

THESE

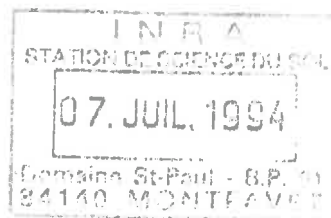
présentée

devant **L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I**

pour l'obtention

du **DIPLÔME DE DOCTORAT**
(arrêté du 30.3.92)**Spécialité : Ecologie Microbienne**

par

Jorge SIERRA

***Etude de l'anoxie dans les sols à structure agrégée
en relation avec la respiration microbienne***

soutenue le 22 avril 1994

JURY :

M. R. DELMAS	Professeur - Univ. Paul Sabatier, Toulouse III	Président
M. J.P. GAUDET	Ingénieur de Recherche - Univ. Joseph Fourier, Grenoble	Rapporteur
M. K. SMITH	Head, Soil Science Department - SAC, Edinburgh	Rapporteur
M. J.C. GERMON	Directeur de recherche - INRA	Directeur de thèse
M. R. BARDIN	Professeur - Univ. Claude Bernard, Lyon I	Examinateur
M. R. LENSI	Chargé de Recherche - CNRS.	Examinateur
M. P. RENAULT	Chargé de Recherche - INRA.	Examinateur

RAPPORT DE SOUTENANCE DE LA THESE 29 AVR. 1994

de

Monsieur JORGE SIERRA

M. Jorge SIERRA a présenté le 22 avril 1994 à 15h00 un mémoire intitulé : "*Etude de l'anoxie dans les sols à structure agrégée en relation avec la respiration microbienne*" pour obtenir le grade de Docteur de l'Université LYON I.

Sa présentation orale a été claire et fort bien structurée. Le jury a apprécié l'effort fait par le candidat pour donner un éclairage nouveau à son travail, complémentaire du manuscrit. La manière pertinente avec laquelle il a répondu aux questions des membres du jury a donné la preuve de l'excellente maîtrise du sujet qu'il a développé.

Le Jury a par ailleurs souligné la qualité du manuscrit qui a été fourni.

Le Jury lui a donc décerné à l'unanimité le grade de Docteur de l'Université Claude Bernard avec la mention Très Honorable et les Félicitations du Jury.

Fait à Lyon, le 22 avril 1994.

Pour le Jury,

Le Rapporteur de soutenance

Robert LENSI



RESUME

L'objectif de cette thèse était d'accroître nos connaissances sur la distribution de l'oxygène et l'anoxie dans des agrégats de sol isolés, à l'état naturel ou après remaniement. Les expériences visaient à étudier la diffusion de l'oxygène et la respiration microbienne et à décrire le comportement global des agrégats : respiration globale et distribution de l'oxygène. Les techniques expérimentales principales étaient la chromatographie en phase gazeuse et les microélectrodes à oxygène. Les résultats montrent que la diffusion de l'oxygène peut être décrite par la loi de Fick dans le cas des agrégats de sol remanié mais que la présence d'hétérogénéités morphologiques nécessite de nouveaux développements pour les agrégats naturels. Dans le cas des agrégats de sol remaniés, la respiration microbienne suit une cinétique de Michaelis - Menten en fonction de la concentration en oxygène avec une inhibition compétitive par le dioxyde de carbone. Une fonction empirique a été proposée pour décrire la stimulation de la respiration par de faibles concentrations en dioxyde de carbone dans le cas des agrégats naturels. Nous avons amélioré la description du transport du dioxyde de carbone par la prise en compte des équilibres chimiques dans la solution du sol. Un modèle basé sur notre étude décrit bien les résultats expérimentaux obtenus sur les agrégats de sol remanié. Les hétérogénéités physiques et biologiques rendent difficile l'application de ce modèle aux agrégats naturels. Dans tous les cas, l'amélioration des modèles passe probablement par la prise en compte de la distribution des populations microbiennes.

ABSTRACT

Anaerobiosis in aggregated soils in relation with microbial respiration

The aim of this thesis was to improve the knowledge on oxygen distribution and anaerobiosis in isolated natural and remoulded soil aggregates. Laboratory experiments were carried out in order to analyse gaseous transport processes : oxygen diffusion and microbial respiration, and to describe the global behaviour of the aggregates: global respiration and oxygen distribution. The main used experimental techniques were gas chromatography and oxygen microelectrodes. Results showed that the Fick's law was able to describe the oxygen diffusion for the remoulded soil aggregates. For natural aggregates, new theoretical developments are needed to include the effect of morphological heterogeneities on gas transport. In the case of remoulded aggregates, microbial respiration dependence on oxygen concentration followed a Michaelis-Menten kinetics with competitive inhibition by carbon dioxide. An empirical function was introduced to account the stimulation effect of carbon dioxide at small concentration on the natural aggregate respiration. We extended the description of carbon dioxide transport to include chemical transformations in the soil solution. A model founded on our study agree with experimental results when using remoulded soil aggregates. Physical and biological heterogeneities makes difficult the use of this model for natural aggregates. Whatever the aggregate, it seems necessary to account for microbial biomass distribution in future works.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé à l'Unité de Science du Sol de l'INRA d'Avignon. Je remercie **M. P. Stengel**, qui était alors Directeur de cette Unité, et **M. L. Bruckler**, actuel Directeur, pour m'avoir accepté dans leur laboratoire.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à **M. P. Renault**, responsable scientifique INRA de cette thèse, qui a bien su me faire part de ses connaissances sur la physique des transferts gazeux et sur la modélisation. Je le remercie aussi pour sa disponibilité pendant les nombreuses discussions que nous avons eu tout au long du travail.

Je suis très reconnaissant envers **M. J.C. Germon** pour avoir accepté de diriger cette thèse et pour sa participation au Comité de Pilotage.

Je suis heureux que **M. J.P. Gaudet** et **M. K. Smith**, en tant que rapporteurs, participent au Jury de cette thèse. Je les en remercie sincèrement.

Ma reconnaissance va aussi à **M. R. Delmas** et **M. R. Lensi** qui ont accepté de participer au Jury de cette thèse en tant que président et examinateur. **M. R. Lensi** a de plus participé aux réunions du Comité de Pilotage; ses suggestions ont été très utiles à mon travail.

Mes remerciements s'adressent également à **M. R. Bardin** qui a bien voulu être membre du Comité de Pilotage et membre du Jury de cette thèse.

Je n'oublie pas **M. J. Guérif** pour les "mates amargos" et pour son aide précieuse au début de mon séjour en France.

Je remercie particulièrement **M. J. Horoyan** qui a collaboré à ce travail avec bonne humeur et d'innombrables déterminations de densité d'agrégats. Je voudrais aussi remercier **M. M. Bourlet** pour son concours au moment du prélèvement du sol et **M. C. Jeandet** pour les mesures de porosimétrie.

Les expériences réalisées à l'aide de la Chromatographie en Phase Gazeuse ont été effectuées au Laboratoire de Technologie des Produits Végétaux de l'INRA d'Avignon. Je remercie sincèrement **M. Y. Chambroy**, **M. G. Jacquemin** et **Mlle. R.M. Gomez** pour leur accueil et pour l'aide qu'ils m'ont apporté afin de résoudre certains problèmes techniques.

Les discussions avec **M. V. Valles** en matière de physico-chimie, avec **M. J.C. Fies** dans le domaine de la caractérisation de l'espace poral du sol et avec **M. J. Chadoeuf** sur le plan statistique, m'ont aidé à interpréter mes résultats. Je les en remercie.

Les mesures d'activité biologique au sein des agrégats ont été réalisées à la Station de Science du Sol de l'INRA Versailles. Je remercie sincèrement **Mme. C. Chenu** pour sa disponibilité, pour la discussion des résultats et pour sa sympathie.

Je suis très reconnaissant à **M. B. Cabibel** qui a accepté la dure tâche de réaliser la correction de la première version de cette thèse.

Je remercie M. P. **Boisseau** du C.E.N. de Cadarache pour la stérilisation des agrégats et M. N. **P. Revsbech** de Aarhus Universitet grâce à qui l'Unité de Science du Sol a pu monter un laboratoire pour la construction et l'utilisation des microélectrodes à oxygène.

Enfin, que l'ensemble du personnel de l'Unité de Science du Sol trouve ici le témoignage de ma reconnaissance pour son accueil et sa collaboration au cours de ces trois ans.

*Aqui, el incierto ayer
y el hoy distinto
me han deparado los comunes
casos
de toda suerte humana.
Aqui, mis pasos urden
su incalculable laberinto.
Aqui, mi sombra,
en la no menos vana sombra final
se perdera,
ligera.
No nos une el amor,
sino el espanto.
Sera por eso
que la quiero tanto.*

Jorge Luis Borges
(Buenos Aires)

à Leandro et Mariano

TABLE DE MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	17
1 Présentation du problème et motivations	17
2 Objectifs et stratégie d'étude	19
3 Organisation de la thèse	20
CHAPITRE 1	23
<u>DISTRIBUTION DE L'OXYGENE ET DE L'ANOXIE DANS LE SOLS.</u>	
<u>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.</u>	
1.1 Introduction	23
1.2 Transfert gazeux dans les sols	25
1.2.1 Les mécanismes du transfert	25
1.2.2 Modélisation du coefficient de diffusion	27
1.2.3 Modélisation de la distribution d'oxygène et de l'anoxie dans le sols	29
a- Niveau de l'agrégat	29
b- Niveau du profil cultural	33
1.3 Approche expérimentale de l'anoxie	34
1.3.1 Mesures d'oxygène et de l'anoxie dans les sols	34
1.3.2 Notion de "hot-spots"	40
1.4 Quelques aspects d'écologie microbienne dans les sols	42
1.4.1 Effet du dioxyde de carbone sur l'activité biologique du sol	42
1.4.2 Distribution de l'activité biologique dans les agrégats	44
1.5 Conclusions du Chapitre 1	46
CHAPITRE 2	47
<u>SIMULATION DES TRANSFERTS D'OXYGENE ET DE DIOXYDE DE CARBONE</u>	
<u>DANS LES AGREGATS.</u>	
<u>COMPARAISON DE DIFFERENTS MODELES ET ANALYSE DE SENSIBILITE.</u>	
2.1 Introduction	47
2.2 Modélisation	48
2.2.1 Cadre de la présentation	48
2.2.2 Equations du modèle	48
a- Equation de conservation de la masse	48
b- Fonction puits et source	50
c- Equilibres physico-chimiques associés au dioxyde de carbone	51
2.2.3 Variantes du modèle	53
2.2.4 Hypothèses et paramètres des modèles	54
a- Hypothèses	54
b- Paramètres	55
2.2.5 Conditions initiales	56
2.2.6 Résolution numérique	56
2.3 Comparaison de différents modèles	57
2.3.1 Durée de la phase transitoire	57
2.3.2 Respiration globale	59
2.3.3 Profil d'oxygène, de dioxyde de carbone et de respiration	61
2.4 Sensibilité du modèle alternatif aux paramètres physiques et biologiques	64
2.4.1 Effet de D_{O_2} et de R_{max}	64
2.4.2 Effet de K_{mO_2} et de K_{iO_2}	65
2.5 Commentaire sur l'effet du métabolisme du dioxyde de carbone	65
2.6 Conclusions du Chapitre 2	67

CHAPITRE 3	69
<u>MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALES.</u>	
3.1 Introduction	69
3.2 Le sol	70
3.2.1 Localisation et caractéristiques générales du site de prélèvement	70
3.2.2 Prélèvement d'agrégats naturels	70
3.2.3 Fabrication des agrégats de sol remanié	72
3.3 Caractérisation physique et chimique des agrégats	73
3.3.1 Mesures physiques	73
a- Densité et volume des agrégats naturels et artificiels	73
b- Répartition du volume des pores	75
c- Estimation du rayon équivalent des agrégats naturels	75
3.3.2 Mesures chimiques	76
a- Analyse de carbone et d'azote	76
3.4 Méthodes de mesures des concentrations gazeuses	76
3.4.1 Chromatographie en phase gazeuse	76
3.4.2 Les microélectrodes à oxygène	77
a- Principe et fonctionnement	77
b- Test préliminaires	79
3.5 Etude des mécanismes de base	82
3.5.1 Diffusion de l'oxygène	84
3.5.2 Influence de l'oxygène et du dioxyde de carbone sur la respiration	84
3.5.3 Activité biologique au sein des agrégats	86
3.5.4 Pouvoir d'absorption du dioxyde de carbone par le sol et oxydation des concrétions	88
3.6 Respiration globale des agrégats	88
3.6.1 Agrégats naturels	88
a- Comportement moyen des agrégats	88
b- Variabilité inter-agrégats	89
3.6.2 Agrégats artificiels	90
3.6.3 Procédure de calcul de la respiration et incertitude sur l'estimation	90
3.7 Profils d'oxygène au sein des agrégats	93
CHAPITRE 4	95
<u>ESTIMATION DES PARAMETRES DU MODELE.</u>	
4.1 Introduction	95
4.2 Estimation du coefficient de diffusion de l'oxygène.	95
4.2.1 Résultats	95
a- Agrégats artificiels	95
b- Agrégats naturels	98
4.2.2 Discussion	100
4.3 Estimation des paramètres biologiques	102
4.3.1 Effet de l'oxygène et du dioxyde de carbone sur la respiration	102
a- Agrégats artificiels	102
b- Agrégats naturels	105
4.3.2 Respiration à 21% d'oxygène et 0% de dioxyde de carbone des agrégats naturels de différentes tailles	107
4.3.3 Production de dioxyde de carbone en condition anoxique	108
4.3.4 Evolution de l'anoxie au cours du temps	109
4.3.5 Absorption de dioxyde de carbone	110
4.3.6 Oxydation des concrétions	112
4.3.7 Discussion	113
a- Inhibition ou effet autre du dioxyde de carbone?	113
b- Les valeurs estimés de K_{mO_2}	115
c- Conséquences de la physico-chimie du dioxyde de carbone au niveau de l'agrégat	116
d- Evolution de la respiration maximale	116

4.4 Conclusions du Chapitre 4	117
CHAPITRE 5	119
<u>RESPIRATION GLOBALE DES AGREGATS.</u>	
<u>RESULTATS EXPERIMENTAUX ET TEST DES MODELES.</u>	
5.1 Introduction	119
5.2 Respiration globale des agrégats artificiels	120
5.2.1 Consommation d'oxygène	120
5.2.2 Production apparente de dioxyde de carbone et Quotient Respiratoire	121
a- Les valeurs observés	121
b- Interprétation des valeurs de QR	123
5.3 Respiration globale des agrégats naturels	126
5.3.1 Consommation d'oxygène	126
5.3.2 Variabilité de la respiration globale	128
5.4 Rapport expérience-modèle	129
5.4.1 Paramètres utilisés et conditions initiales	129
5.4.2 Agrégats artificiels	131
5.4.3 Agrégats naturels	132
5.4.4 Analyse des écarts expérience-modèle	139
5.5 Conclusions du Chapitre 5	141
CHAPITRE 6	143
<u>PROFILS D'OXYGENE AU SEIN DES AGREGATS.</u>	
<u>RESULTATS EXPERIMENTAUX ET TEST DES MODELES.</u>	
6.1 Introduction	143
6.2 Résultats de l'expérimentation	144
6.2.1 Agrégats artificiels	144
6.2.2 Agrégats naturels	146
6.3 Rapport expérience-modèle	148
6.3.1 Paramètres utilisés et conditions initiales	148
6.3.2 Profils à 21% d'oxygène	149
6.3.3 Profils au dessous de 21% d'oxygène	150
6.3.4 Suivi du profil d'oxygène	150
6.4 Discussion	155
6.4.1 Ecart modèle-expérience	155
6.4.2 Les résultats des agrégats naturels	157
6.5 Conclusions du Chapitre 6	157
CONCLUSIONS GENERALES	159
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	165
BIBLIOGRAPHIE	175
ANNEXES	179

INTRODUCTION GENERALE

*J'ai seulement tâché à rendre vraisemblable
ce qui était déjà vrai.*

Albert Camus
(prologue de "Les Justes")

1 Présentation du problème et motivations

Les processus microbiens du sol dépendent de leur environnement physique et chimique. L'O₂ est un des facteurs importants de cet environnement. Il peut agir sur le fonctionnement biologique du sol par le tri des espèces microbiennes qu'il opère : on distingue ainsi des microorganismes anaérobies stricts, des aérobies facultatifs et des aérobies stricts. L'O₂ peut aussi modifier certaines caractéristiques du métabolisme de ces microorganismes. Il est ainsi possible de distinguer des fonctionnements associés au statut de l'O₂ dans le sol. La respiration microbienne et la nitrification sont des processus exclusivement aérobies. La fermentation, la méthanogénèse et la dénitrification sont des processus nécessitant des conditions d'hypoxie, voire d'anaérobiose totale.

Parmi ces derniers fonctionnements, la dénitrification est le processus de réduction des oxydes d'azote, principalement NO_3^- et NO_2^- , en composés azotés gazeux (N_2O ou N_2). Dans le sol, il s'agit d'un phénomène essentiellement biologique mené par des microbes aérobies facultatifs qui, en absence d' O_2 , sont capables d'utiliser le NO_3^- et NO_2^- via un métabolisme dissimilatif. La dénitrification entraîne donc une perte d'azote disponible pour les végétaux dont l'importance est très variable, mais qui concerne généralement entre 20 et 30% de l'azote apporté comme fertilisant (Firestone, 1982).

Longtemps, les recherches concernant ce processus ont été conduites afin de réduire les pertes en azote. Depuis quelques années, on s'intéresse aussi à la dénitrification pour des raisons environnementales. De ce point de vue, deux aspects méritent d'être soulignés. D'une part, l'utilisation intensive de fertilisants azotés dans l'agriculture moderne a eu pour conséquence un accroissement de ce composé dans le sous-sol et les nappes, la dénitrification étant le seul processus biologique capable de réduire son effet polluant. D'autre part, la production de N_2O via la dénitrification accroît l'effet de serre et présente un risque pour l'ozone stratosphérique (Knowles, 1982).

Les facteurs essentiels influençant ce processus sont la disponibilité en carbone organique, la concentration en NO_3^- et, comme évoquées précédemment, des conditions d'anoxie. Le volume anoxique du sol est, parmi ces facteurs, le plus difficile à estimer du fait de sa fugacité et de sa variabilité spatiale. Il est bien connu que l' O_2 est un inhibiteur de la synthèse de certaines enzymes de la dénitrification et de leur activité proprement dite (Tiedje, 1988). Quand dans un espace donné du sol, la consommation d' O_2 (respiration) est supérieure à l' O_2 apporté par la diffusion, cet espace devient anoxique et la dénitrification possible. En conséquence, comme le développement de l'anoxie est un phénomène qui dépend localement de l'offre et de la demande en O_2 , il peut exister dans un sol présentant des bonnes conditions générales d'aération, des régions en état d'anaérobiose (Smith, 1990).

Bien que le mécanisme de l'anoxie soit toujours le même, le milieu physique et la présence d'eau jouent un rôle essentiel sur ce processus. Ainsi, dans un sol présentant des agrégats (milieu agrégé), l'anoxie se développe à l'intérieur de ces unités structurales, notamment quand elles sont saturées en eau. Dans les sols non agrégés, la localisation de l'anoxie dépend notamment de l'état hydrique et de la distance entre pores non saturés (Smith, 1990).

