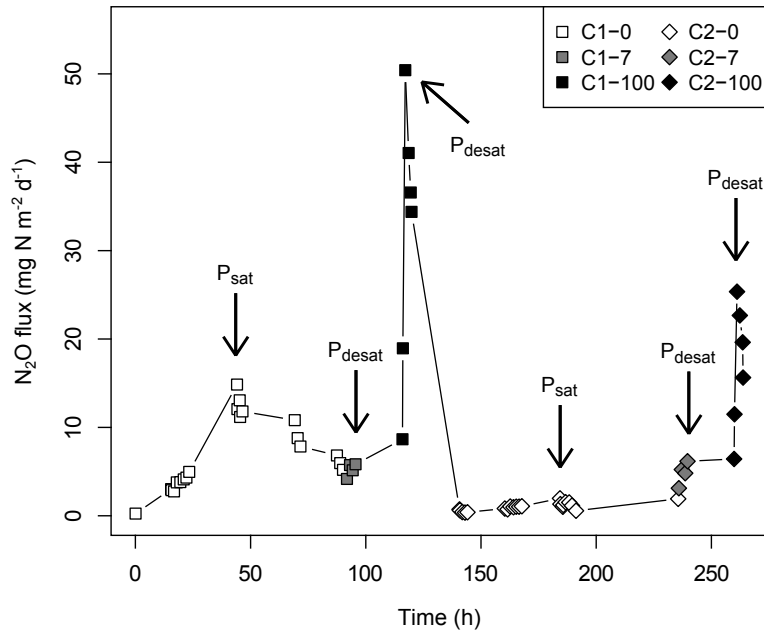


Figure 2.3 – Nitrous oxide fluxes with time of the Fast-D sample (squares and diamonds). Arrows indicate peak localization (P_{sat} is peak flux during the wetting phase, P_{desat} is peak flux during the drying phase; in the key, numbers refers to the negative pressure head applied in centimeters, C1 is the first cycle, C2 is the second cycle). For the sake of readability, the measurement points are linearly interpolated.

To analyze the data, we calculated the contribution of each step of the wetting-drying cycles on the total N_2O emissions by computing the a parameter (Eq. [2]). We did not find evidence of any effect of the sampling period ($p > 0.05$) for the C1-0 step, but a small effect appeared at the C1-7 step ($p = 0.05$). Emissions were significantly higher in January than in May. This difference is directly linked to the significantly higher BD at the second sampling period ($p < 0.01$): samples that had a BD that was $> 1.33 \text{ g cm}^{-3}$ showed a weaker N_2O flux slope (Fig. 2.4). However, this effect was not observed in the C2 cycle ($p > 0.05$).

Considering the first wetting-drying cycle, high N_2O fluxes were recorded during the wetting phase, but the N_2O flux slope was always low compared with some of the drying steps (e.g., at C1, $0.3 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-2}$ during wetting and $8.3 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-2}$ during drying for the highest P_{desat} peaks) (Fig. 2.5). For every sample, a peak of similar intensity was recorded at the -7 cm pressure head step, across the range of 0.02 to $4.8 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-2}$. The highest P_{desat} peaks occurred during the pressure head step following the -7 cm pressure head step: i.e., step -100 cm for the Fast treatment, step -50 cm for the Medium treatment, and step -25 cm for the Slow treatment. The mean a parameter of these peaks was highly variable between samples: $12.0 \pm 4.6 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-2}$ for the Fast treatment, $11.0 \pm 5.7 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-2}$ for the Medium treatment, and $1.7 \pm 0.8 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-2}$ for the Slow treatment. The influence of the following steps became negligible after the highest P_{desat} peak was complete for all of the pressure heads applied ($p < 0.0001$ with the following steps).

By comparing the pressure head steps responsible for the highest P_{desat} peaks (i.e., step -100 cm for the Fast treatment, -50 cm for the Medium treatment, and -25 cm for the Slow treatment), we found a relationship with the volume of water drained after decreasing the pressure head ($R = 0.80$,

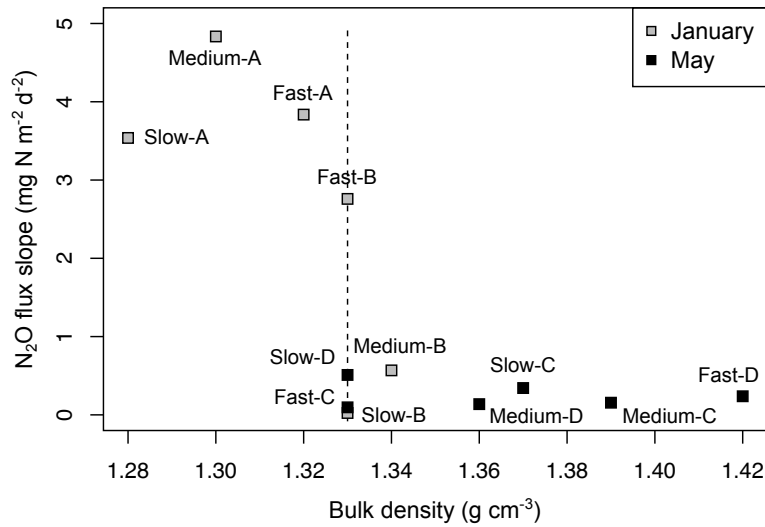


Figure 2.4 – Relationship between the N₂O flux slope and the bulk density at the -7 cm pressure head of the first wetting-drying cycle (Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values).

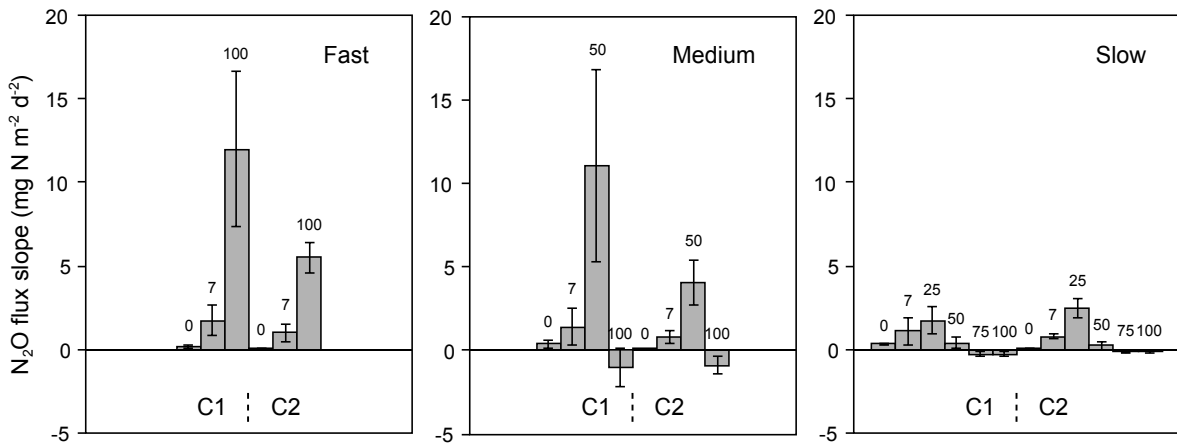


Figure 2.5 – Nitrous oxide flux slope from the initial moment of changing water potential according to the pressure head step (numbers refers to the negative pressure head applied in centimeters, C1 is the first cycle, C2 is the second cycle; Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values). Error bars represent standard errors.

$p < 0.05$) (Fig. 2.6). However, this effect was valid only if the N_2O flux was still high at the end of the wetting phase, as can be observed with the points that were sized according to the magnitude of the flux at the end of the saturation step in Fig. 2.6. It is also noteworthy that the N_2O flux slope was occasionally negative (Fig. 2.5), especially just after a P_{desat} peak.

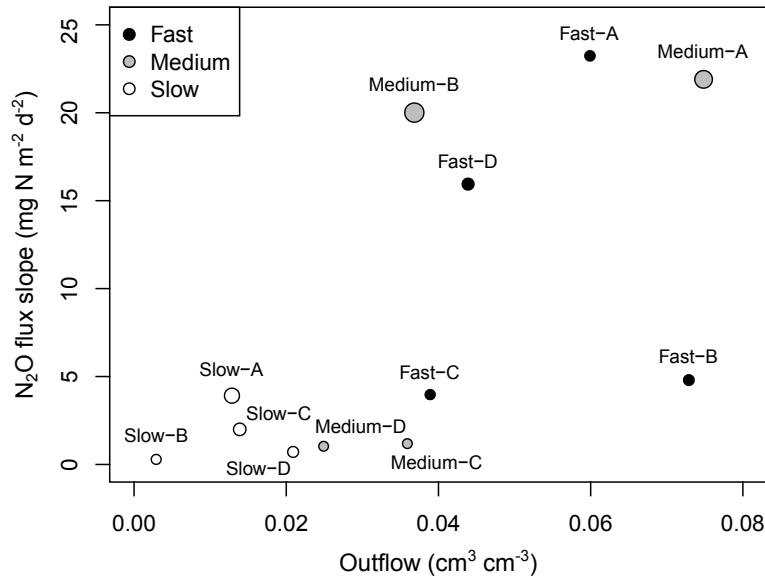


Figure 2.6 – Relationship between N_2O flux slope and the amount of water drained at the second step of the decreasing pressure head (Fast: -100 cm, Medium: -50 cm, Slow: -25 cm pressure head) of the first wetting-drying cycle. The points are proportional in size to the N_2O flux at the end of the wetting step.

The N_2O flux slopes showed similar patterns during C1 and C2 (Fig. 2.5), i.e., (i) little contribution during the wetting phase on the N_2O flux slope (C1-0 or C2-0), (ii) similar response between samples at the -7 cm pressure head step (C1-7 or C2-7), and (iii) highest P_{desat} peaks immediately after the -7 cm pressure head step. However, it is noteworthy that the fluxes were often lower during C2 than during C1 at the 0 cm step: the maximum fluxes were 7.5 ± 2.4 times lower at C2 than at C1, and the N_2O flux slope was equivalent to 0.30 ± 0.08 mg N m⁻² d⁻² at C1 and 0.03 ± 0.01 mg N m⁻² d⁻² at C2. For the -7 cm pressure head step, the trends were more complex: the N_2O flux slope tended to be higher in C2 when the outflow was higher in C2. The high variability observed between samples in C1 for the steps following the -7 cm pressure head step was reduced in C2, with N_2O flux slopes across the range 0.8 to 7.9 mg N m⁻² d⁻², which is the same order of magnitude as the lowest N_2O flux slopes at C1. Additionally, the volume of water drained did not seem to affect the N_2O flux slope intensity at C2 ($R = 0.27$, $p > 0.05$).

2.5 Discussion

2.5.1 Discriminating the N₂O peaks

Two types of N₂O peaks were observed. According to their width and the time lag after the hydric event, the peaks appear to represent two different processes. During the wetting phase to saturation, the P_{sat} peaks occurred within 2 to 3 d after wetting and could be attributed to microbial processes because denitrifying microorganisms gradually adapt to anaerobic conditions (Laville et al., 2011). This type of peak has often been captured in the field or laboratory soon after the rewetting of a soil (e.g., Sexstone et al., 1985; Groffman & Tiedje, 1988; Sanchez-Martin et al., 2010). In contrast, the P_{desat} peaks during the drying phase may be related to physical processes. These peaks occurred just after the decrease of the pressure head, when the shift in soil matric potential was the fastest. In this respect, a relationship has been observed between the time of the maximum N₂O flux and the end of the steep decline in the soil matric potential. The N₂O emissions could have originated from gas that was previously entrapped in pore space during the wetting phase. Nitrous oxide may also have been released from the soil solution as it moved to reach equilibrium. Nevertheless, this type of experimental setup provides no indisputable evidence for the exact origin of the released N₂O, that is, from the gaseous or liquid phase. The two processes may have occurred at the same time.

Previous studies that sampled gas inside the soil or disrupting soil cores have reported that a large part of the N₂O was still entrapped in water-saturated soils after a short-term experiment (e.g., Weier et al., 1993; Wollersheim et al., 1987). Clough et al. (1998) observed that 7.4% of the ¹⁵N-labeled NO₃ that was added at the beginning of their experiment was recovered entrapped in soil pores after 38 d and that 2% was dissolved in the soil solution, whereas < 1% was emitted as N₂O. Nitrous oxide emissions have already been observed by Huang et al. (2007) to be higher during natural drying than during wetting. They hypothesized that cracks formed at the soil surface raised the O₂ concentration, enhancing the N₂O emissions. Conversely, the soil solution was saturated with N₂O in their water-saturated soil sample.

2.5.2 The effect of drying intensity and drying history

Peaks of N₂O emissions were observed during the drying phase for all pressure head steps from -7 to -100 cm. From a quantitative point of view, the rate of N₂O released was related to the amount of water drained (Fig. 2.6). When the pressure head is decreased, the air-water interface withdraws to the bottom of the soil cylinder and exposes pores to the atmosphere as the water drains. For a large pressure head decrease, the finer pores are drained, therefore the volume concerned is large and gas emissions are important. In addition, the degassing of the dissolved N₂O is more likely to occur when large amounts of water are moved. Clough et al. (2000) already observed gas displacement into the soil after a hydric event: N₂O was displaced downward by the application of water to the soil surface. Castellano et al. (2010) found that the maximum N₂O flux rates occurred at a mean matric potential of -3.75 kPa for soils of different textures in their free drainage experiment. They concluded that peaks occurred when pores > 80 μm were drained. This is consistent with our findings, where the highest fluxes were observed from the -50 and -100 cm steps, equivalent to

a maximum water-filled pore diameter of approximately 60 and 30 μm , respectively. [Castellano et al. \(2010\)](#) concluded that the size of the water-filled pores was an important controlling factor of N_2O emissions. In our experiment, BD appeared to also be a determinant of the N_2O flux slope at the -7 cm step but not for higher steps. Indeed, at the -7 cm pressure head step, only pores > 420 μm were free of water. The water movements in these large pores during drainage favor the equilibrium between the liquid and the gaseous phases according to Henry's law and therefore N_2O emission to the atmosphere. Moreover, gas diffusion through these macropores is favored for low BD because N_2O production microsites are more likely to be connected to the soil surface. At higher suction values, more gas pathways are available and the effect of BD is weaker. Therefore, the pore size distribution is important because macropores are involved in the gas transport, whereas the microbiological production of N_2O takes place in the water-filled micropores ([Heincke & Kaupenjohann, 1999](#)).

However, the fact that high fluxes did not last more than two drying steps and that the N_2O flux slope was sometimes negative suggests a reservoir-based functioning. Adopting the terms of [Yoh et al. \(1997\)](#), an active phase and a late phase may be distinguished. During the active phase, the production of N_2O by microorganisms is the major process that produces N_2O and the poor gas diffusivity at high water content leads to the entrapment of a part of this N_2O in the soil in the gaseous or liquid phase. During the late phase, N_2O production is low and the major process is the release of the accumulated N_2O . However, whereas [Yoh et al. \(1997\)](#) stressed that the contribution of the late phase was of little importance because of the short residence time of N_2O in soils, our study demonstrates that it can be of major importance in the case of changing hydric equilibrium. In addition, in our experiments, the N_2O flux slope was recorded to be negative when the N_2O emissions returned to a baseline after a peak. This suggests that no additional entrapped gas existed. The N_2O flux to the soil surface is faster in a dry soil than in a wet soil; therefore the production occurring during the drying phase can be easily released and is not likely to be entrapped. The total amounts of N_2O emissions were estimated by calculating the cumulative N_2O fluxes and were found to be in the same order of magnitude for the three treatments of decreasing pressure heads. Even if the different treatments affected the dynamics of N_2O emission (magnitude and speed), the same cannot be said for the total amounts of N_2O that were emitted. Therefore, it can be inferred that the soil drying, in the range that we applied, did not alter the production process differently in the three treatments.

The hydric history of the soil was also considered through the second wetting-drying cycle. During the wetting phase, the fluxes were less intense during C2 than during C1. A possible explanation arising from our experiment is that this trend may have been caused by the hydric hysteresis between the primary wetting-drying curve and the main wetting-drying curve of the soil water retention curve. Indeed, the second saturation of soil entraps air in such a way that saturation cannot be complete ([Kutřlek & Nielsen, 1994](#)). In our study, the WFPS fell by 3.2% between the C2-0 step and the C1-0 step; therefore anoxic conditions and N substrate supply were slightly reduced. A decrease in N mineralization in a second wetting-drying cycle has already been reported and was attributed to the disruption of microbial activity during the rise or decrease of the water potential, which can be seen as a hydric stress ([Muhre et al., 2008](#)). It has also been attributed to an

increasing proportion of tolerant microorganisms or their adaptation to water stress which reduced the microbial nutrient release (Fierer & Schimel, 2002; Mikha et al., 2005) and their metabolic capacities (Schimel et al., 2007). Other researchers have implicated a shortage of mineralizable C after a previous cycle of enhanced microbial activity (Fierer & Schimel, 2002). Furthermore, because the effect of the physical disruption of soil aggregates on the protection of organic matter is limited to few wetting and drying cycles (Denef et al., 2001), less C substrate would have been released during C2. Given the short duration of the experiment in the current study, no shortage of organic C was observed.

As previously noted, the N₂O production was lower during C2 than during C1, as observed with N₂O fluxes at the 0 cm step (Fig. 2.2). Therefore, during the drying phase, the N₂O flux slope could not be related to the amount of water drained at C2 using the same model as for C1. While the reservoir was filled with N₂O as in the C2-7 step, the relative contributions of C1 and C2 were linked to the relative amount of water drained: the N₂O flux slope was higher at C1 when the outflow was higher at C1. However, this trend cannot be transposed for the following drying steps because the amount of N₂O entrapped was limiting. In addition, the shorter time to reach the plateau near the hydric equilibrium at C2 provided a shorter window of opportunity to release N₂O.

2.5.3 A dynamic link between N₂O fluxes and the WFPS?

Under steady-state conditions, the values taken into account to build the WFPS-N₂O flux relationship are often maximum N₂O fluxes of soil samples at hydric equilibrium (e.g., Grundmann & Rolston, 1987; Hénault & Germon, 2000). Under these conditions, 60% WFPS is known to be favorable for N₂O emissions, because the physical and biological conditions are considered to be suboptimal for nitrification and denitrification. Indeed, neither substrate diffusion nor the O₂ diffusion is limiting (Bateman & Baggs, 2005). Micropores are water-filled, promoting microbial activity, whereas macropores are air-filled, allowing efficient aeration of the soil (Davidson et al., 2000). Furthermore, the reduction of N₂O into N₂ is not likely to occur near 60% WFPS because N₂O reductase is inhibited by O₂ (Knowles, 1982). The observations in our present study could not reproduce such a simple relationship because the system was in a non-steady-state equilibrium. Therefore, the N₂O flux emissions measured at a given time depended on the previous hydric state.

From a dynamic point of view, we have demonstrated the need to link the water content and diffusion processes in addition to addressing aspects of N₂O production. Indeed, diffusion can be extremely lowered when a soil is water filled (De Wever et al., 2004; Thorbjørn et al., 2008). We therefore recommend using a gas diffusion model in addition to the static WFPS-N₂O relationship to estimate natural N₂O fluxes. In this respect, Yoh et al. (1997) successfully modeled N₂O fluxes from Fick's law and the estimated N₂O production rate. To quantify the impact of the deployment of a closed chamber on the measured fluxes, Venterea et al. (2009) and Conen & Smith (2000) also modeled N₂O diffusion from soil to a closed-chamber by applying gas transport theory. Moreover, when the soil is unsaturated, solid-induced tortuosity and water-induced disconnectivity also affect the gas diffusion (Thorbjørn et al., 2008). Solid-induced tortuosity is an intrinsic parameter, depending on the soil texture and soil structure, whereas water-induced disconnectivity is governed

by the water content and the direction of the change in water content (wetting or drying). Satisfying hydrostatic requirements, water and air are distributed into the soil to reach equilibrium. The water-filled pore diameter depends on the pore diameter, surface tension, and contact angle between the solid surface and water, according to the Jurin-Laplace law. This results in saturated portions of the porous network that can be disconnected from the air percolating network and would then constitute potential volumes of N₂O, either entrapped as gas pockets or dissolved in the liquid phase. The role of the porous network structure was taken into account by [Laudone et al. \(2011\)](#), who built a modeled pore network composed of macro- and micropores. They used Fickian diffusion corrected for the tortuosity of the microporosity to estimate the diffusion from hotspots of biological activity.

Considering N₂O emissions as a dynamic mechanism ultimately requires taking into account three types of time-dependent processes: gradual or sequential processes (e.g., microbial growth, unsteady water flow, sequential biogeochemical reactions), time lags (e.g., storage and diffusion of gases into the soil), and indirect effects (e.g., cell lysis after rewetting the soil and the reuse of the released nutrients as substrate).

Our study highlights the role of the state of the hydric equilibrium of the soil on N₂O emissions, which may be responsible for the high temporal variability of N₂O fluxes observed in the field. The limited diffusion of gases in the soil when pores are water filled can lead to errors in flux calculations using the headspace method because steady-state conditions are never reached under field conditions ([McCarty et al., 1999](#)). Furthermore, because the change in water content is relatively fast after irrigation or rainfall, underestimations of N₂O fluxes may occur if peaks are not captured by a large gas sampling interval ([Xing et al., 2011](#)). Our study underscores the fact that N₂O peaks can occur with similar intensity during the wetting or drying phase, suggesting that field sampling should be performed at both of these two periods with a fine temporal resolution. Monitoring the water content, or better, the water potential, appears to be an indispensable aid in choosing the sampling period and its time interval and in explaining and modeling the trends that are observed.

2.6 Conclusion

In previous studies, the intensity of N₂O emissions and their evolution with time were often explained by microbial population dynamics that faced variations in environmental conditions. The experiments performed in this study were intended to demonstrate the additional role of soil water on N₂O emissions dynamics.

Nitrous oxide peaks appeared to be induced by changes in the matric potential. They were observed after both small (–7 cm water column) and more intense (–100 cm) drying events. The highest emissions were detected within the first two steps of the decreasing pressure head for all the treatments applied. Because the hydric conditions were favorable for N₂O emissions (WFPS > 60%) throughout the experiments, these highest emissions at the beginning of the drying phase could not be directly linked with the aerobic state of the soil, as is usually performed with the

WFPS-N₂O flux exponential or Gaussian relationship. Entrapment of N₂O may have occurred during the wetting phase, and rapid displacement may have occurred during the drying phase. Two types of peaks were identified and were linked to different mechanisms: production during the wetting phase and release of the gas that was entrapped in soil pores or dissolved in the soil solution. The intensities of the peaks during the drying phase were correlated with the amount of water drained in the first wetting-drying cycle and occurred during the steep decline of the soil matric potential, approximately 1 to 2 h after lowering the pressure head. This short interval can explain why this type of peak during the drying phase has not been described in previous studies.

The fact that the intensities of the N₂O peaks during the drying phase can be higher, although peaks last for less time, than those of the wetting phase, highlights the need to take into account the hydric history of soils and its physical processes in the understanding of N₂O emissions by soils.

Acknowledgements: We are grateful to D. Colosse, P. Courtemanche and G. Giot for their technical help in the experimental design of this study. We also thank C. Le Lay for assistance in field sampling and A. Besnault and O. Josière for laboratory analysis. Carbon and nitrogen analyses were graciously performed by the SAS Laboratoire. This work was supported by a Conseil Général du Loiret grant, by the Spatioflux program funded by the Région Centre, FEDER, INRA and BRGM, and by the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01).

Chapitre 3

Compréhension du fonctionnement à l'échelle macroscopique : Effet du fonctionnement hydrodynamique

Dans le Chapitre 2, on a vu que l'intensité des émissions de N_2O ne pouvait pas être reliée directement à la valeur du WFPS dans le cas d'une modification de l'équilibre hydrique, puisque des processus physiques s'ajoutent, voire prennent le pas sur les processus microbiologiques. En particulier, une corrélation entre la quantité d'eau drainée et l'intensité des émissions de N_2O a été observée. Ainsi, un lien avec le fonctionnement hydrodynamique des sols semble exister. Il sera mis en évidence dans ce chapitre, sur une sélection de paramètres influant sur le fonctionnement hydrodynamique. Ce chapitre est rédigé sous la forme d'un article scientifique, sous la référence : Rabot, E., Hénault, C., Cousin, I. Effect of some soil hydrodynamic properties on nitrous oxide emissions.

Le dispositif expérimental utilisé a été construit spécialement pour cette étude. Son montage est décrit plus précisément dans l'Annexe A, sous la forme d'un article soumis au *Cahier des Techniques de l'INRA*.

3.1 Résumé

Un dispositif de *multistep outflow* a été utilisé afin d'appliquer des cycles de saturation/désaturation à des échantillons de sol, sans avoir à les déplacer. Un couplage avec un analyseur de N_2O a permis d'étudier leur réponse en termes d'émissions de N_2O en conditions de non-équilibre hydrique. Les

échantillons de sol ont été connectés à un réservoir d'eau afin de contrôler leur saturation en eau par le bas, et à une pompe à vide et une fiole à vide afin de contrôler leur désaturation. La continuité hydraulique entre les échantillons et le système de saturation/désaturation a été assurée par une céramique poreuse. Les échantillons ont d'abord été saturés pendant quatre jours à l'aide d'une solution enrichie en nitrates, puis désaturés pendant trois jours. Ce cycle de saturation/désaturation a été appliqué deux fois. La quantité d'eau drainée a été mesurée à l'aide d'une balance, tandis que trois tensiomètres ont permis le suivi du potentiel matriciel au sein des échantillons. Le flux de N_2O a été mesuré plusieurs fois par jour à une résolution temporelle fine et le flux de CO_2 a été mesuré une fois par jour. Contrairement aux expérimentations du Chapitre 2, des échantillons reconstitués ont été fabriqués au laboratoire, afin d'en fixer la structure. Trois paramètres, ayant une influence sur la vitesse et l'intensité du transport d'eau ont été testés, et ont été fixés à deux niveaux chacun : la densité apparente (BD : 1.35 et 1.45 $g\ cm^{-3}$), la charge hydraulique minimum appliquée lors de la désaturation (H : -100 et -300 hPa) et la conductivité hydraulique de la céramique poreuse située à la base de l'échantillon de sol (K : $8.6 \times 10^{-8}\ m\ s^{-1}$ et $7.6 \times 10^{-9}\ m\ s^{-1}$). Chaque combinaison des trois facteurs a été répliquée trois fois, ce qui a conduit à huit combinaisons différentes et 24 échantillons. Par ailleurs, on a caractérisé la conductivité hydraulique à saturation et la courbe de rétention en eau sur des échantillons de BD = 1.35 et 1.45 $g\ cm^{-3}$.

Un pic de N_2O a été observé sur l'ensemble des échantillons, au début du premier cycle de saturation. Les flux de N_2O ont ainsi été plus intenses au premier cycle qu'au deuxième cycle de saturation. Ce pic a été attribué à une activité microbiologique accrue, du fait d'une augmentation de la quantité de substrats carboné et azoté après la préparation des échantillons au laboratoire. Un bref pic de N_2O a également été observé au début de la période de désaturation, tout comme dans le Chapitre 2. En 24 heures de désaturation, les flux ont ensuite retrouvé leur valeur de base. Une partie du N_2O a ainsi été piégée dans le sol pendant la phase de saturation, puis émise pendant la phase de désaturation, avec l'augmentation du nombre de chemins gazeux. Un lien a été établi entre la valeur du flux cumulé de N_2O et la quantité d'eau drainée, ainsi qu'entre le flux maximum de N_2O et la quantité d'eau drainée, favorisant l'hypothèse d'une forte influence des processus de transport d'eau. En comparant la valeur des flux cumulés de N_2O des huit traitements au terme des deux cycles de saturation/désaturation, on a pu établir que K a eu un effet prépondérant sur l'intensité des flux pour les échantillons de BD = 1.35 $g\ cm^{-3}$ ($p < 0.05$), tandis que H a eu un effet prépondérant pour les échantillons de BD = 1.45 $g\ cm^{-3}$ ($p < 0.05$). Ainsi, les flux mesurés ont été d'autant plus forts que la charge hydraulique était fortement négative et que la conductivité hydraulique de la céramique poreuse était élevée. Grâce à une modélisation de la vitesse des flux d'eau, on a pu montrer qu'aux premiers instants de la désaturation elle était, elle aussi, d'autant plus élevée que la charge hydraulique était fortement négative et que la conductivité de la céramique poreuse était élevée. De plus, la densité apparente affectant la distribution de la taille des pores, on a pu observer des conséquences sur le transport gazeux. Ainsi, contrairement aux autres traitements, le point d'entrée d'air n'a pas été dépassé pour les échantillons de BD = 1.45 $g\ cm^{-3}$ et H = -100 hPa, conduisant à de faibles quantités d'eau drainées et de faibles émissions de N_2O . Un premier effet des propriétés hydrodynamiques testées a ainsi concerné la facilité de la libération du N_2O depuis le sol vers l'atmosphère. Par ailleurs, les paramètres BD et H ont eu une influence supplémentaire sur la valeur du WFPS. Le WFPS a été mesuré comme étant plus élevé dans les

échantillons de $BD = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$ que dans ceux de $BD = 1.35 \text{ g cm}^{-3}$, que ce soit en saturation ou en désaturation. A forts WFPS, la réduction du N_2O en N_2 est favorisée. Un second effet des propriétés hydrodynamiques testées a ainsi concerné la production de N_2O et sa consommation. L'influence relative des différents facteurs testés sur les flux cumulés de N_2O a été évaluée à l'aide d'une régression linéaire multiple, et s'est avérée être, par ordre d'importance : $H > BD > K$. Cette hiérarchie pourrait être affectée par la modification des niveaux des facteurs testés.

L'effet du fonctionnement hydrodynamique des sols a concerné la facilité de l'émission de N_2O vers l'atmosphère, la production et la consommation de N_2O . Certains modèles de prédiction des flux de N_2O permettent de reconstruire des chroniques de WFPS à pas de temps fin, à partir des paramètres hydrauliques des sols. Afin d'être efficaces, l'enjeu pour ces modèles devrait être la modélisation du transport hydrique.

3.2 Introduction

Soils are a major source of nitrous oxide (N_2O), a potent greenhouse gas, as they account for two third of the anthropogenic N_2O sources, in particular through agricultural practices and their use of fertilizers (Ciais et al., 2013). Because N_2O concentration in the atmosphere is still increasing (Khalil et al., 2002a), reliable data and a better knowledge of the N_2O emission process are needed. Microbial N_2O production is mainly done by denitrification (Bateman & Baggs, 2005). Among others, this reaction is triggered by the soil water content, because of its role as a barrier to oxygen transport (Kroeckel & Stolp, 1986). Indeed, anaerobic conditions are required for denitrifying bacteria to reduce nitrate and finally form N_2O and dinitrogen. Thus, attention has been paid to study the role of the water content in the intensity of N_2O emissions. Peaks of N_2O emission have frequently been observed from the rewetting of dry soils (Groffman & Tiedje, 1988; Harrison-Kirk et al., 2013; Sexstone et al., 1985). They lasted from one to four days (Fierer & Schimel, 2002). Their magnitude was partly explained by the degree of anaerobiosis of the soil, estimated through the water-filled pore space (WFPS, the proportion of soil pore space filled with water; Linn & Doran, 1984), soil matric potential (Balaine et al., 2013; Castellano et al., 2010; Kroeckel & Stolp, 1986), or redox potential (Ciarlo et al., 2007).

The processes of N_2O microbial production, consumption, and transport from the soil to the atmosphere, were most of the time assimilated into the term N_2O emissions. However, retardations between the microbial production and the moment when N_2O can be measured at the soil surface have been demonstrated (Clough et al., 1998; Rabot et al., 2014; Weier et al., 1993; Wollersheim et al., 1987). Xing et al. (2011) observed their highest N_2O fluxes 1 to 10 hours after the peak of WFPS. Retardation in N_2O emission is partly linked to entrapment, i.e, the retardation of N_2O diffusion in the gaseous phase due to the presence of soil water occupying soil pores and the associated dissolution of the N_2O in the water phase (Clough et al., 2005). McNicol & Silver (2014) separated the effects of the water content and of the anoxia level on N_2O emissions, by flooding a soil sample or creating an anaerobic headspace. They showed that N_2O production was sensitive to the redox effects of oxygen depletion and that flooding can have additional effects on gas transport and availability of dissolved solutes. Rabot et al. (2014) showed a correlation between the outflow and

the intensity of N₂O emissions during soil drying. They hypothesized that it was due to a release of the entrapped N₂O, from the gaseous and liquid phases as the soil dried. Soil hydrodynamic properties, defining the water retention and transport, seem to override some other production factors in the specific case of soil drying. Improving our knowledge on the emission process could help in understanding and modeling the high temporal variability of the N₂O fluxes often observed in the field.

Because water flow and aerobic conditions influence N₂O emissions, this study aimed at testing the effect of some soil hydrodynamic properties on N₂O production and emission in a laboratory experiment, during two wetting and drying cycles.

3.3 Material and methods

3.3.1 Soil samples

Soil material was collected in February 2013, from the surface horizon (0–10 cm) of a Glossic Retisol (WRB, 2014). It was located near Chartres, in the northwest of France (1.196°N, 48.376°E), in the same location as the study of Rabot et al. (2014). At the sampling time, the field was cultivated with rape (*Brassica napus* L.). Samples had a silt loam texture, a soil pH of 6.5, the soil organic carbon was 9.0 g kg⁻¹, the total nitrogen content was 1.09 g kg⁻¹, and the nitrate content was 55.9 mg N kg⁻¹. The bulk soil was first dried at 25°C, sieved to < 5 mm, and mixed. The water content of the soil dried at 25°C was determined by drying an aliquot at 105°C. This value was used to wet the soil dried at 25°C to 20% gravimetric water content before packing to specific bulk densities in 15-cm inner diameter by 7-cm height cylinders.

3.3.2 Experimental setup

3.3.2.1 Hydric control and monitoring

The experiment consisted in controlling the hydric status of each soil core with a multistep outflow system (Weihermüller et al., 2009). This system allowed applying several wetting-drying cycles, without moving the soil core, while controlling the wetting and drying intensities. The soil core was connected to a water-tank to control its wetting from the bottom, following the Mariotte bottle principle, and connected to a vacuum pump to control its drying (Figure 3.1). Hydraulic continuity between the bottom of the soil core and the outflow vessel was ensured with a porous ceramic plate (Soilmoisture Equipment Corp.) previously saturated with water. The system was sealed with silicon to avoid water or gas leaks. The water outflow was collected in a sampling bottle and its weight was monitored with a balance (0.1 g precision). The outflow was used to estimate the soil water-filled pore space (WFPS). The water potential was monitored with three microtensiometers (porous ceramic cup, 20-mm length, 2.2-mm diam., 150-kPa air-entry value) inserted at three depths from the soil surface (0.5, 1, and 2 cm), thoroughly measured for each sample. Data were recorded every 10 min with a datalogger (CR1000, Campbell Scientific). The experiment was conducted under laboratory conditions, with the temperature ranging between 20 and 21°C.

The soil core was first saturated for four days by raising the water level in the water-tank to the soil surface, until a few mm thick water layer was visible at the soil surface. Then a negative pressure was applied at the bottom of the soil core for three days. This wetting and drying cycle was applied two times (hereafter referred to as C1 and C2 cycles). The wetting fluid was a KNO_3 solution with a concentration ($4.1 \times 10^{-2} \text{ mol NL}^{-1}$) assumed to be large enough so that it was not a limiting factor for N_2O emissions (Hénault & Germon, 2000). It was prepared with de-aired water to prevent air bubble formation. At the end of the experiment, the nitrate content was determined by colorimetric analysis (Hach Lange, DR 2800) after the extraction from an 8-g soil sample using $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$.