Comme l'anoxie est fortement liée à l'organisation du sol, il apparaît évident que sa modélisation doit commencer par la définition du milieu physique qui sert de base à la formulation mathématique du processus. Dans certains modèles de transfert d' O_2 , le sol est considéré comme un milieu continu et homogène vis-à-vis des transports gazeux. Cette approche apparaît, sinon valable, au moins utile dans un nombre limité de situations (p.e. rizières inondées). Plus généralement, un sol présente des hétérogénéités d'ordre physique avec des voies préférentielles de transfert, et des hétérogénéités d'ordre biologique avec des sites

ponctuels à forte consommation d'O₂ (Parkin, 1990). Ainsi dans la dernière décennie, on a proposé des modèles de transfert d'O₂ qui rendent compte des hétérogénéités et des discontinuités, en considérant le sol comme un milieu agrégé ou non agrégé. Néanmoins, c'est pour les milieux agrégés que les modèles ont été les plus développés, probablement car ils correspondent à des systèmes plus simples à analyser.

Les modèles de transfert d'O₂ dans le sol, n'ont pas été accompagnés généralement par des études visant à vérifier les hypothèses et les mécanismes qu'ils supposaient. Actuellement, il n'est pas possible d'évaluer la validité de ces modèles du fait de l'absence de tests expérimentaux rigoureux soit au niveau du profil du sol, soit au niveau de l'agrégat. Dans l'état actuel des connaissances sur l'anoxie, il semble que cette analyse soit un préalable nécessaire à l'accroissement de la complexité des modèles.

Un modèle est une représentation simplifiée de la réalité, mais cela ne signifie pas qu'il soit simple dans sa formulation. En particulier, les modèles de transfert d'O₂ dans le sol comportent de nombreuses hypothèses concernant la description du milieu, les mécanismes physiques et physico-chimiques du transfert et les mécanismes biologiques de la consommation d'O₂. Afin d'améliorer la description de chaque partie du système réel, l'étude doit être réalisée sur des processus élémentaires en commençant les tests à l'échelle où le phénomène a lieu.

Dans cette thèse, nous aborderons l'anoxie et le transfert d'O₂ en nous plaçant explicitement dans le cadre des milieux agrégés. Ce choix est justifié car l'on dispose d'un ensemble de connaissances théoriques suffisamment important sur ce type de milieu. L'échelle d'étude retenue est celle de l'agrégat isolé.

2 Objectifs et stratégie d'étude

Compte-tenu du peu de données expérimentales relatives aux mécanismes responsables de l'anoxie au niveau de l'agrégat et de l'absence de tests rigoureux des modèles de transfert d'O₂, nous avons abordé l'étude du déterminisme et de l'importance de l'anoxie à ce niveau en développant trois aspects:

- 1- le test par voie expérimentale des mécanismes de base impliqués dans l'anoxie (diffusion de l'O₂ et respiration microbienne) et la détermination des paramètres qui leur sont associés ;
- 2- l'analyse expérimentale du comportement d'ensemble de l'agrégat (respiration globale et distribution de l'O₂) ;
- 3- l'évaluation d'un modèle proposé initialement par Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962) pour décrire l'anoxie et l'élaboration de modèles en meilleur accord avec nos données expérimentales.

Deux types d'agrégats ont été utilisés: des agrégats naturels et des agrégats fabriqués à partir du même sol remanié. Ces derniers, a priori physiquement et biologiquement homogènes, doivent nous permettre d'appréhender les mécanismes de base du transfert d'O₂ tout en évitant les effets des hétérogénéités du sol. Les expériences visant à étudier l'anoxie ont été menées sur des agrégats généralement saturés en eau afin de permettre le développement de zones anaérobies.

Cette démarche nous semble pertinente pour analyser le transfert d'O₂ à l'échelle de l'agrégat et pour contribuer, à moyen terme, à l'amélioration de l'estimation du volume anoxique et des processus microbiens du sol qui en dépendent, plus particulièrement la dénitrification.

Par soucis de simplicité, nous emploierons toujours les termes "transferts de gaz" ou "transfert gazeux" pour parler des transferts d'O₂ et de CO₂ bien que ces transferts aient lieu essentiellement en phase liquide dans nos expérimentations.

3 Organisation de la thèse

Ce manuscrit comporte 6 chapitres et 8 annexes.

La thèse commence avec une revue bibliographique concernant principalement les différentes approches, théoriques et expérimentales, de l'étude de l'anoxie et de la distribution d'O₂ dans le sol. Nous discutons les avantages et les limitations actuels de ces développements (Chapitre 1).

La présentation des équations générales qui décrivent le transfert et la consommation d'O₂ dans le sol constitue le sujet du Chapitre 2. Nous y présentons aussi les résultats, obtenus par simulation, d'une évaluation de différentes variantes du modèle de transfert. Ce chapitre est complété par les Annexes 1 et 2.

Dans le Chapitre 3, nous décrivons les méthodes et les protocoles expérimentaux utilisés pour la caractérisation physique et chimique du sol et des agrégats utilisés pour l'analyse des mécanismes de base et pour le test des modèles. Les résultats de la caractérisation des agrégats et leur interprétation sont donnés dans les Annexes 3 et 4.

Les résultats expérimentaux de l'analyse des mécanismes physiques, biologiques et physico-chimiques liés au transfert d'O₂ et du CO₂ dans notre sol, sont montrés au Chapitre 4. Nous y analysons particulièrement les possibilités d'extrapolation de ces résultats à d'autres situations, et l'influence des hétérogénéités physiques sur le transfert d'O₂ au sein des agrégats. L'Annexe 5 complète ce chapitre.

Le Chapitre 5 est consacré aux résultats expérimentaux de respiration globale des agrégats et à un premier test du modèle basé sur ces résultats. Nous analysons les écarts modèles-expérience en fonction de la taille de l'agrégat afin de cerner la validité des différentes variantes du modèle et afin de réaliser un tri entre elles. Ce chapitre est complété par l'Annexe 6.

Un deuxième test du modèle basé sur les profils d'O₂ au sein des agrégats est rapporté dans le Chapitre 6. Nous présentons aussi des résultats expérimentaux sur la distribution de l'activité microbienne dans les agrégats (Annexe 7) et discutons quelques hypothèses pour expliquer les écarts modèle-expérience (Annexe 8).

Nous présentons enfin les conclusions générales de notre travail et quelques perspectives possibles d'élargissement de celui-ci.

CHAPITRE 1

Distribution de l'oxygène et de l'anoxie dans les sols. Synthèse bibliographique

1.1 Introduction

Quatre conditions sont nécessaires à la dénitrification (Firestone, 1982): a) la présence de micro-organismes dénitrifiants; b) l'anaérobiose; c) la présence de l'accepteur d'électrons (NO_3^- ou NO_2^-) et d) celle du donneur d'électrons (carbone organique soluble). Les dénitrifiants sont largement répandus dans la nature (Germon, 1983; Tiedje, 1988); il apparaît alors évident que, s'il existe une limitation à la dénitrification, elle ne sera pas liée à l'absence des micro-organismes concernés mais plutôt aux conditions du milieu (Tiedje, 1988).

La Figure 1.1 montre le schéma proposé par Tiedje (1988) où les facteurs environnementaux réglant la dénitrification sont hiérarchisés en fonction de leur importance. D'après ce schéma, la présence d' O_2 , résultant des phénomènes de diffusion et de sa consommation par les micro-organismes, est le facteur le plus limitant de la dénitrification. Néanmoins, le Tableau 1.1 montre que l'ordre d'importance de chaque facteur peut varier en fonction du milieu naturel considéré.

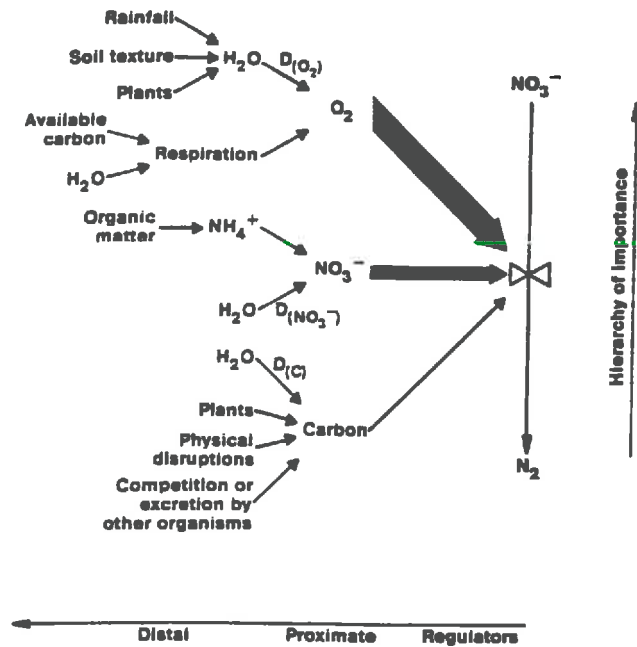


Figure 1.1: Modèle conceptuel représentant la régulation environnementale de la dénitrification (d'après Tiedje, 1988).

Habitat	Regulator		
	Oxygen	Nitrate	Carbon (Electron Donor)
Fertilized soil	1	3	2
Nonfertilized soil	1	2	3
Sediments	2	1	
Lake water column	1	2	
Ocean waters	1	3	2
Intestinal tract	2	1	
Anaerobic sludge		1	
Secondary waste treatment	1	2	

Tableau 1.1: Classement par ordre d'importance des facteurs limitant la dénitrification dans différents habitats (1: facteur qui le plus fréquemment limite la dénitrification). (d'après Tiedje, 1988).

Dans le sol, l'O₂ est donc le facteur qui limite le plus fréquemment la dénitrification, sauf en condition de saturation chronique (Korom, 1992). Néanmoins, il est reconnu que des pertes importantes d'azote peuvent exister dans les sols non saturés en eau et a priori bien aérés

du fait de ce processus (Rolston et al., 1984; Germon et al., 1985; Grundmann et al., 1988; Drury et al., 1992). L'anoxie peut se développer localement dans ce type de situation avec une très forte variabilité spatiale dépendant elle-même de l'hétérogénéité du milieu. Plusieurs auteurs ont suggéré que la variabilité spatiale et temporelle qui caractérise la dénitrification peut être liée à celle de l'anoxie (Folorunso et Rolston, 1984; Parkin, 1987; Parkin et al., 1987; Christensen et al., 1990a, b). La difficulté d'appréhender ces phénomènes par expérimentation uniquement ou par utilisation de modèles empiriques a conduit, ces dernières années, à la formulation de modèles déterministes de l'anoxie dans les sols et donc du transfert et de la consommation d'O₂ (Leffelaar, 1979; Smith, 1980; McConnaughey et Bouldin, 1985a,b,c; Arah et Smith, 1989; Grant, 1991; Refsgaard et al., 1991; Renault et Stengel, 1994).

Par la suite, nous restreindrons cette analyse bibliographique au mécanisme du transfert d'O₂ et aux différentes approches (théoriques et expérimentales) proposées afin d'estimer la distribution de l'O₂ et de l'anoxie dans les sols. A la fin de ce chapitre, nous présenterons aussi quelques aspects d'écologie microbienne en relation avec la consommation d'O₂ par les micro-organismes du sol.

1.2 Transfert gazeux dans les sols

1.2.1 Les mécanismes du transfert

L'aération du sol est définie comme le mouvement des gaz permettant des échanges gazeux entre le sol et l'atmosphère (Baver et al., 1972). Deux types de phénomènes sont impliqués dans le mouvement des gaz dans les sols: la convection et la diffusion. La convection correspond à un processus de transfert global des gaz lié à un gradient de pression totale (Hisinger et Mettauert, 1989). La diffusion correspond au transfert d'un gaz lié à un gradient de pression partielle (Marrero et Mason, 1972; Jaynes et Rogowski, 1983). Le flux par convection peut devenir important face aux changements de température, de pression atmosphérique ou à cause du mouvement de l'eau. Néanmoins, dans la plupart des cas, la diffusion est le processus considéré comme le mécanisme principal du mouvement des gaz dans le sol (Rolston, 1986; Ball et Smith, 1991).

La diffusion gazeuse dans le sol est généralement décrite par la loi de Fick (Van Bavel, 1952; Currie, 1961; Smith, 1980). Sa formulation unidimensionnelle est:

$$\phi_i = D_s \frac{\partial C_i}{\partial x} \quad [1]$$

où ϕ_i représente le flux du gaz "i" [$\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$], D_s est le coefficient de diffusion du gaz "i" dans le sol [m^2s^{-1}], C_i sa concentration [mol m^{-3}], et x est la distance sur la direction du flux [m].

Dans le sol, l' O_2 est consommé par les respirations microbienne, racinaire et animale. Cette consommation crée un gradient de concentration qui est à l'origine du flux d' O_2 par diffusion de l'atmosphère externe vers le sol. Inversement, la production de CO_2 par la respiration entraîne, en général, un accroissement de sa concentration à l'intérieur du sol et donc un flux de ce gaz vers l'atmosphère. Les hétérogénéités d'ordre physique (agrégats, mottes, fissures, galeries de vers) et d'ordre biologique (racines, distribution microbienne liée en partie à la distribution des matières organiques) induisent:

- une distribution non uniforme des sites de consommation d' O_2 et de production de CO_2 (p.e. Currie, 1961; Parkin, 1987),
- des zones préférentielles de transfert gazeux dans le sol (p.e. Sexstone et al., 1985; Collin et Rasmuson, 1988).

L'hétérogénéité du sol détermine un flux par diffusion de l' O_2 dont la direction varie avec la localisation des hétérogénéités.

Le transfert gazeux par diffusion est fonction du milieu considéré et de ses caractéristiques. Dans le Tableau 1.2 nous montrons quelques valeurs de coefficient de diffusion d' O_2 reportées dans la bibliographie pour différents milieux. Le coefficient de diffusion de l' O_2 dans l'eau est environ 10000 fois plus petit que dans l'air. Il en résulte une forte diminution de la diffusion quand la continuité de l'espace poral libre à l'air est interrompue par la présence d'eau. Dans le Tableau 1.2, on peut aussi observer que la diffusion de l' O_2 dans un sol sec est inférieure à celle dans l'air, cette réduction étant due à la présence de particules solides qui s'opposent au mouvement gazeux. Deux facteurs du milieu agissent: la tortuosité et la forme des pores. Le premier facteur rend compte des déviations dans la direction des pores par rapport à la direction principale du flux; le deuxième reflète les changements de section des pores dans l'espace (Renault, 1988a).

Plusieurs auteurs ont considéré qu'un sol présentant des agrégats peut être supposé comme un milieu à double porosité (Currie, 1961; Stengel, 1979; Fies et Stengel, 1981a,b). On distingue alors un espace poral inter-agrégats et un espace poral intra-agrégat. Ce dernier se caractérise en général par une plus grande complexité et une dimension des pores plus petite que celle de l'espace inter-agrégats. Bien que cette distinction n'ait pas un sens absolu du point de vue du transfert gazeux (Collin et Rasmuson, 1988), les caractéristiques de la porosité intra-agrégat induisent une diffusion beaucoup plus petite que celle de l'ensemble du profil à même taux de saturation (Tableau 1.2).

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

(*) à 25°C et 1 bar

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

Tableau 1.2: Coefficient de diffusion de l'O₂ pour différents milieux.

1.2.2 Modélisation du coefficient de diffusion

Tenant compte de l'importance de la diffusion vis-à-vis du mouvement des gaz dans le sol, de nombreuses études ont été réalisées afin d'aboutir à une estimation du coefficient de diffusion D_s .

Les premiers travaux sur les transferts gazeux se rapportent à ce type d'études. Les premiers modèles admettent que la diffusion peut être estimée à partir de la connaissance de la porosité libre à l'air. Il s'agit en général d'ajustements de données expérimentales, donc de modèles empiriques (Buckingham, 1904, Penman, 1940; Currie, 1960b). D'autres auteurs ont proposé des modèles de calcul du coefficient de diffusion basés sur des hypothèses de géométrie des pores (cylindriques ou sphériques) et de leur disposition dans l'espace (en série et/ou en parallèle) (Marshall, 1958; Millington et Quirk, 1961). Le sol y est alors traité comme un milieu homogène. Ultérieurement, Millington et Shearer (1971) ont partiellement modifié la formulation de Millington et Quirk (1961) en considérant le sol comme un milieu à double porosité, composé d'agrégats de forme sphérique. Ce modèle est le premier considérant le sol comme un milieu hétérogène vis-à-vis de l'estimation du coefficient de diffusion. Sa validité a été testée par les auteurs en utilisant des données expérimentales obtenues par Currie pour des matériaux divers (Currie, 1960a,b). Dans la Figure 1.2, on donne un exemple de comparaison entre la diffusion estimée à partir du modèle proposé par Millington et Shearer (1971) et les données expérimentales. On peut y observer que la réduction du coefficient de diffusion globale devient très importante quand l'eau commence à occuper l'espace inter-agrégats. On peut constater que le coefficient de diffusion atteint une valeur nulle avant la saturation totale du sol en eau car le modèle ne tient pas compte de la diffusion gazeuse dans la

phase liquide. Collin et Rasmuson (1988) ont postérieurement modifié cet aspect du modèle de Millington et Shearer (1971).

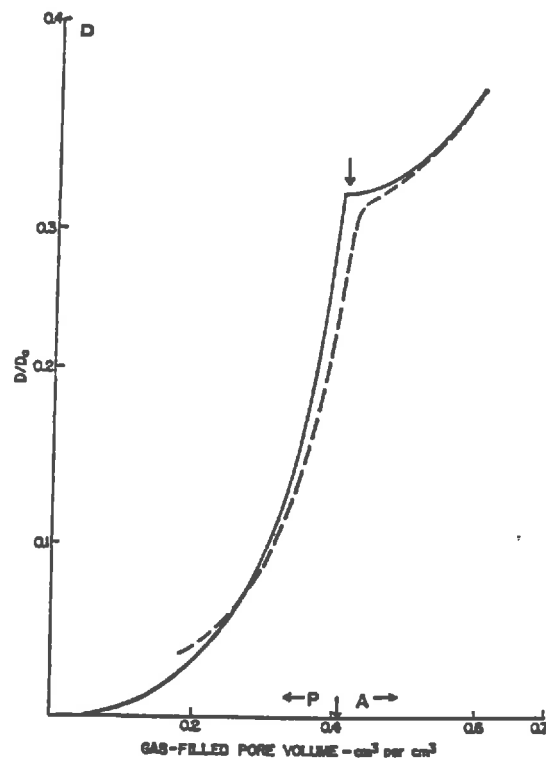


Figure 1.2: Comparaison des résultats de diffusion calculés d'après le modèle de Millington et Shearer (1971) (—) et de résultats expérimentaux de Currie (1960b) (---). D/D_0 est le rapport entre la diffusion du gaz dans le milieu poreux et la diffusion du même gaz dans l'air. P et A représentent la porosité inter-agrégats et la porosité inter-agrégats, respectivement (d'après Millington et Shearer (1971)).

Nielson et al. (1984) ont proposé un modèle où des pores cylindriques de différents rayons sont combinés en série d'une manière aléatoire. Dans ces conditions, le modèle suppose une distribution de la taille des pores correspondant à la juxtaposition d'élargissements et de rétrécissements de l'espace poral.

Collin et Rasmuson (1988) ont réalisé une étude exhaustive de plusieurs modèles cités ci-dessus avec des données expérimentales obtenues pour des sols ayant une large gamme de teneurs en eau. Ils ont montré que le modèle modifié de Millington et Shearer (1971) est celui qui décrit le mieux les différentes situations analysées.

Tous ces modèles estiment le coefficient de diffusion au niveau macroscopique, ils peuvent être adaptés à l'estimation de la diffusion au niveau du profil du sol. Renault (1988a) a réalisé une approche différente. Il a proposé un modèle de diffusion au niveau de l'espace poral dit lacunaire, espace compris entre les constituants primaires du sol. L'auteur considère comme modèle de cet espace poral un réseau de pores dont le degré de connexité, la forme, leur

déformation et leur remplissage par de l'eau dépendent du matériau considéré. Cette approche apparaît utile pour modéliser le coefficient de transfert au niveau de l'agrégat du sol.

1.2.3 Modélisation de la distribution d'oxygène et de l'anoxie dans les sols

a- Niveau de l'agrégat

Pour tenir compte de la présence d'agrégats dans le sol et de leur effet sur le transfert d'O₂, Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962) ont proposé un modèle de diffusion radial dans des agrégats sphériques, physiquement et biologiquement homogènes. La diffusion est décrite par la loi de Fick et la respiration par une constante non nulle tant qu'il y a de l'oxygène. A partir de leur modèle, le volume anoxique d'un agrégat isolé peut être estimé si l'on connaît la concentration extérieure d'O₂, le coefficient de diffusion, la respiration et le rayon de l'agrégat. On peut par ailleurs définir un rayon critique r_c correspondant au rayon de l'agrégat à partir duquel une fraction de son volume est en état d'anoxie (Currie, 1961; Smith, 1977):

$$r_c = \sqrt{\frac{6 \times D_{O_2} \times C_{ext}}{R_{O_2}}} \quad [2]$$

où D_{O_2} est le coefficient de diffusion d'O₂ dans l'agrégat [m²s⁻¹], C_{ext} la concentration extérieure en O₂ [mol m⁻³] et R_{O_2} est la respiration [mol m⁻³s⁻¹]. En conséquence, il n'y a pas d'anaérobiose dans un agrégat isolé tant que son rayon est inférieur à ce rayon critique. La Figure 1.3 schématise le concept du rayon critique.

Greenwood et Berry (1962) ont élargi ce modèle pour tenir compte d'agrégats de formes différentes. Pour ce faire, ils suggèrent l'utilisation du rapport "Surface/Volume" des agrégats comme variable décrivant leur géométrie. On peut ainsi calculer le "rayon équivalent" d'un agrégat comme le rayon d'une sphère ayant le même rapport. Cette proposition repose sur l'hypothèse que des agrégats de forme irrégulière et des sphères ayant le même rapport "Surface/Volume" ont les mêmes caractéristiques vis-à-vis du transfert gazeux. Ceci a été vérifié expérimentalement par Greenwood et Berry (1962) sur des agrégats artificiels en Agar Agar ayant différentes géométries.

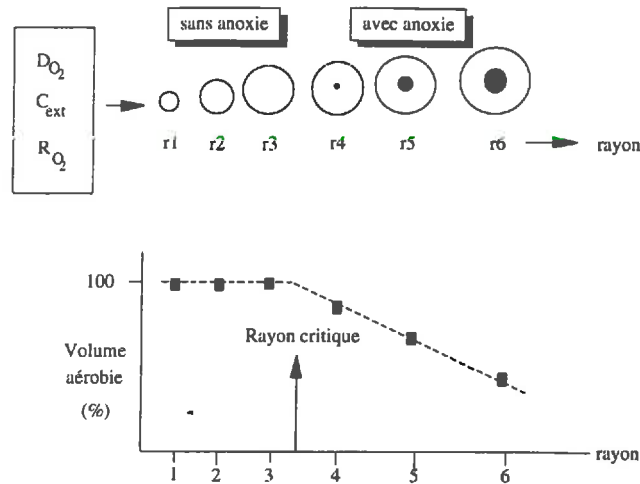


Figure 1.3: Concept de rayon critique et l'effet de la diffusion de l' O_2 (D_{O_2}), de la concentration extérieure (C_{ext}), de la respiration (R_{O_2}) et du rayon de l'agrégat, sur le volume de la région anoxique.

D'autres auteurs ont considéré des géométries différentes de la sphère pour modéliser le transfert d' O_2 à l'échelle de l'agrégat: McConnaughey et Bouldin (1985a) ont considéré un agrégat parallélépipédique, Leffelaar (1986, 1988) et Leffelaar et Wessel (1988) un agrégat cylindrique. Un modèle en trois dimensions a été proposé par Renault et Stengel (1994) pour estimer le transfert d' O_2 et l'anoxie au sein des agrégats ayant différentes tailles et formes géométriques. Ils ont démontré que, pour des agrégats isolés, l'utilisation du rapport "Surface/Volume" des agrégats rend possible l'application du modèle de Currie (1961) et de Greenwood et Berry (1962) quelque soit la géométrie de l'agrégat (Fig. 1.4). Ces mêmes auteurs ont proposé par ailleurs des modifications pour l'estimation de l'anoxie des agrégats quand une partie de leur surface externe est bloquée pour l'entrée de l' O_2 (p.e. contact entre agrégats, occlusion par de l'eau). Ce dernier facteur a aussi été considéré par Leffelaar (1979) par l'intermédiaire d'une modification empirique du coefficient de diffusion.

Le modèle proposé par Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962) a été utilisé ultérieurement par plusieurs chercheurs (notamment, Leffelaar, 1979; Smith, 1980; Myrold et Tiedje, 1985; Arah et Smith, 1989; Refsgaard et al., 1991; Renault et Stengel, 1994). Dans la plupart de ces travaux, la formulation initiale du modèle est restée sans modification. Certaines de ses hypothèses ont été discutées:

- l'homogénéité spatiale du coefficient de diffusion et de la consommation d' O_2 au sein de l'agrégat;

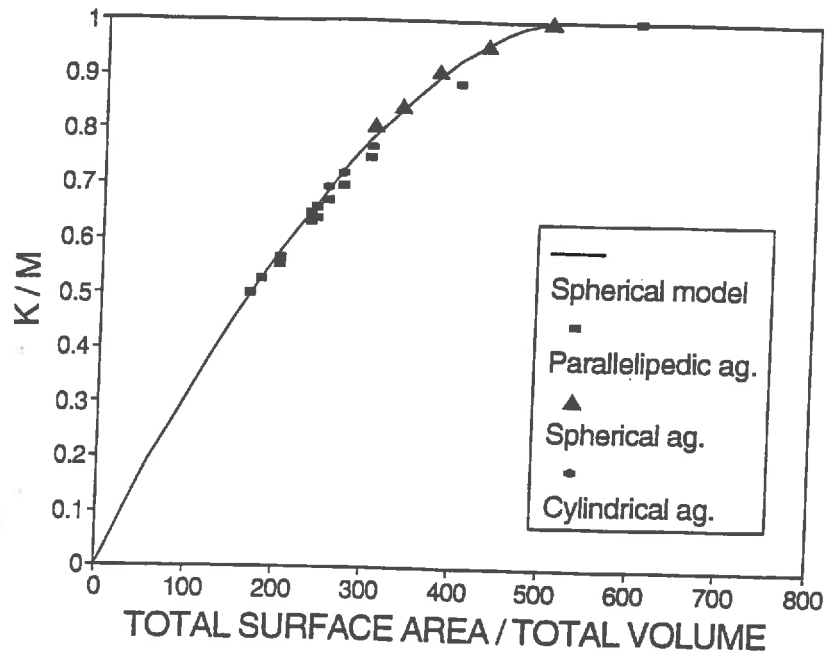


Figure 1.4: Volume aérobie en fonction du rapport Surface/Volume de l'agrégat. K/M représente le rapport entre la respiration de l'agrégat et la respiration sans limitation d' O_2 ($K/M=1$ est équivalent à 100% de volume aérobie). La ligne continue correspond au modèle de Greenwood et Berry (1962) (d'après Renault et Stengel, 1994).

- l'indépendance de la respiration à la concentration en O_2 tant que cette dernière n'est pas nulle.

Néanmoins, l'absence de données expérimentales n'a pas permis de tester ces hypothèses. La description de la respiration est basée sur la loi de Michaelis - Menten (Greenwood et Berry, 1962; Molz et al., 1986; Grant, 1991):

$$R_{O_2} = R_{max} \left(\frac{C_{O_2}}{C_{O_2} + K_{mO_2}} \right) \quad [3]$$

où R_{O_2} est la respiration ou la consommation d' O_2 [$\text{mol m}^{-3}\text{s}^{-1}$], R_{max} la respiration maximale [$\text{mol m}^{-3}\text{s}^{-1}$], C_{O_2} la concentration en O_2 [mol m^{-3}] et K_{mO_2} la constante de Michaelis pour la consommation d' O_2 [mol m^{-3}]. Cette dernière décrit l'affinité substrat - enzyme; elle est d'autant plus petite que l'affinité de l'enzyme pour le substrat est grande. Le modèle de Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962) considère que K_{mO_2} est négligeable. Greenwood (1961) montre d'ailleurs que la valeur minimale critique en deçà de laquelle il n'y a plus consommation

d'O₂ est de l'ordre de 0.001% d'O₂. Avec ces valeurs, la respiration est approchée par une fonction de type échelle (Fig. 1.5).

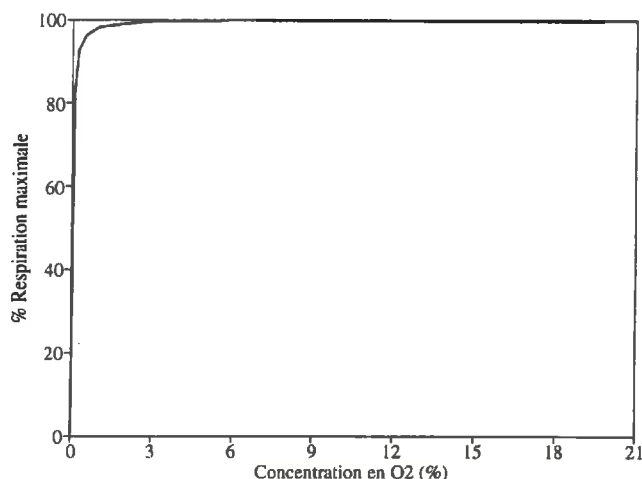


Figure 1.5: Fonction de respiration d'après la loi de Michaelis - Menten avec un K_{mO_2} de 0.02% d'O₂ (Grant, 1991).

L'hypothèse de valeurs uniques de K_{mO_2} et de concentration critique est discutée par Currie (1961) qui suggère que ces valeurs peuvent changer selon le métabolisme, la population bactérienne et les interactions entre l'O₂ et le CO₂.

Dans leur modèle, Leffelaar (1986, 1988) et Leffelaar et Wessel (1988) ont tenu compte de la croissance bactérienne qu'ils supposent dépendre de la quantité de substrats disponibles. L'influence sur la vitesse de la croissance de la concentration des substrats est décrite par la loi de Monod (Martin, 1978) avec deux facteurs limitants: le carbone et l'O₂. Les auteurs supposent deux populations de bactéries, les aérobies strictes et les dénitrifiantes (aérobies facultatives). Dans la région aérobie, la compétitivité entre les deux populations est considérée comme dépendante de l'affinité de chacune des populations pour l'O₂ et le carbone. Plus réaliste, ce modèle a comme limite actuelle les nombreuses hypothèses et suppositions faites, certaines plus ou moins arbitraires mais nécessaires pour palier l'absence d'informations expérimentales. Il représente un essai de prise compte des interactions entre le milieu physique et le milieu biologique.

b- Niveau du profil cultural

Les travaux sur le transfert d'O₂ à l'échelle du profil du sol, peuvent être classés selon les hypothèses faites sur le milieu physique où a lieu le transfert. Plusieurs chercheurs ont supposé un milieu homogène vis-à-vis du transport d'O₂ et de la respiration (Van Bavel, 1951, 1952; Papendick et Runkles, 1965, 1966; Wood et Greenwood, 1971; Skopp, 1985; Ouyang et Boersma, 1992a,b). C'est dans les travaux les plus récents qu'on suppose explicitement un milieu hétérogène pour la modélisation du transfert d'O₂. Dans ce cas, le sol est considéré comme un milieu agrégé (Leffelaar, 1979; Smith, 1980; Arah, 1988; Arah et Smith, 1989; Renault et Sierra, 1994) ou non agrégé (Arah, 1988; Refsgaard et al., 1991). Le modèle proposé par Grant (1991) représente un cas intermédiaire: il considère un milieu hétérogène pour la diffusion, mais implicitement homogène vis-à-vis de la respiration.

Si le sol est supposé homogène, le transport de gaz peut être caractérisé par un coefficient de diffusion unique. Ce coefficient est fonction de la teneur en eau (Ouyang et Boersma, 1992a). En revanche, l'hypothèse d'un milieu agrégé oblige à caractériser les espaces poreux intra-agrégats et inter-agrégats par des coefficients de diffusion différents. De plus, l'activité biologique n'est pas considérée spatialement homogène mais prenant place à l'intérieur des agrégats.

Quand la structure agrégée est supposée, la description du transfert d'O₂ au sein des agrégats est généralement réalisée en considérant la formulation de Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962). Dans les cas de milieux non agrégés, Arah (1988) et Refsgaard et al. (1991) ont défini l'agrégat comme un sous-volume de sol saturé en eau dont la dimension est établie par la distance entre pores libres à l'air (Fig. 1.6), sa taille variant alors avec la teneur en eau.

Pour tenir compte de la variabilité de la respiration entre les agrégats, Arah et Smith (1989) ont utilisé une fonction lognormale pour décrire la distribution de la respiration maximale des agrégats. Cette approche peut être utile afin d'appréhender la variabilité spatiale de l'anoxie. Néanmoins, il n'y pas d'analyse permettant de cerner l'effet de la variabilité de la respiration sur l'anoxie dans leur travail.

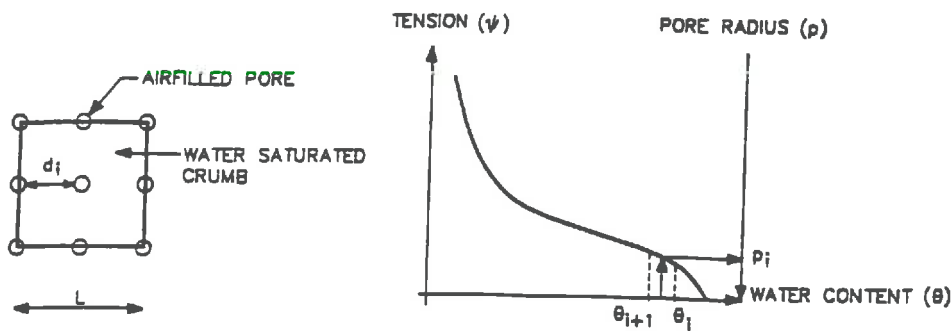


Figure 1.6: Schéma représentant un agrégat défini par la distance entre pores libres à l'air (d'après Refsgaard et al., 1991).

Leffelaar (1979) et Renault et Sierra (1994) ont considéré qu'une partie de la surface des agrégats peut être isolante vis-à-vis du transfert d' O_2 . Ce blocage est dû, d'une part, à la présence d'eau dans l'espace poral inter-agrégats (Leffelaar, 1979; Renault et Sierra, 1994) et, d'autre part, aux contacts entre les agrégats (Renault et Sierra, 1994). Ces derniers ont montré que l'estimation de la distribution de l' O_2 et de l'anoxie en profondeur varie fortement en fonction du blocage de la surface des agrégats (Fig. 1.7). Ils ont conclu que ce facteur ne peut pas être négligé dans la modélisation du transfert d' O_2 au niveau du profil du sol.

1.3 Approche expérimentale de l'anoxie

1.3.1 Mesures d'oxygène et de l'anoxie dans les sols

L'existence de sites anoxiques dans les sols non saturés a été mise en évidence indirectement par plusieurs chercheurs mesurant la production d'éthylène, un produit typique de l'anaérobiose (p.e. Dowdell et al., 1972; Smith et Dowdell, 1974). Ces derniers se basent sur le modèle de Currie (1961), sur la présence de régions anoxiques à l'intérieur des agrégats, pour expliquer leurs observations. Ils montrent que, même si la concentration d' O_2 reste élevée dans l'ensemble du sol, il peut exister une forte production d'éthylène. Dans un travail visant à étudier l'effet de l'aération du sol sur la dénitrification, Focht (1974) a utilisé la même théorie

pour interpréter des résultats apparemment contradictoires obtenus par plusieurs auteurs et concernant la valeur de la concentration d' O_2 à partir de laquelle la dénitrification apparaît. Il en a conclu que la concentration d' O_2 mesurée par échantillonnage de l'air du sol n'a pas de valeur prédictive par rapport à la dénitrification.

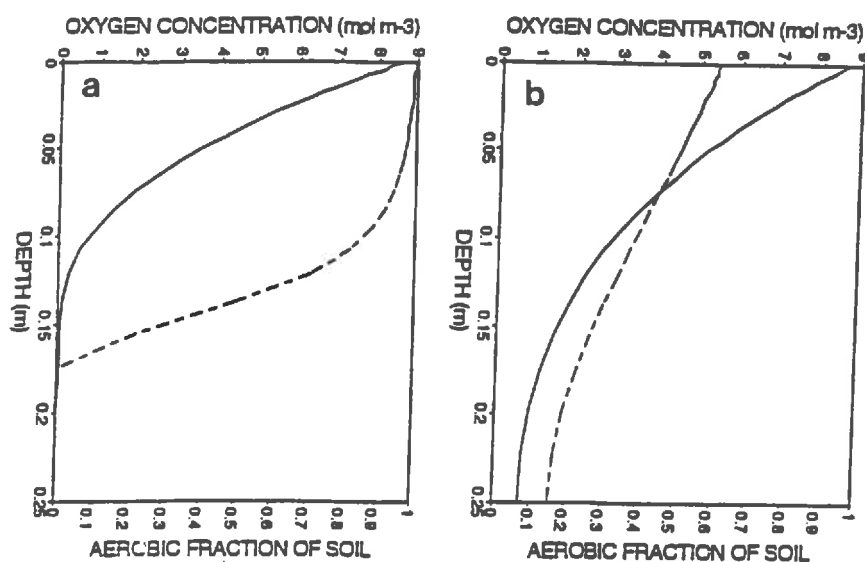


Figure 1.7: Effet du blocage d'une partie de la surface des agrégats sur la concentration en O_2 (—) et l'anoxie (---) au niveau du profil cultural: a- blocage ignoré, b- avec blocage dû au contact entre les agrégats et à la présence d'eau entre eux (d'après Renault et Sierra, 1994).