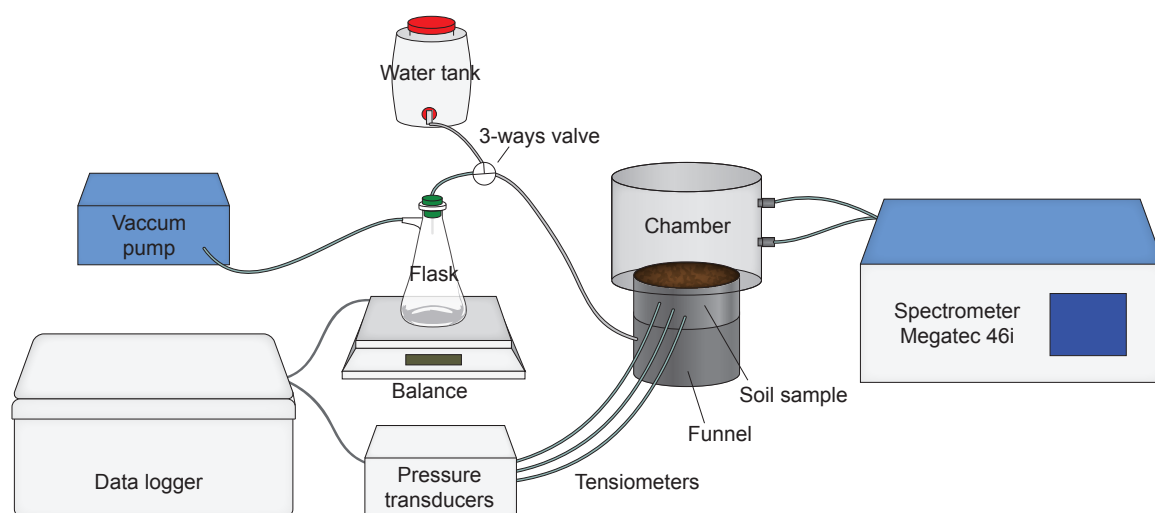


Figure 3.1 – Schematic overview of the multistep outflow system for hydric control and nitrous oxide measurements.

3.3.2.2 Treatments of soil hydrodynamic properties

Three variables which are known to affect the water flow were tested: the bulk density (BD), the minimum pressure head applied on the cylinder (H), and the intensity of the water flow (K). Each of the three factors had two levels, and each combination was replicated three times, leading to eight combinations and 24 soil samples. These factors and their respective levels are summarized in Table 3.1. The bulk density was varied between the two levels, by packing a known soil mass inside the 15-cm diameter by 7-cm height cylinders. Their values were chosen to be typical of the agricultural areas of the study site. Bulk density is supposed to directly affect the volume of pores, the mean pore diameter, and the tortuosity. The minimum pressure head applied at the bottom of the soil core was controlled with the vacuum pump. The intensity of the water flow was controlled with the type of porous ceramic plate placed at the bottom of the soil sample. The ceramic plates used in the experiment have a saturated hydraulic conductivity of $8.6 \times 10^{-8} \text{ m s}^{-1}$ for the high flow (HF) level, and $7.6 \times 10^{-9} \text{ m s}^{-1}$ for the standard flow (SF) level, both with an air-entry potential $< -1000 \text{ hPa}$. They mimic a soil horizon of low hydraulic conductivity, such as the clay illuviation horizon located below the sampled horizon of the Glossic Retisol of the study site.

Table 3.1 – Factors and levels of the treatments used in the study.

Factors	Levels	
Bulk density (BD)	1.35 g cm ⁻³	1.45 g cm ⁻³
Intensity of soil drying (H)	-100 hPa	-300 hPa
Intensity of water flow (K)	High flow 8.6 × 10 ⁻⁸ m s ⁻¹	Standard flow 7.6 × 10 ⁻⁹ m s ⁻¹

3.3.2.3 Gas measurements

The multistep outflow system for hydric control was coupled with a N₂O analyzer (N₂O Analyzer model 46i, Thermo Scientific) to monitor N₂O concentrations by infrared correlation spectroscopy. A closed-chamber of 4 L volume was fixed over the soil to measure accumulation of gases for 20-min periods, three to eight times a day. The concentration value was recorded every minute. Given the linear increase of the N₂O concentration in the closed-chamber, N₂O fluxes were calculated linearly from the observed change in concentration on 10-min periods. The N₂O measurements were recorded, i) on the first and the last days of the wetting phase, and ii) every day of the drying phase. Moreover, after N₂O concentration measurements, gases inside the chamber were sampled in evacuated vials, and carbon dioxide (CO₂) concentration was determined by gas chromatography (μGC Gas Analyzer T-3000, SRA Instruments). The chamber was removed before the start of each measurement to restore the atmosphere to ambient concentrations of gases.

3.3.3 Soil hydric modeling

The saturated hydraulic conductivity (K_s) was measured on two soil samples packed at BD = 1.35 and BD = 1.45 g cm⁻³ with the KSAT commercial device (UMS), by using the falling head technique. The soil water retention curve was then evaluated with the Wind method (Tamari et al., 1993; Wind, 1968). After wetting to saturation, the soil sample was subjected to evaporation under laboratory conditions. Five tensiometers were inserted into the soil cylinders to measure the water potential gradient. The evolution of the soil water content was monitored by continuously weighting the soil sample. By using the ESPAS algorithm (Ruy et al., 2004), the soil water retention curve was then modeled according to the van Genuchten (1980) formalism [eq. (3.1)].

$$\frac{\theta - \theta_r}{\theta_s - \theta_r} = \frac{1}{[1 + (\alpha h)^n]^m} \quad (3.1)$$

where h is the matric potential, θ is the volumetric water content, θ_s is the saturated water content, θ_r is the residual water content, α , n and m are curve fitting parameters, with $m = 1 - 1/n$.

Simulations of the water flux during drying were performed by solving the Richard's equation with the Hydrus-1D software (Simunek et al., 2008), in its direct configuration. We simulated a 7-cm soil sample located above a 1-cm porous ceramic plate, with 161 nodes. No-flux boundary condition was imposed at the upper boundary. At the lower boundary, the imposed pressure head varied from saturation to -100 hPa in the one hand, and from saturation to -300 hPa in the other hand. The initial pressure heads corresponded to the saturation of the soil sample. We used the results of the

Wind and K_{SAT} experiments and data from the ceramic plate manufacturer to parameterize the Mualem (1976) and van Genuchten (1980) equations used in the model.

3.3.4 Data analyses

Cumulative N₂O and CO₂ fluxes were calculated by linearly interpolating the flux values that were recorded with time, then integrating the area under the curve (Castellano et al., 2010; Dobbie et al., 1999). It was realized with the MESS package (Ekstrom, 2014) built on R (R Development Core Team, 2012). Treatment or hydric period effects were assessed by using the nonparametric test of Mann-Whitney at the 5% level. Correlations were assessed by the calculation of Pearson correlation coefficients. A multiple linear regression was used to assess the relative influence of the controlled factors on the cumulative N₂O emissions, by comparing the standardized coefficients and their significance. Cumulative N₂O fluxes were first log transformed. Both the means and their associated standard errors of mean are reported.

3.4 Results

3.4.1 Soil hydraulic dynamics

Estimated hydraulic parameters of the samples of BD = 1.35 and BD = 1.45 g cm⁻³ are given in Table 3.2. They were quite similar between the BD = 1.35 and BD = 1.45 g cm⁻³ samples. The difference in BD led to differences in the air-entry potential (calculated as the inverse of the α parameter) and saturated hydraulic conductivity of the soil samples. The air-entry potential was 70 cm and 120 cm for the BD = 1.35 and BD = 1.45 g cm⁻³ samples, respectively. So, the air-entry potential was reached at the end of the drying phase for the two treatments of H (i.e., -100 and -300 hPa) for BD = 1.35 g cm⁻³ samples, but only for the -300 hPa treatment for BD = 1.45 g cm⁻³ samples. The saturated hydraulic conductivity was slightly higher for BD = 1.35 than for BD = 1.45 g cm⁻³ samples.

An example of the measured matric potential dynamics is given in Figure 3.2 for a sample of BD = 1.45 g cm⁻³, H = -300 hPa, and K = HF. As soon as the vacuum pump was activated, the soil matric potential first decreased abruptly, and then decreased more slowly to finally reach a plateau. In this example, the hydric equilibrium was not reached after three days of soil drying at C1, but it was probably reached at the end of C2. The increase of the soil matric potential to 0 cm water column after the C2 rewetting took two hours in this example.

Table 3.2 – Estimated hydraulic parameters of the samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm⁻³.

Bulk density g cm ⁻³	θ_s cm cm ⁻³	θ_r cm cm ⁻³	α m ⁻¹	n	m	K_s m s ⁻¹
1.35	0.49	1.77×10^{-5}	1.433	1.262	0.208	2.57×10^{-7}
1.45	0.46	7.96×10^{-5}	0.833	1.282	0.220	1.79×10^{-7}

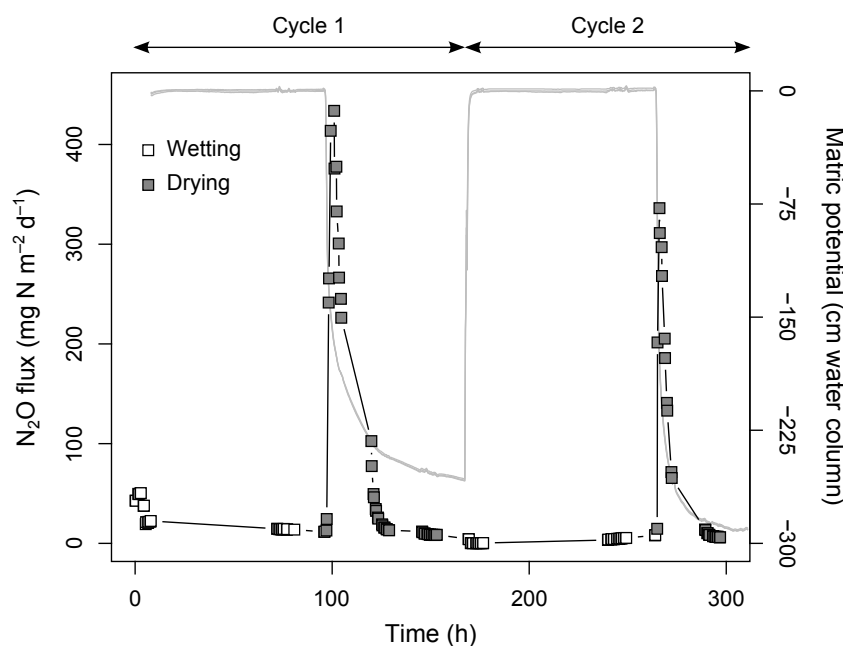


Figure 3.2 – Evolution with time of the nitrous oxide fluxes and the matric potential measured by the three tensiometers (grey lines) of a sample of $BD = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$, $H = -300 \text{ hPa}$, and $K = \text{HF}$, during two wetting-drying cycles. For the sake of readability, the measurement points are linearly interpolated.

The measured WFPS at the end of each wetting and drying phases are given in Table 3.3. The WFPS ranged between 98.3% and 57.4% at C1, and between 98.3% and 61.2% at C2 for the $BD = 1.35 \text{ g cm}^{-3}$ samples. It ranged between 101.8% and 71.2% at C1, and between 101.2% and 69.1% at C2 for the $BD = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$ samples. Values higher than 100% were linked to a surface water layer and some shrinkage and swelling during the wetting and drying cycles. WFPS was higher for $BD = 1.45$ than for $BD = 1.35 \text{ g cm}^{-3}$ samples for each wetting and drying phases ($p < 0.05$). Considering the effect of the two wetting-drying cycles, no significant difference in the WFPS was found between the C1 and C2 wetting phases, nor between the C1 and C2 drying phases, for the $BD = 1.35$ or for the $BD = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$ samples ($p > 0.05$). Thus, the first and second cycles were similar from the hydric point of view. However, higher WFPS were generally observed at C2 than at C1 during the drying phase for $BD = 1.35 \text{ g cm}^{-3}$ samples ($p > 0.05$). Considering the effect of the treatments of hydrodynamic parameters, no effect of BD , H or K was found during the wetting phase for $BD = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$ samples ($p > 0.05$), but an effect of H was found on the $BD = 1.35 \text{ g cm}^{-3}$ samples ($p < 0.05$). During the drying phase, an effect of H was found, where the lowest WFPS were found for $H = -300 \text{ hPa}$, for $BD = 1.35$ and $BD = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$ samples ($p < 0.05$). During the drying phase, an effect of K was also found for $BD = 1.35 \text{ g cm}^{-3}$ samples ($p < 0.05$), as the SF treatment tended to produce samples with a slightly higher WFPS, but no effect was found for $BD = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$ samples ($p > 0.05$).

Table 3.3 – Evolution of the water-filled pore space (WFPS, mean \pm standard error) at the end of the first (C1), and the second (C2) wetting-drying phases.

Treatment			WFPS (%)			
BD	H	K	C1 wetting	C1 drying	C2 wetting	C2 drying
1.35	-100	HF	98.3 \pm 0.5	72.4 \pm 0.2	98.3 \pm 0.5	77.9 \pm 1.0
1.35	-100	SF	97.7 \pm 0.4	75.7 \pm 7.7	97.6 \pm 0.3	87.1 \pm 1.1
1.35	-300	HF	95.4 \pm 1.7	57.4 \pm 2.7	95.3 \pm 1.7	61.2 \pm 3.4
1.35	-300	SF	94.5 \pm 1.6	64.1 \pm 4.7	94.5 \pm 1.6	72.4 \pm 4.5
1.45	-100	HF	101.2 \pm 0.8	91.1 \pm 1.6	101.2 \pm 0.8	95.4 \pm 0.7
1.45	-100	SF	98.4 \pm 0.4	88.0 \pm 1.0	98.3 \pm 0.4	89.5 \pm 2.0
1.45	-300	HF	98.7 \pm 0.8	71.2 \pm 2.9	98.7 \pm 0.8	69.1 \pm 0.5
1.45	-300	SF	101.8 \pm 2.5	85.5 \pm 6.9	100.7 \pm 3.6	85.0 \pm 6.9

3.4.2 N₂O and CO₂ fluxes

An example of the N₂O flux dynamics is also presented in Figure 3.2 for the sample of BD = 1.45 g cm⁻³, H = -300 hPa, and K = HF. Fluxes remained low during the C1 and C2 wetting phases. However, a small N₂O peak could be seen at the very beginning of the C1 wetting phase, lasting approximately 8 hours. This peak has been observed in each sample of our data set. Higher N₂O peaks were then observed at the beginning of the C1 and C2 drying phase (Figure 3.2). The peak was higher at C1 than at C2 (in this example, 433.7 mg N m⁻² d⁻¹ at C1 and 336.1 mg N m⁻² d⁻¹ at C2). After these two peaks, fluxes returned to a baseline after 24 hours of soil drying, when the matric potential became closer to equilibrium. The dynamics of this example was representative of the dynamics of all the studied soil samples.

Maximum N₂O fluxes were higher for the drying phases than for the wetting phases ($p < 0.0001$), except for the H = -100 hPa, K = SF treatment of the BD = 1.45 g cm⁻³ samples (Figure 3.3). Whatever the bulk density, the minimum pressure head and the saturated hydraulic conductivity of the porous plate, fluxes were higher for the C1 wetting phase than for the C2 wetting phase ($p < 0.0001$). No significant difference was found between the C1 drying phase and the C2 drying phase ($p > 0.05$). An effect of K was found for BD = 1.35 g cm⁻³ samples at the C1 drying phase ($p < 0.05$), whereas an effect of H was found for BD = 1.45 g cm⁻³ samples at the C1 drying, C2 wetting and C2 drying phases ($p < 0.05$). The maximum N₂O flux can be described by an exponential relationship with the measured outflow (Figure 3.4). Figure 3.4 also shows that the outflow was generally lower for the BD = 1.45 than for the BD = 1.35 g cm⁻³ samples.

Cumulative N₂O fluxes ranged between 278 and 577 mg N m⁻² d⁻¹ for BD = 1.35 g cm⁻³ samples, and between 130 and 561 mg N m⁻² d⁻¹ for BD = 1.45 g cm⁻³ samples (Figure 3.5). Cumulative N₂O fluxes were generally higher for BD = 1.35 than for BD = 1.45 g cm⁻³ samples, except for the H = -300 hPa and K = SF treatment. The relative contribution of the drying phase in the cumulative N₂O fluxes was 51 \pm 7% for BD = 1.35 g cm⁻³ samples, and 40 \pm 7% for BD = 1.45 g cm⁻³ samples. An effect of K was found for BD = 1.35 g cm⁻³ samples ($p < 0.05$), where the highest saturated

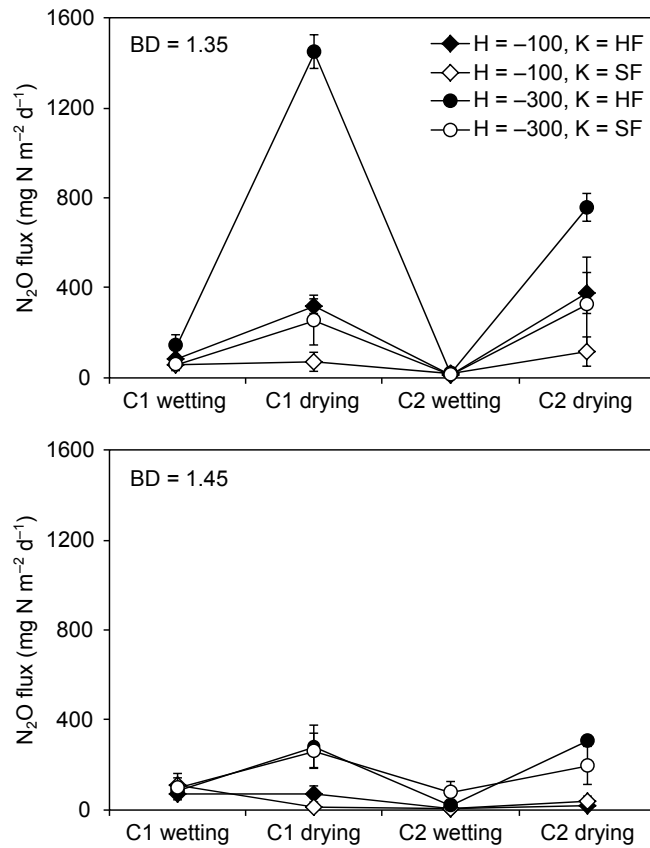


Figure 3.3 – Maximum nitrous oxide fluxes recorded during the four successive hydric steps (C1: first wetting-drying cycle, C2: second wetting-drying cycle) for soil samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm^{-3} (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, in hPa, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder, HF: high flow, SF: standard flow). Error bars represent standard error of the mean ($n = 3$).

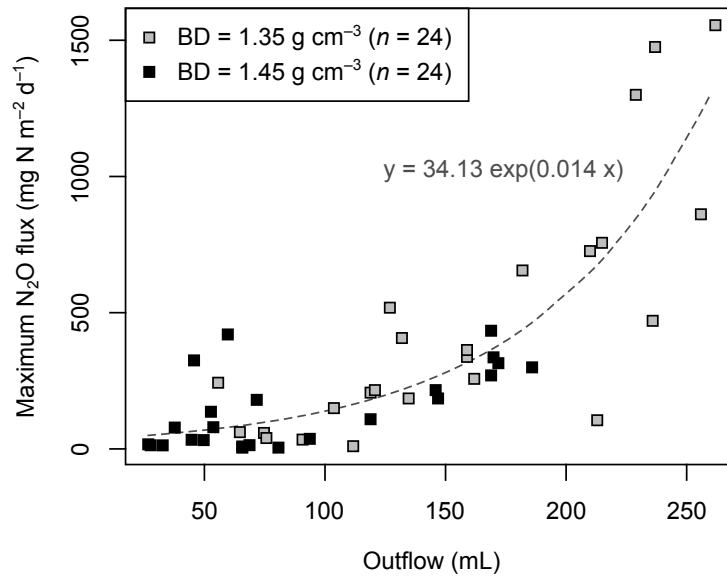


Figure 3.4 – Relationship between the maximum nitrous oxide flux during the first and the second drying phases and the measured outflow.

hydraulic conductivity of the ceramic plate led to the highest N₂O fluxes. For the BD = 1.45 g cm⁻³ samples, an effect of H was found ($p < 0.05$), where the lowest pressure applied at the bottom of the soil core led to the highest N₂O fluxes. By comparing the two wetting-drying cycles, we found that cumulative N₂O fluxes were higher at C1 than at C2 during the wetting phase ($p < 0.0001$), whatever the treatment, and was higher at C1 than at C2 during the drying phase for 2/3 of the soil samples. The relative contribution of the C1 cycle compared to C2 was $69 \pm 4\%$. The cumulative N₂O flux at the end of the two wetting-drying cycles was correlated to the total outflow ($R = 0.75$, $p < 0.0001$, removing one outlier). The multiple linear regression of the log transformed cumulative N₂O emissions on the controlled factors gave $R^2 = 0.45$ and $p < 0.001$. The relative influence of the controlled factors was given by the absolute value of the standardized coefficients, and was, in the order of importance: 0.61 for H, 0.35 for BD, and 0.27 for K.

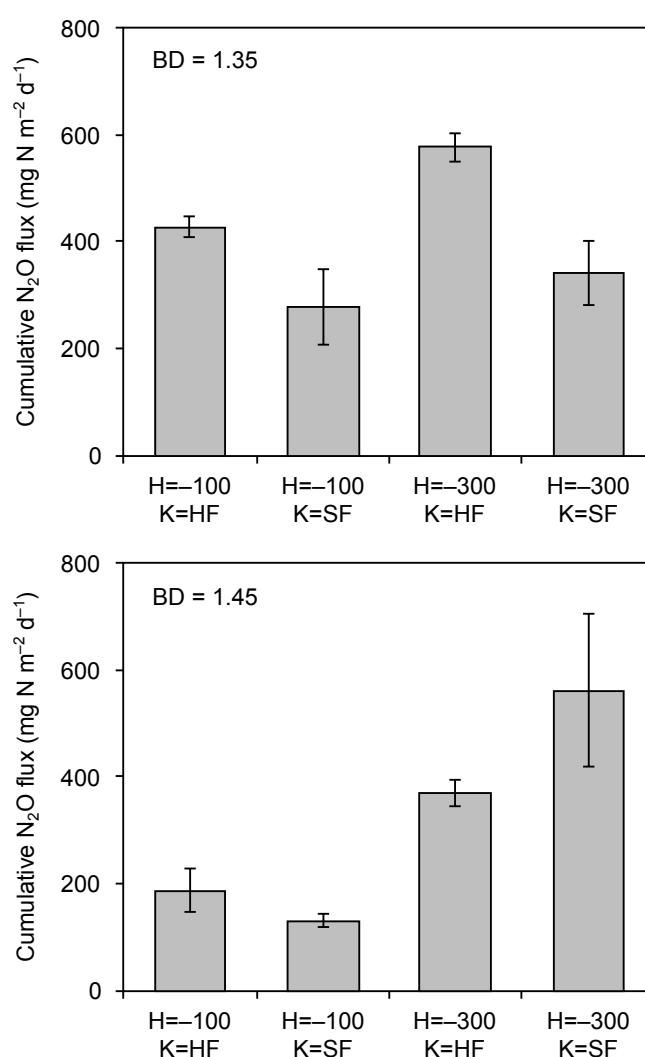


Figure 3.5 – Cumulative nitrous oxide fluxes at the end of the second wetting-drying phase for samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm⁻³ (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, in hPa, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder, HF: high flow, SF: standard flow). Error bars represent standard error of the mean ($n = 3$).

Trends in the CO₂ flux dynamics were similar to those of the N₂O fluxes (Figure 3.6). However, the H = -100 hPa, K = SF samples showed a different response. Considering the whole data set, maximum CO₂ fluxes tended to be higher for the drying phases than for the wetting phases ($p < 0.0001$). Fluxes were not significantly different between C1 and C2, both for the wetting and the drying phases ($p > 0.05$). An effect of K was found at the C1 drying phase for BD = 1.35 g cm⁻³ ($p < 0.05$), like for N₂O. An effect of H was found during the drying phase both at C1 and C2 for BD = 1.45 g cm⁻³ ($p < 0.05$), like for N₂O. Cumulative CO₂ fluxes were not significantly different between C1 and C2 ($p > 0.05$). No effect of BD, or K was observed on the cumulative CO₂ fluxes ($p > 0.05$), but an effect of H was observed for BD = 1.45 g cm⁻³ samples ($p < 0.05$). Moreover, from a methodological point of view no trend was observed with the order the experimentations took place and the cumulative N₂O and CO₂ fluxes.

3.4.3 Ancillary parameters

An effect of H was found on the soil nitrate content in the BD = 1.35 g cm⁻³ samples ($p < 0.05$; Table 3.4), but not for the BD = 1.45 g cm⁻³ samples. The nitrate content in the soil was higher in the BD = 1.35 than in the BD = 1.45 g cm⁻³ samples ($p < 0.0001$).

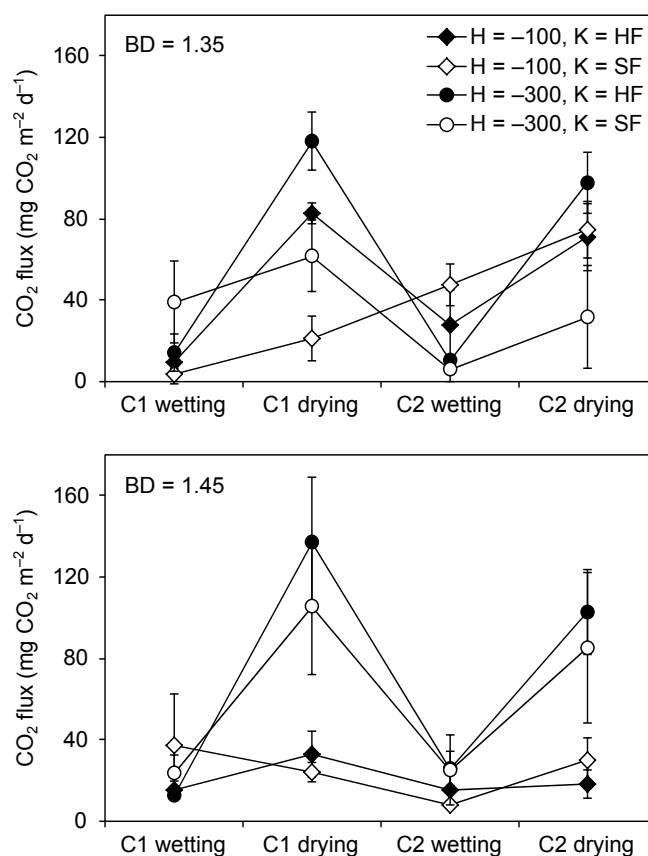


Figure 3.6 – Maximum carbon dioxide fluxes recorded during the four successive hydric steps (C1: first wetting-drying cycle, C2: second wetting-drying cycle) for soil samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm⁻³ (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, in hPa, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder, HF: high flow, SF: standard flow). Error bars represent standard error of the mean ($n = 3$).

Table 3.4 – Nitrate concentration (mean \pm standard error) in the soil at the end of the two wetting-drying cycles.

BD	Treatment		NO ₃ ⁻ -N mg N kg ⁻¹
	H	K	
1.35	-100	HF	145.9 \pm 9.9
1.35	-100	SF	136.7 \pm 16.3
1.35	-300	HF	111.6 \pm 13.6
1.35	-300	SF	97.6 \pm 9.3
1.45	-100	HF	78.6 \pm 10.4
1.45	-100	SF	74.2 \pm 5.7
1.45	-300	HF	65.9 \pm 3.2
1.45	-300	SF	78.8 \pm 9.6

3.5 Discussion

3.5.1 Conceptualizing the role of hydrodynamic processes

Although N₂O is known to be produced in soil samples with high WFPS (e.g., Beare et al., 2009; Grundmann & Rolston, 1987), our experiment showed N₂O fluxes which were generally higher during the drying phase than during the wetting phase. This trend was also seen with CO₂ emissions, and may be related to the lower gas diffusion into wet soils (Buckingham, 1904; Campbell, 1974). Rabot et al. (2014) showed that N₂O is likely to be entrapped in the soil during the wetting phase and to be released later during the soil drying with the increase of the gas diffusivity. Similar behavior may have occurred here, and the intensity and speed of N₂O emissions will be discussed from this point of view.

The effects of some soil hydrodynamic properties on N₂O emissions were observed. In the cumulative and maximum N₂O flux data, the most intense N₂O emissions were generally recorded during the drying phase caused by a low pressure head applied at the bottom of the soil core (H) and a high hydraulic conductivity of the ceramic plate (K). However, the effect of K was dominating for BD = 1.35 g cm⁻³, whereas the effect of H was dominating for BD = 1.45 g cm⁻³.

Simulated profiles of water flux just after the beginning of the soil drying of samples of BD = 1.35 g cm⁻³ are presented in Figure 3.7, for a period of 200 minutes, corresponding to the period when increasing N₂O fluxes were recorded. For higher K, the intensity of the water flux was higher at the very beginning of the soil drying, and then decreased non-linearly with time until the effect of K on the water flux disappear. The rapid transport by gas diffusion and N₂O release from the water phase are favored by the water movement. In the same way, for lower H, the pressure head gradient at the beginning of the soil drying is higher (Figure 3.8), leading to a high water fluxes at the beginning of the drying phase (Figure 3.7) and an easy release of the N₂O entrapped in the gaseous phase and degassing from the aqueous phase. An additional effect of the H value concerns

the size of the water-filled pores. According to the Jurin-Laplace law, the size of the water-filled pores is smaller for lower H values. The water-filled pore size is an important factor affecting N₂O emissions (Castellano et al., 2010), because the small pores are expected to be the place of the microbial production by denitrification (Heincke & Kaupenjohann, 1999). When these small pores drain, entrapped N₂O can be released, and the environment becomes oxidic. To summarize, both K and H have an effect on the intensity of the water flux, with implications on the N₂O emission process by gas diffusion, and H has an additional effect on the WFPS value at the end of the drying phase, with implications on the N₂O production process.

3.5.2 The specific case of bulk density

The effect of BD on the water flow and the pore size distribution can also influence the intensity and speed of N₂O emissions. Considering its physical effect, for high BD, the mean pore diameter is small, the pore volume, the amount of pore connections to the atmosphere, and the air-entry potential are low. Moreover, considering its influence on the gas-liquid equilibrium, the low water content at a given WFPS leads to a low quantity of N₂O stored in the soil solution. These physical and chemical effects do not favor the emission of the N₂O entrapped toward the soil surface.

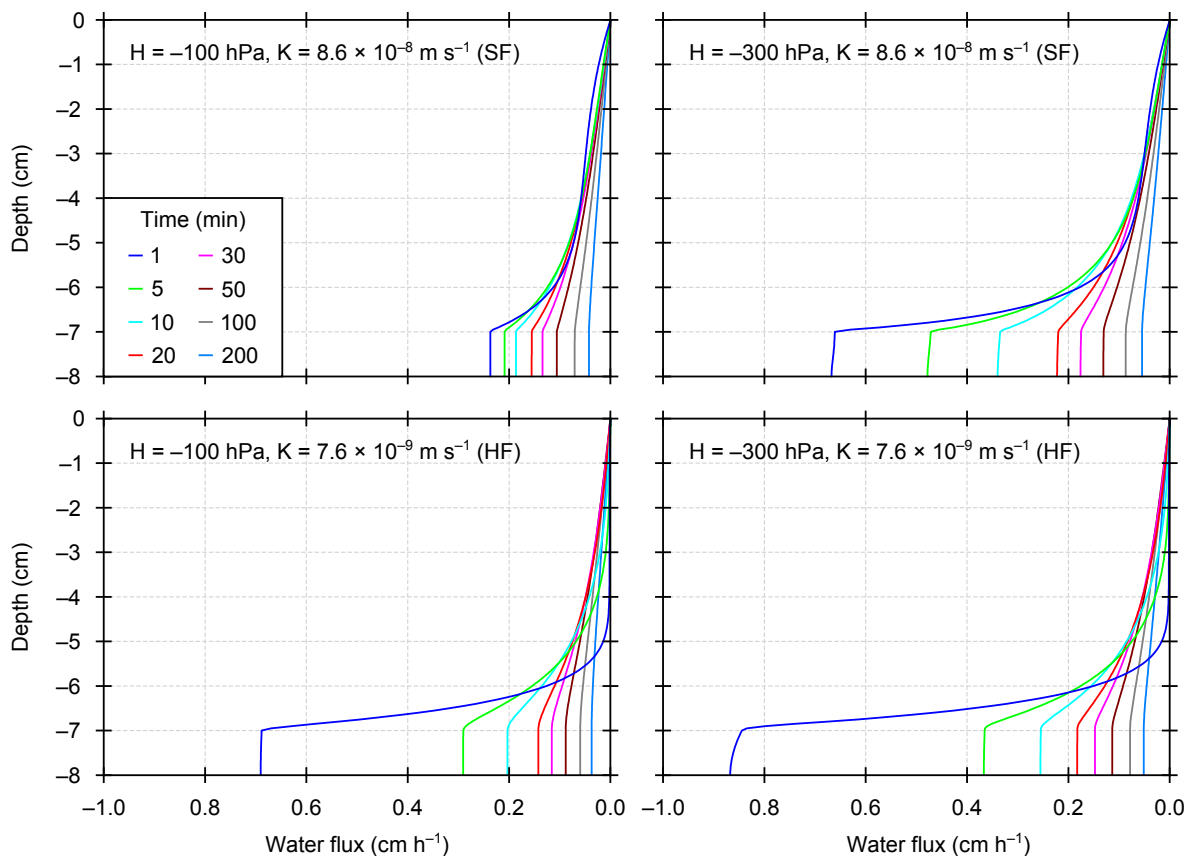


Figure 3.7 – Simulated profiles of water flux with time just after the beginning of the soil drying of samples of bulk density 1.35 g cm⁻³ (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder). Because a drying phase is simulated, the water flux is negative.

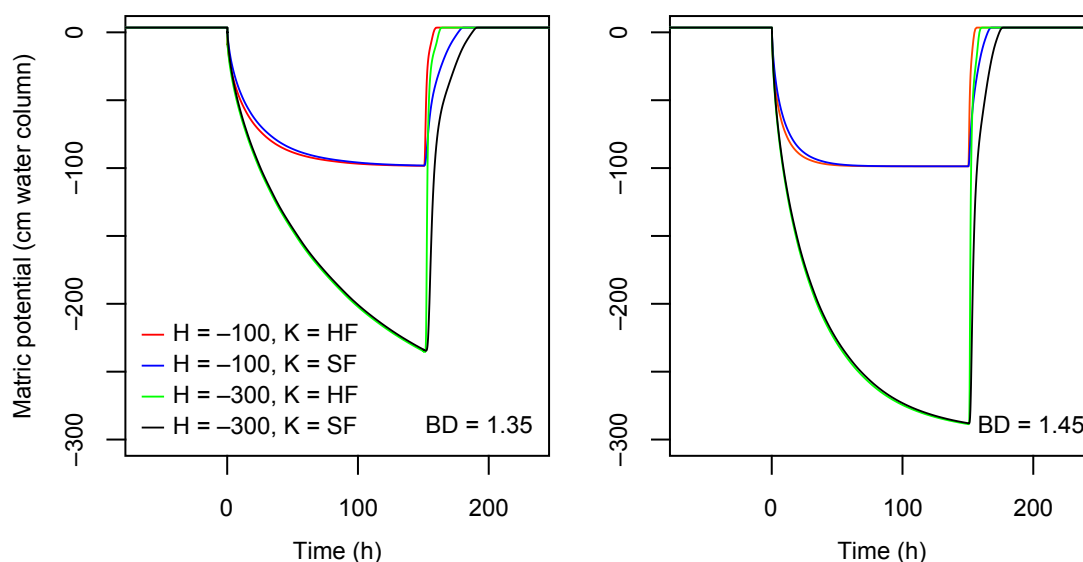


Figure 3.8 – Simulated matric potentials during drying of soil samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm^{-3} (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, in hPa, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder, HF: high flow, SF: standard flow). Drying started at time = 0 hour.