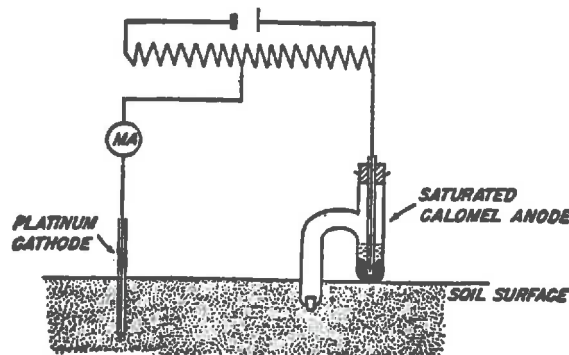
Plusieurs auteurs ont réalisé des mesures directes d' O_2 dans les sols en utilisant des électrodes de platine. Un premier type d'électrode a été proposé par Lemon et Erickson (1952, 1955) (Fig. 1.8). Ces électrodes ne mesurent pas une concentration en O_2 mais un flux d' O_2 entre la cathode et le sol à son voisinage. Cette valeur ("oxygen diffusion rate" ou ODR) peut être considérée comme un indice indirect de l'état d'aération du sol. Le principe de fonctionnement est basé sur la réduction de l' O_2 à la surface de la cathode en présence d'une différence de voltage entre celle-ci et une anode. Le courant électrique entre ces électrodes est proportionnel à la quantité d' O_2 réduit à la surface de la cathode et donc au flux de ce gaz

entre le milieu entourant la cathode et celle-ci. Le calcul du flux d'O₂ est basé sur la loi de Fick (Eq. [1]):

$$i = n \times F \times A \times \phi_{O_2} \quad [4]$$

où i est l'intensité du courant électrique mesurée [micro-ampère], n le nombre d'électrons utilisée pour réduire une molécule d'O₂ ($n=4$), F la constante de Faraday (96500 coulombs), A la surface de la cathode [m²] et ϕ_{O_2} est le flux d'O₂ défini par l'Equation [1]. La mesure de i est utilisée pour calculer ϕ_{O_2} à partir de la connaissance du reste de paramètres de l'Equation [4].

Nous signalons qu'il ne s'agit pas d'une estimation de la concentration d'O₂ car le coefficient de diffusion de l'O₂ au voisinage de la cathode est inconnu et il peut varier spatialement.



*Figure 1.8: Electrode de platine proposé par Lemon et Erickson (1955)
(d'après Lemon et Erickson, 1955).*

Le problème principal de ce type d'électrode est que la mesure dépend de la teneur en eau du sol (Lemon et Erickson, 1955; McIntyre, 1966). En effet, pour ce type d'électrode l'O₂ est véhiculé par la solution du sol et, d'après l'Equation [4], le calcul du flux suppose la connaissance de la surface de la cathode. Il est donc nécessaire que la totalité de cette surface participe de la réduction de l'O₂, donc qu'elle soit en contact avec la solution du sol. Si

l'humidité du sol implique qu'une partie de la cathode n'est pas couverte par l'eau, la surface active devient inconnue et le calcul du flux biaisé.

Malgré ses limitations, cette électrode a été utilisée par plusieurs auteurs afin d'analyser la relation entre le flux d' O_2 et la teneur ou le potentiel de l'eau, la porosité libre à l'air, etc. (notamment, Kristensen et Lemon, 1964; Kristensen, 1966; Phene et al., 1976; Wilson et al., 1985). Flühler et al. (1976) ont réalisé une synthèse des limitations des différents types de mesure de l' O_2 , notamment celles liées à la structure et la teneur en eau du sol. La Figure 1.9 donne un schéma proposé par ces auteurs pour mettre en évidence la relation entre le type de mesure, le volume du sol considéré et l'hétérogénéité du sol. Ce schéma montre les problèmes d'interprétation des résultats qui peuvent exister en fonction de la nature de la mesure et du site où elle est réalisée.

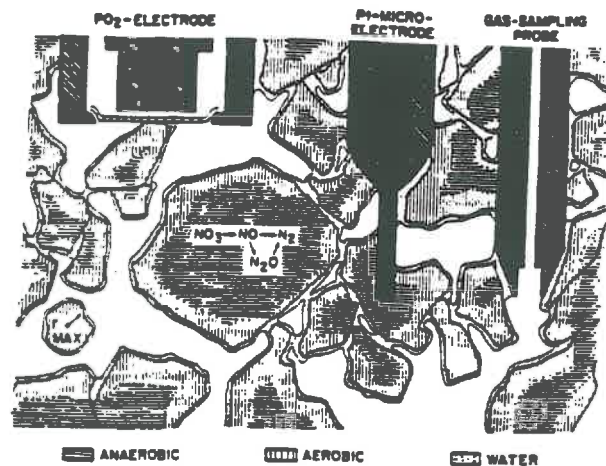


Figure 1.9: Schéma d'un sol agrégé avec différents dispositifs de mesure de l' O_2 (d'après Flühler et al., 1976).

Greenwood et Goodman (1967) ont été les premiers à obtenir des profils d' O_2 au sein des agrégats. Ils ont utilisé des microélectrodes à O_2 aptes à mesurer des concentrations d' O_2 tout en évitant les problèmes cités ci-dessus. Dans ce cas, la cathode et l'anode sont placées dans un milieu confiné lié à l'extérieur par l'intermédiaire d'une membrane perméable à l' O_2 . Ce dispositif permet au signal d'être indépendant des hétérogénéités du sol et de sa teneur en eau.

Les auteurs ont néanmoins suggéré que la largeur de la pointe de l'électrode (environ 0.5 mm) a pu provoquer le tassement des particules du sol et fausser les résultats.

Sexstone et al. (1985) utilisant les microélectrodes décrites par Revsbech et Ward (1983), ont réussi à obtenir des mesures fiables des concentrations et du coefficient de diffusion de l'O₂ dans des agrégats naturels. Le fonctionnement de ces électrodes est similaire à celui décrit ci-dessus mais, la pointe de la microélectrode étant d'environ 20 µm, un minimum de perturbation et de consommation d'O₂ peut être espéré. Ceci a été vérifié par les auteurs par l'obtention de profils d'O₂ identiques en descendant et en montant la microélectrode entre la surface et le centre des agrégats. Quelques profils obtenus dans ce travail sont montrés en Figure 1.10. Dans plusieurs agrégats, on peut observer la présence d'une région en état d'anoxie. Les auteurs ont mesuré simultanément la dénitrification individuelle de quelques agrégats, ils n'ont pas trouvé de corrélation entre la vitesse de dénitrification et le volume de la région anaérobie. Ce travail conduit à trois conclusions importantes:

- il est possible d'obtenir des mesures fiables des concentrations d'O₂ en utilisant les microélectrodes décrites par Revsbech et Ward (1983);
- il n'existe pas de relation directe et simple entre l'anoxie et la dénitrification. D'autres facteurs peuvent limiter le processus;
- dans un agrégat naturel, la présence de fissures peut provoquer une grande variabilité de la distribution de l'O₂ ayant des conséquences sur l'anoxie.

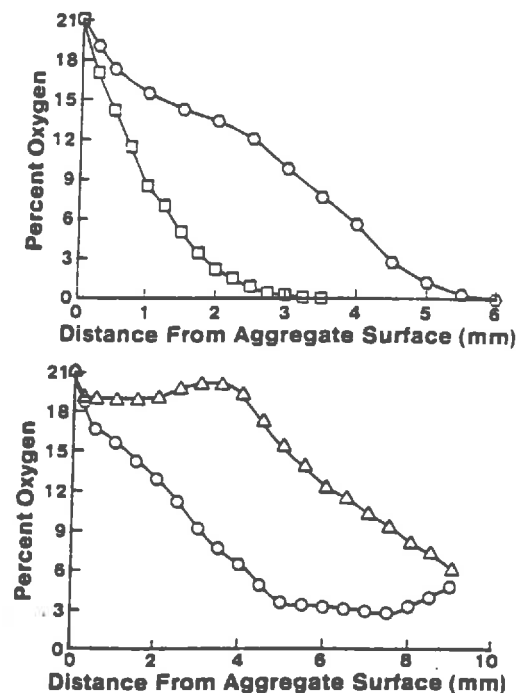
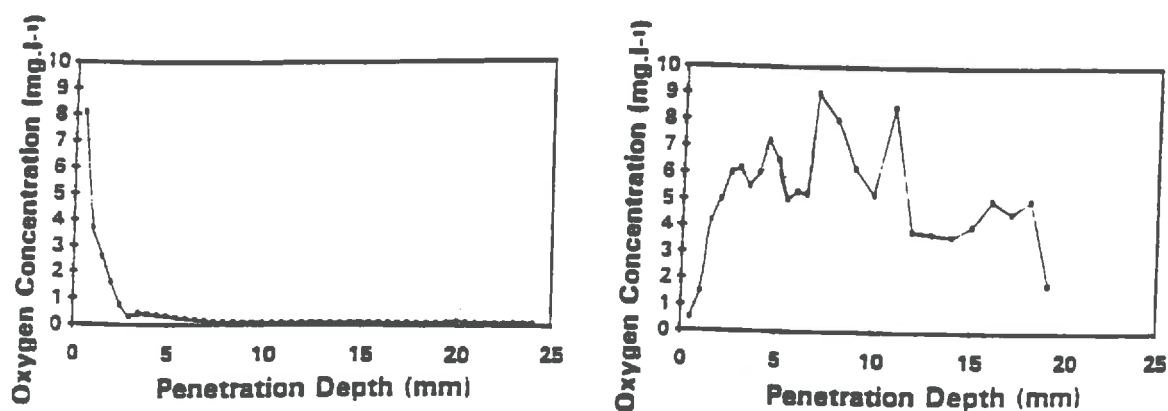


Figure 1.10: Profils d'O₂ au sein d'agrégats de différente taille (d'après Sexstone et al., 1985).

Dans le même travail, Sexstone et al. (1985) ont comparé le rayon de la région anoxique mesurée sur ses agrégats avec celui calculé en utilisant le modèle de Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962). Pour ce faire, ils ont utilisé le coefficient de diffusion et la respiration mesurée expérimentalement. Ils ont trouvé un très bon accord entre le rayon anoxique mesuré et celui estimé ($r^2 = 0.946$, nombre d'observations = 5). Cette comparaison ne serait a priori pas valable du fait d'une erreur apparente sur l'estimation du rayon critique. En effet, d'après l'Equation [2], c'est la respiration mesurée sans limitation due au manque d' O_2 qu'il faut considérer dans le calcul (Smith, 1980). Il apparaît que, dans leur estimation, Sexstone et al. (1985) ont utilisé la respiration mesurée sur des agrégats présentant de l'anoxie. Dans cette situation, la consommation d' O_2 est réduite proportionnellement au volume de l'agrégat que ne respire pas.

Afin d'analyser l'influence des hétérogénéités physiques sur la distribution de l' O_2 dans des sols argileux, Bakker et Bronswijk (1993) ont mesuré des profils d' O_2 à l'intérieur d'échantillons de sol conservant leur structure naturelle. Les microélectrodes utilisées ont la cathode placée dans un milieu confiné lié à l'extérieur mais séparé de l'anode. Elles sont donc aptes à réaliser des mesures des concentrations d' O_2 seulement dans un milieu proche de la saturation en eau. En effet, le courant électrique étant véhiculé par la solution du sol, elle est interrompue quand la cathode est située dans un macropore ou une fissure vide. La Figure 1.11 présente quelques profils obtenus dans ce travail. On peut constater clairement la variabilité que peut présenter la concentration d' O_2 dans un espace de quelques millimètres, en fonction de la structure du sol. Le même type d'électrode a été utilisé par Zausig et al. (1993) afin de mesurer la distribution d' O_2 au sein des agrégats de sol remanié.



*Figure 1.11: Profils d' O_2 dans des échantillons d'un sol argileux
(d'après Bakker et Bronswijk, 1993).*

Les difficultés que présente la mesure de la concentration en O_2 dans les sols est partiellement responsable du peu de travaux visant à tester les modèles de transfert de ce gaz dans le sol. Un essai de vérification de leur modèle a été réalisé par Greenwood et Berry (1962) au niveau de l'agrégat. Le test est basé sur la respiration d'agrégats naturels et d'agrégats artificiels fabriqués en Agar Agar. Ils ont trouvé un bon accord entre leur modèle et les résultats expérimentaux pour les concentrations en O_2 les plus faibles. En revanche, il y a des écarts assez importants pour les teneurs en O_2 les plus grandes. Les auteurs ne donnent pas la valeur de respiration maximale prise en compte lors du test ni la méthode utilisée pour son estimation ou sa mesure. Alors il n'est pas possible de donner une gamme de concentrations en O_2 pour laquelle le modèle semble bien ajuster les données de l'expérimentation. On démontrera dans cette thèse que pour les concentrations en O_2 les plus faibles la respiration des agrégats ne permet pas d'établir des conclusions définitives sur la validité du modèle. Ceci montre que le choix des expériences de validation est un point crucial pour tester un modèle.

1.3.2 Notion de "hot-spots"

Les travaux que nous discuterons ici ne constituent pas une analyse directe de l'anoxie mais de la dénitrification associée à la localisation spatiale de celle-là.

Dans une étude visant à cerner la variabilité spatiale de la dénitrification, Parkin (1987) avait observé qu'une petite fraction représentant 0.08% de la masse totale d'un bloc de sol était responsable de 85% de la dénitrification mesurée sur ce bloc (Fig. 1.12). En fait, ce fragment était un petit morceau d'une feuille en décomposition. L'auteur a constaté le même phénomène sur quatre échantillons différents et propose le terme "hot-spots" pour identifier ces sites où la dénitrification était de plusieurs ordres de grandeur supérieure à celle du reste du sol.

Les "hot-spots" détectés dans le travail de Parkin (1987), présentaient aussi une production de CO_2 très grande, l'auteur a suggéré que la forte vitesse de dénitrification de ces sites était liée au développement local des conditions d'anoxie du fait d'une grande consommation d' O_2 . Sur la base de ces résultats, Parkin (1987) a calculé qu'une pellicule d'eau comprise entre 16 à 160 μm d'épaisseur recouvrant le "hot-spot", suffisait pour limiter la diffusion d' O_2 et créer des conditions d'anaérobiose à sa surface.

Le concept de "hot-spots" a été ultérieurement utilisé par plusieurs chercheurs afin d'expliquer la grande variabilité spatiale et temporelle de la dénitrification in-situ (Parkin et al., 1987; Christensen et al., 1990a, b). Christensen et al. (1990b) dans un essai de reproduction artificielle de "hot-spots", ont utilisé l'injection localisée d'une solution de matières organiques (en fait, cellules mortes de *Escherichia coli*) dans un sol conservant sa structure naturelle. Ils ont observé que la réponse de la respiration du sol à l'apport de matière organique, précédait

de 5 jours celle de la dénitrification. Les auteurs en ont conclu que cette période correspondait au temps nécessaire au développement de l'anoxie autour de la zone d'injection. Une étude similaire a été réalisée par Rice et al. (1988). La Figure 1.13 montre un schéma proposé par ces auteurs pour mettre en évidence la relation entre la respiration, l'anoxie et la dénitrification associées à l'existence de "hot-spots".

Le développement de l'anoxie, du fait de la présence de "hot-spots", peut être un processus simultané à la formation d'une zone anaérobie dans la région centrale des agrégats, ce dernier phénomène étant décrit par les modèles discutés ci-dessus. On remarque que l'existence de "hot-spots" contredit l'hypothèse d'homogénéité de l'activité respiratoire incluse dans les modèles décrits précédemment.

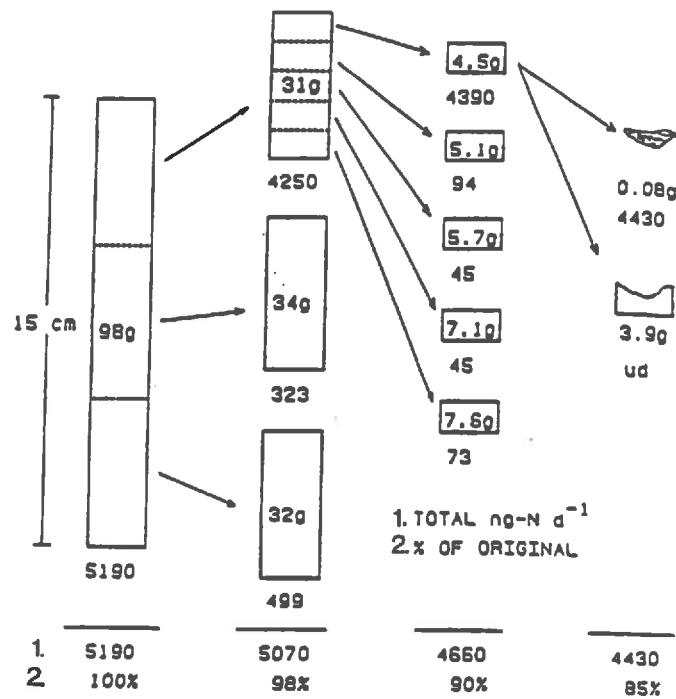


Figure 1.12: Schéma du protocole expérimental utilisé par Parkin (1987) afin d'identifier un "hot-spot" (d'après Parkin, 1987).

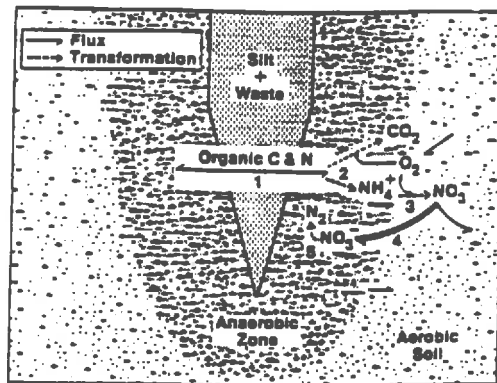


Figure 1.13: Modèle de fonctionnement d'un site du sol à grande activité dénitrifiante (d'après Rice et al., 1988).

1.4 Quelques aspects d'écologie microbienne dans les sols

Les sujets que nous présentons ici concernent quelques processus microbiens qui peuvent être reliés à l'hypothèse d'homogénéité biologique et à la description du mécanisme de consommation d'O₂ considérées par les modèles décrits ci-dessus. Ces processus sont: *i*- l'effet du CO₂ sur la respiration et, *ii*- la distribution de l'activité biologique au sein des agrégats.

1.4.1 Effet du dioxyde de carbone sur l'activité biologique du sol

Le CO₂ est un facteur stimulant pour les organismes qui utilisent ce gaz comme source carbonée (autotrophes). A cette famille d'organismes appartiennent les algues et des bactéries comme les nitrifiants et celles liées aux oxydations des composés du soufre et du fer (Alexander, 1961). Le seuil de concentration pour la manifestation de cet effet étant de l'ordre de 3-4% (Dommergues et Mangenot, 1970). Le CO₂ peut aussi agir comme inhibiteur de la croissance des microbes du sol mais les mécanismes de l'inhibition ne sont pas encore bien connus. Une partie de cet effet pourrait peut-être être attribuée à la diminution du pH du fait de la physico-chimie de ce gaz en solution (Verdier, 1975; Gill et Tan, 1979). Néanmoins, des expériences réalisées in-vitro à pH constant et optimum pour la croissance des bactéries, montrent qu'il y a aussi un effet direct du CO₂ (Gill et Tan, 1979; Enfors et Molin, 1980).

Deux mécanismes ont été proposés pour expliquer l'inhibition: *i*- l'inhibition est réalisée au niveau du système de décarboxylation, *ii*- le CO₂ peut affecter la perméabilité de la membrane cellulaire (Enfors et Molin, 1980).

Dommergues et Mangenot (1970) ont analysé en particulier la situation des champignons du sol. Ils montrent que l'inhibition peut se manifester à partir de concentrations faibles de CO₂, mais que la sensibilité varie fortement entre les différentes espèces (Fig. 1.14). Cette variabilité est responsable des différents habitats que les champignons peuvent occuper dans le sol en réponse à la variation des concentrations de CO₂.

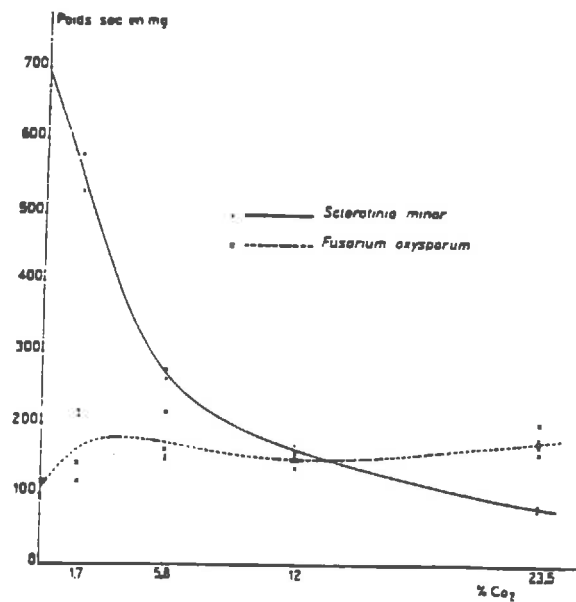


Figure 1.14: Influence de la teneur en CO₂ sur la croissance de deux champignons ayant une sensibilité différente à ce gaz (d'après Dommergues et Mangenot, 1970).

Macfadyen (1973) a étudié l'effet inhibiteur du CO₂ sur la respiration de plusieurs sols. Pour un sol, il a observé que la respiration avait été totalement inhibée à une concentration de 1.7% de CO₂. Pour les autres sols étudiés, il a trouvé une sensibilité différente, mais la plupart d'entre eux avaient cessé de respirer à 9% de CO₂. L'auteur met en évidence aussi la réversibilité de l'effet d'inhibition sur la respiration des sols utilisés.

Des travaux montrent que le CO₂ peut affecter la croissance et également la respiration de bactéries utilisées industriellement ou affectant la conservation de fruits (Gill et Tan, 1979; Enfors et Molin, 1980; Lee et al., 1991).

Gill et Tan (1979) ont montré in-vitro que la respiration et la croissance de *Pseudomonas fluorescens* avaient été stimulées par des concentrations de CO₂ plus petites que 10%, et inhibée au-dessus de cette valeur. Ces résultats sont intéressants car *Pseudomonas fluorescens* est une des bactéries dénitrifiantes bien représentée dans la plupart des sols (Tiedje, 1988) et parce que la gamme des teneurs en CO₂ qui stimule l'activité de cette bactérie correspond aux concentrations que l'on peut trouver dans ces sols. Nous remarquons que *Pseudomonas fluorescens* n'est pas une bactérie autotrophe, mais les auteurs ne donnent pas une explication à la stimulation observée.

Dans le même travail, Gill et Tan (1979) montrent que la croissance est fortement inhibée à de fortes concentrations de CO₂, alors que la respiration y est insensible. Ces résultats semblent montrer que l'effet sur la croissance peut être indépendant de la respiration dans certains cas. Néanmoins, les auteurs ont observé que le changement du milieu de culture peut entraîner aussi l'inhibition de la respiration par le CO₂, la raison en étant inconnue.

Enfors et Molin (1980) ont démontré que le CO₂ peut inhiber non seulement la croissance des bactéries aérobies mais aussi celle des bactéries anaérobies. Ces auteurs mettent en évidence l'irréversibilité de l'effet du CO₂ quand les bactéries sont soumises à de fortes teneurs en ce gaz.

Comme les mécanismes de l'effet du CO₂ ne sont pas bien connus, nous n'avons pas trouvé dans la littérature de modèles d'inhibition adaptés aux sols. Lee et al. (1991) ont utilisé l'équation de Michaelis - Menten avec une inhibition de type non-compétitif ("uncompetitive inhibition") pour décrire l'inhibition de la respiration de plusieurs fruits et légumes par le CO₂. Cependant l'extrapolation de ce modèle à d'autres situations n'est probablement pas générale car il est bien possible que le mécanisme d'inhibition soit fonction du système biologique analysé (Enfors et Molin, 1980).

1.4.2 Distribution de l'activité biologique dans les agrégats

Nous nous limitons à citer quelques travaux pouvant donner des indices sur la répartition des organismes au sein des agrégats.

Jones et Griffiths (1964) (cité par Dommergues et Mangenot, 1970) ont établi quelques cartes de distribution des colonies microbiennes au sein d'agrégats de 1 mm de rayon. Dans un des sols étudiés, ils ont observé une distribution uniforme de la population microbienne dans les agrégats. Inversement, dans un autre sol, cette distribution était décroissante de la périphérie vers l'intérieur des agrégats.

La présence d'une répartition inégale de la microflore au sein des agrégats a été aussi démontré par Hattori (1973). Basé sur ce travail, Kilbertus (1980) a réalisé à l'aide de la

microscopie électronique, une étude très approfondie sur la distribution des microbes au sein des agrégats, sur la taille des organismes et sur la dimension des pores colonisés. L'auteur montre que la réponse des microbes au milieu physique et chimique du sol entraîne une **distribution des espèces au sein des agrégats**. Sur la base de ses observations, il fait une distinction entre les organismes colonisant la région périphérique (aérobies, bactéries ayant des formes de résistance, actinomycètes) et la région interne de l'agrégat (anaérobies, bactéries Gram-). La question est alors de savoir comment une distribution hétérogène des espèces microbiennes au sein des agrégats, peut se traduire par une distribution de leur activité (p.e. la consommation d'O₂).

Dans un travail visant à modéliser la diffusion du carbone soluble dans un agrégat, Priesack et Kisser-Priesack (1993) ont mesuré l'ATP comme indice de l'activité biologique dans des agrégats artificiels préparés à partir de sol remanié. La Figure 1.14 montre le profil d'ATP obtenu au début de l'expérience et 24 heures après avoir plongé les agrégats dans une solution de glucose. Alors que la distribution de l'activité biologique après 24 heures d'expérience peut s'expliquer par le gradient de concentration du carbone soluble au sein des agrégats, la présence du gradient initial est surprenante car il s'agit d'agrégats a priori homogènes. Les auteurs suggèrent que ce gradient initial d'activité microbienne peut se développer pendant la période comprise entre la préparation des agrégats et le début de l'expérience, comme une réponse au gradient de concentration d'O₂ au sein des agrégats.

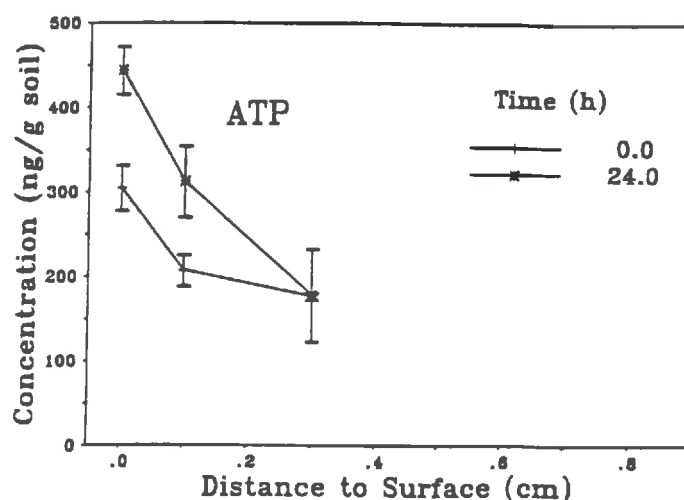


Figure 1.15: Distribution d'ATP au sein d'un agrégat de sol remanié (d'après Priesack et Kisser-Priesack, 1993).

1.5 Conclusions du Chapitre 1

Dans la dernière décennie, la théorie et la modélisation du transfert d'O₂ dans les sols ont évolué plus rapidement que les moyens expérimentaux destinés à les vérifier. Par ailleurs, l'interprétation des résultats des expérimentations s'avère souvent difficile en raison de l'hétérogénéité du sol qui provoque une forte variabilité des mesures. Actuellement aucun des modèles proposés, soit au niveau de l'agrégat soit au niveau du profil du sol, n'a été rigoureusement vérifié.

La formulation proposée par Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962) pour décrire le transfert gazeux à l'échelle de l'agrégat, continue d'être utilisée par la plupart des modélisateurs. Face à l'information actuellement disponible, il semble que les hypothèses incluses dans ce modèle, sur l'homogénéité physique et biologique du milieu et sur la description de la consommation d'O₂, sont trop simplificatrices. L'inhibition de la respiration par le CO₂ et l'hétérogénéité de l'activité biologique au sein des agrégats ont été déjà mises en évidence expérimentalement, mais l'absence de quantification rend difficile leur incorporation dans les modèles.

La microélectrode décrite par Revsbech et Ward (1983) et adaptée par Sexstone et al. (1985) à des conditions de mesure dans le sol, s'est révélée être un outil efficace pour l'expérimentation au niveau de l'agrégat. Son utilisation pourrait donc aider à une meilleure compréhension des caractéristiques du transfert d'O₂ et de la distribution de l'anoxie au sein des agrégats.

CHAPITRE 2

Simulation des transferts d'oxygène et de dioxyde de carbone dans les agrégats.

Comparaison de différents modèles et analyse de sensibilité

2.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons les équations fondamentales modélisant les transferts gazeux au sein des agrégats et quelques simulations faites à partir des modèles qui en découlent.

Ce chapitre a deux objectifs principaux:

- d'une part, la comparaison de différentes variantes du modèle de base, afin d'appréhender leurs conséquences respectives sur l'anoxie et sur quelques variables que nous utiliserons dans ce travail (respiration des agrégats et profil d'O₂);
- d'autre part, l'appréhension de l'importance relative des paramètres inclus dans ces modèles pour connaître la précision nécessaire pour leur estimation expérimentale.

Ce chapitre comporte trois parties. Dans la première partie, nous présentons quelques rappels sur la modélisation des transferts gazeux au sein des agrégats, sur les mécanismes qui en sont responsables et sur les hypothèses incluses dans ces modèles. Cette partie est complétée par les Annexes 1 et 2. L'Annexe 1 décrit l'ensemble des équations associées au transfert gazeux. Dans l'Annexe 2, nous montrons quelques résultats théoriques sur les

équilibres physico-chimiques du CO₂ et l'analyse réalisée afin de tenir compte de ce phénomène dans le modèle de transfert.

La comparaison des modèles de transfert est donnée dans la deuxième partie. Pour simplifier la présentation, nous avons choisi seulement trois variantes du modèle décrivant différemment la respiration microbienne.

Dans la troisième partie, nous analysons l'effet des paramètres du modèle de transfert sur les caractéristiques de la respiration globale des agrégats et sur le volume de la région anoxique.

2.2 Modélisation

2.2.1 Cadre de la présentation

Dans cette partie, nous présentons premièrement les équations décrivant les transferts gazeux au sein des agrégats et celles correspondant aux autres processus impliqués dans l'anoxie. Les équations décrivant l'effet des équilibres physico-chimiques associés au CO₂ sont spécifiques au sol utilisé dans ce travail.

Sur cette base, nous aborderons ensuite les différentes variantes du modèle général que nous avons considéré pour nos simulations et les hypothèses qui y sont associées. Finalement, nous présentons les caractéristiques et les procédures utilisées pour les simulations.

2.2.2 Equations du modèle

a- Equation de conservation de la masse

Pour des agrégats sphériques de rayon r_{ag} , présentant éventuellement des hétérogénéités fonction de la position radiale dans l'agrégat, l'équation générale de conservation de la masse est:

$$\varepsilon(r)\left(\frac{\partial C}{\partial t}\right) = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left[D(r)r^2 \left(\frac{\partial C}{\partial r}\right) \right] + M(r) \quad [1]$$

où ε est la porosité du milieu ($\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$), C est la concentration du gaz (mol m^{-3}), t est la date (s), D est le coefficient de diffusion dans l'agrégat ($\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$), r est la distance au centre de l'agrégat (m). M correspond à la fonction qui décrit la consommation ou la production du gaz ($\text{mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$). Dans le cadre de notre travail, nous considérons que M est une fonction biologique qui décrit la respiration (ou consommation d' O_2) et la production du CO_2 . Pour l' O_2 on a:

$$M = -R_{\text{O}_2} \quad [2]$$

et pour le CO_2

$$M = P_{\text{CO}_2} \quad [3]$$

où R_{O_2} est la respiration ou consommation d' O_2 et P_{CO_2} est la production de CO_2 ⁽¹⁾. Dans l'Equation [1], ε , D et M peuvent dépendre de r pour tenir compte d'hétérogénéités liées à la position radiale dans l'agrégat. Ainsi, cette équation n'est-elle pas adaptée à décrire le transfert de l' O_2 et du CO_2 dans des agrégats présentant d'autres types d'hétérogénéités. ε , D et M peuvent a priori varier aussi en fonction du temps. Nous nous intéressons à un fonctionnement instantané du sol et nous admettons que ces variations sont faibles pendant la durée de chacune de nos expérimentations (1 semaine au maximum). Cependant, nous caractériserons ces variations pour des durées plus longues.

Les concentrations gazeuses C telles qu'elles sont exprimées dans l'Equation [1], correspondent aux concentrations d' O_2 et de CO_2 dans les agrégats. Afin de simplifier l'interprétation des résultats et afin de conserver une cohérence par rapport à la partie expérimentale, nous avons préféré exprimer les concentrations de ces composés dans les agrégats comme celles dans l'air à l'équilibre avec les concentrations en leur sein. Pour cela, dans le cas d'agrégats saturés en eau, l'Equation [1] est exprimée de la manière suivante:

$$[\varepsilon(r) \times S] \left(\frac{\partial(C/S)}{\partial t} \right) = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left[[D(r) \times S] r^2 \left(\frac{\partial(C/S)}{\partial r} \right) \right] + M(r) \quad [4]$$

(1) Dans ce manuscrit, respiration et consommation d' O_2 sont considérées comme synonymes.

où S [-] est la solubilité du gaz considéré. Par la suite, C sera toujours exprimée de cette façon. Nous remarquons que la conversion de ces valeurs aux véritables concentrations dans les agrégats implique seulement la prise en compte de la solubilité de chaque gaz.

Le premier terme à droite de l'Equation [4] correspond à la composante physique du modèle de transfert et est de la Loi de Fick. Le deuxième terme correspond à la composante biologique du modèle. Ils font partie des mécanismes de base que nous analyserons dans cette thèse.

A l'équilibre (régime permanent), on a:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = 0 \quad [5]$$

Les conditions aux limites sont les suivantes:

$$C = C_{ext} \quad \text{pour } r = r_{ag} \quad [6.1]$$

$$\frac{\partial C}{\partial r} = 0 \quad \text{pour } r = 0 \quad [6.2]$$

où C_{ext} est la concentration extérieure du gaz.

b- Fonctions puits et source

La dépendance de la respiration à la concentration de l'O₂ est généralement décrite par l'équation de Michaelis - Menten (Greenwood, 1961; Leffelaar, 1988; Grant, 1991). D'une manière plus générale, on peut adjoindre à cette formulation un effet inhibiteur du CO₂. Bien que cette équation soit adaptée à des réactions de type enzymatique, il n'est pas certain que l'effet de l'O₂ et du CO₂ sur l'activité respiratoire puisse être expliqué à ce niveau-là.

Il existe trois types d'inhibitions décrits dans la littérature (Costes, 1978). Leur base biochimique et les équations qui en découlent sont détaillées à l'Annexe 1. En raison des

résultats expérimentaux que nous avons obtenus et afin de simplifier la présente analyse, nous nous limitons ici à l'inhibition dite compétitive. Sa formulation est la suivante:

$$R_{O_2} = R_{max} \left[\frac{C_{O_2}}{C_{O_2} + K_{mO_2} \left(1 + \frac{C_{CO_2}}{K_{iO_2}} \right)} \right] \quad [7]$$

où R_{max} ($\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$) est la consommation maximale d' O_2 et est égale à la respiration quand l' O_2 et le CO_2 ne limitent pas l'activité respiratoire. K_{mO_2} est la constante de Michaelis de la consommation d'oxygène (mol m^{-3}) et K_{iO_2} est la constante d'inhibition de la consommation d' O_2 par le CO_2 (mol m^{-3}). L'Equation [7] décrit l'effet simultané de l' O_2 et du CO_2 sur la consommation d' O_2 par l'intermédiaire de K_{mO_2} et du K_{iO_2} .

Comme pour l' O_2 , la production de CO_2 pourrait être décrite en utilisant la formulation de Michaelis - Menten. Néanmoins, nous avons préféré rendre compte de P_{CO_2} au moyen du Quotient Respiratoire (QR):

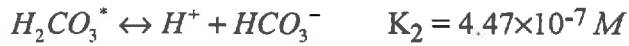
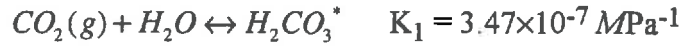
$$QR = - \left(\frac{P_{CO_2}}{R_{O_2}} \right) \quad [8]$$

Cette variable est un paramètre biologique dépendant du substrat énergétique utilisé et du type de métabolisme associé (respiration, fermentation, etc.) (Kader et al., 1989).

c- Equilibres physico - chimiques associés au dioxyde de carbone

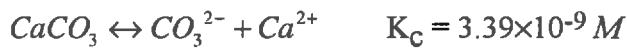
La concentration en CO_2 dans la solution du sol est fortement dépendante des équilibres physico - chimiques qui s'y produisent. Pour des pH inférieurs à 6, la plus grande partie du carbone dissous dans l'eau est sous la forme de $CO_2(\text{aq})$. Au delà de cette valeur la contribution du CO_2 au carbone minéral dissous devient de plus en plus faible par rapport aux autres espèces en solution (bicarbonates et carbonates). Dans le cadre de notre travail, la prise en compte de ces équilibres est nécessaire à l'estimation de la concentration en CO_2 agissant sur l'activité respiratoire du sol.

Le système $CO_2 - H_2O - \text{Bicarbonates} - CaCO_3$ est défini par les équilibres suivants (Bourrié, 1976; Pankow, 1991):



Les valeurs des constantes d'équilibre ont été obtenues à 25°C (Pankow, 1991). $H_2CO_3^*$, égal à la somme $CO_2(aq) + H_2CO_3$, est le terme généralement utilisé afin de signifier le caractère potentiellement acide du CO_2 dissous dans l'eau (Pankow, 1991). $H_2CO_3^*$ est la variable que nous avons adoptée afin de décrire l'effet du CO_2 sur la respiration.

Dans un système où il y a du calcaire, une partie du carbone provient de la dissolution de celui-ci:



Si le pH du milieu est inférieur à 8 environ, le CO_3^{2-} produit de la dissociation du calcaire est aussitôt transformé en bicarbonate.