However, considering the N_2O production aspect, the finer pores need extremely low pressure heads to drain, which favors the water retention and establishment of anoxic conditions. Indeed, a compact soil structure increases the contact surface between aggregates and decreases the proportion of water that contributes to water transfer by creating unconnected pores (Richard et al., 2001). A greater part of the gas and water transfers occurs slowly through the textural porosity of the aggregates, instead of between aggregates. If the oxygen replenishment is low, favoring anoxic conditions and N_2O production, the N_2O transfer to the soil surface is also low, and the probability of its reduction into N_2 is high. Typically, $\text{WFPS} > 90\%$ can lead to reduction of N_2O into N_2 (Ruser et al., 2006). Indeed, the N_2O -reductase is more sensitive to inhibition by oxygen than the other enzymes implicated during denitrification (Knowles, 1982).

Thus, the role of BD concerned both the production/consumption and transport processes, so it had both an effect during the wetting and drying phases. In our study, cumulative N_2O fluxes were generally higher for $\text{BD} = 1.35$ than for $\text{BD} = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$ samples. To explain this trend, production processes have to be taken into account. Indeed, conditions were favorable for N_2O production by denitrification, as the WFPS was $> 60\%$ (Grundmann & Rolston, 1987; Hénault & Germon, 2000) during the wetting phase and most of the time during the drying phase. Moreover, WFPS was higher for every hydric phase for $\text{BD} = 1.45$ than for $\text{BD} = 1.35 \text{ g cm}^{-3}$ samples. The high WFPS during wetting and in some drying treatments (Table 3.3) can lead to N_2O reduction into N_2 (Letey et al., 1980; Weier et al., 1993), even during the drying phase, and could thus explain the low cumulative N_2O flux for $\text{BD} = 1.45$ compared to $\text{BD} = 1.35 \text{ g cm}^{-3}$ samples.

Another explanation for the low cumulative N_2O fluxes of some $\text{BD} = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$ treatments implicates the transport process through the value of the air-entry potential and the imposed H. Indeed, the treatments of H we applied allowed exceeding the air-entry potential of the soil,

providing favorable conditions for N₂O transport by gas diffusion, except for the BD = 1.45 g cm⁻³ and H = -100 hPa treatment. In these specific samples, we measured very low outflows compared to the other treatments. The air-entry potential had a threshold effect on the N₂O fluxes, because as long as it was not reached, only few gas pathways were available for N₂O fast transport in the gaseous phase, leading to low N₂O fluxes at the soil surface, and enhancing the probability of its reduction into N₂. The threshold effect of the air-entry potential explains the dominating effect of H for the BD = 1.45 g cm⁻³ samples contrary to the BD = 1.35 g cm⁻³ samples, and the behavior of the H = -100 hPa, K = SF treatment of the BD = 1.45 g cm⁻³ samples, whose maximum N₂O flux during drying was lower than during wetting.

Our results contrast with the literature, where dense soils are known to cause higher N₂O fluxes than loose soils (Balaine et al., 2013; Hansen et al., 1993; Ruser et al., 2006; Yamulki & Jarvis, 2002). It was observed both during the wetting and the drying phases (Beare et al., 2009). These high fluxes were often explained in field experiments by a reduction of the air-filled porosity, leading to high WFPS at a given water content (Hansen et al., 1993; Ruser et al., 2006). Beare et al. (2009) used intact soil cores, from a field compaction trial. In their experiment, N₂O emissions were higher in the compacted soil (BD = 1.49 g cm⁻³) than in the uncompacted soil (BD = 1.01 g cm⁻³) at field capacity. During the drying phase of the Beare et al. (2009) experiment, N₂O emissions were markedly reduced, but remained slightly higher in the compacted soil because of the higher WFPS. The complex structure of compacted soil cores exhibit some gas pockets, called relict pores, which are only connected to a major gas pathway through narrow pores (Bruand & Cousin, 1995; Richard et al., 2001). Relict pores have a similar behavior as disconnected pores. Indeed, they are likely to be subject to anaerobic conditions, because oxygen supply and water drainage are limited by the narrow diameter of the pore which connect them to the pore network. Finally, the decrease of the mean pore diameter with compaction could increase the physical protection of organic matter (Breland & Hansen, 1996).

3.5.3 N₂O production during wetting-drying cycles

Wetting-drying cycles are known to influence N₂O production. In our study, cumulative N₂O fluxes were always higher at C1 than at C2 during the wetting phase, and mainly higher at C1 than at C2 during the drying phase. Indeed, brief peaks were observed at the very beginning of the C1 wetting phase. They were not shown at the beginning of the C2 wetting phase. Rewetting pulse has already been observed on undisturbed soil cores (e.g. Beare et al., 2009; Ciarlo et al., 2007; Rabot et al., 2014). Muhr et al. (2008) and Borke & Matzner (2009) listed several explanations for the rewetting pulse: it could be the result of an increase of the substrate availability caused by the dying of microorganisms during wetting, the release of intracellular substances by microorganisms as an adaptation to the hydric stress, or the disruption of physically protected organic matter during wetting. The intensity of the pulse is especially high as the difference between the initial WFPS and the final WFPS is high (Guo et al., 2014). Contrary to the studies on undisturbed soil samples, in the current study, the peak occurred just at the beginning of the wetting phase and was very short. Thus, it was rather attributed to the release of carbon substrate during the preparation of our repacked soil samples (Del Grosso et al., 2000; Powlson, 1980; van Veen & Kuikman, 1990). The high

N₂O production led to N₂O accumulation into the soil, and higher N₂O fluxes during the C1 drying phase than during the C2 drying phase.

Soil drying during several days could be seen as a hydric stress for bacteria. [Muhr et al. \(2008\)](#) observed a decrease of the N₂O emissions after drying forest soil samples by evaporation during a period of 42 days. They hypothesized that the length of the drought period could influence total N₂O emissions by disrupting the microbial activity. By drying soils from saturation to successively, field capacity (approximately 75% WFPS), 60% WFPS and 20% WFPS, [Groffman & Tiedje \(1988\)](#) showed a marked decrease of the N₂O fluxes by denitrification from saturation to field capacity in three soils of different textures. This desaturation took 3 days, like in the current experiment, but the N₂O flux was recorded when the sample was at field capacity, so no brief peak was observed at the beginning of the drying phase. In our experiment, cumulative N₂O fluxes were higher for the H = -300 hPa than for the H = -100 hPa for each treatment. The drying period may not have affected the microbial activity and thus the cumulative N₂O fluxes, because of its short duration and the high WFPS which remained. It led us to hypothesize that the main effect of the H treatment was on the N₂O transport process rather than on the N₂O production.

3.5.4 Hierarchy of the controlling factors

Taking into account the whole data set, we ordered the importance of the parameters tested: the higher impact on the cumulative N₂O emissions was observed for H, then BD, and finally K. The choice of the values we applied had an important effect on the water flow, and thus on the N₂O emissions. The multiple linear regression with H, BD and K parameters accounted only for 54% of the total variation of the N₂O emissions, so a main fraction remained unexplained. It was supposed to be related to the heterogeneity of the soil samples in terms of carbon substrates, supposed to be the support of some hotspots of denitrification ([Groffman et al., 2009](#); [Parkin, 1987](#)), and slight differences in the soil structure, as shown by the high standard error in N₂O fluxes despite the samples were repacked. Moreover, the threshold effect of the air-entry potential caused a non-linearity of the response, which cannot be modeled with multiple linear regression.

The conceptualized processes we described and their intensities could explain the trends observed in our experiments. The effect of the hydrodynamic parameters tested concerned the ease of the N₂O release to the atmosphere, N₂O production and N₂O reduction into N₂. A relationship has been seen between the cumulative N₂O fluxes and the outflow, and between the maximum N₂O fluxes and the outflow, providing evidence of the importance of water flow processes, such as speed and degree of drying. The outflow value illustrates whether the air-entry potential is reached at a given matric potential. On repacked soil samples, [Balaine et al. \(2013\)](#) previously showed that the N₂O fluxes can be efficiently described by the air-entry potential of the soil. The description of the water flow associated with gas transport would thus allow predicting N₂O emissions during drying periods. Some prediction models of N₂O emissions solve the Richard's equation to determine water fluxes, e.g., APSIM ([Keating et al., 2003](#)), DNDC ([Li et al., 1992](#)), ecosys ([Grant, 2001](#)). To be efficient, water transport models should be used to determine the water and solute fluxes, but not to simply rebuild WFPS chronicles.

3.6 Conclusion

This study intended to observe the effect of some hydrodynamic properties on N_2O emissions by soil samples subjected to wetting-drying cycles. The high temporal resolution of the N_2O measurements allowed capturing a brief peak at the beginning of the soil drying. Its intensity was large enough to affect cumulative N_2O fluxes at the time scale of the experiment. Indeed, N_2O has been entrapped in the soil during the wetting phase and has been released later during the soil drying with the increase of the gas diffusivity. A relationship between the cumulative N_2O fluxes and the outflow, and between the maximum N_2O flux during drying and the outflow, provided evidence of the importance of water flow processes, such as speed and degree of drying. A first effect of the hydrodynamic properties we tested concerned the ease of the N_2O release to the atmosphere. Depending on their effect on the water flux, they favor or not the release of the N_2O entrapped in gas pockets, by increasing the gas diffusivity and the gas-liquid equilibrium. A second effect concerned the N_2O production and N_2O reduction into N_2 , through the effect of the hydrodynamic properties on the water retention and thus on the degree of anaerobiosis and N_2O transport. This study highlighted the dynamic nature of the N_2O emissions linked to the dynamic process of water transport. Water transport should be included into prediction models of N_2O emissions so as the production and consumption processes. To be efficient, the water, solute and gas fluxes should be simulated, and not only WFPS chronicles.

Acknowledgements: We are grateful to D. Colosse, P. Courtemanche, and G. Giot for their technical help in the experimental design of this study. We also thank G. Giot and L. Gouny for hydraulic parameter measurements, and A. Ayzac and L. Cottenot for occasional assistance with N_2O measurements. Carbon and nitrogen analyses were graciously performed by the SAS Laboratoire. This work was supported by a Conseil Général du Loiret grant, and by the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01).

Chapitre 4

Lien avec la géométrie du réseau poreux : Imagerie par rayons X

Des hypothèses de fonctionnement des émissions de N_2O ont été formulées dans les Chapitres 2 et 3. En particulier, on a montré qu'une partie du N_2O produit pendant la phase de saturation pouvait être piégée dans les phases gazeuse ou aqueuse. Le déplacement de l'eau lors de la désaturation permet sa libération, par l'augmentation de la porosité libre à l'air. Il est possible de vérifier ces hypothèses par l'acquisition d'une information spatialisée des flux hydriques au cours de cycles de saturation/désaturation. L'imagerie par rayons-X est un outil particulièrement adapté à ce genre d'étude, puisqu'il permet l'identification des phases gazeuse, aqueuse et solide après interprétation des images. Dans ce chapitre, on reproduira l'expérimentation présentée dans le Chapitre 3, pour un échantillon, afin de suivre et de caractériser l'évolution du volume et de la géométrie de la phase gazeuse au cours de cycles de saturation/désaturation. Ce chapitre est rédigé sous la forme d'un article scientifique, sous la référence : Rabot, E., Lacoste, M., Hénault, C., Cousin, I. Monitoring of nitrous oxide emissions during soil drying with X-ray computed tomography.

4.1 Résumé

Le dispositif de *multistep outflow* utilisé dans le Chapitre 3 a été repris et couplé à un tomographe médical à rayons X. Un tel appareil permet, en effet, la distinction de la phase gazeuse, de l'eau et de la matrice de sol. Un échantillon de sol non remanié a ainsi été soumis à deux cycles de saturation/désaturation, pendant lesquels une série de scans ont été réalisés. Lors d'un cycle de saturation/désaturation, l'échantillon a d'abord été saturé à l'aide d'une solution enrichie en nitrates pendant trois jours, puis désaturé pendant environ sept heures en appliquant une pression de -100 hPa à sa base. Un scan a été réalisé à la fin de la période de désaturation, puis sept et neuf scans ont été réalisés pendant la période de désaturation du premier cycle et du deuxième cycle

de saturation/désaturation, respectivement. Des mesures du flux de N_2O ont été intercalées entre chaque scan, en utilisant la méthode des chambres statiques.

La résolution de l'appareil était de $0.316 \times 0.316 \times 0.1$ mm. La manipulation des chambres lors de l'expérimentation a créé de légers décalages spatiaux entre chacune des images. Les images ont donc tout d'abord été recalées à l'aide du logiciel de traitement d'images ImageJ. Après avoir retiré la partie dispositif expérimental (*i.e.*, plastique, silicone) des images, un filtre médian 3D de noyau $2 \times 2 \times 2$ pixels a été utilisé afin de réduire le bruit. La phase gazeuse a été séparée du reste de l'image à l'aide d'une segmentation par *k-means clustering*, puis une ouverture morphologique a permis de retirer les objets les plus petits. Des descripteurs morphologiques du réseau de pores ont été calculés : le volume de pores libres à l'air et le nombre d'Euler, permettant la caractérisation de la connectivité du réseau de pores ont été calculés sur l'ensemble du volume de pores d'une part et sur les pores connectés à la surface d'autre part. On a également observé les profils en Z, qui permettent de représenter l'évolution des intensités de niveau de gris moyennes en fonction de la profondeur.

Les flux de N_2O ont augmenté rapidement après le début de la phase de désaturation, pour atteindre un pic après environ 5.5 heures au premier cycle, et 4.5 heures au deuxième cycle. Les émissions de N_2O ont été plus faibles lors du premier cycle que lors du deuxième cycle, que ce soit en saturation ou en désaturation. Les flux maximum ont été atteints alors que le potentiel matriciel était d'environ -45 cm, c'est-à-dire après que les pores de diamètre > 66 μm ont été drainés.

En comparant les profils en Z, la matrice de sol est apparue plus sèche au deuxième cycle qu'au premier cycle à la fin de la période de saturation et à la fin de la période de désaturation. Cette différence entre cycles était prononcée pour l'ensemble du profil à la fin de la phase de saturation, et de la surface jusqu'à 4.5 cm de profondeur à la fin de la phase de désaturation. Une différence dans la teneur en eau entre cycles est responsable d'une différence en termes de conditions d'anoxie et pourrait expliquer les plus faibles flux de N_2O au deuxième cycle de saturation/désaturation. Par ailleurs, le volume de pores libres à l'air a augmenté rapidement pendant la première heure de désaturation, puis s'est stabilisé. Ce volume de pores était légèrement supérieur au deuxième cycle qu'au premier cycle. La connectivité de l'ensemble du réseau de pores, estimée à l'aide du nombre d'Euler, était plus faible au deuxième cycle qu'au premier cycle, et a augmenté au cours de la désaturation. Le nombre d'Euler était positif, indiquant que le réseau de pores n'était pas connecté à la résolution de l'image, démontrant ainsi l'existence de nombreux pores isolés. Ces pores isolés ne participent pas, ou peu, aux flux de N_2O observés en surface. En considérant cette fois-ci le réseau de pores connectés à la surface uniquement, le nombre d'Euler était négatif, indiquant que les pores étaient fortement connectés à la résolution de l'image. On a pu définir qu'un pore principal, représentant 92 % du volume de pores connectés à la surface était responsable de la valeur fortement négative du nombre d'Euler.

On a proposé une méthodologie pour imager la dynamique de l'eau et la structure d'un échantillon de sol pendant deux cycles de saturation/désaturation, tout en contrôlant l'état hydrique et en mesurant les flux de N_2O . A une telle résolution, seuls les macropores (pores de diamètre > 300 μm) sont reconnus de façon univoque. Néanmoins, on a pu identifier des différences d'intensité

dans la matrice du sol, liées à des différences de teneur en eau. Cette étude a permis de valider l'hypothèse qu'une partie du N_2O a été piégée dans les pores du sol et dans la solution pendant la période de saturation, puis que l'augmentation du volume de pores libres à l'air connectés à la surface et de la connectivité gazeuse était responsable des pics de N_2O observés au début de la phase de désaturation. Cette étude a mis en évidence l'intérêt du développement et de la mesure d'indicateurs de la structure du sol pour améliorer la compréhension de la dynamique des émissions de N_2O par les sols.

4.2 Introduction

Nitrous oxide (N_2O) concentration in the atmosphere is constantly increasing (Khalil et al., 2002a). With a global warming potential 300 times higher than CO_2 (World Meteorological Organization, 2007), N_2O is the third largest gas contributing to global warming (Ciais et al., 2013). It has also an important role in the stratospheric ozone depletion (Ravishankara et al., 2009). Soils are a major source of N_2O , as they account for 60% of natural N_2O sources (soils under natural vegetation) and 60% of anthropogenic sources (soils used for agriculture; Ciais et al., 2013). Agricultural practices increase nitrogen contents in soils through the use of synthetic and organic fertilizers, production of nitrogen-fixing crops, and application of livestock manure to croplands and pastures. Agriculture increases thus the N_2O production by nitrification and denitrification (Wuebbles, 2009).

The water in soil is known to be one of the major controlling factors of nitrification and denitrification (Butterbach-Bahl et al., 2013; Robertson, 1989), because it modifies the ratio between water-filled and air-filled pore space, and thus the state of aerobiosis in the soil. Thus, an effect of the water-filled pore space parameter (WFPS), i.e., the proportion of soil pore space filled with water (Linn & Doran, 1984), on N_2O emissions has often been demonstrated. In particular, peaks of N_2O emissions have been observed both in the field and in laboratory experiments after the rewetting of a soil (Groffman & Tiedje, 1988; Sanchez-Martin et al., 2010; Sexstone et al., 1985). Guo et al. (2014) observed also that the N_2O peaks were higher when the drying phase was severe and the degree of wetting was high. Muhr et al. (2008) reported that the N_2O peaks became less intense after several wetting and drying cycles. However, Fierer & Schimel (2002) observed different trends in the N mineralization, whether the short or the long term was considered. Thus, the processes involved in N_2O emissions by soils subjected to wetting and drying cycles remain unclear, and seem to depend on the magnitude and temporal dynamics of the wetting-drying cycles.

Since the soil structure controls the water and gas dynamics in soils, and thus the microbial activity, it is supposed to be of great importance for N_2O emissions (Ball, 2013). The water saturation of a soil at a given pressure head is governed by the pore size, but also by the connectivity of the pore network. Following the model proposed by Smith (1980), N_2O production can occur inside anoxic aggregates and then diffuse to the soil surface through inter-aggregate pores. Quantitative information on the soil structure are often measured by the total porosity, pore size distribution, water retention, air permeability, hydraulic conductivity, or gas diffusivity (Ball, 2013).

Both the soil water and soil structure can be studied by X-ray computed tomography. Computed tomography has the advantage of being non-destructive and to allow thus successive scans over time while measuring other dynamic parameters, such as N₂O fluxes. It provides 3-D images, used to perform spatial analysis of the soil sample. In soil science, X-ray computed tomography is a common tool, used for example to study the effect of soil management (Deurer et al., 2009; Schjønning et al., 2013; Schlueter et al., 2011), water dynamics (Kasteel et al., 2000; Sammartino et al., 2012; Wildenschild et al., 2005), bioturbation by earthworms (Auclerc et al., 2013; Capowiez et al., 2011), or contrasted soil profiles (Jassogne et al., 2007). Few studies used imaging techniques to study greenhouse gas emissions (e.g., Mangalassery et al., 2014, 2013), and to our knowledge, none of them monitored greenhouse gases at the same time.

In this study, we aimed at investigating the effect of wetting and drying cycles on N₂O emissions of a soil sample. We proposed a methodology to image the water dynamics and the soil structure of a soil sample during drying, while controlling the hydric state and monitoring N₂O fluxes.

4.3 Material and methods

4.3.1 Soil sampling

The study site was chosen for the high N₂O emissions recorded in the field (Gu et al., 2011), in the same location as the study of Rabot et al. (2014). It is an agricultural field cultivated with rape (*Brassica napus* L.), located near Chartres, in the northwest of France (1.196°N, 48.376°E). The soil is classified as Glossic Retisol (WRB, 2014), with the following properties: clay, 13.7%; silt, 82.0%; sand, 4.3%; soil pH, 5.6. A soil core was collected in June 2013 in a PVC cylinder (13.2-cm inner diameter by 7-cm height) from the surface horizon (1–8 cm). The soil organic carbon was 9.5 g kg⁻¹, the total nitrogen content was 0.91 g kg⁻¹, and the nitrate content was 51.3 mg NO₃⁻-N kg⁻¹. At the sampling time, the porosity of the soil sample was 0.46 cm³ cm⁻³ and the volumetric water content was 37.7% (equivalent to 81.9% WFPS). The sample was conditioned in a plastic bag and stored field moist at 5°C to minimize microbial activity. Before the start of the experiment, it was erased on each end and maintained at 20°C for 24 h.

4.3.2 Experimental setup

The experiment consisted in controlling the hydric status of the soil sample with a multistep outflow system (Weihermüller et al., 2009): the soil cylinder was connected to a water-tank to control its wetting according to the Mariotte bottle principle, and connected to a vacuum pump and a sampling bottle to control its drying (Figure 4.1). Hydraulic continuity was ensured with a porous ceramic plate (1-bar air-entry value, 8.6×10^{-8} m s⁻¹ saturated hydraulic conductivity, Soilmoisture Equipment Corp.) placed at the bottom of the soil cylinder and previously saturated with water. The soil cylinder-ceramic plate system was sealed with silicon to avoid water or gas leaks. Both the water content and water potential were continuously monitored during the experiment, with a balance (0.1 g precision) and two microtensiometers (porous ceramic cup, 20-mm length, 2.2-mm

diam., 150-kPa air-entry value) inserted at 2 and 4 cm from the cylinder surface at the end of the wetting phase. Data were recorded every 10 min with a datalogger (CR1000, Campbell Scientific).

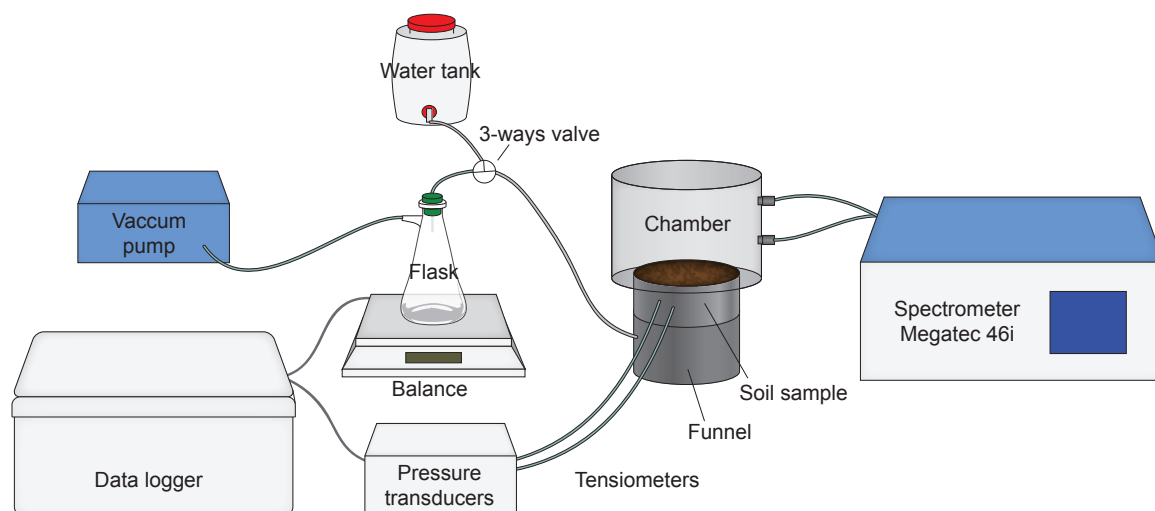


Figure 4.1 – Schematic overview of the multistep outflow system for hydric control and nitrous oxide measurements.

Two wetting-drying cycles (hereafter referred to as the C1 and C2 cycles) were applied on the soil cylinder. The initial water content for C1 was the water content at sampling. The sample was first saturated for three days by raising the water level to the soil surface, and then a -100 hPa pressure was applied at the bottom of the soil core for about 7 hours (C1 cycle). A zero hPa pressure was then applied for three days, followed by a -100 hPa pressure for about 7 hours (C2 cycle). The wetting fluid was a KNO_3 solution with a concentration ($4.1 \times 10^{-2} \text{ mol N L}^{-1}$) assumed to be large enough so that it was not a limiting factor for N_2O emissions during the wetting phase (Hénault & Germon, 2000). It was prepared with de-aired water to prevent air bubble formation.

Nitrous oxide emissions were monitored by infrared correlation spectroscopy (N_2O Analyzer model 46i, Thermo Scientific) using the closed-chamber technique. The emissions were measured for 20-min periods, and the concentration value was recorded every minute. Given the linear increase of the N_2O concentration in the closed-chamber, N_2O fluxes were calculated linearly from the observed change in concentration during the first 10 min after the chamber was closed. Only one N_2O flux measurement was done during wetting, at the end of each wetting phase for each cycle, and seven (respectively eight) flux measurements were recorded during the drying phase for the C1 (respectively C2) cycle. Moreover, gases inside the chamber were sampled in evacuated vials at the end of the wetting phase and in the middle of the drying phase (3.5 hours after the beginning of the drying phase), and CO_2 concentration was determined by gas chromatography (μGC Gas Analyzer T-3000, SRA Instruments). The chamber was removed before each measurement to restore the atmosphere to ambient concentrations of gases. The sample was kept inside the scanner during the two wetting-drying cycles. The temperature inside the scanner room was monitored to range between 22.5 and 25.5°C throughout the experiment.

4.3.3 Computed tomography and image analyses

The soil sample was scanned one time at the end of the wetting phase, and the vacuum pump was then activated to begin the soil drying. We then scanned the sample seven times for C1, and nine times for C2 during the drying phase, alternating with N₂O flux measurements. Two scans have been added at C2 compared to C1 to refine the results just after the beginning of the drying phase. We used a medical X-ray tomograph (Siemens Somatom Definition AS) operating at an energy level of 200 kV and a current of 140 mA. The pixel size was 0.316 by 0.316 mm, and the thickness was 0.4 mm with an overlap every 0.1 mm, leading to a slice thickness of 0.1 mm after reconstruction. The scanning duration was 70 seconds. In the following, intensities are expressed in Hounsfield units (HU).

Most of the image processing was realized with the ImageJ software (Rasband, 1997–2014). Due to the chamber manipulation during the experiment and displacement of the sample between scans, image registration was first done to ensure spatial consistency between the different images with the Align3 TP plugin (Parker, 2012). After cropping the images to exclude non-soil areas, all the 3-D images consisted of a stack of 680 2-D images of 410 by 410 pixels. The noise was reduced using a 3-D median filter with a 2×2×2 kernel. The air phase was then separated from the soil matrix and the water phase using the k-means segmentation method implemented in the IJ Plugins Toolkit (Jarek, 2014). The k-means segmentation method has previously been successfully used to segment images of porous materials (e.g., Cortina-Januchs et al., 2011; Culligan et al., 2004). A 3-D morphological opening was then applied to remove very small air-filled pores. Both the volume of macropores, characterizing the total air-filled porosity, and the Euler number, characterizing the connectivity of the air-filled pore space (Vogel & Kretzschmar, 1996), were determined on the segmented images. When the Euler number is positive, the pore network is classified as unconnected, whereas it is connected when the Euler number is negative. These two parameters were calculated on the total air-filled pore volume, and the air-filled pore volume connected to the soil surface only, to evaluate the pore network contributing to N₂O emissions. The volume of macropores was estimated with the BoneJ plugin (Doube et al., 2010), and the Euler number was calculated considering 26-connectivity with the C library QuantIm v.4 (Vogel, 2008). Visualization of the air-filled pore network was finally done with the ImageJ plugin 3-D Viewer (Schmid et al., 2010).

4.4 Results

4.4.1 Soil water content and soil water potential evolution

During the drying phase, WFPS ranged between 85.4% and 79.3% at C1, and between 83.4% and 79.6% at C2. The soil matric potential was above 0 cm for the two wetting cycles for the –4 cm depth tensiometer, whereas it was slightly under 0 cm for the –2 cm depth tensiometer at C2 (Figure 4.2). Saturation was thus slightly lower during C2. The matric potential showed a plateau at the C2 wetting phase, reached in approximately 4.5 hours after the beginning of the C2 wetting phase. During the drying phase, the matric potential decreased linearly, immediately after activating the vacuum pump, to reach –56 cm water column at C1 and –67 cm water column at C2. The decrease

of the matric potential was slightly faster at C2 than at C1 (mean decrease of -8.8 cm h^{-1} at C1, and -9.5 cm h^{-1} at C2).

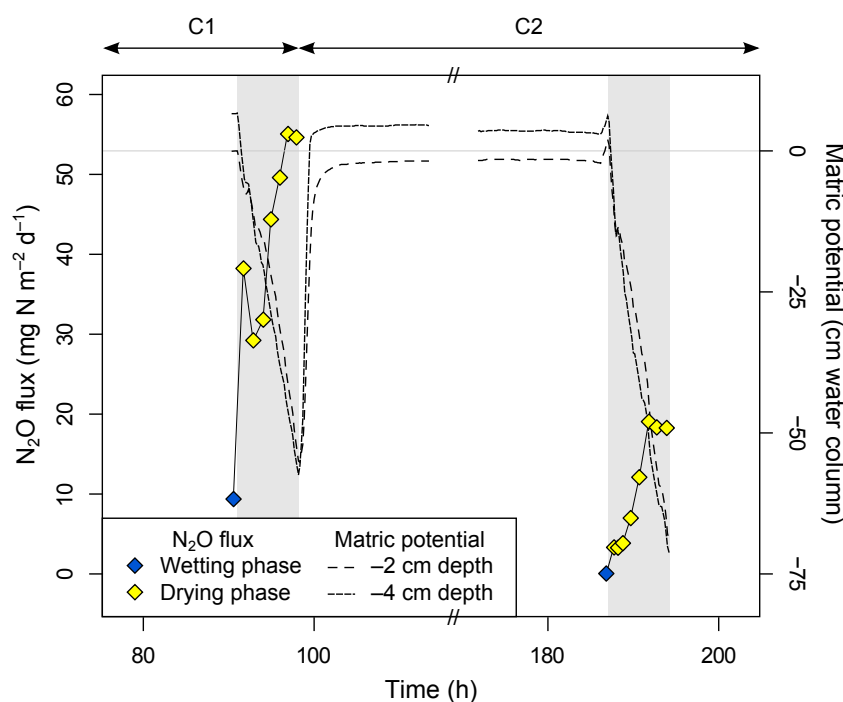


Figure 4.2 – Evolution with time of the nitrous oxide fluxes and the matric potential measured by the two tensiometers. Gray areas represent the drying phases, and white areas the wetting phases. C1 is the first wetting-drying cycle, and C2 is the second wetting-drying cycle.

4.4.2 Dynamics of the N_2O and CO_2 fluxes

Emissions were lower during C2 than during C1, both for the wetting and the drying phases, with the maximum N_2O flux being $55.1 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at C1, and $19.1 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at C2 (Figure 4.2). Nitrous oxide fluxes were measured to be 9.4 and $0.1 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at the end of the C1 and C2 wetting phase, respectively. They increased quickly during the drying phase to reach a peak approximately 5.5 hours after the beginning of the soil drying at C1, and 4.5 hours at C2. Peaks occurred at a mean matric potential of $-41.1 \text{ cm water column}$ at C1, and -44.7 cm at C2. This increase was faster for C1 than for C2. The first flux measurement of C1 was especially high ($38.2 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) compared to the following measurements. At C2, the fluxes measured at the beginning of the drying phase increased more slowly, with fluxes between 3.3 and $3.9 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ for the three first measurements.

Carbon dioxide fluxes were higher at C2 than at C1 at the end of the wetting phase ($50.4 \text{ mg CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at C1, and $164.1 \text{ mg CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at C2). Carbon dioxide being produced by heterotrophic respiration in oxic environments, conditions was more anoxic during the C1 wetting phase than the C2 wetting phase. An opposite trend was observed during the drying phase ($108.3 \text{ mg CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at C1, and $76.1 \text{ mg CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at C2).

4.4.3 Characterization of the air-filled pore network

Histograms of the intensity values of the 3-D soil images are given in Figure 4.3. Four components could be identified, both visually and in the histograms of each image: air phase, water phase, soil matrix, and gravels. We define the soil matrix as the solid phase and pores with a size lower than the scanner resolution ($316 \mu\text{m}$). Histograms appeared to be unimodal, with the mode corresponding to the soil matrix, because the air-filled and water-filled porosities represented only a small fraction of the soil sample volume. A Gaussian curve was fitted to the soil matrix part of the histograms. In the last scan of each drying phase (driest image), modes of the soil matrix were 1035 HU at C1, and 1038 HU at C2. They were higher for the drying phase than for the wetting phase, especially for the C1 cycle, as the mode of the soil matrix at the end of the wetting phase was 1016 for C1 and 1024 for C2. A small peak near the pure air intensity values (-1024 HU) could be identified for the drying phase, and a small peak near the pure water intensity values (0 HU) could be identified for the wetting phase, especially for the C1 cycle (Figure 4.3).

A 3-D rendering of the air phase distribution at the end of the wetting phase and at the end of the drying phase for C1 and C2 is given in Figure 4.4. Cylindrical pores, probably earthworm channels and root channels (of which one major root channel of approximately 9 mm diameter), as well as more complex pores attributed to inter-aggregate voids are visible. As expected, air-filled pores appeared to be more numerous at the end of the drying phase than at the end of the wetting phase.

Quantitative indicators characterizing the pore network were calculated in the segmented images from the pores of the total core volume, and the pores connected to the soil surface (Figure 4.5). For the total core volume, time-evolution of the air-filled pore volume showed a rapid rise from the beginning to 1 hour after the soil drying, and then a less rapid rise. This was in agreement with the visual assessment done with the 3-D rendering. C1 and C2 followed the same trend, but the air-filled pore volume was significantly higher at C2 than at C1 at the end of the wetting phase, and slightly higher at C2 than at C1 during the drying phase. The same graph plotted only for the

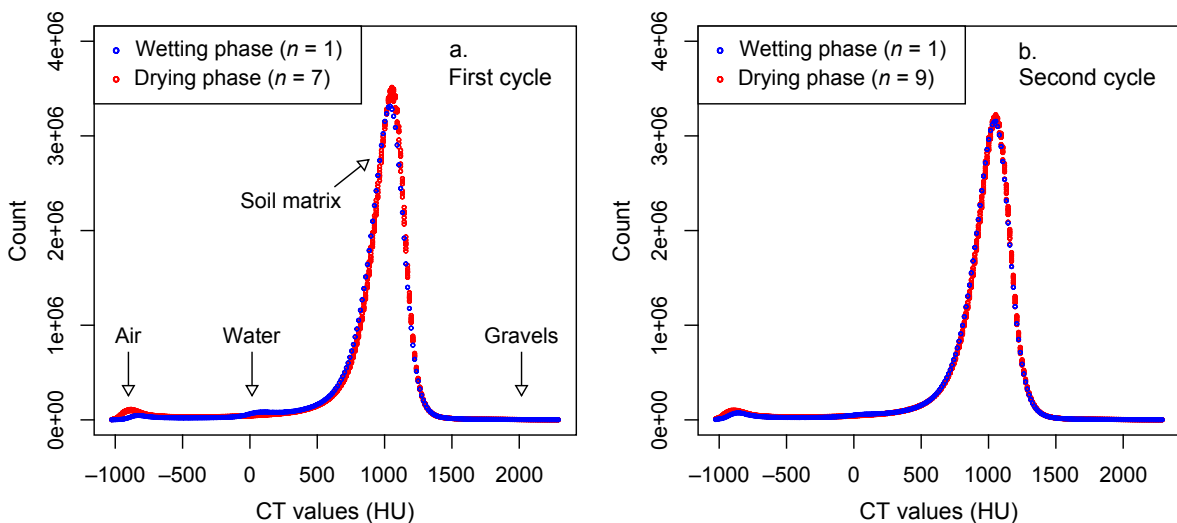


Figure 4.3 – Histograms of intensity values of the 3-D soil images for (a) the first wetting-drying cycle, and (b) the second wetting-drying cycle.

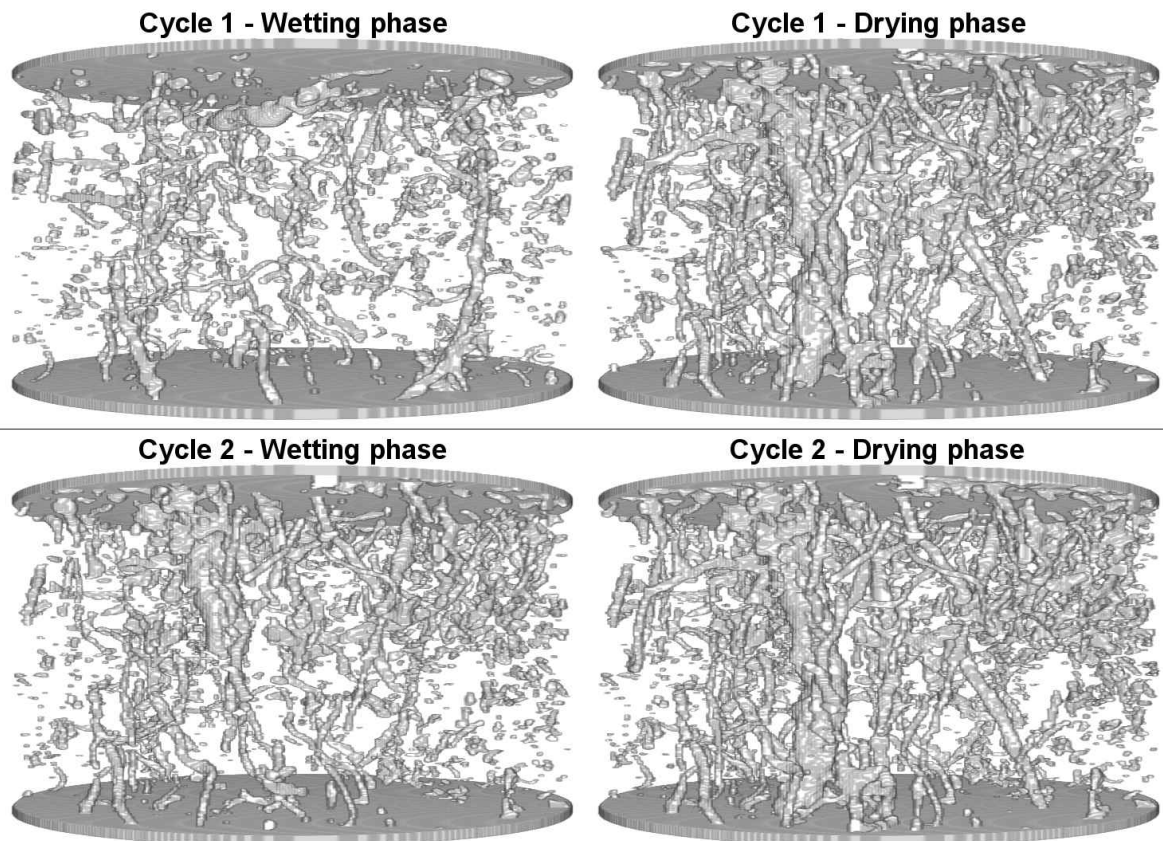


Figure 4.4 – Three-dimensional distribution of the air phase at the end of the wetting phase and at the end of the drying phase for the two wetting-drying cycles.

pores connected to the soil surface showed the same trend, except that no more difference can be seen between C1 and C2 after 4 hours of soil drying. The total air-filled porosity identified ranged between 0.012 and 0.028 $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$ at C1, and between 0.020 and 0.030 $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$ at C2. In the driest scan of C2, where the maximum air-filled pore volume has been identified, it is equivalent to 6.2% of the total porosity (0.46 $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$). For the total pore volume, the Euler number ranged between 517 and 559 at C1, and between 571 and 613 at C2 (Figure 4.5). It was lower at C1 than at C2 during both the wetting and drying phases, meaning that the pore connectivity was better at C1. It was positive during the whole experiment, meaning that the air-filled pore network was unconnected at the resolution of the images. Its value tended to decrease at C1, whereas it decreased for 2 hours at C2 and then showed some high variations with time. For the pores connected to the soil surface only, the Euler number ranged between -51.8 and -89.0 at C1, and between -62.9 and -86.2 at C2. It was negative during the whole experiment, meaning that the air-filled pore network connected to the soil surface was well connected, and decreased as the soil dried. The Euler number was higher at C1 than at C2 during the wetting phase and the beginning of the drying phase. One major pore network, representing 92% of the air-filled pore volume connected to the soil surface at the end of the two drying phases, was responsible for the negative value of the Euler number. The other pores were smaller and had a less complicated morphology.

Profiles of intensity values give information about the mean intensity of each slice of an image. Evolution of the Z-profile throughout soil drying for C1 and C2 are given in Figure 4.6. For C1, all curves followed the same trend, i.e., low values (between 600 and 900 HU) at the soil surface from 0 to 0.5 cm depth because of the presence of a horizontal macropore, homogeneous values (between 900 and 940 HU) from 0.5 to 6 cm depth, and an increase up to 990 HU from 6 to 7 cm. The image taken at the end of the wetting phase showed higher mean intensity values than the images recorded during the drying phase from 0.5 to 4.5 cm depth. Indeed, there was more water voxels and less air voxels during wetting, increasing the recorded intensity value. The trend was the same for C2, whereas all the intensity profiles were closer one to each other. Profiles of intensity values at C1 and C2 were compared at the end of the wetting phase and at the end of the drying phase (Figure 4.7). It can be observed that the mean intensity values were comparable between C1 and C2 all along the profile, but they were usually slightly higher at C2 at the end of the wetting phase (mean difference of 2.2 ± 6.0 HU) and during the whole drying phase (mean difference of 2.2 ± 5.6 HU for the last image of the drying phase). It may be attributed to a drier soil matrix at C2. To highlight the influence of the soil matrix moisture, Z-profiles were computed by masking pores (Figure 4.7). Soil matrix appeared to be drier both at the end of the wetting phase (mean difference of 12.9 ± 5.5 HU), and at the end of the drying phase (mean difference of 7.3 ± 4.4 HU) at C2. This difference was observed for the whole profile at the end of the wetting phase, and from the top to 4.5 cm depth at the end of the drying phase (Figure 4.7).

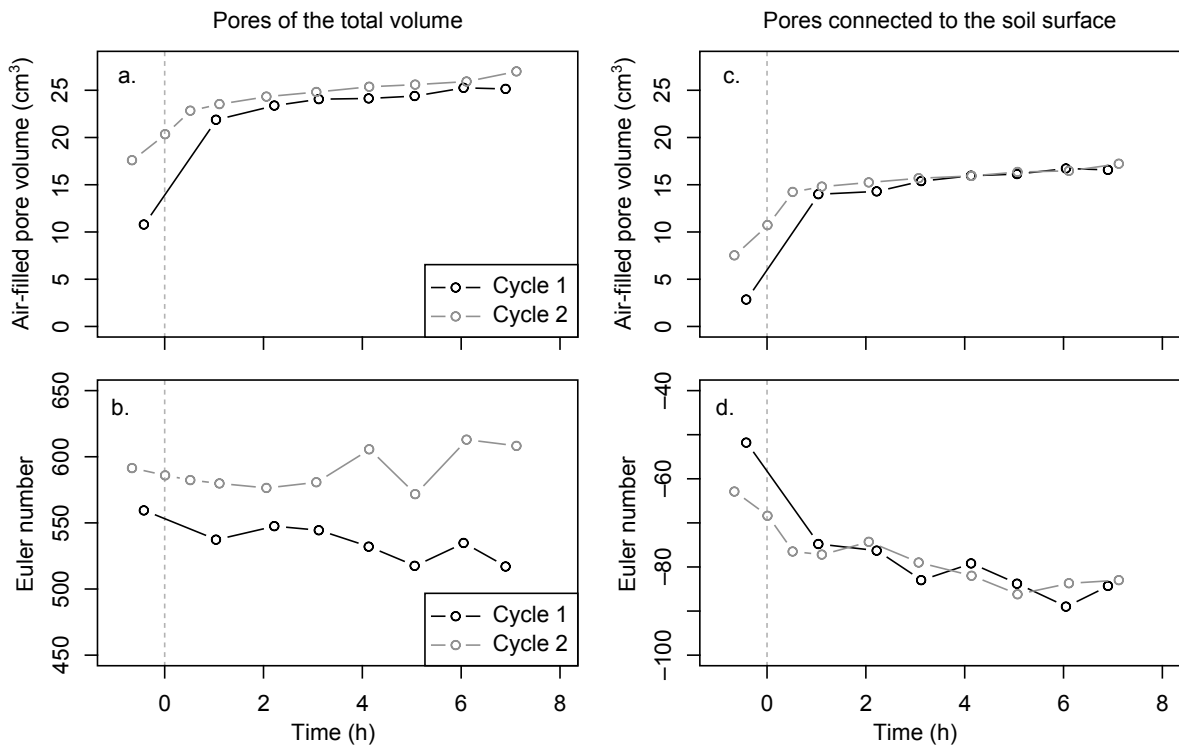


Figure 4.5 – Evolution with time of (a) the air-filled pore volume, and (b) the Euler number of the total pore volume, (c) the air-filled pore volume, and (d) the Euler number of the pores connected to the soil surface, for the first and second wetting-drying cycles. The zero reference time is the beginning of the drying phase.

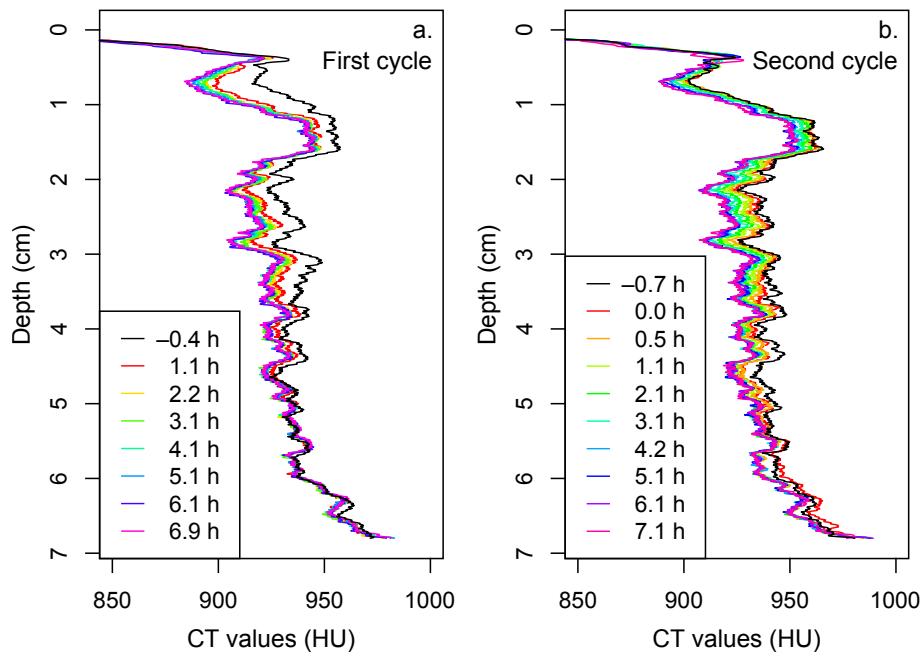


Figure 4.6 – Evolution of the profiles of intensity values during (a) the first and (b) second wetting-drying cycle. The zero reference time is the beginning of the drying phase.

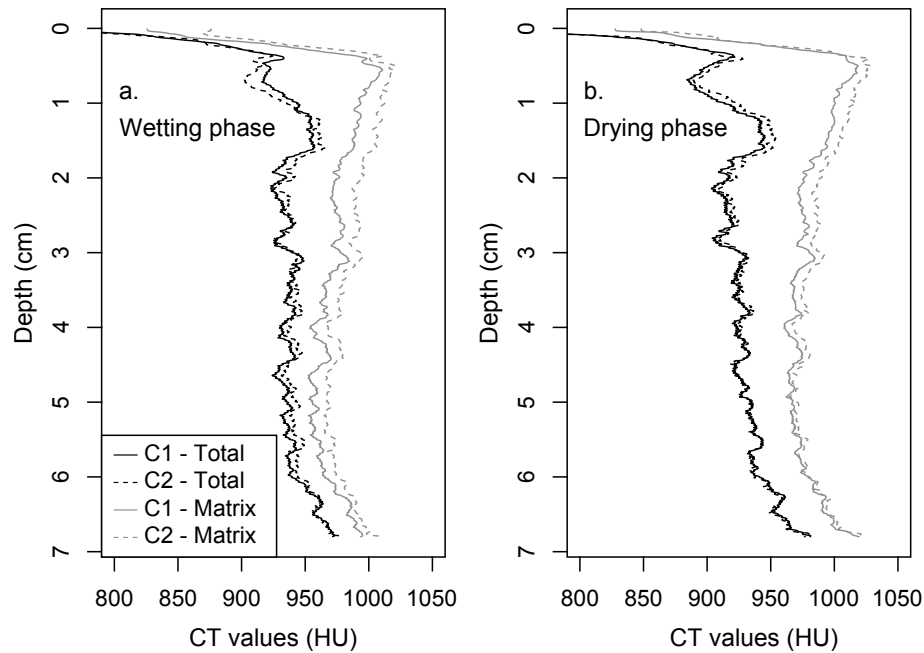


Figure 4.7 – Comparison of the profiles of intensity values between the first (C1) and second (C2) wetting-drying cycle (a) at the end of the wetting phase, and (b) at the end of the drying phase (Total: profile computed for the whole soil sample, Matrix: profile computed for the soil matrix only).

4.5 Discussion

4.5.1 The use of X-ray computed tomography for greenhouse gas emission studies

The experiment of the present study appeared as the first report of coupling between soil imaging, greenhouse gas flux measurements, and hydric control. The use of X-ray computed tomography on a soil sample allowed identifying spatially the gaseous phase, and thus determining the air-filled pore volume at successive moments during the soil drying. Compared to the porosity of the soil sample determined by weighting, only 6.2% of the total porosity was identified with imaging. Indeed, we used a large sample, with a size typical of that used to determine soil hydraulic properties, to approach the representative elementary volume of the soil. The resolution was thus approximately 300 μm . With such a resolution, only macropores are unequivocally recognized, i.e., pores $> 300 \mu\text{m}$ with the nomenclature of [Jarvis \(2007\)](#). Macropores participate to the N_2O transport whereas the production rather occurs in fine pores ([Heincke & Kaupenjohann, 1999](#)). Smaller pores cannot be seen with the device used in our study, but we succeeded in identifying differences in the soil matrix moisture between the two wetting-drying cycles. This difference was consistent with the other parameters recorded, i.e., matric potential and CO_2 fluxes, and allowed estimating the differences in anoxia level in the soil profile between C1 and C2. Relative, instead of absolute, comparisons between the two wetting-drying cycles could thus be performed.

4.5.2 Nitrous oxide emissions and pore connectivity

After three days of water saturation, soil drying down to -45 cm water column induced maximum N_2O fluxes. This result has been previously observed by Rabot et al. (2014). They hypothesized that the gas diffusion coefficient increased as the soil dried and allowed the release of the N_2O previously entrapped during the wetting phase in the pore space or in the soil solution. In this new study, supplementary information about the soil structure and the water location were obtained and we were able to measure an increase of the air-filled macropores connected to the soil surface as the soil dried. The pore network was described as well connected to the soil surface during the whole experiment. The porous network was probably also connected by pores of a size lower than the one recorded by the X-ray tomograph. Emissions could occur from the soil upper part connected to the atmosphere, where some biological hotspots were active (Ball et al., 2008; van der Weerden et al., 2012). Horgan & Ball (2005), with a model of pore network, observed a significant “ink-bottle” effect, that is to say a water blockage due to the varying pore diameters along the water flow direction. They hypothesized that it can be responsible for greenhouse gas storage because for WFPS $> 60\%$ during wetting, little pore space remained open to the soil surface. Nitrous oxide entrapment in soils at high WFPS has already been highlighted in laboratory experiments (Clough et al., 1998; McCarty et al., 1999; Weier et al., 1993). Horgan & Ball (2005) concluded that the rapid increase in the pore connectivity during soil drying to WFPS $< 60\%$ could explain some rapid increases in N_2O emissions by soils. The modeling approach of Horgan & Ball, together with the observed increase of the air-filled pore volume connected to the soil surface and of the pore connectivity with soil drying favors the hypothesis of the release of the entrapped N_2O during drying.

However, by considering the whole soil volume, the pore network was classified as unconnected, probably because of the presence of numerous isolated pores formed by inter-aggregate voids. High variations were observed in the pore network connectivity at the end of the drying phase. It could be attributed to the hydrostatic equilibrium establishing during soil drying, which blocked some air and water pockets in pores that were previously connected. Another proof of low hydraulic continuity could be identified by comparing the evolution of the water potential between our study and the study of Rabot et al. (2014) on the same study site. Indeed, in our study, the water potential decreased slower and thus the N_2O release was slower. Indeed, peaks were observed 1 or 2 hours after decreasing the water potential in the study of Rabot et al. (2014), whereas they were observed after 4.5 and 5.5 hours in this study. A low hydraulic continuity may have occurred between the porous ceramic plate and the soil sample. Furthermore, the one step soil drying could have isolated water-filled pores by draining first the most well-connected and largest pores (Wildenschild et al., 2005).

4.5.3 Intensity of nitrous oxide emissions

By comparing the two wetting and drying cycles, differences in the amount of N_2O emitted were observed. Emissions were lower at C2 than at C1 both during the wetting and the drying phases. Nitrate was supplied in excess during the wetting phase of each wetting-drying cycle, so it was supposed not to be limiting at the beginning of each wetting-drying phase. Moreover, as carbon

substrate was present for heterotrophic respiration, it was supposed not to become a limiting factor for N₂O emissions during the experiment. A lower water content at C2 may have been responsible for the lower N₂O production during the C2 wetting phase. Moreover, as shown with the lower connectivity of the total soil volume at C2, some air-filled pores remained unconnected after this second wetting. The N₂O production during the wetting phase was thus reduced by reducing the amount of anoxic microsites in the soil matrix. A modification of the water volume and its distribution in the pore space at a given matric potential during wetting-drying cycles has already been highlighted in X-ray images by Christensen (2006). In the literature, reduced N mineralization after a second wetting and drying cycle was rather explained by the C and N dynamics in relation to the microbial dynamics. The hydric stress caused by the rapid rise or decrease of the water potential can induce a decrease in N mineralization due to the disruption of microbial activity (Muhr et al., 2008). Moreover, the progressive adaptation of the microorganisms to water stress can reduce the amount of nutrients released by cell lysis, and thus decrease the amount of easily available N substrates (Fierer & Schimel, 2002; Mikha et al., 2005). The carbon dynamics can also be implicated, if the consumption of C substrates by a high microbial activity caused a shortage of C after a first wetting and drying cycle (Fierer & Schimel, 2002), and/or if the physical disruption of soil aggregates during the wetting-drying cycles exposed less C substrates to microbial consumption (Denef et al., 2001).

4.5.4 Timing of nitrous oxide emissions

In addition to the differences in terms of intensities of N₂O emissions between the two wetting and drying cycles, differences in the timing of the N₂O peaks were also observed. The N₂O fluxes were very high soon after the beginning of the C1 drying phase contrary to C2. Indeed, less N₂O was produced during the C2 wetting phase, leading to a lower gas concentration gradient between the soil surface and the atmosphere, and thus to a lower gas diffusion. Moreover, because the top of the soil core was less saturated at C2 than at C1, the major part of the produced N₂O was entrapped deeply at C2. Emissions at soil surface were thus delayed. Castellano et al. (2010) showed that the soil matric potential was a strong predictor of the timing of N₂O emissions, because it defines the diameter of the water-filled pores. We found that maximum N₂O fluxes were reached at approximately -45 cm water column, that is to say when pores with diameter > 66 µm were drained. This is consistent with the experiment of Castellano et al. (2010), who observed in their free drainage experiment that N₂O peaks occurred when pores with diameter > 80 µm were drained. In the experiment of Balaine et al. (2013), N₂O peaks were observed when pores with diameter > 197 and > 57 µm were drained, in soils repacked at bulk densities 1.1 and 1.5 g cm⁻³, respectively. Balaine et al. (2013) correlated the matric potential where maximum N₂O fluxes occurred to the air-entry potential of the soil. The more complicated pore size distribution of our undisturbed soil sample, did not allow directly correlating peaks with the air-entry potential. Indeed, given the large macropores identified in our undisturbed soil sample, the air-entry potential of the macropores was above -5 cm water column and was thus quickly reached. Nitrous oxide emissions probably started when this air-entry potential was reached, and increased as the connectivity to the soil

surface increased and involved finer pores. The decrease in N₂O emissions occurred when there was less water movement and no more pathways to release the entrapped gas.

4.6 Conclusion

The use of X-ray computed tomography on a soil sample allowed the description of the gaseous phase distribution. We were able to measure an increase of the volume of the air phase connected to the soil surface, and an increase of the pore connectivity as the soil dried. At the beginning of the drying phase, N₂O emissions probably started when the air-entry potential was reached, and continued as the connectivity between pores and the soil surface increased and involved finer pores. The decrease in N₂O emissions occurred when there was less water movement and no more pathways to release the entrapped gas. Nitrous oxide emissions were monitored to be lower in terms of magnitude and speed during the second drying cycle. It was attributed to a reduced connection between the air-filled pores and lower water saturation during the second wetting, leading to lower N₂O production. The lower water saturation was monitored by all the measured parameters (matric potential, CO₂ fluxes, and interpretation of the scanner images). It provided thus less opportunity to create anoxic microsites during wetting, and less opportunity to equilibrate water and gas phases and to release the N₂O entrapped in the soil solution during drying. The soil structure can be seen as a factor of the N₂O flux intensity because the pore size controls N₂O production by giving favorable microbial habitat (i.e., aerobic status, substrate availability, water potential), and because the pore connectivity to the soil surface controls N₂O emission. This study highlighted the need to find and measure dynamic indicators of the soil structure, to enhance our understanding of the dynamic nature of N₂O emissions by soils. Imaging techniques at a finer spatial resolution, able to identify pores with diameter of approximately 50 µm, would allow refining these results.

Acknowledgements: We are grateful to D. Colosse, P. Courtemanche, and G. Giot for their technical help in the experimental design and/or field sampling. We also thank S. Sammartino (INRA, UMR EMMAH) for help with the image analysis. CT-scan imaging was graciously performed by the CIRE platform (INRA Val de Loire, site de Tours, UMR PRC), and carbon and nitrogen analyses were graciously performed by the SAS Laboratoire. This work was supported by a Conseil Général du Loiret grant, by the Spatioflux program funded by the Région Centre, FEDER, INRA and BRGM, and by the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01).

Chapitre 5

Formalisation du fonctionnement : Simulations numériques

L'objectif de ce dernier chapitre est double. On poursuivra d'une part la discussion du lien entre l'eau du sol, à travers le paramètre WFPS, et les émissions de N_2O . Pour ce faire, un modèle numérique sera construit sur la base des observations des précédents chapitres, c'est-à-dire en intégrant l'effet de la variation du coefficient de diffusion gazeuse avec les variations de WFPS. Le modèle sera le support d'une discussion sur la forme de la relation WFPS-émissions de N_2O à travers une analyse de sensibilité. D'autre part, on testera si la prise en compte de propriétés physiques, en plus de propriétés microbiologiques, améliore la qualité des prédictions d'émissions de N_2O du modèle NOE (Hénault et al., 2005). Ce chapitre est rédigé sous la forme d'un article scientifique, publié par la revue *Biogeochemistry* sous la référence : Rabot, E., Cousin, I, Hénault, C. A modeling approach of the relationship between nitrous oxide fluxes from soils and the water-filled pore space. doi :10.1007/s10533-014-0048-1.

5.1 Résumé

Dans ce chapitre, on a ajouté un module de transport gazeux et en solution et un module d'équilibre phase liquide-phase gazeuse à un modèle existant d'estimation des flux de N_2O . La production de N_2O a été estimée à l'aide du modèle NOE (Hénault et al., 2005), modifié pour être utilisé dans une configuration 1D. On a fait l'hypothèse que la production était liée au processus de dénitrification uniquement et que NOE estimait une production totale, devant être partagée entre une phase gazeuse et une phase liquide. Le transport de N_2O par diffusion en phase gazeuse a été modélisé par la loi de Fick, résolue par la méthode des différences finies et un schéma explicite centré. On a également modélisé la présence d'une chambre à la surface du sol, retirée toutes les 30 minutes pour retrouver la concentration atmosphérique en N_2O , afin de mimer l'emploi de la méthode des

chambres statiques. Le N_2O étant très soluble dans l'eau, on a par ailleurs introduit un module d'équilibre phase liquide-phase gazeuse à l'aide de la loi de Henry. La dépendance à la température et la présence d'une solution électrolytique riche en nitrates ont été pris en compte dans le calcul de la solubilité du N_2O . On a ainsi simulé un horizon de sol 1D de 7 cm de haut, surmonté d'une chambre, l'ensemble étant discrétisé tous les 1 cm. Le calcul a été réalisé toutes les 3 secondes et stocké en mémoire toutes les 3600 secondes. Une condition de flux nul a été imposée aux limites supérieures et inférieures. Les concentrations initiales en N_2O dans la phase gazeuse du sol et dans la chambre ont été fixées à la concentration atmosphérique (319 ppb), et la concentration initiale dans la solution du sol a été fixée comme étant à l'équilibre avec la phase gazeuse à 20°C. Le modèle modifié a été nommé NOE_{GTE} .

Dans un premier temps, le modèle NOE_{GTE} a été soumis à une analyse de sensibilité au paramètre WFPS. On a tout d'abord généré 200 combinaisons de WFPS dans la gamme [0–1] et de densités apparentes dans la gamme [1.2–1.4] $g\ cm^{-3}$. Pour chacune des 200 simulations à un WFPS compris entre 0 et 1, le WFPS a été fixé comme étant constant au cours des sept jours simulés et le coefficient de diffusion gazeuse a été estimé à l'aide du modèle de Millington & Quirk (1961). En représentant les flux simulés de N_2O en fonction du WFPS, on a obtenu une fonction en forme de cloche, combinant l'effet de la faible production de N_2O à un WFPS < 0.62, et l'effet de la faible diffusion gazeuse à un WFPS > 0.95. Les flux de N_2O maximum ont été modélisés autour d'un WFPS de 0.8. Cette forme est en accord avec les données de terrain et de laboratoire issues de la littérature. Les flux de N_2O ont montré une augmentation avec le temps à un WFPS donné, lorsque les conditions d'anoxie étaient favorables à la production de N_2O . On a attribué cette augmentation à l'augmentation du gradient de concentration entre le sol et l'atmosphère à production de N_2O constante. De plus, le WFPS qui a généré les flux maximum de N_2O s'est décalé dans le temps vers des valeurs de plus en plus élevées, de 0.76 après 12 h, à 0.79 après 168 h. On a mis en cause l'augmentation du gradient de concentration entre l'atmosphère du sol et la surface du sol au cours du temps, ainsi que la participation croissante des nœuds les plus profonds aux flux de surface avec le temps. Ainsi, l'historique hydrique pourrait expliquer les différentes valeurs de WFPS conduisant aux flux maximum de N_2O décrites dans la littérature, en plus des autres variables liées à la production de N_2O et à sa réduction en N_2 , comme la texture, la structure ou les teneurs en carbone et en azote.

Dans un second temps, NOE_{GTE} a été confronté aux données expérimentales présentées dans le Chapitre 2. Pour chaque échantillon, les données de teneurs en eau mesurées ont d'abord été lissées, puis le coefficient de diffusion gazeuse a été estimé à l'aide de quatre modèles différents. Le paramètre de dénitrification potentielle, utilisé dans le modèle NOE a été estimé à partir des flux de N_2O observés. En observant les flux cumulés de N_2O , les flux mesurés et simulés étaient en accord, les coefficients de corrélation allant de 0.85 à 0.89. Aucun des modèles de diffusion gazeuse n'a semblé meilleur que les autres en termes de flux cumulés. On a intégré les résultats des simulations issus des quatre modèles de diffusion gazeuse sous la forme d'un intervalle de confiance à 95 %. Pour les 12 échantillons issus de l'expérimentation du Chapitre 2, les flux observés et simulés étaient dans le même ordre de grandeur. De façon générale, le modèle a permis de reproduire la dynamique des flux de N_2O pendant la période de désaturation, mais les flux ont parfois été surestimés. L'ajout d'un module de transport gazeux semble valider l'hypothèse que les pics de N_2O observés au début

de la période de désaturation étaient liés à l'augmentation du coefficient de diffusion gazeuse. À l'inverse, la dynamique n'a pas été bien reproduite pendant la période de saturation, car NOE ne prend pas en compte l'activation progressive des processus de production de N_2O et de réduction en N_2 après l'établissement de conditions favorables. Grâce à l'approche par la modélisation, on a pu décomposer la dynamique du flux de N_2O mesurée dans les expérimentations en deux parties. L'augmentation rapide du flux de N_2O était liée à l'augmentation du coefficient de diffusion gazeuse et à l'équilibre du N_2O entre les phases liquide et gazeuse. La décroissance du flux de N_2O , observée après 1.6 heures, était quant à elle liée au départ du N_2O piégé dans la phase gazeuse, au départ d'une part du N_2O piégé dans la solution du sol par drainage et à la diminution du WFPS et de la concentration en nitrates, conduisant à une plus faible production de N_2O .

Cette étude a permis de mettre en évidence le rôle des processus de transport gazeux dans les émissions de N_2O en lien avec l'humidité du sol, et l'importance de leur prise en compte dans la modélisation. Modéliser les flux de N_2O à une résolution temporelle fine nécessite la description fine des stocks de N_2O dans l'ensemble des compartiments du sol. En particulier, l'évolution de ce modèle devra considérer que la production et la consommation de N_2O par les microorganismes est une fonction du temps et de l'humidité du sol, et que l'équilibre entre les phases liquide et gazeuse n'est pas instantané.

5.2 Introduction

Nitrous oxide (N_2O) is the third largest gas contributing to global warming, as its global warming potential is 300 times higher than that of carbon dioxide over a 100-year time scale (UNEP, 2013). Soils under natural vegetation are estimated to account for 60% of natural N_2O sources while agriculture accounts for 60% of anthropogenic sources (Ciais et al., 2013). Denitrification mainly occurs under anaerobic conditions. Thus, water in soil is known to be a key factor for controlling N_2O emissions, because of its role as a barrier to oxygen transport and availability for microorganisms. The water-filled pore space (WFPS) is defined as the proportion of soil pore space filled with water (Linn & Doran, 1984). Nitrous oxide fluxes can increase significantly following small increases in WFPS. The high sensitivity of the N_2O fluxes to the WFPS can cause errors when modeling N_2O emissions from soils (Grundmann & Rolston, 1987; Heinen, 2006b), so it is essential that our knowledge of this crucial relationship is improved.

Soil water content is an input parameter always included in N_2O emission models. In empirical models, non-linear relationships are often used to link the WFPS to N_2O emissions (Heinen, 2006b). When N_2O fluxes are normalized from 0 to 1, this relationship – called the F_W function – is a reduction function used to modify the potential denitrification of soils and/or the N_2O/N_2 ratio. It is combined with other reduction functions related to soil nitrate content or soil temperature, which are used together to estimate N_2O fluxes. For example, the DenNit (Reth et al., 2005), ECOSSE (Smith et al., 2010), and NOE (Hénault et al., 2005) models used such functions. The F_W function can be described as: a continuous exponential curve starting at a WFPS value of 0.62 in the NOE and ECOSSE models, an arctangent function with a level off for WFPS > 0.7–0.9 in DAYCENT (Del Grosso et al., 2000), a sigmoid curve with half maximum N_2O emissions at 60% of the field capacity in

DenNit, or a linear growing function starting at the drained upper limit in APSIM (Keating et al., 2003). A comparison of the F_W functions used in denitrification models is given in Heinen (2006b).

Several experiments have been designed to build F_W functions, with different levels of soil disturbance and control on other variables. For example, experiments of Weier et al. (1993) on sieved and repacked soil samples of various textures were included in the NGAS model (Parton et al., 1996). This denitrification sub-module has subsequently been integrated into DAYCENT, with supplementary results of Del Grosso et al. (2000) on undisturbed soil cores. To derive appropriate F_W equations, Del Grosso et al. (2000) eliminated data points subjected to strong limitations due to other variables (e.g., nitrate content, temperature). To build the F_W function in the NOE model, Hénault et al. (2005) performed laboratory experiments where temperature and nitrate concentrations were favorable for N_2O emissions. Results were closed enough to the field experiment of Grundmann & Rolston (1987) so that the equation of Grundmann & Rolston (1987) was reused. For the DenNit model, results were derived by fitting the sigmoid function of Davidson (1991) on new field and laboratory experiments.

Models often assume that N_2O emissions change immediately when an environmental variable does (Xing et al., 2011). This can lead to mismatches between the predicted fluxes and fluxes observed in the field, which themselves are highly variable over time, even at hourly scales. The purpose of this study was to improve NOE simulations by incorporating a gas transport and a gas-liquid equilibrium module to the original NOE model. The modified model (NOE_{GTE}: Gas Transport and Equilibrium) was subjected to a sensitivity analysis to observe its response to the WFPS parameter. Then the model was tested with experimental published data in order to check the relevance of the new version of NOE and to further discuss the N_2O emission processes in response to varying WFPS.

5.3 Material and methods

5.3.1 Model description

5.3.1.1 Nitrous oxide production module

Nitrous oxide production was estimated by using the NOE model (Hénault et al., 2005), modified to be used in a 1-D configuration, i.e., to give an estimation on each vertical location within a soil horizon, instead of using an integrative value for the whole soil horizon. The NOE model was chosen because it requires few and accessible input data, and because it is frequently used in research studies (Heinen, 2006a). The N_2O flux produced by denitrification (N_2O_{denit}) is a combination of the potential denitrification (D_P) and response functions to several environmental factors (Hénault et al., 2005):

$$N_2O_{\text{denit}} = D_P F_W F_N F_T r_{\text{max}} \quad (5.1)$$

where F_W is the denitrification response factor to soil WFPS (dimensionless), F_N is the denitrification response factor to soil nitrate content (dimensionless), F_T is the denitrification response factor to

soil temperature (dimensionless), and r_{\max} is the maximum ratio of N_2O to denitrified nitrate under anaerobic incubations. Techniques used to determine D_p and r_{\max} experimentally are described in Hénault et al. (2005). F_N and F_T were taken from the original NOE model (Hénault et al., 2005), where F_N was built by Hénault & Germon (2000) from laboratory experiments and F_T was originally designed by Stanford et al. (1975). The F_W response function is defined by eq. (5.2) (Grundmann & Rolston, 1987; Hénault & Germon, 2000), and assumes that the WFPS parameter is a proxy of the oxygen availability for microorganisms.

$$\text{If WFPS} < 0.62, \quad F_W = 0 \quad (5.2a)$$

$$\text{If WFPS} \geq 0.62, \quad F_W = \left(\frac{\text{WFPS} - 0.62}{0.38} \right)^{1.74} \quad (5.2b)$$

We made the assumption that $\text{N}_2\text{O}_{\text{denit}}$ in conditions of high WFPS estimates the total N_2O production, which must then be partitioned between the gaseous and liquid phases.