Pour des solutions à l'équilibre, on peut calculer la répartition des différentes formes du carbone du système en fonction du pH du milieu à partir de ces équations. Dans l'Annexe 2, nous présentons l'analyse que nous avons faite afin de tenir compte de ces équilibres physico-chimiques. De cette analyse découle une équation spécifique aux caractéristiques physico-chimiques du sol utilisé dans notre travail. Cette équation nous permet de calculer la concentration de CO_2 agissant sur la respiration:

$$C_{c-pg}' = aC_{CO_2} + bC_{CO_2}^c \quad [9]$$

avec

$$a = 0.775$$

$$b = 4.436$$

$$c = 0.3754$$

où "a", "b" et "c" sont des constantes empiriques, C_{c-pg}' (mol m⁻³) rend compte du carbone produit par la respiration, ainsi que de la diffusion du CO_2 et des bicarbonates, et C_{CO_2} est la pression partielle du CO_2 dans l'air en équilibre avec $H_2CO_3^*$ (cf. Annexe 2).

2.2.3 Variantes du modèle

Le modèle proposé par Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962), correspond à un cas particulier du modèle présenté précédemment. Ce modèle considère $K_{mO_2} \rightarrow 0$ et $K_{iO_2} \rightarrow \infty$. Dans ce contexte, l'Equation [7] peut être exprimée de la façon suivante:

$$R_{O_2} = 0 \quad \text{pour } C_{O_2} = 0 \quad [10.1]$$

$$R_{O_2} = R_{\max} \quad \text{pour } C_{O_2} > 0 \quad [10.2]$$

Sous ces conditions et pour un agrégat homogène (ϵ , D et M indépendants de r), l'Equation [4] admet une solution analytique en régime permanent. Cette solution (voir Annexe 1) a été utilisée dans la plupart des travaux visant à modéliser l'anoxie au niveau de l'agrégat ou du profil (cf. 1.4.1). Ne considérant pas l'effet du CO_2 sur la respiration, le modèle n'a pas besoin d'inclure la production de ce gaz ni les équilibres physico-chimiques qui lui sont associés. Ce modèle sera dorénavant nommé "modèle initial".

Si l'on considère que $K_{mO_2} > 0$ et/ou que $K_{iO_2} \ll \infty$, l'Equation [4] n'a pas de solution analytique et elle doit être résolue en utilisant une solution numérique. Quand $K_{iO_2} \ll \infty$, on doit tenir compte simultanément de l' O_2 et du CO_2 . Dans ce cas, l'Equation [4] doit être résolue pour les deux gaz. En fonction des caractéristiques physico-chimiques du sol, les équilibres affectant le CO_2 en solution doivent être aussi inclus dans le modèle.

Dans les simulations que nous présenterons ci-dessous, nous avons considéré une variante du modèle du transfert (dorénavant nommé "modèle alternatif") qui considère que $K_{mO_2} > 0$ et que $K_{iO_2} \ll \infty$.

Pour les deux modèles considérés (initial et alternatif), la composante physique est décrite par l'Equation [4].

2.2.4 Hypothèses et paramètres des modèles

a- Hypothèses

Pour les simulations, nous avons conservé les hypothèses d'homogénéité spatiale de l'ensemble des paramètres physiques et biologiques des modèles. En l'absence d'informations expérimentales sur le déterminisme de la production de CO_2 , nous avons considéré deux fonctions pour la décrire dans le cas du modèle alternatif:

- hypothèse 1: la production de CO_2 est égale à la consommation d' O_2 . Elle est donc nulle en condition d'anoxie et le QR est égal à 1 dans la région aérobie;
- hypothèse 2: la production de CO_2 est constante dans l'agrégat, y compris dans la région anoxique. La production maximale de CO_2 (P_{max}) est égale à la consommation maximale d' O_2 (R_{max}).

Ces hypothèses sont schématisées en Figure 2.1.

Sachant que l'activité biologique en anaérobiose possède un rendement énergétique inférieur à l'activité aérobie (Weil, 1987), la deuxième hypothèse surestime probablement la production de CO_2 . Dans la réalité, il semble que la production de CO_2 soit intermédiaire entre les deux hypothèses proposées. Bridge et Rixon (1976) ont observé que le QR est légèrement inférieur à 1 quand la totalité du volume du sol est en état d'aérobiose, mais qu'il prend des valeurs supérieures à 2 quand une fraction du sol devient anoxique, ce qui peut être dû au métabolisme anaérobie. Seech et Beauchamp (1988) ont montré que la production de CO_2 dans des agrégats soumis à des conditions d'anoxie complète, était proche de 50% de celle d'agrégats placés à 21% d' O_2 . Les deux hypothèses considérées ici pour le CO_2 peuvent donc correspondre à des extrêmes de production. Nous n'avons pas considéré la consommation de CO_2 par les micro-organismes hétérotrophes du sol.

Pour les simulations que nous présentons ci-dessous, nous n'avons pas considéré les équilibres physico-chimiques qui se déroulent dans la solution du sol. Nous nous plaçons explicitement dans le cas d'un sol légèrement acide ($\text{pH} \approx 6$) où tout le carbone dissous dans l'eau est sous la forme de H_2CO_3^* (Eq. [10]). Dans cette situation, la concentration de CO_2 est maximale.

Finalement, nous considérons que la réponse de l'activité biologique à des variations des concentrations gazeuses est instantanée: nous supposons qu'il n'existe pas de période d'adaptation à ces changements ou de variations des paramètres biologiques du modèle en réponse aux conditions du milieu.

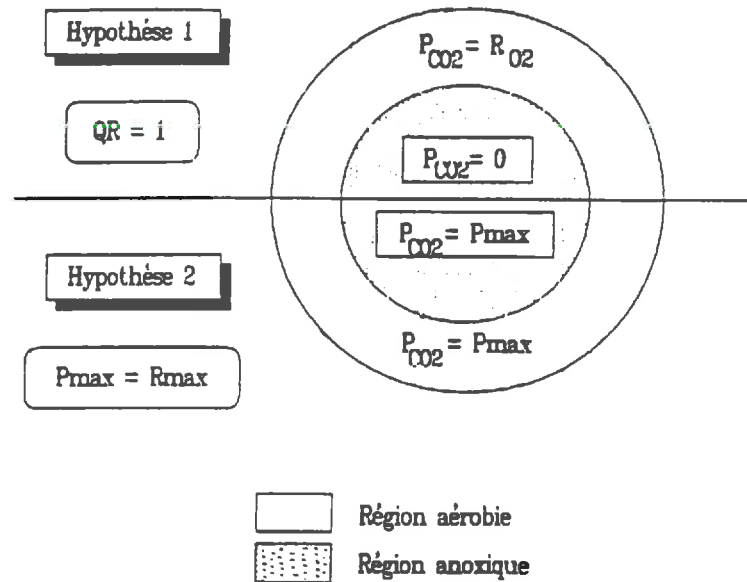


Figure 2.1: Hypothèses sur la production de CO₂ au sein des agrégats.

b- Paramètres

Les paramètres physiques et biologiques utilisés dans les simulations sont donnés au Tableau 2.1. Les valeurs du coefficient de diffusion et de la consommation d'O₂ sont du même ordre de grandeur que celles obtenues par Sexstone et al. (1985) pour des agrégats naturels. La diffusion du CO₂ dans les agrégats est considérée comme 0.8 fois celle de l'O₂, en accord avec des données bibliographiques (Verdier, 1975; Leffelaar, 1988). Les valeurs de solubilité prises en compte sont celles données par Verdier (1975). La porosité a été calculée en prenant une densité de solide de 2.65 et une densité apparente des agrégats égale à 1.60. Ce sont des valeurs classiques dans le sol (Fies et Stengel, 1981a).

Nous avons considéré une valeur de K_{iO_2} petite (équivalente à 5% de CO₂) en accord avec les résultats observés dans les sols ou pour des bactéries en milieu de culture (Macfadyen, 1973; Gill et Tan, 1979; Enfors et Molin, 1980). En l'absence de données bibliographiques relatives à K_{mO_2} , nous avons considéré une valeur équivalente à 1.5% d'O₂. Cette valeur est du même ordre de grandeur que celle de K_{mO_2} pour la croissance de bactéries nitrifiantes du sol (Martin, 1978). Tous les paramètres utilisés (physiques et biologiques) ont été supposés indépendants de la taille de l'agrégat.

2.2.5 Conditions initiales

Nous avons considéré qu'il y avait initialement 0% d'O₂ et de CO₂ dans les agrégats, les concentrations extérieures demeurant constantes en fonction du temps. Comme nous privilégions l'étude de l'équilibre par rapport à la phase transitoire, ce choix n'a pas de conséquences importantes sur notre analyse. Par ailleurs, les résultats obtenus par Renault et Stengel (1993) montrent que l'équilibre d'O₂ est atteint plus rapidement en partant de 0% qu'en partant de 21% d'O₂. La situation initiale choisie permet donc une réduction du temps du calcul.

Pour l'étude des relations simulées entre la respiration globale et la concentration extérieure d'O₂, nous avons fait varier cette dernière entre 0% et 21% O₂. Pour toutes les simulations, la concentration extérieure de CO₂ a été fixée à la concentration atmosphérique (0.03% de CO₂ d'après Weast, 1988).

2.2.6 Résolution numérique

La résolution numérique de l'Equation [4] est basée sur la méthode des éléments finis (schéma de Galerkin). Le domaine $[0, r_{ag}]$ a été subdivisé en sous-domaines de longueurs identiques Δr . Sur chaque sous-domaine, les différentes variables du modèle (C_{O_2} , C_{CO_2} , R_{O_2} , P_{CO_2}) sont supposés varier linéairement. Un schéma implicite a été utilisé pour avancer la solution dans le temps. Pratiquement, nous avons utilisé un Δr égal à 10^{-4} m et un intervalle de temps Δt pour l'avancement de la solution dans le temps compris entre 20 s et 600 s.

Cette résolution numérique a été confrontée à des solutions analytiques pour deux situations où elles existent:

- distribution de l'O₂ lorsque le régime permanent est atteint dans le cas du modèle de Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962);
- évolution de la concentration en O₂ dans un agrégat sphérique sans fonction puits après changement brutal de la concentration à sa périphérie (solution analytique proposée par Crank (1957)).

Le programme a été écrit en FORTRAN 77. La description de la méthode de résolution numérique et les tests réalisés sont présentés dans l'Annexe 1.

Paramètres	Valeurs	Unité
<i>Physiques</i>		
Coef. de diffusion		
O ₂	3.33×10 ⁻¹⁰	m ² s ⁻¹
CO ₂	2.66×10 ⁻¹⁰	m ² s ⁻¹
Solubilité		
O ₂	0.03	-
CO ₂	0.90	-
Porosité	0.40	-
<i>Biologiques</i>		
R _{max}	2.5×10 ⁻⁵	mol m ⁻³ s ⁻¹
P _{max}	(*)	mol m ⁻³ s ⁻¹
K _{mO₂}	0.6696	mol m ⁻³ s ⁻¹
K _{iO₂}	2.23	mol m ⁻³ s ⁻¹

(*) Voir texte.

Tableau 2.1: Valeurs des paramètres utilisés dans les simulations.

2.3 Comparaison des différents modèles

2.3.1 Durée de la phase transitoire

La Figure 2.2 montre l'évolution de la respiration globale et du volume anoxique d'un agrégat de 12 mm de rayon soumis à 21% d'O₂ en fonction du temps. Les valeurs d'équilibre sont atteintes au bout d'environ 2 heures quelque soit le modèle considéré, cette période diminuant avec la taille de l'agrégat (résultats non montrés).

Pour le modèle initial, la durée du régime transitoire est fonction uniquement de l'évolution de l'O₂ au sein des agrégats. Elle dépend théoriquement aussi du CO₂ dans le cas du modèle alternatif. Néanmoins, les résultats de la Figure 2.2 montrent que la prise en compte du CO₂ n'affecte pas concrètement la période d'équilibre de la respiration globale.

Plusieurs chercheurs, ayant proposé des estimations du volume anoxique au niveau du profil cultural en utilisant le modèle initial à l'échelle de l'agrégat, ont considéré un équilibre instantané de l'anoxie dans les agrégats avec la concentration inter-agrégat en O₂ (Smith, 1980; Arah et Smith, 1989; Refsgaard et al., 1991; Renault et Sierra, 1994). Nos résultats montrent

que la phase transitoire peut être aussi négligée par rapport à la durée de nos expériences dans le cas du modèle alternatif (p.e. une semaine pour celles de respiration globale).

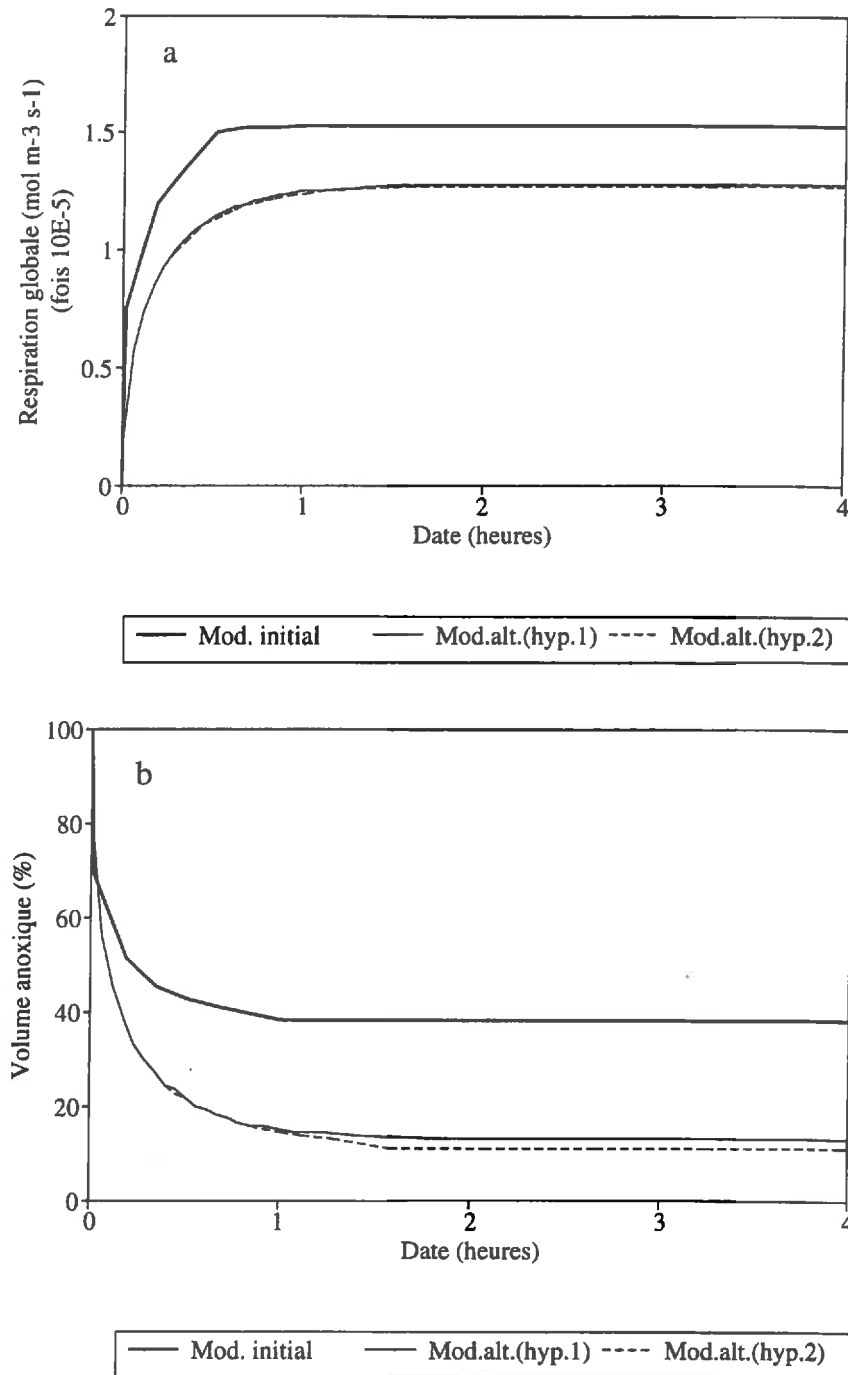


Figure 2.2: Simulation de la phase transitoire d'un agrégat de 12 mm de rayon placé à 21% d'O₂ et à 0.03% de CO₂: a- Respiration globale, b- Volume anoxique.
 hyp.1: production de CO₂ égale à la consommation en O₂;
 hyp.2: production de CO₂ constante

2.3.2 Respiration globale

Dans un premier temps, nous avons simulé la respiration globale des agrégats de différentes tailles soumis à 21% O₂ pour analyser l'effet du choix du modèle sur le rayon critique (cf. Chapitre 1, Annexe 1). Pour le modèle initial, il existe un plateau de respiration globale quand le rayon est inférieur au rayon critique (Fig. 2.3). Au-dessous de ce rayon, les agrégats sont totalement aérobies. Au-delà, la respiration globale diminue dans la même proportion que la croissance du volume anoxique.

Il n'y a plus de relation directe entre l'anoxie et la respiration globale si l'on considère le modèle alternatif. Dans ce cas, la respiration n'est pas constante dans la fraction oxygénée de l'agrégat en raison de sa dépendance à l'O₂ et au CO₂.

Le rayon critique est plus grand si l'on considère le modèle alternatif. A égalité des paramètres, le volume anoxique calculé à partir de ce modèle est toujours inférieur à celui calculé par le modèle initial. On peut aussi constater en Figure 2.3 que les différences entre les hypothèses du modèle alternatif concernent plus le volume anoxique que la respiration globale. Ceci est dû à la distribution des gaz au sein des agrégats comme nous le montrerons ci-dessous.

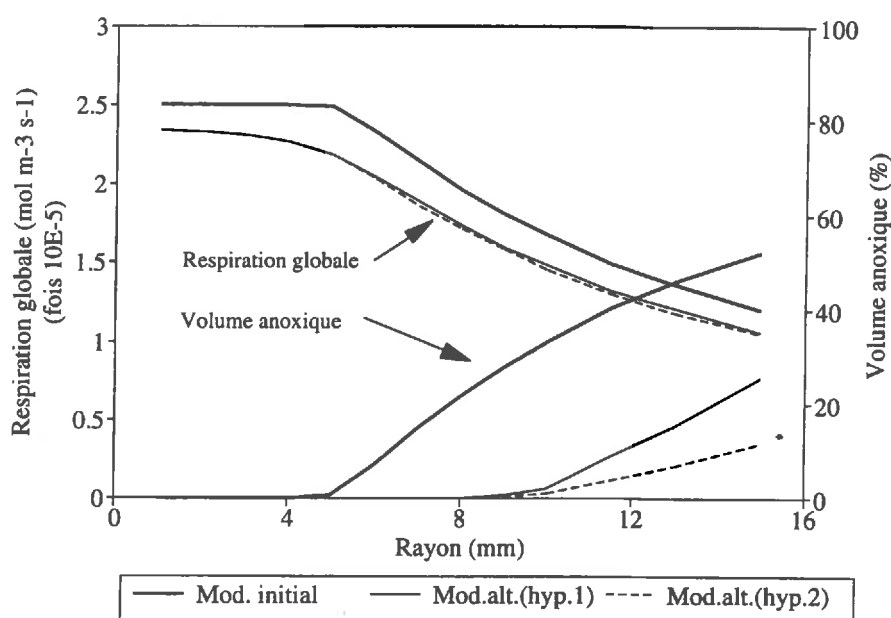


Figure 2.3: Effet du rayon de l'agrégat sur la respiration globale et le volume anoxique. Le rayon à partir duquel il y a de l'anoxie correspond au rayon critique de chacun des modèles.