5.3.1.2 Nitrous oxide transport module

Transport by diffusion is the major process allowing gas movement within soils (Heincke & Kaupenjohann, 1999; Yoh et al., 1997). It was modeled by using the 1-D diffusion equation of Fick [eq. (5.3)], solved by the finite difference method with a central difference scheme:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D_s \frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad (5.3)$$

where C is the N_2O concentration ($\text{mol N}_2\text{O m}^{-3}$ gas), t is the time (s), D_s is the gas diffusion coefficient in soil ($\text{m}^3 \text{ gas m}^{-1} \text{ soil s}^{-1}$), and x is the vertical coordinate (m).

Fluxes inside a closed-chamber located above the soil horizon were also modeled because the closed-chamber technique, frequently used to measure N_2O fluxes in the field, is known to influence the N_2O fluxes (Conen & Smith, 2000; Venterea et al., 2009). Transport into the chamber was modeled by the same Fick's equation [eq. (5.3)], parameterized with D_0 , the gas diffusion coefficient in free-air.

Four models, chosen for their wide use, were tested for the estimation of the D_s parameter (Table 5.1). Soil-type effects are introduced through the soil total porosity P , which is related to the soil structure. Moreover, in the M model, additional soil-type effects are taken into account by using the soil water retention curve. Two families of gas diffusion models were thus used as the M and D models have been developed with undisturbed soils to represent complex and multiscaled soil systems. On the contrary, the B and MQ models have been developed with a model porous medium, the B model being experimental whereas the MQ model is theoretical.

Table 5.1 – Models of soil gas diffusivity used in the study.

Abbreviation	Model	Formula ^a
B	Buckingham (1904) model	$\frac{D_s}{D_0} = (P(1 - \text{WFPS}))^2$
MQ	Millington & Quirk (1961) model	$\frac{D_s}{D_0} = \frac{(P(1 - \text{WFPS}))^{10/3}}{P^2}$
M	Buckingham-Burdine-Campbell model of Moldrup et al. (1999)	$\frac{D_s}{D_0} = P^2(1 - \text{WFPS})^{2+3/b}$
D	Generalized density-corrected model of Deepagoda et al. (2011)	$\frac{D_s}{D_0} = 0.1 [2(1 - \text{WFPS})^3 + 0.04(1 - \text{WFPS})]$

^a D_0 is the gas diffusion coefficient in free air ($D_0 = 1.42 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ at 20°C and 1 atm, Pritchard & Currie (1982)), WFPS is the water-filled pore space, P is the soil total porosity ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$), and b is the Campbell pore size distribution index.

5.3.1.3 Dissolved nitrous oxide

Because N_2O is highly soluble (Heincke & Kaupenjohann, 1999), we introduced a gas-liquid equilibrium according to Henry's law [eq. (5.4)]:

$$C_{\text{aq}} = Hp \quad (5.4)$$

where C_{aq} is the N_2O concentration in the aqueous phase (mol L^{-1}), H is the Henry's constant of N_2O in a given electrolyte solution at a given temperature ($\text{mol L}^{-1} \text{ atm}^{-1}$), and p is the partial pressure of N_2O in the gaseous phase (atm).

The effect of the presence of ions in the solution on the N_2O solubility was taken into account with the Sechenov equation (Schumpe, 1993), together with the temperature dependence of H . The gas-liquid equilibrium was applied only if the N_2O concentration in the aqueous phase was lower than the saturation concentration of N_2O in water. The simulation allowed for any dissolved N_2O lost with the water outflow to be removed from the budget. Transport by diffusion in the aqueous phase is analogous to the transport in the gaseous phase and is also modeled with Fick's law [eq. (5.3)], with the N_2O diffusion coefficient in water being equal to $1.80 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (Weast & Astle, 1979).

5.3.2 Model parameterization

The model was used in two types of simulations. Its sensitivity to WFPS was first tested by using randomly chosen values of WFPS and BD. Secondly, the model was applied to the experimental data set of Rabot et al. (2014), who highlighted N_2O peaks during drying, probably due to N_2O entrapment during the wetting phase and fast release during the drying phase. The hypotheses regarding the functioning of N_2O emissions during the drying phase were evaluated with our modeling approach. In the two cases, the modeling support was the same. Coding was done in FORTRAN 2003 within the INRA VSoil platform. The platform provides an easy way to use and couple numerical modules representing processes occurring in soils (Lafolie et al., 2014).

Information about how to use and contribute to the platform can be found in the dedicated web site: http://www.inra.fr/sol_virtuel/.

5.3.2.1 The modeling domain

The soil horizon was represented as a 7-cm height 1-D space, with 8 discrete nodes. The closed-chamber was simulated with the same vertical spacing between simulation nodes as the soil horizon. Calculations were performed on each node with a time increment of 3 seconds and results were stored every 3600 seconds. No-flux boundary conditions were imposed at either the upper (i.e., top of the closed-chamber) or lower (i.e., bottom of the soil horizon) boundaries. Input parameters for NOE_{GTE} were the volumetric water content, soil total porosity, soil and air temperature, soil nitrate content, potential denitrification (D_p), and the ratio of N₂O to denitrified nitrate (r_{\max}). The values of all these parameters were assigned to each node of the soil horizon. At time $t = 0$ hour, initial N₂O concentration in the gaseous phase, in both the soil and the chamber, was set to the atmospheric concentration (319 ppb), and the N₂O concentration in the aqueous phase was initialized to be at equilibrium with the atmospheric concentration of N₂O at 20°C. Then, every 30 minutes, the N₂O gas concentration inside the chamber was set equal to 319 ppb, to simulate the regular chamber removal done before each N₂O flux measurement in the study of Rabot et al. (2014).

5.3.2.2 Evaluating the model sensitivity to the water-filled pore space

To test the NOE_{GTE} sensitivity to the WFPS parameter, we built a quasi-random data set consisting of a combination of hydric conditions (WFPS in the range [0–1]) and bulk density (BD in the range [1.2–1.4], needed to estimate D_S/D_0 ; the BD values were typical for the surface horizon of cultivated soils, and corresponded to P in the range [0.47–0.55]). These simulations are hereafter referred to as VARBD. To test the effect of BD on the simulation results, the model was also run for fixed BD values of 1.20, 1.30, and 1.40 g cm⁻³, and WFPS in the range [0–1]. This second test of the model sensitivity to the WFPS parameter is hereafter referred to as FIXEDBD simulations. We used a Sobol' sequence in order to reduce the computational cost of the analysis, and generated thus 200 realizations from a uniform distribution. The values of the other parameters were fixed to be in agreement with the experimental data set of Rabot et al. (2014): $D_p = 15 \text{ g N ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$, $r_{\max} = 0.9$, $F_N = 1$, and $F_T = 1$. WFPS was a uniform value in the entire column and was set to be constant with time. The gas diffusivity was estimated with the MQ model. The total simulation time was 168 hours (7 days).

5.3.2.3 Evaluating hypotheses on nitrous oxide emission processes

We used experimental data presented in Rabot et al. (2014) to parameterize and evaluate hypotheses on the N₂O emission processes. Briefly, in this study, 12 undisturbed soil cores (15 cm inner diameter, 7 cm height) were subjected to two wetting-drying cycles. Nitrous oxide fluxes were measured by infrared correlation spectroscopy by using the closed-chamber method, soil matric potential was recorded by three tensiometers inserted at 3, 4, and 5 cm depth, and soil water content was recorded by a soil moisture probe installed vertically at the soil surface to record an integrated value of the soil moisture. The soil was first saturated for four days with a nitrate solution. The soil

drying was then performed stepwise in a tension table, by applying a decreasing pressure head level once a day across the range 0 to –100 cm, beginning with a –7 cm pressure head step. Three treatments of soil drying were applied depending on the number of steps required to reach –100 cm pressure head, and are hereafter referred as the Fast, Medium, and Slow treatment.

For each sample, the volumetric water content data were first smoothed to remove noise, by using the functional data analysis package “fda” (Ramsay et al., 2013) built on R (R Development Core Team, 2012). It was realized by using a B-spline basis system and a roughness penalty on the second derivative. The smoothing parameters were chosen by examining the quality of the resulting fit (Ramsay et al., 2009). Four gas diffusivity models were tested (Table 5.1). The Campbell pore size distribution index (b) used in the M model was determined by fitting the Campbell (1974) model to the soil water retention curve [eq. (5.5)], based on the measured soil water contents and soil matric potentials. The b parameter was estimated by curve fitting for the two wetting-drying cycles of each soil sample, to take into account the effect of the hysteresis in the soil water retention curve.

$$\frac{\theta}{\theta_s} = \left(\frac{\Psi_b}{\Psi} \right)^{1/b} \quad \text{for } \Psi < \Psi_b \quad (5.5)$$

where θ is the soil water content ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$), θ_s is the saturated water content ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$), Ψ is the soil matric potential (m), and Ψ_b is the air-entry potential (m).

For the N_2O production module, we made the following assumptions: (1) N_2O production occurred over the whole horizon depth, because the 12 soil samples were extracted from surface horizon, where C and N are available for microorganisms (Jobbagy & Jackson, 2001), (2) N_2O was mainly produced by denitrification because water content was high throughout the experiment (WFPS always > 0.6), and (3) because the experimental setup begins with a quick rewetting to saturation, the N_2O production increased so much that the initial N_2O concentration in the soil appeared negligible in comparison. To focus on the effect of the F_W function on N_2O emissions, the experiment of Rabot et al. (2014) was conducted under laboratory conditions with the room temperature ranging between 20 and 21°C and the nitrate concentration of the wetting solution being equal to 200 mg N kg^{-1} , thus giving $F_T = 1$ and $F_N = 1$. Moreover, in the NOE model, D_P is usually estimated by wetting a soil core (10 cm inner diameter, 20 cm height) with a nitrate solution for 24 hours, then allowing the sample to drain freely for a further 24 hours, before measuring the N_2O flux over a 3-hour period (Hénault et al., 2005). The wetting phase was four times longer in the experiment of Rabot et al. (2014), but the nitrate concentration of the wetting solution and the soil temperature were the same as for the experiments enabling the estimation of the D_P parameter. We therefore approximated D_P in the 12 soil samples by dividing the flux value at the end of the –7 cm pressure head step by four. During this step, the pressure head was lowered to the bottom of the soil sample, allowing the macropores to drain for 24 hours. D_P was estimated for the two wetting-drying cycles. The r_{max} parameter was fixed to 0.9, because at high nitrate availability, the $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ ratio is known to be high (Letey et al., 1980; Ruser et al., 2006; Weier et al., 1993).

5.3.3 Data analyses

Cumulative N₂O fluxes were calculated by linearly interpolating the N₂O flux values that were frequently recorded or simulated with time, and then integrating the area under the curve (Castellano et al., 2010; Dobbie et al., 1999). To compare the effect of the different D_S/D_0 estimations in the model, we used the root-mean-square error (RMSE):

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2} \quad (5.6)$$

where P_i and O_i are predicted and observed values and n is the number of observations. The mean error (ME) was used to evaluate over- or underestimations of the model:

$$\text{ME} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (P_i - O_i) \quad (5.7)$$

The effect of the hydric period or treatment on RMSE and ME were assessed by a Mann-Whitney U test or a Kruskal-Wallis test at the 5% level. Correlations were assessed by the calculation of Pearson correlation coefficients.

5.4 Results and discussion

5.4.1 Evaluating the model sensitivity to the water-filled pore space

Results of the VARBD simulations are given in Figure 5.1. It shows the evolution of the N₂O fluxes with time for the 200 simulated soil samples. No flux was observed for WFPS < 0.62 for the overall simulation period, because the source term was set to zero by the N₂O production module. For WFPS between 0.62 and ~0.95, fluxes increased to the end of the simulation period. The maximum N₂O fluxes were reached at a WFPS of approximately 0.8. Conversely, very low fluxes were simulated for WFPS > 0.95 because of the slow gas diffusion in the water-saturated soil. Considering only gas diffusion, at WFPS = 0.62, a N₂O molecule covers approximately 37 cm during the 7 days simulated, whereas at WFPS = 0.8 it covers 13 cm, and only 1.3 cm at WFPS = 0.95 (according to the MQ model, with BD = 1.30 g cm⁻³). Thus, the whole soil profile is expected to participate to the surface flux at WFPS = 0.8, where maximum fluxes were simulated. The three-dimensional representation of Figure 5.1 is projected onto the plane formed by the N₂O flux and WFPS axes in Figure 5.2 for four simulation times. Fluxes were bell-shaped during the 7 days simulated, combining the effects of the low N₂O production for low WFPS, and the slow gas diffusion for the highest WFPS. This shape was in agreement with other data collected in the field (e.g., Laville et al., 2011; Rafique et al., 2011; Schmidt et al., 2000) and laboratory experiments (e.g., Balaine et al., 2013; Castellano et al., 2010; Ciarlo et al., 2007). In these studies, maximum N₂O fluxes occurred at a WFPS ranging between 0.6 and 0.8, and the decrease in N₂O fluxes at high WFPS was attributed both to the slow gas diffusion and to a high reduction of N₂O into N₂ at high water content, because the N₂O-reductase is inhibited by oxygen (Ruser et al., 2006). In the N₂O production module used, the reduction of N₂O into N₂ is represented by a fixed value measured experimentally, which integrates thus several

soil parameters affecting the N_2O/N_2 ratio. Some factors are known to modify the N_2O/N_2 ratio: the N_2O -reductase is inhibited by oxygen (Ruser et al., 2006), high nitrate contents (Weier et al., 1993), low pH (Knowles, 1982), or high temperatures (Keeney et al., 1979). High carbon contents increase denitrification, so an increase in N_2O fluxes has already been observed (e.g., Harrison-Kirk et al., 2013), or on the contrary, a decrease of the N_2O/N_2 ratio (e.g., Khalil et al., 2002b). Even if the reduction of N_2O into N_2 has been demonstrated (Ciarlo et al., 2007; Letey et al., 1980; Weier et al., 1993), the slow gas diffusion appeared to be enough to explain the decrease of N_2O fluxes at high WFPS in our simulations. However, a major improvement of the model would be to include the N_2O reduction as a function of the WFPS. It would lead to a shift of the simulated peak to lower WFPS. Moreover, some low N_2O fluxes have already been measured in the field or in laboratory experiments for $WFPS < 0.62$, and were attributed to denitrification occurring in anaerobic zones inside water saturated aggregates, or to nitrification (Bateman & Baggs, 2005).

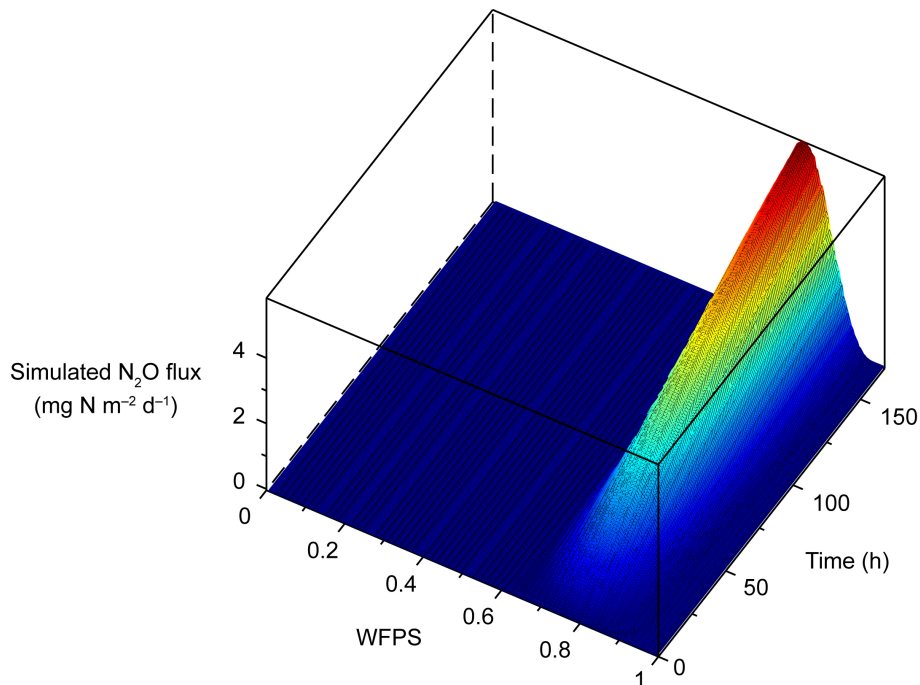


Figure 5.1 – Simulated nitrous oxide flux with time for water-filled pore space in the range [0, 1]. At time = 0 hour, initial conditions were applied. For the next time increments, the nitrous oxide production module, and the gas transport and equilibrium modules were activated.

In addition, the VARBD simulations showed a N_2O flux increase with time at a given WFPS, when anoxic conditions were favorable. Indeed, as the N_2O accumulated in the soil because of the slow gas diffusion and a constant production, the gas concentration gradient between the soil surface and the chamber headspace increased with time, and the flux increased. This phenomenon led to the shift of the peak to higher WFPS with time: maximum N_2O fluxes occurred near $WFPS = 0.76$ after 12 hours and this value increased with time to reach $WFPS = 0.79$ after 168 hours (Figure 5.2). Moreover, for high WFPS and for the latest times of simulation, N_2O produced at deeper nodes diffused enough to contribute to emissions at the soil surface. By highly increasing the simulation time, the transport

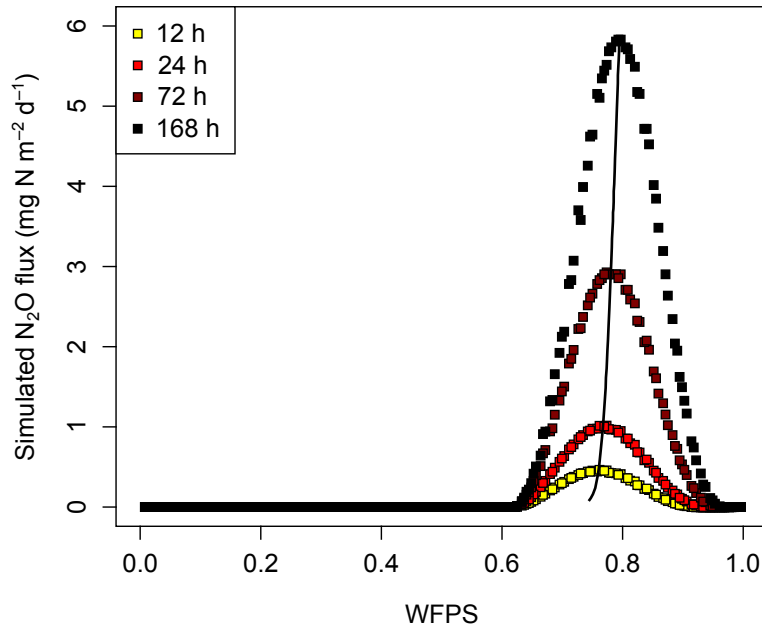


Figure 5.2 – Simulated N_2O fluxes after 12, 24, 72, and 168 hours as function of the water-filled pore space. The black line represents the maximum simulated N_2O flux at each time.

length of N_2O molecules would increase and the right side of the bell would tend to disappear. Thus, the hydric history could explain the different WFPS values recorded in the literature for the maximum N_2O fluxes, in addition to other variables linked to N_2O production or $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ ratio, such as texture, structure or carbon and nitrogen contents. It is also noteworthy that in published experimental data, the F_W relationship was often noisy compared to laboratory experiments or our modeling approach, because some other factors (e.g., nitrate content, temperature) were limiting (Laville et al., 2011). Using a boundary line method such as proposed by Schmidt et al. (2000) generally allows highlighting the bell-shaped relationship of field data.

In the FIXEDBD simulations, by comparing the WFPS corresponding to the maximum simulated N_2O flux at different times (Table 5.2), we observed that the effect of BD was low (difference in the WFPS of 0.007 after 168 hours between $\text{BD} = 1.20$ and 1.40 g cm^{-3}), and that a soil with a high BD tended to produce the maximum N_2O flux at lower WFPS compared to a soil with low BD. This low effect of BD was also seen in the cumulative N_2O fluxes: they were in the same order of magnitude for the three BD, from $10.63 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at $\text{BD} = 1.40 \text{ g cm}^{-3}$, to $10.74 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ at $\text{BD} = 1.20 \text{ g cm}^{-3}$. Dense soils are known to cause higher N_2O fluxes than loose soils (e.g., Balaine et al., 2013; Beare et al., 2009; Hansen et al., 1993; Ruser et al., 2006; Yamulki & Jarvis, 2002). These high fluxes were often explained in field experiments by a reduction of the air-filled porosity (Hansen et al., 1993; Ruser et al., 2006). In our model, BD is a component of the gas diffusion coefficient calculation, and the amount of water involved in the gas-liquid equilibrium. Because there was a difference in the water content at a given WFPS between the three BD, contribution of the N_2O dissolution in the liquid phase was different: the amount of N_2O was higher in the soil solution for the low BD. Moreover, the gas diffusivity estimated with the MQ model as function of the WFPS is a very flat curve at high WFPS (Figure 5.3). Thus, in the range of WFPS which allows gas

productivity, the sensitivity of the MQ model to BD is low. It resulted in very similar D_S/D_0 values for the three BD values.

5.4.2 Evaluating hypotheses on nitrous oxide emission processes

5.4.2.1 Comparison between measured and simulated nitrous oxide fluxes

Measured and simulated cumulative N_2O fluxes are presented in Figure 5.4. Correlation coefficients calculated for each gas diffusivity model were high, in the range 0.85 to 0.89, which demonstrates that the NOE_{GTE} model provided satisfactory results for the cumulative N_2O fluxes regardless of which model was used to calculate D_S/D_0 . However, for a given soil sample, the simulated flux dynamics were still highly variable and depended on the gas diffusivity model used. Since estimation of the soil gas diffusivity is still a challenge, we integrated the four simulation results with the four gas diffusivity coefficients in the form of a 95% confidence interval for each sample. Measured and simulated flux dynamics are presented in Figure 5.5. For the 12 soil samples, the measured and simulated fluxes were in the same order of magnitude. NOE_{GTE} appeared able to capture the pattern of N_2O emissions monitored in the experiment of Rabot et al. (2014). The use

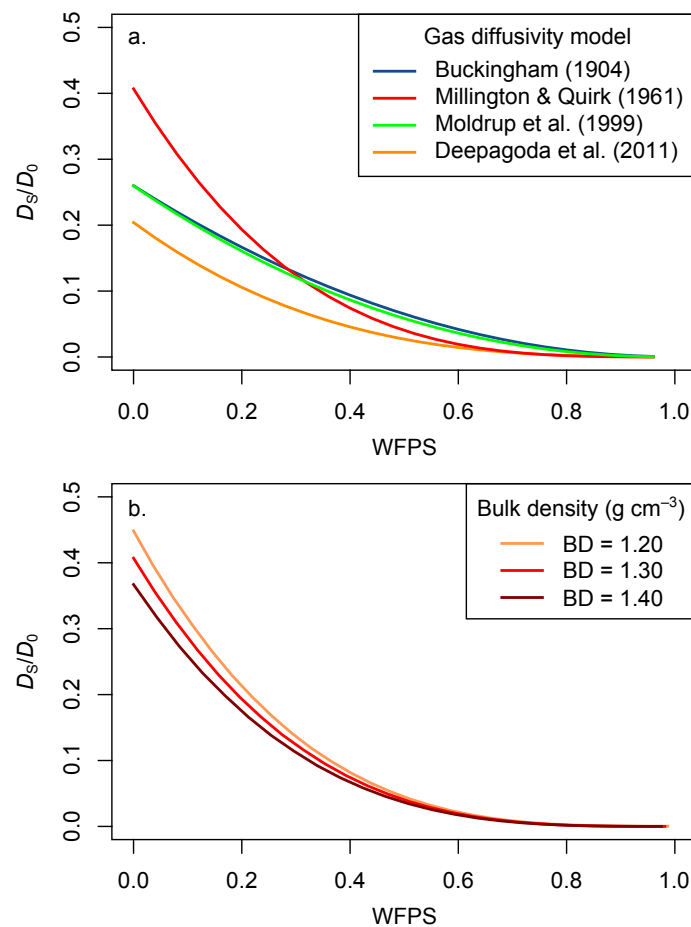


Figure 5.3 – Comparison of the relative gas diffusivities (D_S/D_0) estimated with (a) four different gas diffusion models and a bulk density of $1.30\ g\ cm^{-3}$, and (b) the Millington & Quirk (1961) model for three different bulk densities.

Table 5.2 – Water-filled pore space corresponding to the maximum simulated nitrous oxide flux, after 12, 24, 72, and 168 hours, for three bulk densities (BD).

BD	12 h	24 h	72 h	168 h
1.20	0.762	0.770	0.783	0.798
1.30	0.760	0.767	0.780	0.794
1.40	0.757	0.764	0.777	0.791

of a diffusion transport module in addition to the NOE model allowed the transient N₂O peaks during the drying phase to be reproduced, but they were sometimes overestimated. Conversely, N₂O dynamics were less well modeled for the wetting phase: an increase in N₂O fluxes was modeled at the beginning of the wetting phase, instead of a peak occurring 2 or 3 days after rewetting. Nevertheless, RMSE and ME were lower for the wetting phase than for the drying phase ($p < 0.05$; Table 5.3), because of the overestimated peaks during drying.

By comparing the N₂O flux estimations from the four gas diffusivity models used (Figure 5.6), we observed that they were very similar between B and M models on the one hand, and between MQ and D models on the other hand. Indeed, in the range of WFPS of the experiment (WFPS > 0.6), the B and M models in the one hand, and the MQ and D models in the other hand give similar D_S/D_0 estimations, especially at high WFPS (Figure 5.3). The B and M models tended to overestimate N₂O fluxes, whereas the MQ and D models were closer to experimental data (Table 5.3). In particular, fluxes were generally underestimated during the wetting phase for the four models, and fluxes were overestimated for the B and M models and were generally better for the MQ and D models during the drying phase (Table 5.3). No trend in the ME or RMSE values was observed between the three treatments of decreasing pressure head ($p > 0.05$). The confidence interval was often modeled to

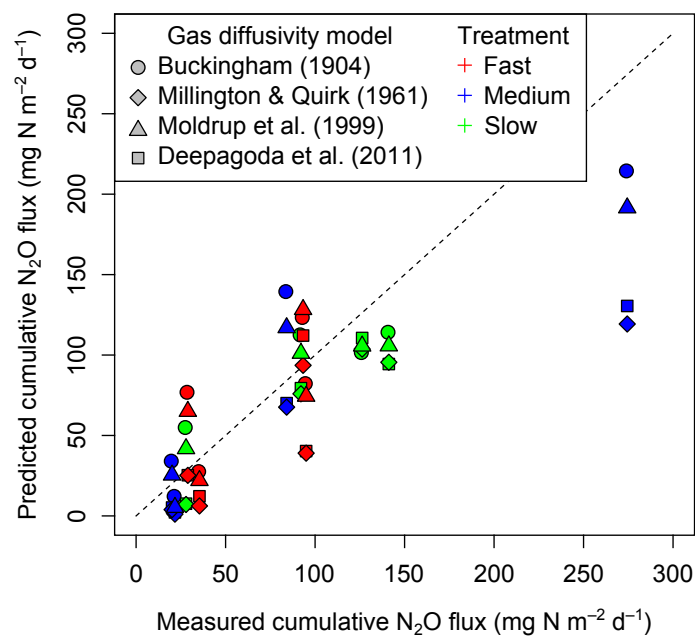


Figure 5.4 – Comparison of cumulative measured and predicted N₂O fluxes for the four models of gas diffusivity tested (Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values, dashed line: 1:1 line).

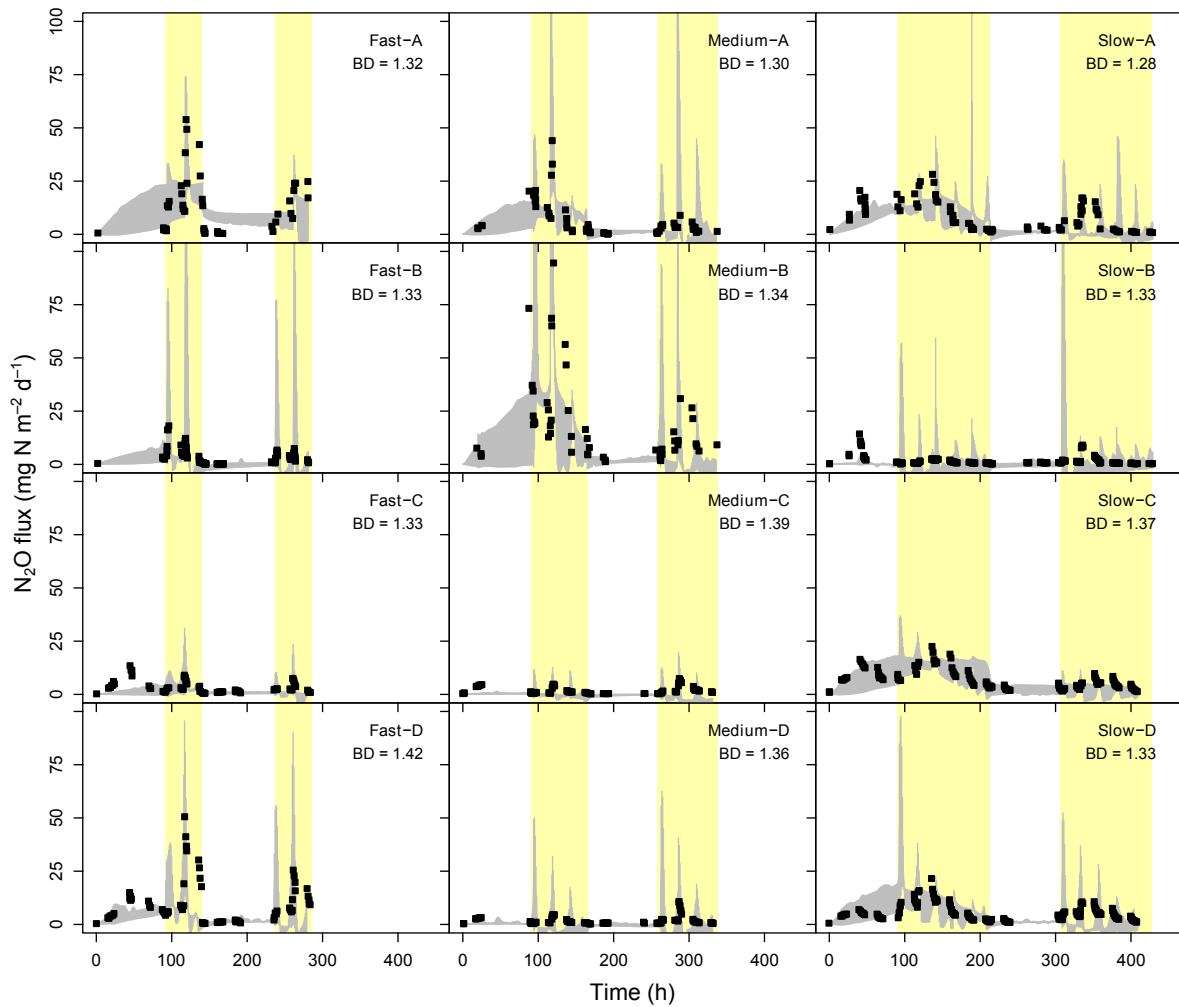


Figure 5.5 – Measured (black squares) and 95% confidence interval of simulated N₂O fluxes (grey areas). Sample names refer to the number of decreasing pressure heads applied during one wetting-drying cycle (Fast: 3 values, Medium: 4 values, Slow: 6 values, BD: bulk density in g cm⁻³). Yellow areas represent the drying phases, and white areas the wetting phases.

Table 5.3 – Root-mean-square error (RMSE) and mean error (ME) of the predicted nitrous oxide fluxes, depending on the soil gas diffusivity model used.

	Total		Wetting phase		Drying phase	
	RMSE	ME	RMSE	ME	RMSE	ME
Buckingham (1904)	33.30	8.90	5.70	0.20	41.20	13.60
Deepagoda et al. (2011)	11.50	0.10	4.90	-1.30	13.80	0.80
Millington & Quirk (1961)	12.30	0.00	5.30	-1.80	14.90	1.00
Moldrup et al. (1999)	27.20	6.50	5.30	-0.10	33.60	10.10

be higher for the first wetting phase than for the second wetting phase (Figure 5.5). For high WFPS, the D_S/D_0 was very similar for the four gas diffusivity models (Figure 5.3). We attributed thus the lower variability in the simulation results during the second cycle to a lower N_2O production during the second wetting cycle, linked to the lower WFPS and lower D_P .

Whereas we obtained very different results depending on the gas diffusivity model used, Böttcher et al. (2011) in their sensitivity analysis found few effects of D_S/D_0 on the simulated N_2O fluxes. The soils were well-aerated, contrary to the current experiment, with water contents in the near-saturated range. Böttcher et al. (2011) recommended, however, the use of measured rather than estimated D_S/D_0 . Using an efficient gas diffusivity model is essential as Balaine et al. (2013) suggested that N_2O emissions can be more efficiently predicted by D_S/D_0 than by the WFPS. Indeed, they concluded that the maximum N_2O emissions occurred at a D_S/D_0 of 0.006 and that this value was independent of the soil BD. For lower D_S/D_0 , they hypothesized that N_2O was entrapped in the soil and that the reduction of N_2O into N_2 was high. In our study, the D_S/D_0 allowing the maximum simulated N_2O fluxes varied depending on the simulated time, ranging from 0.002 to 0.004 (corresponding to the WFPS given in Table 5.2). Emissions may have been simulated to occur for $D_S/D_0 < 0.006$ because N_2O reduction into N_2 was not encoded in the model as a function of the WFPS, but as a fixed value. Other factors can influence the D_S/D_0 value where

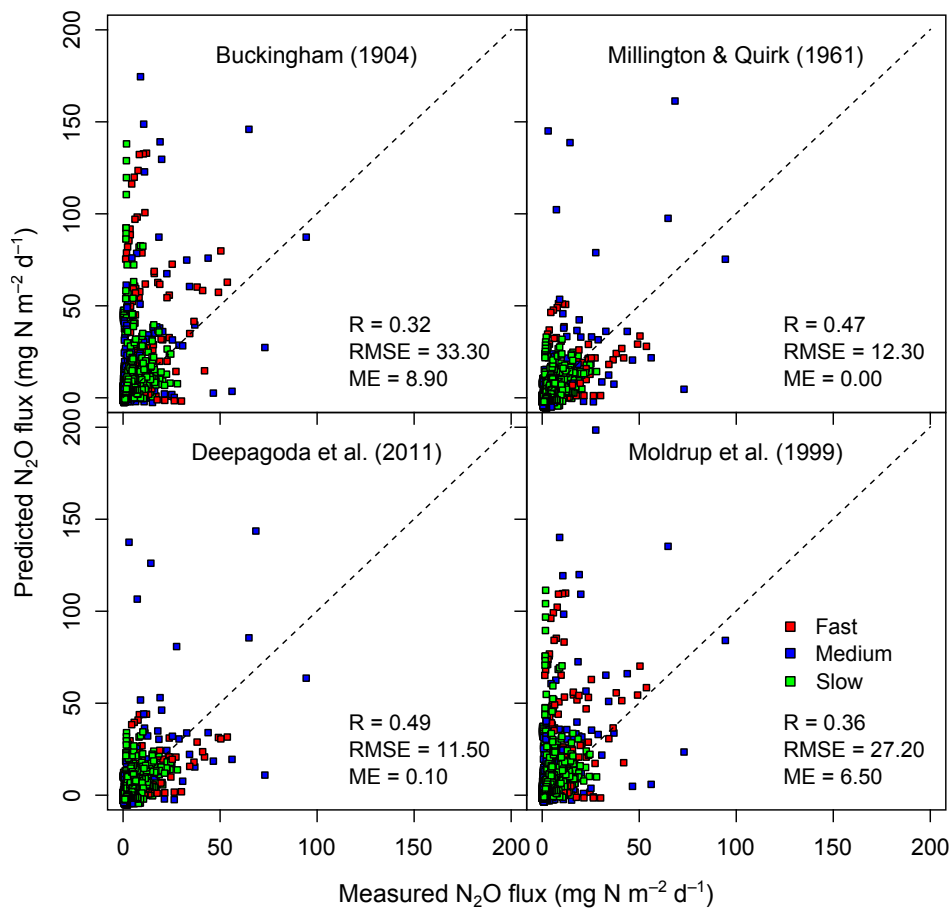


Figure 5.6 – Comparison of measured and predicted N_2O fluxes for the four models of gas diffusivity tested (Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values, dashed line: 1:1 line).

maximum fluxes are observed. The study of Petersen et al. (2013) demonstrated that high soil carbon contents may increase the oxygen demand and lead to suboxic conditions, increasing thus the D_S/D_0 where N_2O emissions are observed. Our results support the observation of Balaine et al. (2013) that D_S/D_0 is an efficient parameter to predict N_2O emissions, because at a given BD, it can be seen as a proxy of the WFPS to trigger the N_2O production, and because it controls the N_2O transport by combining information about the solid-induced tortuosity and the water-induced disconnectivity.

5.4.2.2 Description of the nitrous oxide emission processes

Rabot et al. (2014) observed in their laboratory experiment that N_2O flux peaks could occur during the wetting of a soil, as frequently observed in previous studies (e.g., Groffman & Tiedje, 1988; Sanchez-Martin et al., 2010; Sexstone et al., 1985), but also during the drying phase, with a higher or similar intensity. Conversely, the N_2O flux peak during drying has not previously been documented, probably because of its brevity. The maximum N_2O flux occurred just after the decrease of the pressure head, at the end of the steep decline of the soil matric potential or water content. The flux decreased then drastically. To explain peaks during soil drying, Rabot et al. (2014) made the following hypothesis: N_2O was produced and entrapped during the wetting phase and was emitted both by rapid gas displacement from the gaseous phase and released from the soil solution during the soil drying. After applying our modeling approach, we were able to decompose the N_2O flux dynamics during drying in two parts: i) the rapid rise of the N_2O flux can be attributed to the increasing D_S/D_0 due to the increase of free-air porosity, and N_2O exchanges from the liquid to the gaseous phase, ii) the decline of the N_2O flux occurring approximately 1.6 hours after the beginning of the soil drying can be attributed to the removal of the N_2O entrapped in the gaseous phase, the removal from the budget by drainage of a part of the N_2O entrapped in the soil solution, and the declining water content and nitrate content leading to lower N_2O production. The remaining question about the origin of the N_2O released during the drying phase, i.e., from the gaseous or from the liquid phase, in the Rabot et al. (2014) experiment can also be answered by the model: the best simulation results were achieved by using both Fick's and Henry's laws, favoring the hypothesis that N_2O was entrapped and released from the two phases. The behavior of N_2O in the aqueous phase, i.e., its high solubility and its possible transport out of a soil system with the water flow is an important aspect to consider for the study of indirect N_2O emissions.

Our analysis underscores the importance of transient dynamics in N_2O fluxes and identifies the need to use shorter time steps. A lot of models, e.g., APSIM (Thorburn et al., 2010), DAYCENT (Parton et al., 2001), DNDC (Deng et al., 2013), ECOSSE (Bell et al., 2012), were designed to be run at daily time steps. Although most of them succeeded in capturing cumulative N_2O fluxes at monthly or seasonal time steps, they often failed to simulate precisely the magnitude of N_2O fluxes. Indeed, even if the main controlling factors were understood, modeling emissions of a gas which is soluble and reacts to form other compounds with high temporal resolution is complex (Shcherbak & Robertson, 2014). Estimating N_2O fluxes at hourly time steps thus remains a challenge. Like the previously cited models, the NOE model was initially developed to be run at daily time steps. Attempts to use NOE at hourly time steps have occurred (e.g., Bessou et al., 2010; Hergoualc'h

et al., 2009; Metay et al., 2011) and by numerically re-building fine water content chronicles, they provided moderately good simulation results. Cannavo et al. (2006) combined NOE and simulated soil water content with gas transport equations. We assumed that introducing processes occurring at a fine temporal resolution, such as gas transport and gas-liquid equilibrium, would allow refining of NOE simulation results. In our case, a constant rise in N_2O fluxes was modeled at the beginning of the wetting phase, instead of a peak occurring 2 or 3 days after rewetting. This phenomenon, highly pronounced in some of the experiments at the first wetting-drying cycle, may be linked to denitrifying microorganisms which adapted gradually to anaerobic conditions (Laville et al., 2011). Indeed, N_2O emissions have already been observed to begin quickly after rewetting whereas the N_2O reduction into N_2 has been observed to occur after 2 to 4 days of wetting (e.g., Letey et al., 1980; Hansen et al., 2014). Errors in the flux estimation during the wetting phase propagated then to the end of the simulation period.

5.5 Conclusion

The modeling approach performed in this study was intended to refine the NOE model in order to demonstrate the role of the physical processes relating water and N_2O emissions and the importance of these in N_2O modeling. A sensitivity analysis of the WFPS parameter was performed using the new NOE_{GTE} model. The results showed that simulated N_2O fluxes plotted against WFPS were bell-shaped during the 7 days simulated, combining the effects of the low N_2O production for $WFPS < 0.62$, and the slow gas diffusion for $WFPS > 0.95$. It was in agreement with previous studies based on data collected in field or laboratory experiments. The WFPS generating the maximum simulated N_2O fluxes shifted with time because of an increase over time of the gas concentration gradient between the soil surface and the atmosphere, and because the participation of the deeply produced N_2O to the surface flux increased with time. By increasing the simulation time, the right side of the bell would tend to disappear. The hydric history is thus an additional explanation of the different WFPS values recorded in the literature for the maximum N_2O fluxes, in addition to other variables linked to the N_2O production or to the N_2O/N_2 ratio. Moreover, the model appeared able to capture the pattern of N_2O emissions monitored during wetting and drying experiments. Nitrous oxide peaks observed during soil drying were indeed well reproduced in terms of timing, but their magnitudes were often overestimated. We were able to validate the hypothesis that the rapid rise of the N_2O flux during soil drying was attributed to the increasing D_s/D_0 , and N_2O exchanges from the liquid to the gaseous phase. The decline occurring a few hours later was attributed to a decrease of the N_2O entrapped in the gaseous phase, the removal from the budget by drainage of a part of the N_2O entrapped in the soil solution, and the declining water content and nitrate content leading to lower N_2O production. The next improvement for N_2O emission models at high temporal resolution would be then to finely describe N_2O stocks in the soil by: i) taking into account N_2O production and consumption by microorganisms as a function of time and soil moisture, and ii) considering that equilibrium between the gaseous and aqueous phases is probably not direct (Stolk et al., 2011).

Acknowledgements: This work was supported by a Conseil Général du Loiret grant, and by the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01).

Conclusion générale

6.1 Objectifs et moyens mis en œuvre

L'objectif principal de la thèse était la compréhension des déterminismes des émissions de N_2O liés aux propriétés hydriques des sols. La synthèse bibliographique a dans un premier temps permis la définition des problématiques de recherche. Les observations issues de la littérature ont ainsi démontré un caractère particulièrement dynamique des émissions de N_2O , qui ont souvent lieu sous forme de pics, en réponse à la variation de paramètres du milieu. On a ainsi choisi de s'intéresser à la dimension dynamique des flux de N_2O , en lien avec la nature dynamique des flux d'eau dans le sol.

Au cours de la thèse, plusieurs types d'expérimentations de laboratoire ont été mis en œuvre, en s'appuyant sur des échantillons prélevés sur une même parcelle agricole. Ces expérimentations ont permis le contrôle hydrique fin des échantillons de sol, en saturation et en désaturation, et l'application de cycles de saturation/désaturation. Ce contrôle a été réalisé en conditions proches de la saturation à l'aide d'une table à succion (Chapitre 2), un dispositif classiquement utilisé pour déterminer la courbe de rétention en eau des sols, et dans des conditions plus sèches à l'aide d'un dispositif de *multistep outflow* (Chapitre 3). Chacune de ces expérimentations a bénéficié d'une haute résolution temporelle de la mesure des flux de N_2O , grâce à l'utilisation d'un spectromètre à corrélation infrarouge, ce qui a mis en évidence des dynamiques d'émission de N_2O en désaturation jusqu'alors non documentées.

Une information spatialisée des flux hydriques au cours de cycles de saturation/désaturation a pu être obtenue par l'utilisation de l'imagerie par rayons-X sur un échantillon de sol (Chapitre 4). L'imagerie par rayons-X permet d'observer les trois phases composant le sol, les phases gazeuse, aqueuse et solide. Après traitement des images, il a été possible de comparer l'état d'humidité relative du sol à différents moments de la saturation et de la désaturation, notamment dans la matrice, et de quantifier la connectivité gazeuse de l'échantillon. Cette expérimentation s'est avérée être la première tentative de couplage entre l'imagerie, le contrôle hydrique et le suivi des flux d'un gaz à effet de serre.

Enfin, une démarche de modélisation couplant des modules de production de N_2O , de transport de N_2O en phases liquide et gazeuse, et d'équilibre phase liquide-phase gazeuse a été mise en œuvre sur la plateforme VSoil (Chapitre 5). En introduisant ces processus, les flux de N_2O ont été prédits à pas de temps horaire. La démarche de modélisation a permis d'une part, de mettre en application

les théories issues des expérimentations de laboratoire, mais aussi de poursuivre la réflexion sur le lien entre les propriétés hydriques des sols et les émissions de N_2O à l'aide d'une analyse de sensibilité du paramètre WFPS. Le test du modèle sur des données expérimentales a montré des surestimations de l'intensité des flux de N_2O , mais de bons résultats en termes de flux cumulés. L'ordre de grandeur des flux et le timing des pics de N_2O ont été respectés.

6.2 Les déterminismes hydriques

Au travers des expérimentations et de la modélisation, plusieurs aspects du rôle de l'eau du sol sur l'intensité des émissions de N_2O ont été mis en évidence : son rôle physique, son rôle sur les équilibres chimiques et sur la production microbologique de N_2O .

6.2.1 Un rôle physique

L'eau possède un rôle physique, qui influe sur le transport gazeux. En effet, la présence d'eau participe au confinement de certaines parts de la porosité du sol. Le transport rapide du N_2O gazeux de son lieu de production dans les pores fins saturés d'eau vers la surface du sol est ainsi ralenti. A l'aide de l'imagerie, on a pu calculer les paramètres de connectivité gazeuse et de volumes de pores. Tant que le sol était saturé d'eau, on a pu identifier de nombreux pores isolés, et peu d'interconnexions entre les différents pores biologiques et structuraux. Après une heure de désaturation, le drainage de l'eau hors de l'échantillon a permis l'augmentation du volume de pores libres à l'air et la libération de N_2O depuis les zones de production. L'augmentation de la connectivité des pores libres à l'air en désaturation observée dans le Chapitre 4 va de pair avec l'augmentation du coefficient de diffusion gazeuse, comme modélisé dans le Chapitre 5, et avec la décroissance rapide du potentiel matriciel comme observé dans le Chapitre 2.

Un bref pic d'émissions de N_2O a été observé dans toutes nos expérimentations, une à deux heures après le début de la désaturation en eau des échantillons. Les phénomènes de transport gazeux ont permis de l'expliquer. L'augmentation de la connectivité gazeuse et donc du coefficient de diffusion gazeuse lors de la désaturation permet la libération du N_2O piégé pendant la phase de saturation. Cette libération a été définie comme fonctionnant sur le modèle d'un réservoir, qui se remplit et se vide de N_2O en fonction de la variation des conditions du milieu (Chapitre 2). Ainsi, les premières charges hydrauliques appliquées, même faibles, ont conduit à des pics de N_2O . L'intensité du pic a ensuite diminué lorsqu'il ne restait plus de N_2O piégé.

Les paramètres connectivité gazeuse et coefficient de diffusion gazeuse sont des variables complémentaires du WFPS, puisqu'elles caractérisent la porosité libre à l'air. Elles constituent ainsi des variables intéressantes à observer dans le cadre de l'étude des émissions de N_2O . En effet, elles peuvent d'une part être vues comme indicateurs du WFPS, mais aussi comme paramètres de contrôle du transport de N_2O , en combinant des informations sur la tortuosité induite par la matrice solide du sol et sur la discontinuité induite par la présence de l'eau dans sol. Un lien fort a également été observé entre les pics d'émissions de N_2O et le moment de la décroissance rapide du potentiel matriciel. Le potentiel matriciel, quelquefois utilisé dans la littérature comme meilleur

indicateur de l'activité microbiologique que le WFPS, peut également être utilisé pour définir le moment des pics à la désaturation. Il est facilement mesurable sur le terrain et au laboratoire.

La corrélation des flux cumulés de N_2O et des flux maximum avec la quantité d'eau drainée (Chapitres 2 et 3) a conduit à étudier le rôle du fonctionnement hydrodynamique sur les émissions de N_2O . Les différents traitements appliqués ont permis de faire varier la vitesse des flux d'eau et la valeur du WFPS à la fin de la période de désaturation. Ainsi, un premier effet sur la facilité de l'émission de N_2O vers la surface a été observé. Un second effet a concerné l'intensité de la production de N_2O et de sa réduction en N_2 . En effet, le fonctionnement hydrodynamique influe sur le degré d'aérobiose au sein du sol et sur le transport de N_2O . On a ainsi mis en évidence la nécessité de séparer les processus de production de N_2O des processus de transport.

6.2.2 Un rôle sur les équilibres chimiques

L'eau joue également un rôle dans les équilibres phase liquide-phase gazeuse. En effet, la forte solubilité du N_2O conduit à son piégeage dans la phase aqueuse, notamment pendant les phases de saturation en eau. Son transport étant bien plus lent dans la phase aqueuse ($1.80 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) que dans la phase gazeuse ($1.42 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$), de faibles émissions à la surface du sol sont observées en période de saturation. Ces faibles émissions proviennent de pores libres à l'air ou de sites de production saturés en eau proches de la surface. Par la modélisation (Chapitre 5), on a pu conclure que la phase aqueuse semblait également contribuer aux pics de N_2O observés au début de la phase de désaturation. La fin du pic est quant à elle en partie expliquée par le drainage hors du système d'une part du N_2O piégé dans la phase aqueuse. Le possible départ de N_2O avec l'eau drainée a de grandes implications sur les émissions indirectes de N_2O .

6.2.3 Un rôle sur la production microbiologique

Enfin, l'eau a une grande influence sur l'activité des microorganismes responsables de la production de N_2O , puisqu'un environnement anaérobie est nécessaire à sa production par la dénitrification. Cet aspect a beaucoup été étudié dans la littérature. La dénitrification étant une chaîne de réactions biochimiques séquentielles, il existe un délai entre le moment où les conditions du milieu sont favorables à la dénitrification et le moment où N_2O , puis N_2 sont produits. Ainsi, on a pu observer des émissions pendant la phase de saturation sous la forme de pics, montrant un maximum après deux à trois jours (Chapitre 2). Cette dynamique, combinant la production de N_2O et sa réduction en N_2 , est plus lente que celle des pics à la désaturation (pente du flux de N_2O plus faible à la saturation). Dans les conditions expérimentales utilisées, l'intensité des pics à la saturation a été mesurée comme étant équivalente ou inférieure à celle des pics observés pendant les phases de désaturation.

Une faible réduction de WFPS entre deux cycles de saturation, telle qu'observée dans les Chapitres 2 et 4, conduit ainsi à des conditions d'aérobiose légèrement moins favorables à l'activité dénitrifiante. Cette réduction de WFPS modifie par ailleurs le transport du substrat azoté et son accès pour les bactéries. Elle est liée au phénomène d'hystérèse hydrique, qui conduit entre autres au piégeage

d'air dans les pores du sol pendant la phase de saturation. L'hypothèse du rôle de l'hystérèse hydrique a ainsi été ajoutée aux hypothèses de fonctionnement des émissions de N_2O plus classiques, liées à la dynamique du carbone et de l'azote au cours de cycles de saturation/désaturation.

Dans les expérimentations des Chapitres 2 et 4, les flux maximum d'émission de N_2O pendant les phases de désaturation ont été mesurés dans une même gamme de potentiels matriciels, de l'ordre de -50 cm à -100 cm d'eau. Cela suggère que la production de N_2O a lieu dans des pores de diamètre inférieur à 30 ou 60 μm , lorsqu'ils sont saturés en eau. Cette gamme de potentiels matriciels est régulièrement atteinte au champ, ce qui favorise la forte variabilité temporelle des flux de N_2O .

6.3 La relation WFPS-émissions de N_2O

On a pu démontrer que les fortes intensités dans les émissions de N_2O ne pouvaient pas être reliées directement à la valeur simultanée du WFPS et au statut d'aération du sol, puisque des processus physico-chimiques et pas seulement microbiologiques entrent en jeu. Ainsi, il convient de distinguer des processus de production/consommation et de transport de N_2O , liés à la dynamique du WFPS. Pour illustrer ce propos, on a décomposé en deux parties la dynamique d'émission de N_2O au début de la phase de désaturation. L'augmentation rapide du flux de N_2O a été attribuée à l'augmentation du coefficient de diffusion gazeuse avec l'augmentation de la porosité libre à l'air, et à des équilibres entre la phase liquide et la phase gazeuse. La diminution des flux observée une à deux heures après le début de la désaturation a été attribuée à la diminution de la quantité de N_2O piégé dans la phase gazeuse, au départ par drainage d'une partie du N_2O piégé dans la solution du sol, au plus faible WFPS et à la plus faible concentration en nitrates conduisant à une plus faible production de N_2O .

La relation WFPS-émissions de N_2O a souvent été construite à l'aide d'échantillons de sol à l'équilibre hydrique et donnée comme de forme exponentielle ou gaussienne. L'approche par la modélisation, en couplant un module de production de N_2O à un module de transport et d'équilibre phase liquide-phase gazeuse, a conduit à une relation de forme gaussienne du seul fait de la faible diffusion gazeuse à très fort WFPS (> 0.95), et de la faible production à faible WFPS (< 0.62). La réaction de réduction du N_2O en N_2 a, elle aussi, souvent été décrite comme fonction du WFPS. Elle n'a pas été implémentée dans le modèle, mais pourrait contribuer à réduire encore l'intensité des flux de N_2O à fort WFPS. L'optimum des émissions de N_2O a été trouvé autour d'un WFPS de 0.8 , ce qui est en accord avec des observations de terrain et de laboratoire issues de la littérature.

Les expérimentations et la modélisation mis en œuvre au cours cette thèse nous ont conduit à ne pas proposer d'équation simple reliant les émissions de N_2O et la valeur du WFPS. En effet, le fonctionnement de type réservoir du sol conduit à devoir prendre en compte l'historique hydrique du sol, et non son état hydrique au temps de mesure des émissions, ce qui peut être fait aisément par la modélisation. La modélisation permet, en effet, de caractériser les variations de stocks de N_2O au cours du temps dans les phases hydrique et gazeuse. De plus, on a pu hiérarchiser l'importance des propriétés hydrodynamiques testées dans le Chapitre 4. Néanmoins, le choix des valeurs appliquées

ayant un grand impact sur les flux hydriques et donc sur les émissions de N_2O , des tendances ont pu être dégagées, sans qu'elles ne constituent des sorties génériques. Au vu du caractère dynamique des émissions de N_2O et des flux d'eau dans le sol, on suggère ainsi l'utilisation couplée de modules de transport hydrique et de transport de N_2O sous forme gazeuse et en solution pour prédire les émissions de N_2O . Le transport de l'eau et de molécules est sans aucun doute mieux décrit et formalisé que la dynamique microbienne face à la variation des conditions hydriques. On notera cependant que l'effet de l'hystérèse hydrique, même bien compris de façon théorique, reste difficile à appliquer en modélisation hydrique par manque de données d'entrée.

6.4 Perspectives

Le modèle de prédiction des émissions de N_2O NOE_{GTE} , dont la construction est précisée dans le Chapitre 5, devra toutefois être testé sur des données de terrain, et comparé à l'approche statique du modèle NOE . Le transport hydrique a été simulé à l'échelle de l'échantillon de sol. Bien que satisfaisante à l'échelle d'un échantillon de quelques centimètres de haut, cette approche n'est pas générique. Un transport hydrique spatialisé plus finement devra être implémenté, et permettra des simulations sur des profils de sol plus épais, présentant des différenciations pédologiques et donc de propriétés hydriques. On a également vu qu'une meilleure précision des prédictions pourrait être obtenue en considérant que la production microbologique est une fonction du temps et du WFPS, et en considérant que les équilibres phase liquide-phase gazeuse ne sont pas instantanés. La modélisation entraîne par nature des simplifications qui peuvent être sources d'erreur. Par exemple, on a vu que l'estimation du coefficient de diffusion gazeuse par quatre modèles différents pouvait conduire à une grande variabilité dans les résultats.

Une autre perspective concerne la poursuite de la recherche sur l'effet de l'hystérèse hydrique, afin de dépasser l'étape d'hypothèse. Des expérimentations en conditions favorables du point de vue de la température et des teneurs en nitrates et en carbone devront être menées. Le dispositif d'imagerie par rayons-X utilisé dans le Chapitre 4 a permis d'imager la structure du sol et l'eau, mais était d'une résolution trop grossière pour observer les gammes de pores identifiées comme favorables à la production de N_2O (30 à 60 μm de diamètre). Un outil permettant d'imager l'eau à une résolution plus fine permettrait de caractériser la configuration spatiale de la phase aqueuse et de mettre en évidence une éventuelle hystérèse hydrique. A titre d'exemple, l'imagerie par neutrons semble être un outil particulièrement adapté, car elle permet de très bien imager l'eau à des résolutions de l'ordre de 10 à 50 μm .

6.5 Synthèse

Cette étude a mis en évidence le rôle des propriétés hydriques des sols dans la variabilité des émissions de N_2O couramment observées sur le terrain et au laboratoire. En effet, grâce à une résolution temporelle fine de la mesure des flux de N_2O , on a montré des pics d'émissions plus intenses en phase de désaturation en eau qu'en saturation. Cette expérimentation, reproduite pendant l'acquisition simultanée d'images de tomographie par rayons-X, a permis la quantification

de variations dans l'humidité du sol le long d'un profil de sol au cours du temps, notamment dans la matrice, et la quantification des variations de la connectivité gazeuse. Une approche par la modélisation a par ailleurs permis de progresser sur la question de la forme de la fonction reliant l'intensité des émissions de N_2O et le WFPS. Cette relation est de forme gaussienne, du fait de la faible production de N_2O à faible WFPS et de la faible diffusion gazeuse à fort WFPS. On retiendra ainsi le fort caractère dynamique des émissions de N_2O , en lien avec la phase hydrique (saturation ou désaturation), le fonctionnement hydrodynamique des sols, le transport gazeux, et la configuration spatiale de l'air et de l'eau dans le réseau de pores. Afin de décrire l'intensité et le timing des pics de N_2O , il est apparu pertinent d'observer les paramètres potentiel matriciel, le coefficient de diffusion gazeuse et la connectivité gazeuse, en plus du WFPS. Ces observations ont des implications sur la modélisation des flux de N_2O . On recommande ainsi l'utilisation couplée de modules de transport hydrique, de transport gazeux et en solution de N_2O , en plus de modules de production microbiologique, pour prédire efficacement les émissions de N_2O .

Annexes

Annexe A

Conception du dispositif de multistep outflow

Le dispositif expérimental utilisé dans le Chapitre 3, pour le contrôle hydrique et la mesure des émissions de N_2O , a été construit spécialement pour cette étude. Son montage est décrit plus précisément dans cette annexe, sous la forme d'un article soumis au *Cahier des Techniques de l'INRA*, sous la référence : Rabot, E., Giot, G., Colosse, D., Cousin, I. Conception d'un système de contrôle de la dynamique hydrique d'échantillons de sol couplé à la mesure des émissions de protoxyde d'azote.

A.1 Résumé

Les émissions par les sols du protoxyde d'azote (N_2O), un gaz à effet de serre, sont en particulier déterminées par les caractéristiques hydriques des sols. Dans cet article, on présente la conception d'un système de contrôle de la dynamique hydrique de saturation et de désaturation d'échantillons de sol de grande taille. Il est couplé à un système de mesure des émissions de N_2O . L'instrumentation permet de mesurer la teneur en eau et le potentiel matriciel au cours du temps. La conception du système répond à un ensemble de contraintes techniques, liées aux besoins scientifiques et de mise en pratique facile. Il a été mis en fonctionnement et a fourni des résultats satisfaisants en dépression jusqu'à -300 cm d'eau.

A.2 Introduction

Les émissions par les sols du protoxyde d'azote (N_2O), un gaz à effet de serre, sont en particulier déterminées par les caractéristiques hydriques des sols. Si ce facteur de contrôle est reconnu depuis longtemps, il est néanmoins considéré comme un paramètre très sensible (Grundmann & Rolston,

1987; Heinen, 2006b). Une meilleure compréhension des déterminismes des émissions de N_2O liés aux caractéristiques hydriques des sols constitue ainsi un enjeu majeur. Cette compréhension peut être approchée à l'aide d'expérimentations de laboratoire impliquant un contrôle fin de l'état de saturation d'échantillons de sol.

Il existe diverses méthodes de contrôle de la dynamique hydrique d'échantillons de sol au laboratoire, développées principalement pour l'estimation de la courbe de rétention en eau des sols, c'est-à-dire pour établir la relation teneur en eau-potential matriciel. Les tables à succion utilisent le principe de l'équilibre hydrostatique pour appliquer une charge hydraulique négative sur un échantillon de sol placé sur une couche de sable fin. La charge hydraulique négative est appliquée en abaissant un réservoir d'eau, ce qui conduit au drainage de l'échantillon. Le suivi de la teneur en eau est réalisé par pesées en dehors de la table à succion. Les tables à succion fonctionnent dans la gamme de potentiels matriciels de 0 à -100 cm d'eau, et permettent de traiter en même temps plusieurs échantillons de petite taille, typiquement 5 cm de haut. Plus la taille des pores constituant le matériau sur lequel repose l'échantillon est fine, et plus la charge hydraulique négative qui peut être appliquée est basse. Ainsi, lorsque le sable de la table à succion est remplacé par un mélange sable/kaolin, la désaturation peut aller jusqu'à environ -500 cm d'eau. Pour des gammes de potentiels plus importants, la pression est cette fois appliquée à la surface de l'échantillon à l'aide d'air comprimé. L'on peut citer par exemple les systèmes de presse à membrane de Richards, pour l'estimation de la rétention en eau de mottes de sol. La gamme de potentiels matriciels atteints est de -100 à $-15\,000$ cm d'eau. Des systèmes commerciaux utilisent le même principe sur des cylindres d'échantillons non perturbés (ex. : les *Flow Pressure Cells* et *Tempe Pressure Cells* de Soilmoisture Equipment). Enfin, les systèmes de *multistep outflow* (MSO) sont utilisés pour l'étude de la relation teneur en eau-potential matriciel en conditions dynamiques. La désaturation est le plus souvent réalisée en imposant une pression à la surface du sol, mais peut aussi être réalisée à l'aide d'une dépression à la limite inférieure de l'échantillon. Un système de MSO a été utilisé dans le cadre de l'étude des émissions de dioxyde de carbone lors de la désaturation d'échantillons de sol par Weiermüller et al. (2009), jusqu'à -600 cm d'eau. Un système simplifié a été utilisé par Castellano et al. (2010) pour l'étude des émissions de N_2O , dans lequel la désaturation était réalisée par drainage libre jusqu'à un potentiel matriciel de -80 cm d'eau.

Dans cet article, on présentera la conception d'un système de contrôle de la dynamique hydrique de saturation et de désaturation d'échantillons de sol. Ce système sera couplé à un système de mesure des émissions de N_2O . Sa conception répondra à un ensemble de besoins scientifiques et pratiques.

A.3 Matériel et méthodes

A.3.1 Cahier des charges

La définition des enjeux scientifiques a conduit à envisager des expérimentations de contrôle fin de la saturation et de la désaturation en eau d'échantillons de sol, couplées à la mesure des flux de N_2O , pendant une durée d'environ deux semaines. Plusieurs expérimentations de ce type devront

pouvoir être enchaînées dans le temps. Un ensemble de contraintes techniques, liées aux besoins scientifiques et à une mise en pratique facile, a ainsi été listé :

- Le dispositif doit permettre à la fois le contrôle fin de la saturation et de la désaturation en eau d'un échantillon de sol, sans que l'échantillon n'ait à être déplacé ;
- Le dispositif doit être compatible avec la mesure des flux de N₂O par la méthode des chambres statiques. Cette technique consiste à placer une chambre étanche à la surface de l'échantillon de sol et à mesurer l'évolution de la concentration en N₂O au cours du temps, pour finalement calculer le flux de N₂O. Ainsi, la désaturation en eau d'échantillons de sols par l'application d'une pression positive à la surface du sol n'est pas envisageable ;
- Le système doit être étanche aux gaz et à l'eau, mais démontable ;
- Le potentiel matriciel minimum mesuré lors de la désaturation des échantillons doit être inférieur à –100 cm d'eau ;
- Les échantillons de sol seront de grande taille (15 cm de diamètre, pour 7 cm de hauteur) ;
- L'instrumentation doit permettre le suivi de la teneur en eau et du potentiel matriciel du sol au cours du temps ;
- L'eau drainée lors de la désaturation doit pouvoir être recueillie ;
- L'ensemble du système doit pouvoir être transporté.

A.3.2 Conception du banc MSO

Nous avons alors envisagé de fabriquer un système de *multistep outflow* (MSO) adapté à des échantillons de grande taille. Une vue d'ensemble du système est présentée en Figure A.1. L'échantillon est d'une part connecté à un réservoir d'eau afin de contrôler sa saturation par le bas selon le principe du vase de Mariotte. La saturation par le bas permet de limiter le piégeage de bulles d'air dans les pores du sol. D'autre part, l'échantillon est connecté à une pompe à vide (VS Pro, Vacuum Controller System, UMS) et une fiole à vide afin de contrôler sa désaturation. Des tests ont montré que notre montage MSO pouvait fonctionner en dépression jusqu'à –300 cm d'eau. Une valve trois-voies permet le passage du circuit de saturation au circuit de désaturation. L'eau drainée est collectée dans la fiole à vide et sa quantité est suivie au cours du temps à l'aide d'une balance (précision de 0.1 g). L'ensemble est relié par du tube en PVC souple transparent (Tubclair AL) de 3 mm de diamètre intérieur. Trois tensiomètres permettent la mesure du potentiel matriciel.

Une vue détaillée du montage étanche de l'échantillon de sol sur le banc MSO est donnée en Figure A.2. L'échantillon de sol est prélevé dans un cylindre en acier inoxydable de 15 cm de diamètre pour 7 cm de hauteur. Il est installé sur le banc MSO après avoir été arasé à ses deux extrémités. La connexion hydraulique entre le bas de l'échantillon et le système de désaturation est assurée par une céramique poreuse (Soilmoisture Equipment Corp.). La céramique utilisée possède un point d'entrée d'air de 100 kPa, et existe dans une version *high flow* (conductivité hydraulique à saturation de $8.6 \times 10^{-8} \text{ m.s}^{-1}$) et *standard flow* (conductivité hydraulique à saturation de $7.6 \times 10^{-9} \text{ m.s}^{-1}$). D'autres caractéristiques hydrauliques peuvent être utilisées selon les gammes de potentiels matriciels ciblées. Le diamètre de la céramique est de 15.5 cm. Elle doit être lentement saturée en eau dégazée hors du banc MSO avant d'être utilisée. L'ensemble céramique-cylindre de

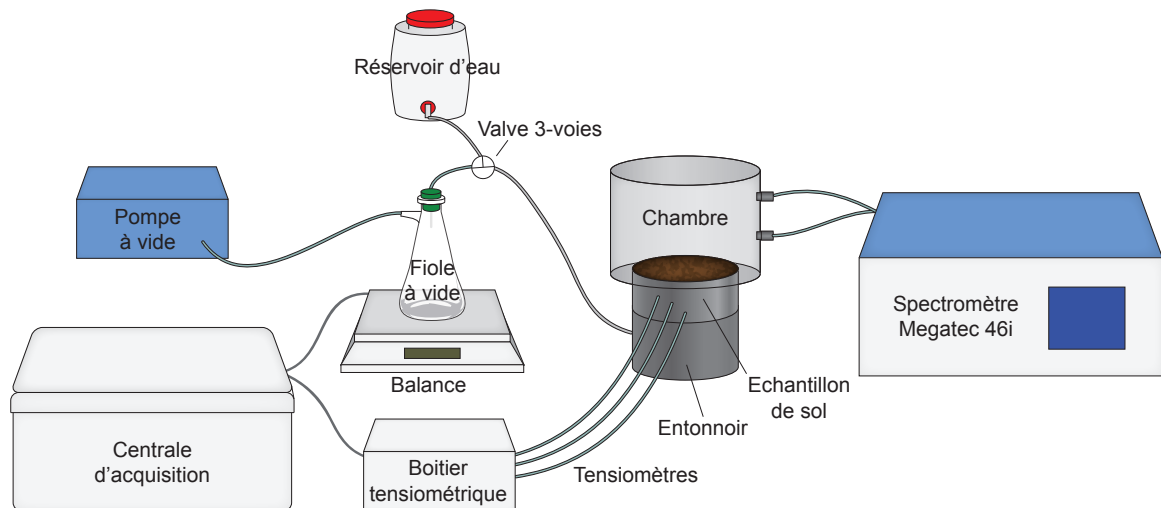


Figure A.1 – Vue d'ensemble du couplage du système de *multistep outflow* pour le contrôle de la dynamique hydrique et de la mesure des flux de protoxyde d'azote.

sol est placé sur un entonnoir surmonté d'un support percé. Il est important qu'il n'existe pas de flux d'eau préférentiels sur les côtés de la céramique poreuse afin que la saturation de l'échantillon de sol soit homogène. Un système d'étanchéité a ainsi été développé. Un joint en polyuréthane sur-mesure est placé à la jonction céramique-cylindre. Il est entouré d'un collier en PVC, puis d'un collier de serrage métallique. Enfin, un ruban de silicone entre le collier en PVC et le support percé permet de compléter l'étanchéité. Le support percé est doté d'un système de piégeage des bulles d'air. En effet, la présence de bulles d'air bloquées dans l'entonnoir conduirait à réduire la surface de contact entre l'eau et la céramique poreuse et affecterait la vitesse et la qualité de la saturation de l'échantillon. Un capillaire est ainsi inséré à la surface de l'entonnoir et permet d'évacuer l'air à mesure que l'entonnoir se remplit d'eau. Lorsqu'il y a débordement, l'entonnoir est supposé saturé et le capillaire du piège à bulles est bouché. Des tubages en plastique permettent de rediriger l'eau de débordement vers le réservoir d'eau.