A la Figure 2.4, on présente la respiration globale d'agrégats de 3 et 12 mm de rayon en fonction de la concentration extérieure d'O₂. Les différences entre modèles sont plus importantes pour la petite taille d'agrégat. Avec le modèle initial, il existe un plateau de respiration quand l'agrégat de cette taille est tout à fait aérobie. Avec le modèle alternatif, il n'y a pas d'anoxie pour toute la gamme des concentrations analysées. La respiration étant limitée par l'O₂ et le CO₂, l'O₂ n'est pas totalement consommé dans la région centrale de l'agrégat, même pour les concentrations extérieures les plus faibles.

Pour l'agrégat de 12 mm de rayon, alors que la respiration globale calculée diffère peu entre les modèles (Fig. 2.4), le volume anoxique présente des fortes différences (Fig. 2.5). Avec l'hypothèse 2, le modèle alternatif estime toujours un volume anoxique plus petit que celui calculé en utilisant l'hypothèse 1. Ceci est dû à la plus grande concentration de CO₂ au centre de l'agrégat inhibant la respiration et permettant à l'O₂ d'atteindre cette région. Cependant, la respiration dans cette région est trop petite; elle contribue peu à la respiration globale de l'agrégat.

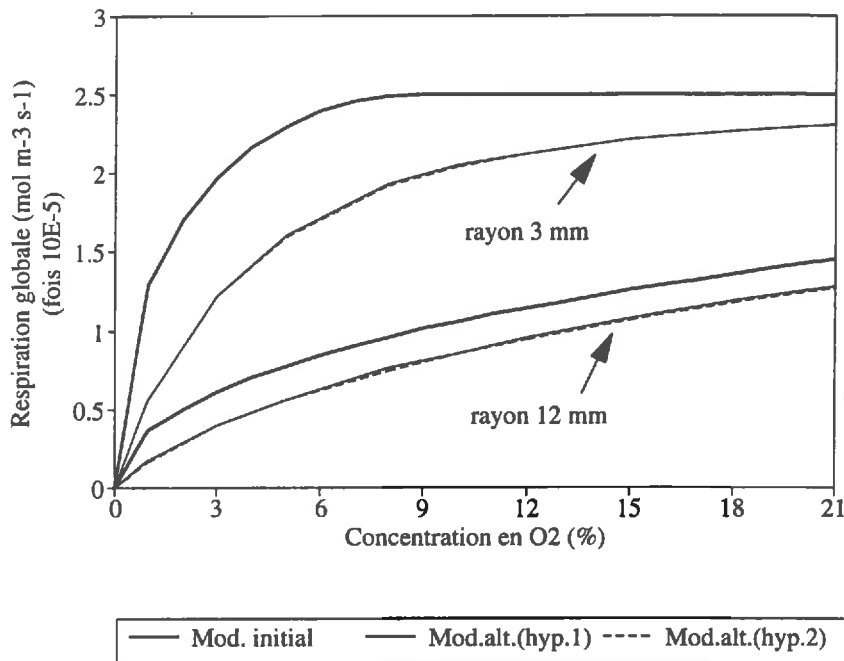


Figure 2.4: Respiration globale en fonction de la concentration d'O₂ pour deux tailles d'agrégats.

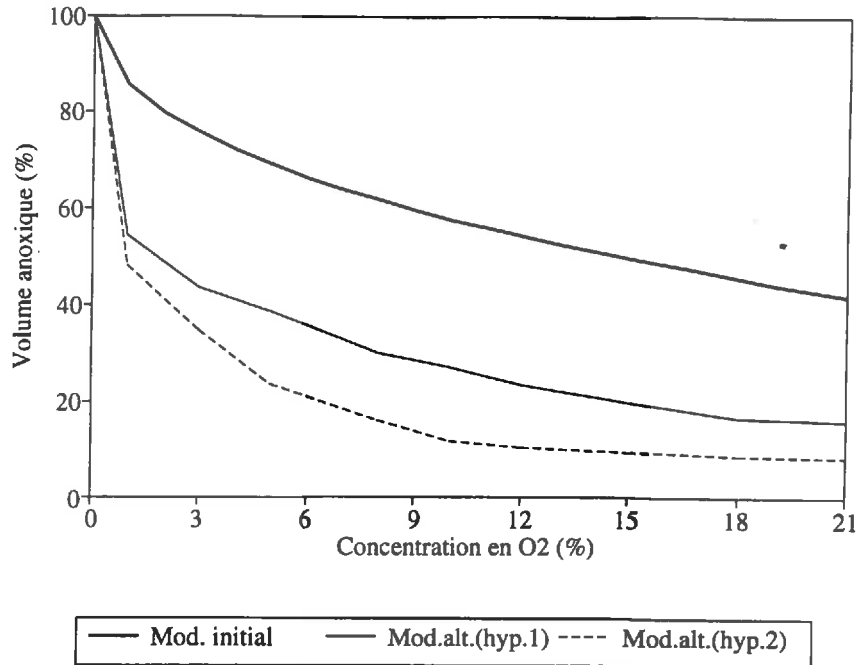


Figure 2.5: Volume anoxique en fonction de la concentration d'O₂ pour un agrégat de 12 mm de rayon.

Les résultats des simulations montrent que, pour les paramètres utilisés, la respiration globale est plus affectée par l'O₂ et le CO₂ que par l'anoxie au sein des agrégats. Ainsi, avec le modèle initial, la respiration globale est toujours supérieure à celle estimée avec le modèle alternatif malgré la présence d'anoxie. En conséquence, il apparaît que le volume anoxique est une variable discriminant mieux les modèles que la respiration globale, dans le cas d'agrégats de grande taille.

2.3.3 Profil d'oxygène, de dioxyde de carbone et de respiration

A la Figure 2.6 nous montrons les profils d'O₂ d'agrégats de 3 et 12 mm de rayon soumis à 21% d'O₂. On peut observer que les différences entre les modèles sont plus marquées pour l'agrégat le plus grand. Pour cette taille d'agrégat, le volume anoxique estimé par le modèle alternatif est de 15% en considérant l'hypothèse 1 et de 8% avec l'hypothèse 2. Néanmoins, on peut constater que la concentration d'O₂ est très faible dans la région voisine à la région anoxique et qu'il est difficile de discriminer à partir des profils les hypothèses du modèle alternatif.

A la Figure 2.7 nous présentons les profils de CO_2 calculés avec le modèle alternatif. Les différences entre les hypothèses de production de ce gaz n'ont un effet important que s'il existe une région anoxique au sein des agrégats. C'est en particulier le cas de l'agrégat de 12 mm de rayon: alors que pour l'hypothèse 1 la production de CO_2 cesse au début de la région anoxique, elle continue à l'intérieur de cette région pour l'hypothèse 2.

Cependant, une forte concentration de CO_2 à l'intérieur de ces agrégats ne produit pas une variation significative de la respiration car elle est déjà fortement limitée par les faibles teneurs en O_2 (Fig. 2.8). Dans cette figure, on peut observer que le modèle alternatif prédit que la région aérobie, voisine de celle en état d'anoxie, présente une activité respiratoire très réduite. Aussi, bien qu'avec l'hypothèse 2 on obtienne un volume anoxique plus petit qu'avec la première hypothèse, cette différence ne se traduit pas par une respiration globale plus grande car l'activité biologique est fortement limitée à l'intérieur de ces agrégats.

A la Figure 2.8 on peut aussi observer que la respiration au sein des agrégats est beaucoup plus contrastée entre les modèles que ne l'était la respiration globale (Fig. 2.4). Ceci met en évidence que les différentes hypothèses faites sur la respiration microbienne peuvent être plus facilement discriminées, en théorie, à partir de la distribution de cette respiration qu'à partir de la respiration globale de l'agrégat.

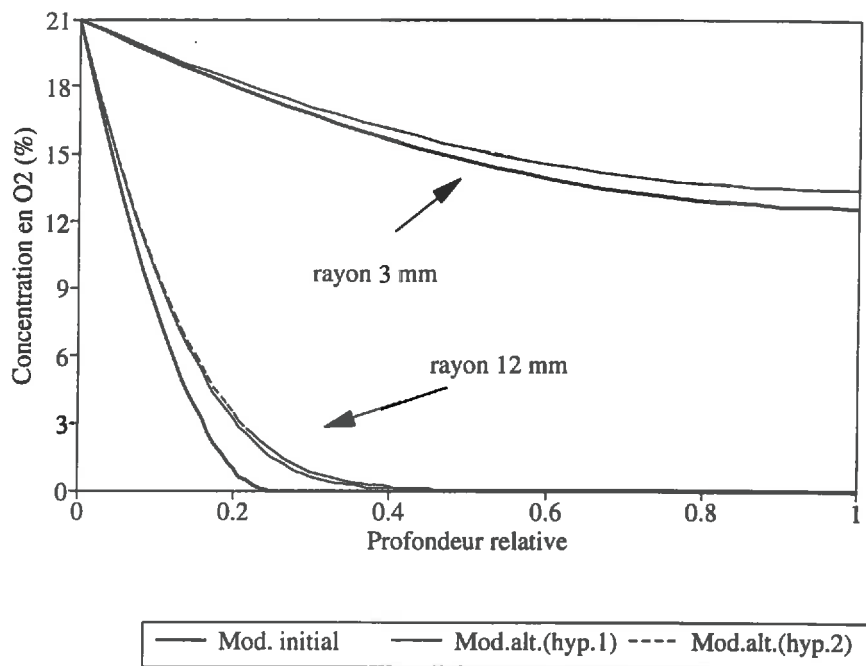


Figure 2.6: Profils d' O_2 pour deux tailles d'agrégats placés à 21% d' O_2 et 0.03% de $\dot{\text{C}}\text{O}_2$.

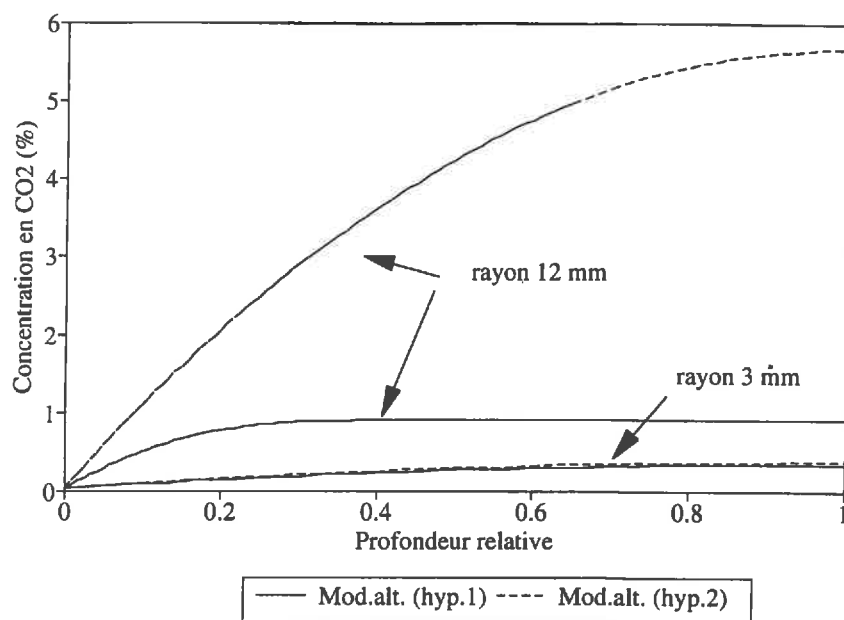


Figure 2.7: Profils de CO₂ correspondant aux agrégats de la Figure 2.6.

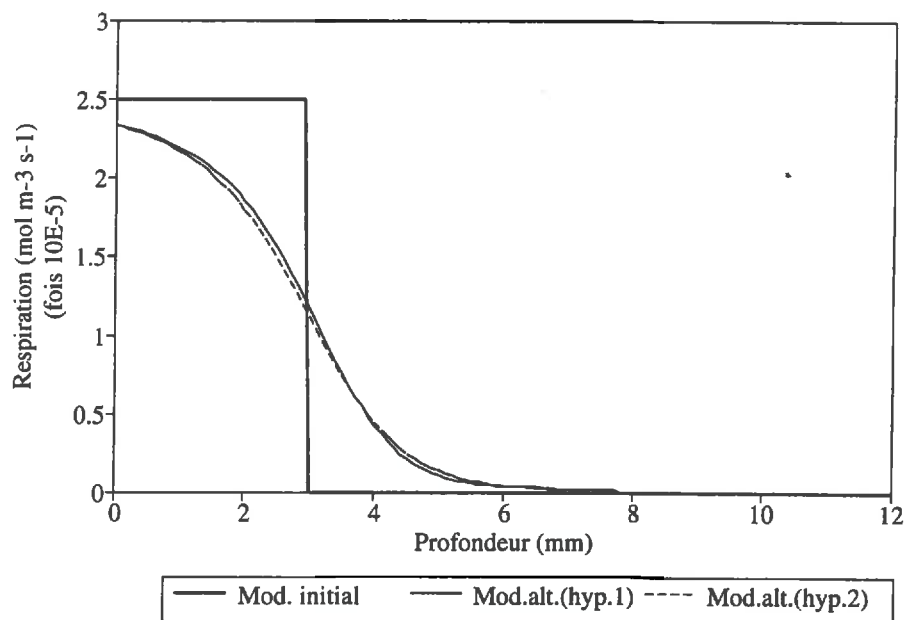


Figure 2.8: Profils de respiration au sein d'un agrégat de 12 mm de rayon.

2.4 Sensibilité du modèle alternatif aux paramètres physiques et biologiques

Nous avons choisi de privilégier la présentation des résultats relatifs à l'anoxie et à la respiration globale d'un agrégat de 12 mm de rayon soumis à une concentration d'O₂ de 21%. Nous ne présentons que les résultats obtenus en utilisant la première hypothèse du modèle alternatif ($QR=1$).

Les effets de quatre paramètres ont été analysés: D_{O_2} , R_{max} , K_{mO_2} et K_{iO_2} . Les résultats de référence ont été obtenus en utilisant les valeurs des paramètres déjà présentées au Tableau 2.1. L'analyse a été réalisée individuellement pour chacun des quatre paramètres en considérant une augmentation et une diminution de 50% de sa valeur par rapport aux valeurs de référence du Tableau 2.1. D_{CO_2} a été supposé varier dans la même proportion que D_{O_2} .

2.4.1 Effet de D_{O_2} et de R_{max}

Les résultats exprimant le volume anoxique et la respiration globale en fonction de D_{O_2} et de R_{max} sont présentés aux Figures 2.9a et 2.9b. Ces résultats font apparaître en premier lieu que le sens de la variation de l'anoxie et de la respiration globale sont différents selon le paramètre considéré. Alors que l'augmentation de la diffusion accroît la respiration et diminue le volume anoxique, un accroissement de R_{max} provoque des variations dans le même sens de ces deux variables. En conséquence on ne peut pas prévoir le sens de variation de l'anoxie en connaissant celle de la respiration globale sans connaître le paramètre ayant provoqué le changement.

La respiration globale est moins sensible que le volume anoxique aux variations des deux paramètres. Par exemple, une augmentation de 50% de la valeur de référence de R_{max} accroît la respiration globale de 23% alors que le volume anoxique s'accroît de 170%. La présence d'O₂ dans la région centrale de l'agrégat (du fait d'une plus grande diffusion ou d'une plus petite consommation) a logiquement un effet important sur la diminution du volume anoxique, alors que la respiration globale est moins affectée.

Aux Figures. 2.9a et 2.9b, on peut aussi observer que le volume anoxique est plus sensible à D_{O_2} qu'il ne l'est à R_{max} . La diminution de D_{O_2} de 50% par rapport à la valeur de référence provoque une augmentation du volume anoxique de 285%.

2.4.2 Effet de K_{mO_2} et de K_{iO_2}

Comme l'effet de K_{mO_2} et de K_{iO_2} concerne directement la respiration, les sens de la variation de la respiration globale et du volume anoxique sont les mêmes que ceux décrits pour R_{max} (Fig. 2.9c et 2.9d). Aussi, pour ces trois paramètres du modèle, l'augmentation de la respiration globale est accompagnée de la croissance du volume anoxique.

Là encore, le volume anoxique est la variable la plus sensible aux variations des paramètres considérés. K_{mO_2} est le paramètre qui affecte le plus l'anoxie au sein de l'agrégat. Celle-ci est une caractéristique de la formulation de l'inhibition de type compétitif pour laquelle l'effet de K_{iO_2} sur la respiration se réalise indirectement par la modification du K_{mO_2} .

Il est intéressant de remarquer que la sensibilité de l'anoxie à K_{mO_2} est similaire à celle à R_{max} . Ceci est dû au fait que K_{mO_2} , limitant la respiration, a des conséquences importantes sur la présence d' O_2 près du centre de l'agrégat.

2.5 Commentaires sur l'effet des équilibres physico-chimiques du dioxyde de carbone

Les résultats que nous avons discutés ci-dessus, représentent une situation où tout le CO_2 produit par l'activité biologique est dissous dans la solution du sol sans réactions chimiques.

Si le pH est supérieur à 6, les équilibres physico-chimiques déplacent de plus en plus le CO_2 avec la formation de bicarbonates et de carbonates. Le CO_2 devient alors une forme minoritaire du carbone dissous. Dans ces conditions, si l'on ignore ces réactions, on surestime la concentration de CO_2 réelle. En conséquence, l'inhibition de la respiration est aussi surestimée.

À égalité d'autres paramètres, l'effet d'inhibition de ce gaz sera probablement de moins en moins important quand le pH devient de plus en plus alcalin, ceci du fait de la plus petite concentration du CO_2 . Pour nos simulations, nous nous sommes placés dans la situation d'un sol légèrement acide (pH \approx 6). Les résultats obtenus correspondent donc à une situation où l'effet d'inhibition est maximum.