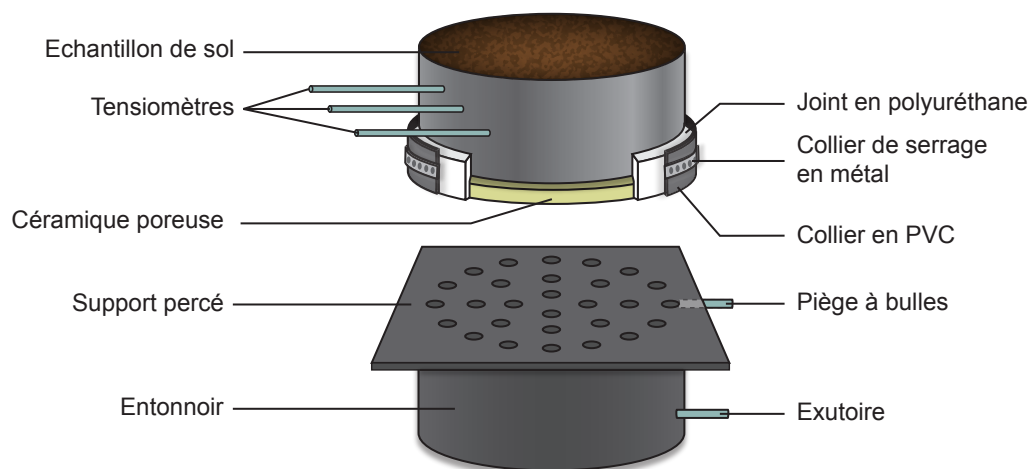


Figure A.2 – Vue en coupe partielle du montage étanche de l'échantillon de sol sur le banc de *multistep outflow*.

A.3.3 Instrumentation

L'échantillon est instrumenté à l'aide de trois microtensiomètres constitués d'une céramique poreuse (20 mm de longueur, 2.2 mm de diamètre, 150 kPa de point d'entrée d'air) et d'un tube capillaire Nylon. Les microtensiomètres sont insérés à environ 0.5, 1 et 2 cm de la surface du sol. Leur profondeur est mesurée très précisément pour retrancher *a posteriori* le potentiel gravitaire lié à leur altitude de la valeur du potentiel total mesuré. Les microtensiomètres doivent préalablement être saturés à l'aide d'eau dégazée pour éviter la formation de bulles d'air. Ils sont reliés à un boîtier (SDEC) équipé de capteurs de pression différentiels, utilisant un principe piézorésistif, d'une étendue de mesure de 100 kPa. La classe de précision des capteurs est de 0.1 %. Les capteurs sont étalonnés dans la gamme 0 à -800 cm d'eau à l'aide d'un calibrateur de pression DRUCK DPI 602, raccordé COFRAC. La relation entre la tension en millivolts mesurée par les capteurs et le potentiel en centimètres d'eau imposé par le calibrateur de pression est représentée en Figure A.3. Pour chaque capteur, le modèle d'étalonnage est linéaire : on en déduit le gain et l'offset des trois capteurs C1 à C3.

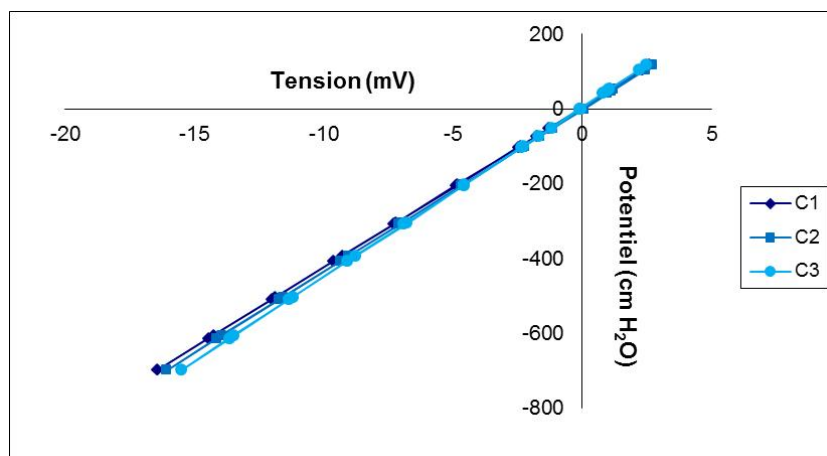


Figure A.3 – Etalonnage des trois capteurs de pression.

Les capteurs de pression sont connectés à une centrale d'acquisition CR1000 Campbell Scientific permettant l'acquisition du potentiel matriciel toutes les 10 minutes. Une connexion RS232 entre la CR1000 et une balance de précision permet également le suivi temporel du flux d'eau à travers l'échantillon. Les données de masse mesurées par la balance sont décodées à l'aide des instructions SerialOpen, SerialInRecord et SerialFlush de l'éditeur de programme CRBasic dans le logiciel LoggerNet. Le suivi de la température ambiante est effectué à l'aide d'une sonde PT100 connectée à la CR1000.

A.3.4 Mesure des flux de protoxyde d'azote

Les flux de N₂O sont suivis à l'aide d'un analyseur par corrélation infrarouge (N₂O Analyzer, modèle 46i, Thermo Scientific) par la méthode des chambres statiques. La chambre est retirée puis repositionnée avant chaque mesure afin que la concentration de départ en N₂O soit égale à la

concentration atmosphérique. Il convient de noter que pendant les phases de désaturation, la chambre doit être maintenue fermée, et seulement ouverte avant les mesures de flux de N_2O , afin que la valeur cible de la pompe à vide se maintienne. La concentration en N_2O dans la chambre est enregistrée toutes les minutes pendant des périodes de 20 minutes. Etant donnée la courte période de mesure, les concentrations présentent généralement une évolution linéaire en fonction du temps. Les flux sont donc calculés de façon linéaire sur des périodes de 10 minutes après la fermeture de la chambre.

A.4 Résultats

Un exemple d'évolution des flux de N_2O et du potentiel matriciel en fonction du temps est donné en Figure A.4.

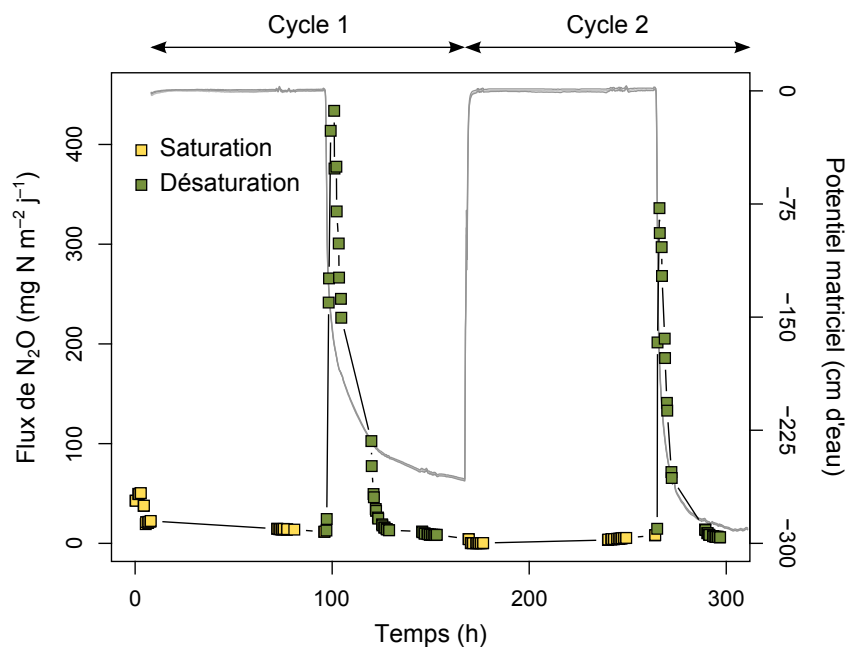


Figure A.4 – Exemple d'évolution des flux de protoxyde d'azote (carrés) et du potentiel matriciel mesuré à l'aide des trois tensiomètres (lignes grises), lors de deux cycles de saturation/désaturation (cycle 1 et cycle 2).

Un échantillon reconstitué à une densité apparente de 1.45 g.cm^{-3} a été soumis à deux cycles de saturation/désaturation. Une céramique poreuse *high flow* a été utilisée. L'échantillon a dans un premier temps été saturé pendant 4 jours dans le système MSO avec une solution enrichie en nitrates, puis une pression négative de -300 cm d'eau a été appliquée à sa base pendant 3 jours. Ce cycle a ensuite été répété une seconde fois. Lors de la première saturation en eau, le potentiel matriciel mesuré par les trois tensiomètres était de 0 cm . Dès lors que la pompe à vide a été activée, le potentiel matriciel a montré une décroissance rapide, pour finalement atteindre un plateau autour de la valeur cible. Deux heures ont été nécessaires afin d'atteindre un potentiel matriciel de 0 cm lors de la resaturation en eau du deuxième cycle. Un pic de N_2O de faible ampleur, lié à la

réactivation de l'activité biologique de dénitrification a pu être identifié au début de la phase de saturation : pendant la phase de saturation, le transport de N_2O sous forme dissoute vers la surface du sol est lent. Dès le début de la désaturation, le transport rapide du N_2O et son relargage depuis la solution du sol ont été favorisés par le départ de l'eau. Ainsi, associé à la dynamique du flux d'eau et à l'augmentation du coefficient de diffusion gazeuse lors de la désaturation de l'échantillon, le flux de N_2O a montré un pic intense et furtif à chaque début de désaturation en eau.

A.5 Conclusion

Afin de contrôler finement le statut hydrique d'un échantillon de sol de grande taille, un système permettant la saturation et la désaturation d'échantillons a été conçu sur le modèle des systèmes de *multistep outflow*. Il a été couplé à un système de mesure des flux de N_2O par la méthode des chambres statiques. Le cahier des charges regroupait un ensemble de contraintes techniques qui ont pu être respectées. Le système a d'ores et déjà été mis en fonctionnement et a fourni des résultats satisfaisants en dépression jusqu'à -300 cm d'eau. Il s'est également avéré transportable, puisqu'il a pu être installé sous un scanner pour l'étude simultanée des reconnections gazeuses pendant la désaturation d'un échantillon d'un sol.

Références bibliographiques

- Andersen, A.J., Petersen, S.O., 2009. Effects of C and N availability and soil-water potential interactions on N₂O evolution and PLFA composition. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1726–1733.
- Appel, T., 1998. Non-biomass soil organic N – The substrate for N mineralization flushes following soil drying-rewetting and for organic N rendered CaCl₂-extractable upon soil drying. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1445–1456.
- Auclerc, A., Capowiez, Y., Guérold, F., Nahmani, J., 2013. Application of X-ray tomography to evaluate liming impact on earthworm burrowing activity in an acidic forest soil under laboratory conditions. *Geoderma* 202, 45–50.
- Baggs, E.M., Smales, C.L., Bateman, E.J., 2010. Changing pH shifts the microbial source as well as the magnitude of N₂O emission from soil. *Biol. Fert. Soils* 46, 793–805.
- Bailey, L.D., Beauchamp, E.G., 1973. Effects of temperature on NO₃⁻ and NO₂⁻ reduction, nitrogenous gas production, and redox potential in a saturated soil. *Can. J. Soil Sci.* 53, 213–218.
- Balaine, N., Clough, T., Beare, M., Thomas, S., Meenken, E., Ross, J., 2013. Changes in relative gas diffusivity explain soil nitrous oxide flux dynamics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 77, 1496–1505.
- Ball, B.C., 2013. Soil structure and greenhouse gas emissions : A synthesis of 20 years of experimentation. *Eur. J. Soil Sci.* 64, 357–373.
- Ball, B.C., Crichton, I., Horgan, G.W., 2008. Dynamics of upward and downward N₂O and CO₂ fluxes in ploughed or no-tilled soils in relation to water-filled pore space, compaction and crop presence. *Soil Tillage Res.* 101, 20–30.
- Bateman, E., Baggs, E., 2005. Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space. *Biol. Fert. Soils* 41, 379–388.
- Batjes, N.H., Bridges, E.M., 2002. A review of soil factors and processes that control fluxes of heat, moisture and greenhouse gases. Rapport. International Soil Reference and Information Centre. Wageningen.
- Beare, M.H., Gregorich, E.G., St-Georges, P., 2009. Compaction effects on CO₂ and N₂O production during drying and rewetting of soil. *Soil Biol. Biochem.* 41, 611–621.

- Bell, L.C., Richardson, D.J., Ferguson, S.J., 1990. Periplasmic and membrane-bound respiratory nitrate reductases in *Thiosphaera pantotropha*: The periplasmic enzyme catalyzes the 1st step in aerobic denitrification. FEBS Lett. 265, 85–87.
- Bell, M., Jones, E., Smith, J., Smith, P., Yeluripati, J., Augustin, J., Juszczak, R., Olejnik, J., Sommer, M., 2012. Simulation of soil nitrogen, nitrous oxide emissions and mitigation scenarios at 3 European cropland sites using the ECOSSE model. Nutr. Cycl. Agroecosyst. 92, 161–181.
- Bessou, C., Mary, B., Léonard, J., Roussel, M., Gréhan, E., Gabrielle, B., 2010. Modelling soil compaction impacts on nitrous oxide emissions in arable fields. Eur. J. Soil Sci. 61, 348–363.
- Birch, H., 1958. The effect of soil drying on humus decomposition and nitrogen availability. Plant Soil 10, 9–31.
- Blackmer, A.M., Bremner, J.M., 1978. Inhibitory effect of nitrate on reduction of N₂O to N₂ by soil microorganisms. Soil Biol. Biochem. 10, 187–191.
- Bock, E., Schmidt, I., Stuvén, R., Zart, D., 1995. Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonium or hydrogen as electron-donors and nitrite as electron-acceptor. Arch. Microbiol. 163, 16–20.
- Bollmann, A., Conrad, R., 1998. Influence of O₂ availability on NO and N₂O release by nitrification and denitrification in soils. Glob. Change Biol. 4, 387–396.
- Borken, W., Matzner, E., 2009. Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils. Glob. Change Biol. 15, 808–824.
- Böttcher, J., Weymann, D., Well, R., von der Heide, C., Schwen, A., Flessa, H., Duijnisveld, W., 2011. Emission of groundwater-derived nitrous oxide into the atmosphere: model simulations based on a ¹⁵N field experiment. Eur. J. Soil Sci. 62, 216–225.
- Braker, G., Schwarz, J., Conrad, R., 2010. Influence of temperature on the composition and activity of denitrifying soil communities. FEMS Microbiol. Ecol. 73, 134–148.
- Breland, T.A., Hansen, S., 1996. Nitrogen mineralization and microbial biomass as affected by soil compaction. Soil Biol. Biochem. 28, 655–663.
- Bruand, A., Cousin, I., 1995. Variation of textural porosity of a clay-loam soil during compaction. Eur. J. Soil Sci. 46, 377–385.
- Bruand, A., Duval, O., Cousin, I., 2004. Estimation des propriétés de rétention en eau des sols à partir de la base de données SOLHYDRO: Une première proposition combinant le type d'horizon, sa texture et sa densité apparente. Etude et Gestion des Sols 11, 323–332.
- Buckingham, E., 1904. Contributions to our knowledge to the aeration of soils. US Government Printing Office, Washington, DC.
- Burger, M., Jackson, L.E., Lundquist, E.J., Louie, D.T., Miller, R.L., Rolston, D.E., Scow, K.M., 2005. Microbial responses and nitrous oxide emissions during wetting and drying of organically and conventionally managed soil under tomatoes. Biol. Fert. Soils 42, 109–118.

- Butterbach-Bahl, K., Baggs, E.M., Dannenmann, M., Kiese, R., Zechmeister-Boltenstern, S., 2013. Nitrous oxide emissions from soils : How well do we understand the processes and their controls? *Phil. Trans. R. Soc. B* 368.
- Campbell, G., 1974. A simple method for determining unsaturated conductivity from moisture retention data. *Soil Sci.* 117, 311–314.
- Cannavo, P., Lafolie, F., Nicolardot, B., Renault, P., 2006. Modeling seasonal variations in carbon dioxide and nitrous oxide in the vadose zone. *Vadose Zone J.* 5, 990–1004.
- Capowiez, Y., Sammartino, S., Michel, E., 2011. Using X-ray tomography to quantify earthworm bioturbation non-destructively in repacked soil cores. *Geoderma* 162, 124–131.
- Carter, J.P., Hsiao, Y.S., Spiro, S., Richardson, D.J., 1995. Soil and sediment bacteria capable of aerobic nitrate respiration. *Appl. Environ. Microb.* 61, 2852–2858.
- Castellano, M.J., Schmidt, J.P., Kaye, J.P., Walker, C., Graham, C.B., Lin, H., Dell, C.J., 2010. Hydrological and biogeochemical controls on the timing and magnitude of nitrous oxide flux across an agricultural landscape. *Glob. Change Biol.* 16, 2711–2720.
- Chapuis-Lardy, L., Wrage, N., Metay, A., Chotte, J.L., Bernoux, M., 2007. Soils, a sink for N₂O? A review. *Glob. Change Biol.* 13, 1–17.
- Chen, H.H., Mothapo, N.V., Shi, W., 2014. The significant contribution of fungi to soil N₂O production across diverse ecosystems. *Appl. Soil Ecol.* 73, 70–77.
- Christensen, B., 2006. Using X-ray tomography and lattice Boltzmann modeling to evaluate pore-scale processes in porous media. Thèse de doctorat. Institute of Environment & Resources Technical University of Denmark. Lyngby, Denmark.
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J., Heimann, M., Jones, C., Le Quéré, C., Myneni, R.B., Piao, S., Thornton, P., 2013. Climate change 2013 : The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. Chapitre Carbon and other biogeochemical cycles.
- Ciarlo, E., Conti, M., Bartoloni, N., Rubio, G., 2007. The effect of moisture on nitrous oxide emissions from soil and the N₂O/(N₂O+N₂) ratio under laboratory conditions. *Biol. Fert. Soils* 43, 675–681.
- CITEPA, 2012. Rapport national d’inventaire pour la France au titre de la convention cadre des Nations Unies sur les changements climatiques et du protocole de Kyoto. Rapport. CITEPA. Paris.
- Clough, T., Jarvis, S., Dixon, E., Stevens, R., Laughlin, R., Hatch, D., 1998. Carbon induced subsoil denitrification of ¹⁵N-labelled nitrate in 1 m deep soil columns. *Soil Biol. Biochem.* 31, 31–41.

- Clough, T., Sherlock, R., Cameron, K., 2000. Entrapment and displacement of nitrous oxide in a drained pasture soil. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 57, 191–193.
- Clough, T., Sherlock, R., Rolston, D., 2005. A review of the movement and fate of N₂O in the subsoil. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 72, 3–11.
- Conen, F., Smith, K., 2000. An explanation of linear increases in gas concentration under closed chambers used to measure gas exchange between soil and the atmosphere. *Eur. J. Soil Sci.* 51, 111–117.
- Cortina-Januchs, M.G., Quintanilla-Dominguez, J., Vega-Corona, A., Tarquis, A.M., Andina, D., 2011. Detection of pore space in CT soil images using artificial neural networks. *Biogeosciences* 8, 279–288.
- Cosentino, V.R.N., Figueiro Aureggi, S.A., Taboada, M.A., 2013. Hierarchy of factors driving N₂O emissions in non-tilled soils under different crops. *Eur. J. Soil Sci.* 64, 550–557.
- Crenshaw, C.L., Lauber, C., Sinsabaugh, R.L., Staveland, L.K., 2008. Fungal control of nitrous oxide production in semiarid grassland. *Biogeochemistry* 87, 17–27.
- Culligan, K., Wildenschild, D., Christensen, B., Gray, W., Rivers, M., Tompson, A., 2004. Interfacial area measurements for unsaturated flow through a porous medium. *Water Resour. Res.* 40.
- Davidson, E., 1991. Microbial production and consumption of greenhouse gases : Methane, nitrogen oxides, and halomethanes. American Society for Microbiology, Washington, DC. Chapitre Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. pp. 219–235.
- Davidson, E., Keller, M., Erickson, H., Verchot, L., Veldkamp, E., 2000. Testing a conceptual model of soil emissions of nitrous and nitric oxides. *Bioscience* 50, 667–680.
- De Wever, H., Strong, D., Merckx, R., 2004. A system for studying the dynamics of gaseous emissions in response to changes in soil matric potential. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 1242–1248.
- Deepagoda, T., Moldrup, P., Schjønning, P., de Jonge, L., Kawamoto, K., Komatsu, T., 2011. Density-corrected models for gas diffusivity and air permeability in unsaturated soil. *Vadose Zone J.* 10, 226–238.
- Déhérain, P., Maquenne, M., 1882. Sur la réduction des nitrate dans la terre arable. *CR Acad. Sci. Paris* 95, 691–693.
- Del Grosso, S., Parton, W., Mosier, A., Ojima, D., Kulmala, A., Phongpan, S., 2000. General model for N₂O and N₂ gas emissions from soils due to denitrification. *Global Biogeochem. Cycles* 14, 1045–1060.
- Denef, K., Six, J., Bossuyt, H., Frey, S., Elliott, E., Merckx, R., Paustian, K., 2001. Influence of dry-wet cycles on the interrelationship between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1599–1611.

- Deng, J., Zhou, Z., Zheng, X., Li, C., 2013. Modeling impacts of fertilization alternatives on nitrous oxide and nitric oxide emissions from conventional vegetable fields in southeastern China. *Atmos. Environ.* 81, 642–650.
- Denman, K., Brasseur, G., Chidthaisong, A., Ciais, P., Cox, P., Dickinson, R., Hauglustaine, D., Heinze, C., Holland, E., Jacob, D., Lohmann, U., Ramachandran, S., da Silva Dias, P., Wofsy, S., Zhang, X., 2007. *Climate change 2007 : The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. Chapitre Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry. pp. 499–587.
- Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Ranjard, L., 2011. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecol. Biogeogr.* 20, 641–652.
- Deurer, M., Grinev, D., Young, I., Clothier, B.E., Müller, K., 2009. The impact of soil carbon management on soil macropore structure : A comparison of two apple orchard systems in New Zealand. *Eur. J. Soil Sci.* 60, 945–955.
- Dobbie, K.E., McTaggart, I.P., Smith, K.A., 1999. Nitrous oxide emissions from intensive agricultural systems : Variations between crops and seasons, key driving variables, and mean emission factors. *J. Geophys. Res.-Atmos.* 104, 26891–26899.
- Doube, M., Klosowski, M.M., Arganda-Carreras, I., Cordelières, F.P., Dougherty, R.P., Jackson, J.S., Schmid, B., Hutchinson, J.R., Shefelbine, S.J., 2010. BoneJ : Free and extensible bone image analysis in ImageJ. *Bone* 47, 1076–1079.
- Ekstrom, C., 2014. MESS. R package version 0.2-1. URL : <http://CRAN.R-project.org/package=MESS>.
- van Elsas, J.D., Jansson, J.K., Trevors, J.T., 2007. *Modern soil microbiology*, 2ème édition. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Farquharson, R., Baldock, J., 2008. Concepts in modelling N₂O emissions from land use. *Plant Soil* 309, 147–167.
- Fierer, N., Schimel, J., 2002. Effects of drying-rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biol. Biochem.* 34, 777–787.
- Fierer, N., Schimel, J., 2003. A proposed mechanism for the pulse in carbon dioxide production commonly observed following the rapid rewetting of a dry soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 798–805.
- Gaskell, J.F., Blackmer, A.M., Bremner, J.M., 1981. Comparison of effects of nitrate, nitrite, and nitric oxide on reduction of nitrous oxide to dinitrogen by soil microorganisms. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45, 1124–1127.
- Gayon, U., Dupetit, G., 1882. Sur la fermentation des nitrates. *CR Acad. Sci. Paris* 95, 644–646.

- van Genuchten, M., 1980. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44, 892–898.
- van Gestel, M., Ladd, J., Amato, M., 1992. Microbial biomass responses to seasonal change and imposed drying regimes at increasing depths of undisturbed topsoil profiles. *Soil Biol. Biochem.* 24, 103–111.
- van Gestel, M., Ladd, J.N., Amato, M., 1991. Carbon and nitrogen mineralization from two soils of contrasting texture and microaggregate stability : Influence of sequential fumigation, drying and storage. *Soil Biol. Biochem.* 23, 313–322.
- van Gestel, M., Merckx, R., Vlassak, K., 1996. Spatial distribution of microbial biomass in microaggregates of a silty-loam soil and the relation with the resistance of microorganisms to soil drying. *Soil Biol. Biochem.* 28, 503–510.
- Goodroad, L.L., Keeney, D.R., 1985. Site of nitrous oxide production in field soils. *Biol. Fert. Soils* 1, 3–7.
- Gordon, H., Haygarth, P.M., Bardgett, R.D., 2008. Drying and rewetting effects on soil microbial community composition and nutrient leaching. *Soil Biol. Biochem.* 40, 302–311.
- Grant, R., 2001. Modeling carbon and nitrogen dynamics for soil management. CRC Press, Boca Raton, FL. Chapitre A review of the Canadian ecosystem model - *ecosys*. pp. 173–263.
- Groffman, P.M., Butterbach-Bahl, K., Fulweiler, R.W., Gold, A.J., Morse, J.L., Stander, E.K., Tague, C., Tonitto, C., Vidon, P., 2009. Challenges to incorporating spatially and temporally explicit phenomena (hotspots and hot moments) in denitrification models. *Biogeochemistry* 93, 49–77.
- Groffman, P.M., Tiedje, J., 1988. Denitrification hysteresis during wetting and drying cycles in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 1626–1629.
- Grundmann, G., Rolston, D., 1987. A water function approximation to degree of anaerobiosis associated with denitrification. *Soil Sci.* 144, 437–441.
- Gu, J., Nicoullaud, B., Rochette, P., Pennock, D.J., Hénault, C., Cellier, P., Richard, G., 2011. Effect of topography on nitrous oxide emissions from winter wheat fields in Central France. *Environ. Pollut.* 159, 3149–3155.
- Guo, X., Drury, C.F., Yang, X., Reynolds, W.D., Fan, R., 2014. The extent of soil drying and rewetting affects nitrous oxide emissions, denitrification, and nitrogen mineralization. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 78, 194–204.
- Halverson, L., Jones, T., Firestone, M., 2000. Release of intracellular solutes by four soil bacteria exposed to dilution stress. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 1630–1637.
- Hansen, M., Clough, T.J., Elberling, B., 2014. Flooding-induced N₂O emission bursts controlled by pH and nitrate in agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 69, 17–24.

- Hansen, S., Mæhlum, J., Bakken, L., 1993. N₂O and CH₄ fluxes in soil influenced by fertilization and tractor traffic. *Soil Biol. Biochem.* 25, 621–630.
- Harrison-Kirk, T., Beare, M., Meenken, E., Condrón, L., 2013. Soil organic matter and texture affect responses to dry/wet cycles : Effects on carbon dioxide and nitrous oxide emissions. *Soil Biol. Biochem.* 57, 43–55.
- Heincke, M., Kaupenjohann, M., 1999. Effects of soil solution on the dynamics of N₂O emissions : A review. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 55, 133–157.
- Heinen, M., 2006a. Application of a widely used denitrification model to Dutch data sets. *Geoderma* 133, 464–473.
- Heinen, M., 2006b. Simplified denitrification models : Overview and properties. *Geoderma* 133, 444–463.
- Hénault, C., Bizouard, F., Laville, P., Gabrielle, B., Nicoullaud, B., Germon, J., 2005. Predicting in situ soil N₂O emission using NOE algorithm and soil database. *Glob. Change Biol.* 11, 115–127.
- Hénault, C., Germon, J., 2000. NEMIS, a predictive model of denitrification on the field scale. *Eur. J. Soil Sci.* 51, 257–270.
- Hergoualc’h, K., Harmand, J., Cannavo, P., Skiba, U., Oliver, R., Hénault, C., 2009. The utility of process-based models for simulating N₂O emissions from soils : A case study based on Costa Rican coffee plantations. *Soil Biol. Biochem.* 41, 2343–2355.
- Herold, M.B., Baggs, E.M., Daniell, T.J., 2012. Fungal and bacterial denitrification are differently affected by long-term pH amendment and cultivation of arable soil. *Soil Biol. Biochem.* 54, 25–35.
- Holtan-Hartwig, L., Dörsch, P., Bakken, L., 2002. Low temperature control of soil denitrifying communities : Kinetics of N₂O production and reduction. *Soil Biol. Biochem.* 34, 1797–1806.
- Horgan, G., Ball, B., 2005. Modelling the effect of water distribution and hysteresis on air-filled pore space. *Eur. J. Soil Sci.* 56, 647–654.
- Huang, S., Pant, H.K., Lu, J., 2007. Effects of water regimes on nitrous oxide emission from soils. *Ecol. Eng.* 31, 9–15.
- Jarek, S., 2014. IJ Plugins Toolkit v.1.9. URL : <http://ij-plugins.sourceforge.net>.
- Jarvis, N.J., 2007. A review of non-equilibrium water flow and solute transport in soil macropores : Principles, controlling factors and consequences for water quality. *Eur. J. Soil Sci.* 58, 523–546.
- Jassogne, L., McNeill, A., Chittleborough, D., 2007. 3D-visualization and analysis of macro- and meso-porosity of the upper horizons of a sodic, texture-contrast soil. *Eur. J. Soil Sci.* 58, 589–598.
- Jirout, J., Šimek, M., Elhottová, D., 2013. Fungal contribution to nitrous oxide emissions from cattle impacted soils. *Chemosphere* 90, 565–572.

- Jobbagy, E., Jackson, R., 2001. The distribution of soil nutrients with depth : Global patterns and the imprint of plants. *Biogeochemistry* 53, 51–77.
- Jury, W., Letey, J., Collins, T., 1982. Analysis of chamber methods used for measuring nitrous oxide production in the field. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46, 250–256.
- Kasteel, R., Vogel, H., Roth, K., 2000. From local hydraulic properties to effective transport in soil. *Eur. J. Soil Sci.* 51, 81–91.
- Keating, B., Carberry, P., Hammer, G., Probert, M., Robertson, M., Holzworth, D., Huth, N., Hargreaves, J., Meinke, H., Hochman, Z., McLean, G., Verburg, K., Snow, V., Dimes, J., Silburn, M., Wang, E., Brown, S., Bristow, K., Asseng, S., Chapman, S., McCown, R., Freebairn, D., Smith, C., 2003. An overview of APSIM, a model designed for farming systems simulation. *Eur. J. Agron.* 18, 267–288.
- Keeney, D., Fillery, I., Marx, G., 1979. Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification in a silt loam soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, 1124–1128.
- Khalil, K., Mary, B., Renault, P., 2004. Nitrous oxide production by nitrification and denitrification in soil aggregates as affected by O₂ concentration. *Soil Biol. Biochem.* 36, 687–699.
- Khalil, M., Rasmussen, R., Shearer, M., 2002a. Atmospheric nitrous oxide : Patterns of global change during recent decades and centuries. *Chemosphere* 47, 807–821.
- Khalil, M., Rosenani, A., Van Cleemput, O., Boeckx, P., Shamshuddin, J., Fauziah, C., 2002b. Nitrous oxide production from an ultisol of the humid tropics treated with different nitrogen sources and moisture regimes. *Biol. Fert. Soils* 36, 59–65.
- Kieft, T., Soroker, E., Firestone, M., 1987. Microbial biomass response to a rapid increase in water potential when dry soil is wetted. *Soil Biol. Biochem.* 19, 119–126.
- Knowles, R., 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46, 43–70.
- Kremen, A., Bear, J., Shavit, U., Shaviv, A., 2005. Model demonstrating the potential for coupled nitrification denitrification in soil aggregates. *Environ. Sci. Technol.* 39, 4180–4188.
- Kroeckel, L., Stolp, H., 1986. Influence of the water regime on denitrification and aerobic respiration in soil. *Biol. Fert. Soils* 2, 15–21.
- Kutílek, M., Nielsen, D., 1994. *Soil hydrology*. Catena Verlag, Cremlingen-Destedt, Germany.
- Lafolie, F., Moitrier, N., Balesdent, J., Bruckler, L., Cousin, I., Maron, P., Moitrier, N., Mollier, A., Noguier, C., Pot, V., Richard, G., 2014. The VSoil platform : A tool to integrate physico-bio-geo-chemical models in soils at the local scale. *Environ. Modell. Softw.* Submitted.
- Laudone, G.M., Matthews, G.P., Bird, N.R.A., Whalley, W.R., Cardenas, L.M., Gregory, A.S., 2011. A model to predict the effects of soil structure on denitrification and N₂O emission. *J. Hydrol.* 409, 283–290.

- Laughlin, R.J., Stevens, R.J., 2002. Evidence for fungal dominance of denitrification and codenitrification in a grassland soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66, 1540–1548.
- Laville, P., Lehuger, S., Loubet, B., Chaumartin, F., Cellier, P., 2011. Effect of management, climate and soil conditions on N₂O and NO emissions from an arable crop rotation using high temporal resolution measurements. *Agr. Forest. Meteorol.* 151, 228–240.
- Leininger, S., Urich, T., Schloter, M., Schwark, L., Qi, J., Nicol, G.W., Prosser, J.I., Schuster, S.C., Schleper, C., 2006. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature* 442, 806–809.
- Lensi, R., Clays-Josserand, A., Jocteur Monrozier, L., 1995. Denitrifiers and denitrifying activity in size fractions of a Mollisol under permanent pasture and continuous cultivation. *Soil Biol. Biochem.* 27, 61–69.
- Letey, J., Valoras, N., Hadas, A., Focht, D., 1980. Effect of air-filled porosity, nitrate concentration, and time on the ratio of N₂O/N₂ evolution during denitrification. *J. Environ. Qual.* 9, 227–231.
- Li, C., Frohling, S., Frohling, T., 1992. A model of nitrous oxide evolution from soil driven by rainfall events : 1. Model structure and sensitivity. *J. Geophys. Res.-Atmos.* 97, 9759–9776.
- Linn, D., Doran, J., 1984. Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 1267–1272.
- Lopez-Fernandez, S., Diez, J.A., Hernaiz, P., Arce, A., Garcia-Torres, L., Vallejo, A., 2007. Effects of fertiliser type and the presence or absence of plants on nitrous oxide emissions from irrigated soils. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 78, 279–289.
- Malhi, S., McGill, W., 1982. Nitrification in three Alberta soils : Effect of temperature, moisture and substrate concentration. *Soil Biol. Biochem.* 14, 393–399.
- Mangalassery, S., Sjögersten, S., Sparkes, D.L., Sturrock, C.J., Craigon, J., Mooney, S.J., 2014. To what extent can zero tillage lead to a reduction in greenhouse gas emissions from temperate soils? *Sci. Rep.* 4.
- Mangalassery, S., Sjögersten, S., Sparkes, D.L., Sturrock, C.J., Mooney, S.J., 2013. The effect of soil aggregate size on pore structure and its consequence on emission of greenhouse gases. *Soil Tillage Res.* 132, 39–46.
- Mathieu, O., Hénault, C., Lévêque, J., Baujard, E., Milloux, M.J., Andreux, F., 2006a. Quantifying the contribution of nitrification and denitrification to the nitrous oxide flux using ¹⁵N tracers. *Environ. Pollut.* 144, 933–940.
- Mathieu, O., Lévêque, J., Hénault, C., Milloux, M.J., Bizouard, F., Andreux, F., 2006b. Emissions and spatial variability of N₂O, N₂ and nitrous oxide mole fraction at the field scale, revealed with ¹⁵N isotopic techniques. *Soil Biol. Biochem.* 38, 941–951.
- McCarty, G., Shelton, D., Sadeghi, A., 1999. Influence of air porosity on distribution of gases in soil under assay for denitrification. *Biol. Fert. Soils* 30, 173–178.

- McClain, M., Boyer, E., Dent, C., Gergel, S., Grimm, N., Groffman, P., Hart, S., Harvey, J., Johnston, C., Mayorga, E., McDowell, W., Pinay, G., 2003. Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic ecosystems. *Ecosystems* 6, 301–312.
- McNicol, G., Silver, W.L., 2014. Separate effects of flooding and anaerobiosis on soil greenhouse gas emissions and redox sensitive biogeochemistry. *J. Geophys. Res.-Biogeosci.* 119, 557–566.
- McTaggart, I., Akiyama, H., Tsuruta, H., Ball, B., 2002. Influence of soil physical properties, fertiliser type and moisture tension on N₂O and NO emissions from nearly saturated Japanese upland soils. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 63, 207–217.
- Metay, A., Chapuis-Lardy, L., Findeling, A., Oliver, R., Moreira, J., Feller, C., 2011. Simulating N₂O fluxes from a Brazilian cropped soil with contrasted tillage practices. *Agr. Ecosyst. Environ.* 140, 255–263.
- Mikha, M., Rice, C., Milliken, G., 2005. Carbon and nitrogen mineralization as affected by drying and wetting cycles. *Soil Biol. Biochem.* 37, 339–347.
- Millington, R., Quirk, J., 1961. Permeability of porous solids. *Trans. Faraday Soc.* 57, 1200–1207.
- Moldrup, P., Olesen, T., Yamaguchi, T., Schjønning, P., Rolston, D., 1999. Modeling diffusion and reaction in soils : IX. The Buckingham-Burdine-Campbell equation for gas diffusivity in undisturbed soil. *Soil Sci.* 164, 542–551.
- Molodovskaya, M., Singurindy, O., Richards, B.K., Warland, J., Johnson, M.S., Steenhuis, T.S., 2012. Temporal variability of nitrous oxide from fertilized croplands : Hot moment analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 76, 1728–1740.
- Morkved, P.T., Dorsch, P., Bakken, L.R., 2007. The N₂O product ratio of nitrification and its dependence on long-term changes in soil pH. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2048–2057.
- Mualem, Y., 1976. A new model for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated porous media. *Water Resour. Res.* 12, 513–522.
- Muhr, J., Goldberg, S.D., Borken, W., Gebauer, G., 2008. Repeated drying-rewetting cycles and their effects on the emission of CO₂, N₂O, NO, and CH₄ in a forest soil. *J. Plant Nutr.* 171, 719–728.
- Myers, R., 1975. Temperature effects on ammonification and nitrification in a tropical soil. *Soil Biol. Biochem.* 7, 83–86.
- Otte, S., Schalk, J., Kuenen, J., Jetten, M., 1999. Hydroxylamine oxidation and subsequent nitrous oxide production by the heterotrophic ammonia oxidizer *Alcaligenes faecalis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, 255–261.
- Parker, J., 2012. Stack Alignment (Align3_TP). URL : <http://www.med.harvard.edu/jpnm/ij/plugins/Align3TP.html>.
- Parkin, T., 1987. Soil microsites as a source of denitrification variability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51, 1194–1199.

- Parton, W., Holland, E., Del Grosso, S., Hartman, M., Martin, R., Mosier, A., Ojima, D., Schimel, D., 2001. Generalized model for NO_x and N₂O emissions from soils. *J. Geophys. Res.-Atmos.* 106, 17403–17419.
- Parton, W., Mosier, A., Ojima, D., Valentine, D., Schimel, D., Weier, K., Kulmala, A., 1996. Generalized model for N₂ and N₂O production from nitrification and denitrification. *Global Biogeochem. Cycles* 10, 401–412.
- Patureau, D., Zumstein, E., Delgenes, J.P., Moletta, R., 2000. Aerobic denitrifiers isolated from diverse natural and managed ecosystems. *Microb. Ecol.* 39, 145–152.
- Petersen, S.O., Ambus, P., Elsgaard, L., Schjønning, P., Olesen, J.E., 2013. Long-term effects of cropping system on N₂O emission potential. *Soil Biol. Biochem.* 57, 706–712.
- Petersen, S.O., Schjønning, P., Thomsen, I.K., Christensen, B.T., 2008. Nitrous oxide evolution from structurally intact soil as influenced by tillage and soil water content. *Soil Biol. Biochem.* 40, 967–977.
- Philippot, L., Germon, J., 2005. Contribution of bacteria to initial input and cycling of nitrogen in soils, in : Varma, A., Buscot, F. (Eds.), *Microorganisms in soils : Roles in genesis and functions*. Springer Berlin Heidelberg. Volume 3, pp. 159–176.
- Poth, M., Focht, D.D., 1985. ¹⁵N kinetic analysis of N₂O production by *Nitrosomonas europaea* : An examination of nitrifier denitrification. *Appl. Environ. Microb.* 49, 1134–1141.
- Powlson, D.S., 1980. The effects of grinding on microbial and non-microbial organic matter in soil. *J. Soil Sci.* 31, 77–85.
- Pritchard, D., Currie, J., 1982. Diffusion of coefficients of carbon dioxide, nitrous oxide, ethylene and ethane in air and their measurement. *J. Soil Sci.* 33, 175–184.
- R Development Core Team, 2012. R : A language and environment for statistical computing. URL : ISBN3-900051-07-0, <http://www.R-project.org/>.
- Rabot, E., Hénault, C., Cousin, I., 2014. Temporal variability of nitrous oxide emissions by soils as affected by hydric history. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 78, 434–444.
- Rafique, R., Hennessy, D., Kiely, G., 2011. Nitrous oxide emission from grazed grassland under different management systems. *Ecosystems* 14, 563–582.
- Ramsay, J., Hooker, G., Graves, S., 2009. *Functional data analysis with R and MATLAB*. Springer, Use R, New York.
- Ramsay, J., Wickham, H., Graves, S., Hooker, G., 2013. *fda : Functional Data Analysis*. R package version 2.4.0. URL : <http://CRAN.R-project.org/package=fda>.
- Rasband, W., 1997–2014. ImageJ. URL : <http://imagej.nih.gov/ij>.
- Ravishankara, A.R., Daniel, J.S., Portmann, R.W., 2009. Nitrous oxide (N₂O) : The dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *Science* 326, 123–125.

- Reth, S., Hentschel, K., Drösler, M., Falge, E., 2005. DenNit - Experimental analysis and modelling of soil N₂O efflux in response on changes of soil water content, soil temperature, soil pH, nutrient availability and the time after rain event. *Plant Soil* 272, 349–363.
- Richard, G., Cousin, I., Sillon, J.F., Bruand, A., Guérif, J., 2001. Effect of compaction on the porosity of a silty soil : Influence on unsaturated hydraulic properties. *Eur. J. Soil Sci.* 52, 49–58.
- Robertson, G.P., 1989. Mineral nutrients in tropical forest and savanna ecosystems. Blackwell Science, Oxford, United Kingdom. Chapitre Nitrification and denitrification in humid tropical ecosystems : Potential controls on nitrogen retention. pp. 55–69.
- Ruser, R., Flessa, H., Russow, R., Schmidt, G., Buegger, F., Munch, J., 2006. Emission of N₂O, N₂ and CO₂ from soil fertilized with nitrate : Effect of compaction, soil moisture and rewetting. *Soil Biol. Biochem.* 38, 263–274.
- Russell, C., Fillery, I., Bootsma, N., McInnes, K., 2002. Effect of temperature and nitrogen source on nitrification in a sandy soil. *Commun. Soil Sci. Plan.* 33, 1975–1989.
- Ruy, S., Mohrath, D., Bertuzzi, P., Bruckler, L., 2004. ESPAS 1.0. Rapport. INRA-CSE. Avignon, France.
- Sammartino, S., Michel, E., Capowiez, Y., 2012. A novel method to visualize and characterize preferential flow in undisturbed soil cores by using multislice helical CT. *Vadose Zone J.* 11, 86–98.
- Sanchez-Martin, L., Sanz-Cobena, A., Meijide, A., Quemada, M., Vallejo, A., 2010. The importance of the fallow period for N₂O and CH₄ fluxes and nitrate leaching in a Mediterranean irrigated agroecosystem. *Eur. J. Soil Sci.* 61, 710–720.
- Schimel, J., Balsler, T.C., Wallenstein, M., 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology* 88, 1386–1394.
- Schjønning, P., Lamandé, M., Berisso, F.E., Simojoki, A., Alakukku, L., Andreasen, R.R., 2013. Gas diffusion, non-darcy air permeability, and computed tomography images of a clay subsoil affected by compaction. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 77, 1977–1990.
- Schjønning, P., Thomsen, I.K., Moldrup, P., Christensen, B.T., 2003. Linking soil microbial activity to water- and air-phase contents and diffusivities. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 156–165.
- Schlueter, S., Weller, U., Vogel, H.J., 2011. Soil-structure development including seasonal dynamics in a long-term fertilization experiment. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 174, 395–403.
- Schmid, B., Schindelin, J., Cardona, A., Longair, M., Heisenberg, M., 2010. A high-level 3D visualization API for Java and ImageJ. *BMC Bioinformatics* 11.
- Schmidt, U., Thöni, H., Kaupenjohann, M., 2000. Using a boundary line approach to analyze N₂O flux data from agricultural soils. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 57, 119–129.
- Schumpe, A., 1993. The estimation of gas solubilities in salt solutions. *Chem. Eng. Sci.* 48, 153–58.

- Sexstone, A., Parkin, T., Tiedje, J., 1985. Temporal response of soil denitrification rates to rainfall and irrigation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49, 99–103.
- Sexstone, A., Parkin, T., Tiedje, J., 1988. Denitrification response to soil wetting in aggregated and unaggregated soil. *Soil Biol. Biochem.* 20, 767–769.
- Shcherbak, I., Millar, N., Robertson, G.P., 2014. Global metaanalysis of the nonlinear response of soil nitrous oxide (N₂O) emissions to fertilizer nitrogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 9199–9204.
- Shcherbak, I., Robertson, G., 2014. Determining the diffusivity of nitrous oxide in soil using in situ tracers. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 78, 79–88.
- Simunek, J., Sejna, M., van Genuchten, M., 2008. HYDRUS-1D, v. 4.16. Code for simulating the one-dimensional movement of water, heat, and multiple solutes in variably saturated porous media.
- Singurindy, O., Molodovskaya, M., Richards, B.K., Steenhuis, T.S., 2008. Gaseous nitrogen emission from soil aggregates as affected by clay mineralogy and repeated urine applications. *Water Air Soil Poll.* 195, 285–299.
- Smith, J., Gottschalk, P., Bellarby, J., Chapman, S., Lilly, A., Towers, W., Bell, J., Coleman, K., Nayak, D., Richards, M., Hillier, J., Flynn, H., Wattenbach, M., Aitkenhead, M., Yeluripati, J., Farmer, J., Milne, R., Thomson, A., Evans, C., Whitmore, A., Falloon, P., Smith, P., 2010. Estimating changes in Scottish soil carbon stocks using ECOSSE. I. Model description and uncertainties. *Clim. Res.* 45, 179–192.
- Smith, K., 1980. A model of the extent of anaerobic zones in aggregated soils, and its potential application to estimates of denitrification. *J. Soil Sci.* 31, 263–277.
- Smith, K., Ball, T., Conen, F., Dobbie, K., Massheder, J., Rey, A., 2003. Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere : Interactions of soil physical factors and biological processes. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 779–791.
- Smith, K.A., Thomson, P.E., Clayton, H., McTaggart, I.P., Conen, F., 1998. Effects of temperature, water content and nitrogen fertilisation on emissions of nitrous oxide by soils. *Atmos. Environ.* 32, 3301–3309.
- Smith, M., Tiedje, J., 1979. Phases of denitrification following oxygen depletion in soil. *Soil Biol. Biochem.* 11, 261–267.
- Stanford, G., Dzienia, S., Vander Pol, R.A., 1975. Effect of temperature on denitrification rate in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 39, 867–870.
- Stark, J., Firestone, M., 1995. Mechanisms for soil moisture effects on activity of nitrifying bacteria. *Appl. Environ. Microb.* 61, 218–221.
- Stegemann, D., Cammenga, H.K., 1990. Investigations on adsorption and diffusion of nitrous oxide in soil matrices. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 60, 73–82.

- Stehfest, E., Bouwman, L., 2006. N₂O and NO emission from agricultural fields and soils under natural vegetation : Summarizing available measurement data and modeling of global annual emissions. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 74, 207–228.
- Stevenson, F.J., 1994. *Humus chemistry : Genesis, composition, reactions.* New York.
- Stolk, P., Hendriks, R., Jacobs, C., Moors, E., Kabat, P., 2011. Modelling the effect of aggregates on N₂O emission from denitrification in an agricultural peat soil. *Biogeosciences* 8, 2649–2663.
- Tamari, S., Bruckler, L., Halbertsma, J., Chadoeuf, J., 1993. A simple method for determining soil hydraulic properties in the laboratory. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 642–651.
- Thorbjörn, A., Moldrup, P., Blendstrup, H., Komatsu, T., Rolston, D.E., 2008. A gas diffusivity model based on air-, solid-, and water-phase resistance in variably saturated soil. *Vadose Zone J.* 7, 1230–1240.
- Thorburn, P., Biggs, J., Collins, K., Probert, M., 2010. Using the APSIM model to estimate nitrous oxide emissions from diverse Australian sugarcane production systems. *Agr. Ecosyst. Environ.* 136, 343–350.
- Treusch, A., Leininger, S., Kletzin, A., Schuster, S., Klenk, H., Schleper, C., 2005. Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling. *Environ. Microbiol.* 7, 1985–1995.
- UNEP, 2013. Drawing down N₂O to protect climate and the ozone layer. A UNEP synthesis report. Rapport. United Nations Environment Programme (UNEP). Nairobi, Kenya.
- van Veen, J., Kuikman, P., 1990. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by micro-organisms. *Biogeochemistry* 11, 213–233.
- Venterea, R.T., Spokas, K.A., Baker, J.M., 2009. Accuracy and precision analysis of chamber-based nitrous oxide gas flux estimates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73, 1087–1093.
- Vogel, H., 2008. QuantIm : C/C++ library for scientific image processing. URL : <http://www.ufz.de/index.php?en=16562>.
- Vogel, H., Kretschmar, A., 1996. Topological characterization of pore space in soil - Sample preparation and digital image-processing. *Geoderma* 73, 23–38.
- Šimek, M., Cooper, J.E., 2002. The influence of soil pH on denitrification : Progress towards the understanding of this interaction over the last 50 years. *Eur. J. Soil Sci.* 53, 345–354.
- Šimek, M., Jišová, L., Hopkins, D.W., 2002. What is the so-called optimum pH for denitrification in soil? *Soil Biol. Biochem.* 34, 1227–1234.
- Weast, R., Astle, M., 1979. *Handbook of chemistry and physics.* CRC Press, Inc., Florida, USA.
- van der Weerden, T.J., Kelliher, F.M., de Klein, C.A.M., 2012. Influence of pore size distribution and soil water content on nitrous oxide emissions. *Soil Res.* 50, 125–135.

- Weier, K., Doran, J., Power, J., Walters, D., 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.
- Weihermüller, L., Huisman, J.A., Graf, A., Herbst, M., Sequaris, J.M., 2009. Multistep outflow experiments to determine soil physical and carbon dioxide production parameters. *Vadose Zone J.* 8, 772–782.
- Wildenschild, D., Hopmans, J., Rivers, M., Kent, A., 2005. Quantitative analysis of flow processes in a sand using synchrotron-based X-ray microtomography. *Vadose Zone J.* 4, 112–126.
- Williams, E.J., Hutchinson, G.L., Fehsenfeld, F.C., 1992. NO_x And N₂O emissions from soil. *Global Biogeochemical Cycles* 6, 351–388.
- Wind, G.P., 1968. Capillary conductivity data estimated by a simple method, in : Rijtema, P., Wassink, H. (Eds.), *Water in the unsaturated zone. Proceedings of the Wageningen Symposium, Vol. 1, June 1966., IAHS-Unesco, Belgium.* pp. 181–191.
- Wollersheim, R., Trolldenier, G., Beringer, H., 1987. Effect of bulk density and soil water tension on denitrification in the rhizosphere of spring wheat (*Triticum vulgare*). *Biol. Fert. Soils* 5, 181–187.
- World Meteorological Organization, 2007. *Scientific assessment of ozone depletion. Global Ozone Res. Monit. Project Rep. 50, Geneva.*
- Wrage, N., Velthof, G., van Beusichem, M., Oenema, O., 2001. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1723–1732.
- Wuebbles, D.J., 2009. Nitrous oxide : No laughing matter. *Science* 326, 56–57.
- Xing, H., Wang, E., Smith, C.J., Rolston, D., Yu, Q., 2011. Modelling nitrous oxide and carbon dioxide emission from soil in an incubation experiment. *Geoderma* 167-168, 328–339.
- Yamulki, S., Jarvis, S., 2002. Short-term effects of tillage and compaction on nitrous oxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, methane and carbon dioxide fluxes from grassland. *Biol. Fert. Soils* 36, 224–231.
- Yoh, M., Toda, H., Kanda, K., Tsuruta, H., 1997. Diffusion analysis of N₂O cycling in a fertilized soil. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 49, 29–33.
- Zhou, Z.M., Takaya, N., Sakairi, M.A.C., Shoun, H., 2001. Oxygen requirement for denitrification by the fungus *Fusarium oxysporum*. *Arch. Microbiol.* 175, 19–25.

Table des figures

1.1	Modèle conceptuel des facteurs distaux et proximaux de la dénitrification (Robertson, 1989).	4
1.2	Chaîne de réactions de la nitrification, enzymes et gènes associés (van Elsas et al., 2007).	5
1.3	Chaîne de réactions de la dénitrification, enzymes et gènes associés (van Elsas et al., 2007).	6
1.4	Les différentes voies de production du protoxyde d'azote (N ₂ O) et les organismes impliqués (modifié d'après Wrage et al., 2001).	7
1.5	Relation entre le WFPS et l'activité bactérienne relative de nitrification, de dénitrification et de respiration (D'après Linn & Doran, 1984).	11
1.6	Section schématique d'un agrégat de 2 mm de diamètre illustrant la distribution des microorganismes du point de vue des conditions d'aérobiose et l'existence de gradients biogéochimiques (D'après van Elsas et al., 2007).	12
1.7	Comparaison des incertitudes sur les facteurs d'émission de protoxyde d'azote (Shcherbak et al., 2014).	13
1.8	Evolution du rapport N ₂ O/(N ₂ +N ₂ O) avec la profondeur, après un apport de nitrate marqué à 80 cm de profondeur (Clough et al., 1998, 2005).	17
1.9	Schéma conceptuel de la démarche de recherche et de ses outils.	22
2.1	Schematic overview of the experimental setup for hydric control and N ₂ O measurements (<i>H</i> : pressure head).	29
2.2	Monitoring of the N ₂ O fluxes of the 12 soil samples and of the soil matric potential by the three tensiometers (Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values). For the sake of readability, the measurement points are linearly interpolated.	33
2.3	Nitrous oxide fluxes with time of the Fast-D sample (squares and diamonds). Arrows indicate peak localization (P_{sat} is peak flux during the wetting phase, P_{desat} is peak flux during the drying phase; in the key, numbers refers to the negative pressure head applied in centimeters, C1 is the first cycle, C2 is the second cycle). For the sake of readability, the measurement points are linearly interpolated.	35
2.4	Relationship between the N ₂ O flux slope and the bulk density at the -7 cm pressure head of the first wetting-drying cycle (Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values).	36

2.5	Nitrous oxide flux slope from the initial moment of changing water potential according to the pressure head step (numbers refers to the negative pressure head applied in centimeters, C1 is the first cycle, C2 is the second cycle; Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values). Error bars represent standard errors.	36
2.6	Relationship between N ₂ O flux slope and the amount of water drained at the second step of the decreasing pressure head (Fast: -100 cm, Medium: -50 cm, Slow: -25 cm pressure head) of the first wetting-drying cycle. The points are proportional in size to the N ₂ O flux at the end of the wetting step.	37
3.1	Schematic overview of the multistep outflow system for hydric control and nitrous oxide measurements.	47
3.2	Evolution with time of the nitrous oxide fluxes and the matric potential measured by the three tensiometers (grey lines) of a sample of BD = 1.45 g cm ⁻³ , H = -300 hPa, and K = HF, during two wetting-drying cycles. For the sake of readability, the measurement points are linearly interpolated.	50
3.3	Maximum nitrous oxide fluxes recorded during the four successive hydric steps (C1: first wetting-drying cycle, C2: second wetting-drying cycle) for soil samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm ⁻³ (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, in hPa, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder, HF: high flow, SF: standard flow). Error bars represent standard error of the mean (<i>n</i> = 3).	52
3.4	Relationship between the maximum nitrous oxide flux during the first and the second drying phases and the measured outflow.	52
3.5	Cumulative nitrous oxide fluxes at the end of the second wetting-drying phase for samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm ⁻³ (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, in hPa, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder, HF: high flow, SF: standard flow). Error bars represent standard error of the mean (<i>n</i> = 3).	53
3.6	Maximum carbon dioxide fluxes recorded during the four successive hydric steps (C1: first wetting-drying cycle, C2: second wetting-drying cycle) for soil samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm ⁻³ (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, in hPa, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder, HF: high flow, SF: standard flow). Error bars represent standard error of the mean (<i>n</i> = 3).	54
3.7	Simulated profiles of water flux with time just after the beginning of the soil drying of samples of bulk density 1.35 g cm ⁻³ (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder). Because a drying phase is simulated, the water flux is negative.	56
3.8	Simulated matric potentials during drying of soil samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm ⁻³ (H: minimum pressure head applied on the soil cylinder, in hPa, K: saturated hydraulic conductivity of the porous plate at the bottom of the soil cylinder, HF: high flow, SF: standard flow). Drying started at time = 0 hour.	57

4.1	Schematic overview of the multistep outflow system for hydric control and nitrous oxide measurements.	65
4.2	Evolution with time of the nitrous oxide fluxes and the matric potential measured by the two tensiometers. Gray areas represent the drying phases, and white areas the wetting phases. C1 is the first wetting-drying cycle, and C2 is the second wetting-drying cycle.	67
4.3	Histograms of intensity values of the 3-D soil images for (a) the first wetting-drying cycle, and (b) the second wetting-drying cycle.	68
4.4	Three-dimensional distribution of the air phase at the end of the wetting phase and at the end of the drying phase for the two wetting-drying cycles.	69
4.5	Evolution with time of (a) the air-filled pore volume, and (b) the Euler number of the total pore volume, (c) the air-filled pore volume, and (d) the Euler number of the pores connected to the soil surface, for the first and second wetting-drying cycles. The zero reference time is the beginning of the drying phase.	71
4.6	Evolution of the profiles of intensity values during (a) the first and (b) second wetting-drying cycle. The zero reference time is the beginning of the drying phase.	71
4.7	Comparison of the profiles of intensity values between the first (C1) and second (C2) wetting-drying cycle (a) at the end of the wetting phase, and (b) at the end of the drying phase (Total: profile computed for the whole soil sample, Matrix: profile computed for the soil matrix only).	72
5.1	Simulated nitrous oxide flux with time for water-filled pore space in the range [0, 1]. At time = 0 hour, initial conditions were applied. For the next time increments, the nitrous oxide production module, and the gas transport and equilibrium modules were activated.	85
5.2	Simulated N ₂ O fluxes after 12, 24, 72, and 168 hours as function of the water-filled pore space. The black line represents the maximum simulated N ₂ O flux at each time.	86
5.3	Comparison of the relative gas diffusivities (D_S/D_0) estimated with (a) four different gas diffusion models and a bulk density of 1.30 g cm ⁻³ , and (b) the Millington & Quirk (1961) model for three different bulk densities.	87
5.4	Comparison of cumulative measured and predicted N ₂ O fluxes for the four models of gas diffusivity tested (Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values, dashed line: 1:1 line).	88
5.5	Measured (black squares) and 95% confidence interval of simulated N ₂ O fluxes (grey areas). Sample names refer to the number of decreasing pressure heads applied during one wetting-drying cycle (Fast: 3 values, Medium: 4 values, Slow: 6 values, BD: bulk density in g cm ⁻³). Yellow areas represent the drying phases, and white areas the wetting phases.	89
5.6	Comparison of measured and predicted N ₂ O fluxes for the four models of gas diffusivity tested (Fast: 3 values of decreasing pressure head, Medium: 4 values, Slow: 6 values, dashed line: 1:1 line).	90

A.1	Vue d'ensemble du couplage du système de <i>multistep outflow</i> pour le contrôle de la dynamique hydrique et de la mesure des flux de protoxyde d'azote.	104
A.2	Vue en coupe partielle du montage étanche de l'échantillon de sol sur le banc de <i>multistep outflow</i>	104
A.3	Etalonnage des trois capteurs de pression.	105
A.4	Exemple d'évolution des flux de protoxyde d'azote (carrés) et du potentiel matriciel mesuré à l'aide des trois tensiomètres (lignes grises), lors de deux cycles de saturation/désaturation (cycle 1 et cycle 2).	106

Liste des tableaux

1.1	Estimation de la contribution des différentes sources de N ₂ O (Ciais et al., 2013). . . .	2
1.2	Exemples d'effets directs et indirects de l'augmentation ou de la diminution de la teneur en eau du sol sur les facteurs de contrôle des émissions de N ₂ O (+ : favorise les émissions de N ₂ O, – ne favorise pas les émissions de N ₂ O).	19
1.3	Présentation des méthodes utilisées dans les expérimentations de laboratoire. . . .	23
2.1	Physical and chemical properties of the study site (initial) and of the soil samples at the end of the experiment.	28
2.2	Treatments of decreasing pressure heads (one cycle). The reference level for zero pressure is the cylinder surface.	30
2.3	Evolution of the water-filled pore space (WFPS) and characterization of the soil matric potential dynamics (average ± standard error) at each pressure head step from 0 to –100 cm.	34
3.1	Factors and levels of the treatments used in the study.	48
3.2	Estimated hydraulic parameters of the samples of bulk density 1.35 and 1.45 g cm ⁻³	49
3.3	Evolution of the water-filled pore space (WFPS, mean ± standard error) at the end of the first (C1), and the second (C2) wetting-drying phases.	51
3.4	Nitrate concentration (mean ± standard error) in the soil at the end of the two wetting-drying cycles.	55
5.1	Models of soil gas diffusivity used in the study.	81
5.2	Water-filled pore space corresponding to the maximum simulated nitrous oxide flux, after 12, 24, 72, and 168 hours, for three bulk densities (BD).	88
5.3	Root-mean-square error (RMSE) and mean error (ME) of the predicted nitrous oxide fluxes, depending on the soil gas diffusivity model used.	89

Table des matières

Remerciements	ii
Sommaire	v
Chapitre 1 Synthèse bibliographique : La dynamique des émissions de N₂O et ses déterminismes	1
1.1 Introduction	1
1.2 Le déterminisme des émissions	2
1.2.1 Présence et activité de la biomasse bactérienne	4
1.2.1.1 Les processus et organismes impliqués dans les émissions de N ₂ O	4
1.2.1.2 Les facteurs environnementaux proximaux	7
1.2.2 Conditions d'aérobiose dans le sol et conséquences sur les émissions de N ₂ O	10
1.2.3 Disponibilité des substrats azotés dans le sol et conséquences sur les émissions de N ₂ O	12
1.2.4 Temps de résidence du N ₂ O dans le sol et conséquences sur l'intensité des émissions de N ₂ O	15
1.3 Synthèse	17
1.3.1 Importance de l'historique hydrique du sol	17
1.3.2 Les pistes de recherche	18
1.3.3 Représentativité et généralité des expérimentations	20
1.3.4 Démarche de recherche et plan du manuscrit	21
Chapitre 2 Compréhension du fonctionnement à l'échelle macroscopique : Effet de l'historique hydrique	24
2.1 Résumé	24
2.2 Introduction	26
2.3 Material and methods	27
2.3.1 Soil sampling	27
2.3.2 Experimental setup	28
2.3.2.1 Hydric control and monitoring	28
2.3.2.2 Wetting and drying cycles	29
2.3.2.3 Gas measurements	30
2.3.2.4 Soil physical and chemical characterization	31

2.3.3	Data analyses	31
2.4	Results	32
2.4.1	Soil physical and chemical properties	32
2.4.2	Hydric control	32
2.4.3	Nitrous oxide emissions	34
2.5	Discussion	38
2.5.1	Discriminating the N ₂ O peaks	38
2.5.2	The effect of drying intensity and drying history	38
2.5.3	A dynamic link between N ₂ O fluxes and the WFPS?	40
2.6	Conclusion	41
 Chapitre 3 Compréhension du fonctionnement à l'échelle macroscopique : Effet du fonctionnement hydrodynamique		43
3.1	Résumé	43
3.2	Introduction	45
3.3	Material and methods	46
3.3.1	Soil samples	46
3.3.2	Experimental setup	46
3.3.2.1	Hydric control and monitoring	46
3.3.2.2	Treatments of soil hydrodynamic properties	47
3.3.2.3	Gas measurements	48
3.3.3	Soil hydric modeling	48
3.3.4	Data analyses	49
3.4	Results	49
3.4.1	Soil hydraulic dynamics	49
3.4.2	N ₂ O and CO ₂ fluxes	51
3.4.3	Ancillary parameters	54
3.5	Discussion	55
3.5.1	Conceptualizing the role of hydrodynamic processes	55
3.5.2	The specific case of bulk density	56
3.5.3	N ₂ O production during wetting-drying cycles	58
3.5.4	Hierarchy of the controlling factors	59
3.6	Conclusion	60
 Chapitre 4 Lien avec la géométrie du réseau poreux : Imagerie par rayons X		61
4.1	Résumé	61
4.2	Introduction	63
4.3	Material and methods	64
4.3.1	Soil sampling	64
4.3.2	Experimental setup	64
4.3.3	Computed tomography and image analyses	66
4.4	Results	66
4.4.1	Soil water content and soil water potential evolution	66

4.4.2	Dynamics of the N ₂ O and CO ₂ fluxes	67
4.4.3	Characterization of the air-filled pore network	68
4.5	Discussion	72
4.5.1	The use of X-ray computed tomography for greenhouse gas emission studies	72
4.5.2	Nitrous oxide emissions and pore connectivity	73
4.5.3	Intensity of nitrous oxide emissions	73
4.5.4	Timing of nitrous oxide emissions	74
4.6	Conclusion	75
Chapitre 5 Formalisation du fonctionnement : Simulations numériques		76
5.1	Résumé	76
5.2	Introduction	78
5.3	Material and methods	79
5.3.1	Model description	79
5.3.1.1	Nitrous oxide production module	79
5.3.1.2	Nitrous oxide transport module	80
5.3.1.3	Dissolved nitrous oxide	81
5.3.2	Model parameterization	81
5.3.2.1	The modeling domain	82
5.3.2.2	Evaluating the model sensitivity to the water-filled pore space	82
5.3.2.3	Evaluating hypotheses on nitrous oxide emission processes	82
5.3.3	Data analyses	84
5.4	Results and discussion	84
5.4.1	Evaluating the model sensitivity to the water-filled pore space	84
5.4.2	Evaluating hypotheses on nitrous oxide emission processes	87
5.4.2.1	Comparison between measured and simulated nitrous oxide fluxes	87
5.4.2.2	Description of the nitrous oxide emission processes	91
5.5	Conclusion	92
Conclusion générale		94
6.1	Objectifs et moyens mis en œuvre	94
6.2	Les déterminismes hydriques	95
6.2.1	Un rôle physique	95
6.2.2	Un rôle sur les équilibres chimiques	96
6.2.3	Un rôle sur la production microbologique	96
6.3	La relation WFPS-émissions de N ₂ O	97
6.4	Perspectives	98
6.5	Synthèse	98
Annexes		100
A Conception du dispositif de multistep outflow		101
A.1	Résumé	101
A.2	Introduction	101

A.3 Matériel et méthodes	102
A.3.1 Cahier des charges	102
A.3.2 Conception du banc MSO	103
A.3.3 Instrumentation	105
A.3.4 Mesure des flux de protoxyde d'azote	105
A.4 Résultats	106
A.5 Conclusion	107
Références bibliographiques	108
Table des figures	126
Liste des tableaux	127
Table des matières	131

Eva RABOT

Le contrôle des émissions de protoxyde d'azote par le fonctionnement hydrique des sols

Résumé :

Les sols et les activités agricoles qu'ils supportent, contribueraient à environ 2/3 des émissions globales de protoxyde d'azote (N_2O), un puissant gaz à effet de serre. L'objectif de la thèse était la compréhension des déterminismes des émissions de N_2O liés aux propriétés hydriques des sols. Des expérimentations de laboratoire permettant le contrôle hydrique fin d'échantillons de sol, en saturation et en désaturation, et la mesure des flux de N_2O ont été menées. Un couplage avec la tomographie par rayons-X a par ailleurs permis de caractériser la connectivité gazeuse. Enfin, une démarche de modélisation a permis de tester les hypothèses de fonctionnement émises, et de poursuivre la démarche de réflexion sur le lien entre les propriétés hydriques des sols et les émissions de N_2O . On a mis en évidence le rôle des propriétés hydriques des sols dans la variabilité des émissions de N_2O couramment observées, et la nécessité de distinguer des périodes de production/consommation de N_2O et de transport. On retiendra ainsi le fort caractère dynamique des émissions de N_2O , en lien avec la phase hydrique (saturation ou désaturation), le fonctionnement hydrodynamique des sols, le transport gazeux et la configuration spatiale de l'air et de l'eau dans le réseau de pores. Afin de décrire l'intensité et le timing des pics de N_2O , il est apparu pertinent d'observer les paramètres potentiel matriciel, coefficient de diffusion gazeuse et connectivité gazeuse, en plus de la teneur en eau. Ces observations ont des implications sur la modélisation des flux de N_2O . On recommande ainsi l'utilisation couplée de modules de transport hydrique, de transport gazeux et en solution de N_2O , en plus de modules de production microbiologique, pour prédire efficacement les émissions de N_2O .

Mots-clés : protoxyde d'azote, sol, teneur en eau, transport gazeux, flux hydriques, hystérèse hydrique

The control of nitrous oxide emissions by the hydric functioning of soils

Abstract :

Soils and associated agricultural activities are estimated to account for about 2/3 of the global emissions of nitrous oxide (N_2O), a potent greenhouse gas. The aim of the thesis was to understand the controls linked to soil hydric properties on N_2O emissions. Laboratory experiments were designed to control the hydric status of soil samples during wetting and drying, and to measure N_2O fluxes. Moreover, a coupling with X-ray computed tomography allowed characterizing the gaseous connectivity. Finally, a modeling approach allowed testing the hypotheses of functioning, and to further discuss the links between hydric properties and N_2O emissions. We highlighted the role of soil hydric properties on the variability of N_2O emissions which is often measured, and the need to distinguish N_2O production/consumption and transport phases. The highly dynamic nature of N_2O emissions was linked to the hydric phase (wetting or drying), soil hydrodynamic functioning, gas transport, and spatial configuration of water and air in the pore network, in addition to the water-filled pore space parameter. These observations have implications for N_2O emission modeling. We recommend thus the coupled use of hydric transport, and modules of gas and liquid transport of N_2O , in addition to microbial production modules to efficiently predict N_2O emissions.

Keywords : nitrous oxide, soil, water-filled pore space, gas transport, hydric fluxes, soil water hysteresis