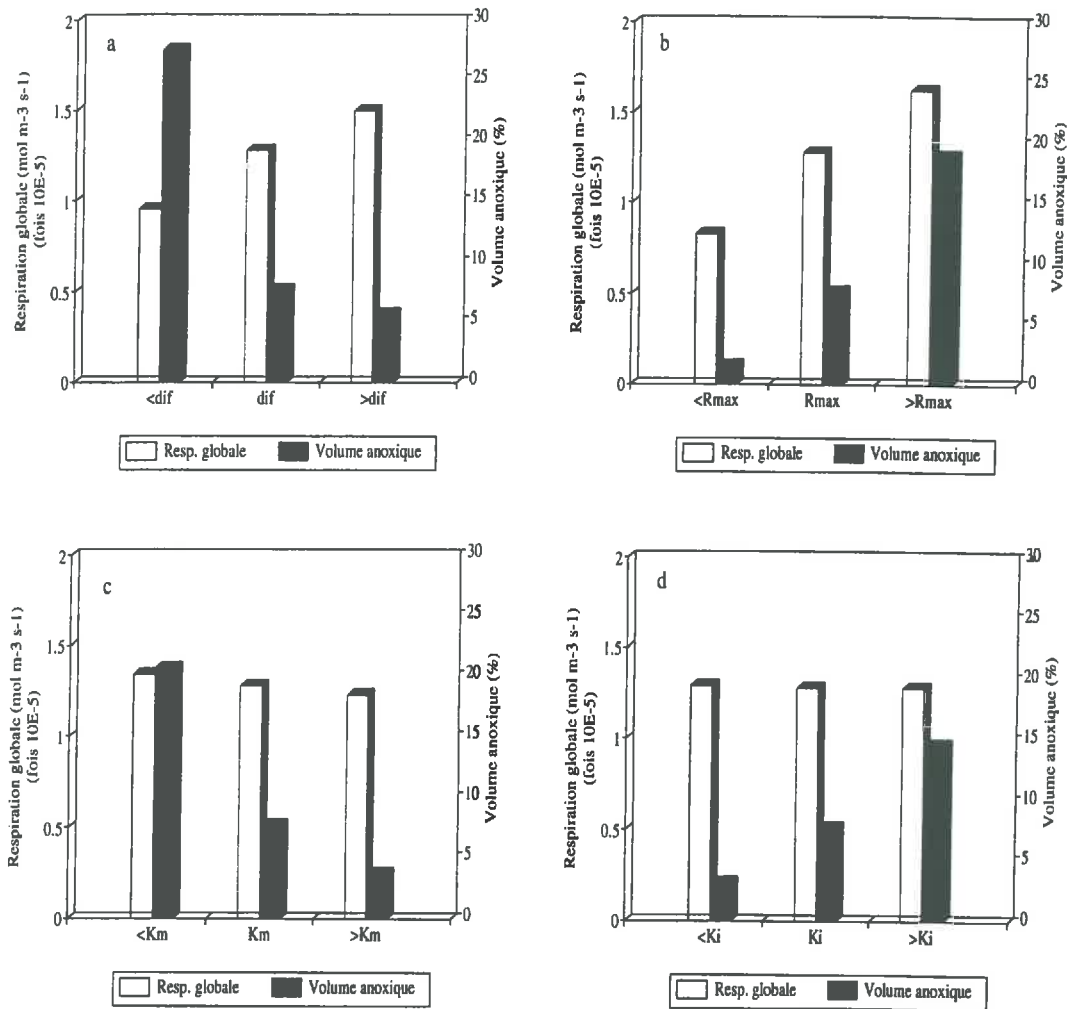


Figure 2.9: Sensibilité de la respiration globale et du volume anoxique aux différents paramètres du modèle alternatif: a- Coefficients de diffusion, b- R_{max} c- K_{mO_2} d- K_{iO_2}

<: correspond à une diminution de 50% par rapport à la valeur de référence du Tableau 2.1.

>: correspond à une augmentation de 50% par rapport à la valeur de référence du Tableau 2.1.

2.6 Conclusions du Chapitre 2

L'objectif principal de ce chapitre était de réaliser une comparaison entre des modèles décrivant différemment la consommation d'O₂. Pour le modèle initial, la respiration est constante pour toute la gamme de concentrations en O₂; pour le modèle alternatif elle dépend des concentrations d'O₂ et de CO₂ au sein des agrégats.

Malgré les différents mécanismes biologiques considérés, les résultats montrent que les modèles peuvent parfois aboutir à des estimations similaires de la respiration globale. C'est le cas des agrégats les plus grands et des concentrations d'O₂ les plus petites. Dans ces conditions, il apparaît que la discrimination des modèles au moyen de cette variable peut s'avérer difficile, notamment si l'on considère la variabilité que la respiration peut présenter dans la réalité. Par contre, pour des agrégats plus petits, cette variable discrimine bien les modèles. Dans le cadre de nos objectifs, il semble donc que pour ces agrégats la respiration globale puisse être un indice utile.

Théoriquement, la distribution de la respiration au sein des agrégats discrimine mieux les modèles mais sa détermination présente néanmoins de grandes difficultés.

Les profils d'O₂ discriminent bien les modèles pour les agrégats les plus grands. Ils sont aussi très sensibles aux variations des paramètres. En conséquence, afin de rendre compte de l'effet des tailles d'agrégats et des concentrations extérieures en O₂, un test rigoureux des modèles devrait tenir compte simultanément de la respiration globale et des profils d'O₂ au sein des agrégats.

La comparaison des deux hypothèses de production de CO₂ du modèle alternatif, montre que les différences de concentrations obtenues affectent l'importance de l'anoxie au sein des grands agrégats. Cependant, il peut être assez délicat de distinguer pratiquement ces deux variantes du modèle alternatif. D'une part, la respiration globale n'est pas sensible au passage de l'une à l'autre. D'autre part, les concentrations d'O₂ près de la zone anoxique (\approx 1-2 mm) sont très faibles. Dans ce dernier cas, il semble que de petites hétérogénéités au sein des agrégats puissent affecter les concentrations d'O₂ et rendre difficile le test de ces deux hypothèses.

CHAPITRE 3

Matériels et Méthodes expérimentales

3.1 Introduction

Dans ce chapitre nous présentons le sol et l'ensemble des méthodes et des protocoles expérimentaux utilisés dans notre travail. Ce chapitre comprend six parties. Les deux premières sont principalement consacrées à la caractérisation physique et chimique du sol et de ses agrégats. Dans la troisième partie, nous décrivons les méthodes utilisées pour mesurer les concentrations gazeuses, notamment celle de l'O₂. Dans les trois dernières parties, nous présentons les protocoles expérimentaux utilisés afin d'étudier les mécanismes physiques, biologiques et physico-chimiques impliqués dans le transfert d'O₂ au sein des agrégats, et afin de tester le modèle et ses variantes (respiration globale des agrégats et profils d'O₂).

Ce chapitre est complété par les Annexes 3 et 4. L'Annexe 3 est consacrée aux résultats de la caractérisation physique et chimique des agrégats. L'Annexe 4 présente une méthode de calcul du rapport Surface/Volume des agrégats décrite dans la littérature et propose une nouvelle méthode d'estimation de ce rapport.

3.2 Le sol

3.2.1 Localisation et caractéristiques générales du site de prélèvement

Pour cette étude, nous avons choisi un sol situé sur le Domaine de l'Abbaye de Citeaux (Côte d'Or). Ce sol présente des conditions favorables à la dénitrification dues notamment à son fonctionnement hydromorphe dès les premiers centimètres (C. Germon, comm.pers.). Il s'agit d'un Gleyic luvisol d'après la classification FAO (Henault, 1993). Il est profond et de texture limon-sableuse uniforme en profondeur. On constate la présence de concrétions ferromanganiques dès les premiers centimètres. Entre 10 et 30 cm de profondeur, ces concrétions peuvent avoir une taille de 1 cm de diamètre.

Le Tableau 3.1 montre quelques résultats d'analyses physico-chimiques élémentaires. Ces analyses révèlent des traces de CaCO_3 , minéral responsable d'une alcalinité modérée et du fort taux de saturation de la C.E.C. lié principalement au calcium. L'ensemble des paramètres chimiques et physiques montrent une très grande homogénéité du sol en fonction de la profondeur.

3.2.2 Prélèvement d'agrégats naturels

Le prélèvement a été réalisé au mois de Mai 1991. Le sol était cultivé en blé (début de montaison) et les agrégats présentaient un taux de saturation en eau d'environ 85%. Sur une zone d'environ 4 m² au centre de la parcelle, le matériel végétal a été éliminé ainsi que les 10 premiers centimètres de sol afin de limiter la présence des racines de blé dans le prélèvement à faire. Le sol a été prélevé entre 10 et 30 cm de profondeur. Une partie a été tamisée immédiatement pour obtenir 12 classes dimensionnelles d'agrégats; le reste a été stocké sans tamisage en vue de la fabrication ultérieure d'agrégats de sol remanié. Le Tableau 3.2 définit la taille des agrégats de chaque classe ainsi qu'un numéro d'identification pour chacune d'elles.

Pendant le tamisage, les grosses racines ont été éliminées et les mottes les plus grossières ont été brisées à la main. La fragmentation a aussi été effectuée sur des mottes de différentes tailles afin d'obtenir une quantité suffisante d'agrégats pour chacune des classes visées. Les agrégats ainsi séparés ont été placés dans des boîtes plastiques hermétiquement fermées et transportées au laboratoire où elles ont été stockées à 4°C jusqu'au début des différentes expériences.

Dans l'Annexe 3, nous discutons les conséquences de ce mode de prélèvement sur la caractérisation des agrégats.

Paramètre	Unité	Profondeur	
		10-30 cm	30-50 cm
Argile	%	14.9	14.4
Limons fins	%	24.8	26.2
Limons grossiers	%	27.4	26.0
Sable fin	%	22.9	23.0
Sable grossier	%	10.0	10.4
Hum. Equivalente	%	18.4	-
Matières Organiques	%	1.62	1.34
Carbone Organique	%	0.81	0.67
Azote Organique	%	0.085	0.071
C/N	-	9.5	9.4
pH (eau)	-	7.9	7.3
pH (KCl 1N)	-	7.0	-
C.E.C.	meq/100 g	7.6	7.2
Ca	meq/100 g	10.1	7.6
Mg	meq/100 g	1.23	0.52
K	meq/100 g	0.34	0.26
Na	meq/100 g	0.02	0.04
NH ₄	meq/100 g	0.04	-
Taux sat. bases	%	100	100
CaCO ₃ actif	%	traces	traces
Mn échang.	ppm	1.3	6.5
Fer libre	%	1.03	-

Tableau 3.1: Caractérisation physique et chimique du sol.

Classe	Taille (mm) (*)
1	25-30
2	20-25
3	15-20
4	12-15
5	10-12
6	8-10
7	6-8
8	5-6
9	4-5
10	3-4
11	2-3
12	1-2

(*) La taille correspond au diamètre du trou du tamis.

Tableau 3.2: Tailles des agrégats naturels prélevés.

3.2.3 Fabrication des agrégats de sol remanié

Le protocole utilisé pour la préparation d'agrégats sphériques de sol remanié (dorénavant nommés agrégats artificiels) est celui décrit par Fies et Stengel (1981a). Le sol non tamisé a été séché à l'air puis transformé en terre fine (<1 mm). Préalablement, les concrétions les plus grossières avaient été éliminées manuellement. Nous avons alors préparé une pâte homogène de sol ayant une teneur en eau égale à 1.9 fois l'humidité équivalente du sol. Un premier ressuyage de 72 heures a été réalisé en enceinte close sur de la terre fine du même sol à l'état sec (Fig. 3.1). Ultérieurement, le sol s'est desséché à l'air libre (96 heures). Le bloc de sol ainsi obtenu a alors été coupé en cubes et rendus sphériques par abrasion. Chacune de ces préparations vise à éviter la présence de fissures et de cavités au sein des agrégats.

Nous avons fabriqué des agrégats sphériques de 1 mm, 4 mm, 6 mm et 12 mm de rayon. Ces dimensions sont équivalentes à celles des agrégats naturels de tailles 12, 7, 5 et 2. Quelques agrégats de forme cubique de 20 mm de côté ont aussi été fabriqués pour une expérimentation visant à étudier la distribution de l'activité microbienne en leur sein (cf. 3.5.3).

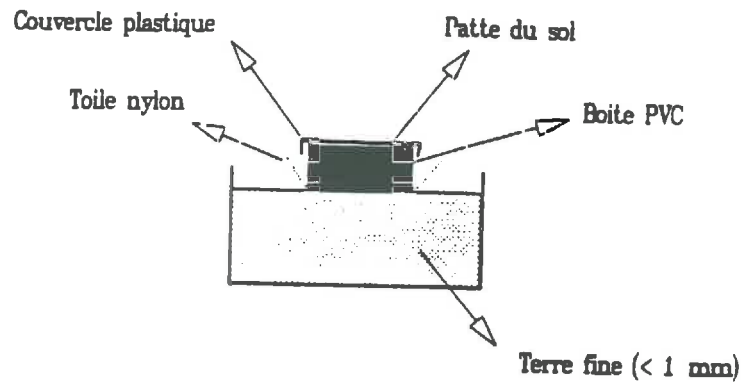


Figure 3.1: Dispositif de ressuyage modulé pour la préparation des agrégats de sol remanié (adapté de Fies et Stengel, 1981a).

3.3 Caractérisation physique et chimique des agrégats

Cette analyse a été menée avec un double but:

- d'une part, l'estimation de quelques paramètres des modèles de transfert gazeux (porosité et rayon équivalent);
- d'une autre part, l'analyse du degré d'hétérogénéité du matériel utilisé dans notre travail.

Le Tableau 3.3 montre un résumé des mesures réalisées sur les différents types et tailles d'agrégats.

3.3.1 Mesures physiques

a- Densité et volume des agrégats naturels et artificiels

Type d'agrégat	Classe	Densité	Porosimétrie	$r_{eq}^{(*)}$	C-N (#)
Naturel	1				oui
	2	oui	oui	oui	oui
	3	oui		oui	oui
	4	oui	oui	oui	oui
	5	oui		oui	oui
	6	oui		oui	oui
	7	oui	oui	oui	oui
	8	oui			oui
	9	oui			oui
	10	oui			oui
	11	oui			oui
	12	oui			oui
Artificiel	2	oui			oui (†)
	5	oui	oui		oui(†)
	7	oui			oui(†)

(*) Obtention d'une fonction pour estimer le rayon équivalent des agrégats.

(#) Analyse du carbone total, de l'azote total et des fractions légères des matières organiques.

(†) L'analyse a été faite sur la patte de sol desséchée (voir texte).

Tableau 3.3: Analyses réalisées sur les différents types et tailles d'agrégats.

La méthode au pétrole (Monnier et al., 1973) a été utilisée afin de mesurer le volume et la densité des agrégats. Ces mesures nous permettent d'estimer la porosité des agrégats connaissant par ailleurs la densité des particules solides les constituant. Le volume est déterminé par l'immersion d'agrégats dans du pétrole de densité connue en mesurant le poids du liquide déplacé. Le poids sec des agrégats est mesuré ultérieurement afin de calculer leur densité. Afin de connaître la variabilité inter-agrégats, nous avons étudié la distribution de ces paramètres pour des agrégats naturels et artificiels. Les résultats de cette étude sont présentés en Annexe 3.

b- Répartition du volume des pores

La méthode utilisée est la porosimétrie au mercure (Fies, 1984; 1992). Cette méthode permet d'établir une courbe cumulative des volumes de mercure entrés dans un échantillon de sol sous l'effet de pressions croissantes. Les diamètres des pores d'entrée peuvent être calculés à partir des valeurs des pressions exercées. Les résultats de l'analyse sont présentés en Annexe 3.

c- Estimation du rayon équivalent des agrégats naturels

Nous proposons une méthode d'estimation du rayon équivalent d'un agrégat à partir de la connaissance de son volume. Dans cette méthode, le volume d'un agrégat est mesuré comme proposé précédemment. Sa surface est alors recouverte d'une fine couche de silicone plastique et mise à dessécher pendant une journée. La silicone est ensuite décollée et sa surface mesurée à l'aide d'un analyseur d'images. Le rayon équivalent de l'agrégat r_{eq} est alors défini comme le rayon de la sphère ayant le même rapport "Surface/Volume". La méthode a d'abord été testée sur 7 sphères en verre présentant des tailles semblables à celles des agrégats⁽¹⁾. Ensuite, elle a été utilisée sur dix agrégats naturels de chacune des Tailles 2 à 7.

Dans les cas de formes définies (cubes, sphères, etc.), il existe des relations entre r_{eq} et le volume V de type fonction puissance. Admettant que ce type de relation existe encore dans les cas de nos agrégats, nous avons obtenu par ajustement à nos données expérimentales la fonction suivante ($r^2 = 0.925$):

(1) Nous remercions M. Leandro Sierra pour le prêt des billes en verre pendant une journée.

$$r_{eq} = 0.393 \times V_{ag}^{0.301} \quad [1]$$

Où V_{ag} est le volume de l'agrégat. Dans l'Annexe 4, nous présentons une analyse de la méthode décrite par Greenwood et Berry (1962) afin de calculer le r_{eq} des agrégats, et les résultats obtenus avec notre méthode.

3.3.2 Mesures chimiques

a- Analyse du carbone et de l'azote

Le carbone total (Méthode Anne), l'azote total (Kjeldhal) et les fractions légères des matières organiques ont été déterminées pour les douze tailles d'agrégats naturels et pour le sol ayant servi à la fabrication des agrégats artificiels. Les résultats obtenus sont montrés en Annexe 3.

3.4 Méthodes de mesures des concentrations gazeuses

Nous avons utilisé deux méthodes permettant le dosage des concentrations gazeuses: la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et les microélectrodes à O_2 . La première a été utilisée quand nous avons besoin de connaître les teneurs de l' O_2 et du CO_2 dans l'atmosphère où les agrégats avaient été placés (p.e. mesures de respiration). Les microélectrodes ont été utilisées notamment pour la mesure des profils d' O_2 au sein des agrégats et pour l'estimation du coefficient de diffusion de l' O_2 . Cependant, en raison de la non disponibilité du chromatographe au début de nos expérimentations, une partie des mesures de respiration globale des agrégats naturels a été réalisée à l'aide des microélectrodes.

3.4.1 Chromatographie en phase gazeuse

Un chromatographe en phase gazeuse à catharomètre a été utilisé pour suivre les concentrations d' O_2 et de CO_2 . Le C.P.G. utilisé a deux colonnes de séparation. La première colonne (Poparak Q, billes de polymère poreux, longueur 2 m, température 120°C) sépare le

mélange O₂-N₂ du CO₂ et la vapeur d'eau. La deuxième colonne (tamis moléculaire, aluminosilicate de sodium et de calcium, longueur 2 m, température 20°C), sépare l'O₂ et le N₂. Le gaz vecteur est de l'hélium.

Le C.P.G. utilisé ne sépare pas l'argon de l'O₂. Cette séparation n'est pas un problème dans nos expériences car nous avons toujours imposé aux agrégats une atmosphère ne contenant pas d'argon (mélange O₂-N₂ ou O₂-CO₂-N₂).

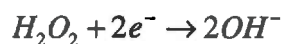
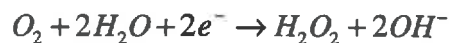
Avant les mesures, le chromatographe était toujours étalonné avec un mélange gazeux de 10% d'O₂, 10% de CO₂ et 80% de N₂. Nous avons déterminé qu'à ces concentrations l'erreur relative de mesure du C.P.G. est égal à 0.5% pour l'O₂ et de 0.8% pour le CO₂.

3.4.2 Les microélectrodes à oxygène

Nous avons fabriqué des microélectrodes à O₂ selon un protocole proposé initialement par Revsbech et Ward (1983) et ultérieurement amélioré par Revsbech (1989). Une description détaillée du protocole de fabrication est présentée par Revsbech et Jorgensen (1986). Ces microélectrodes permettent de mesurer la pression partielle d'O₂ dans différents milieux tels que l'eau, l'air, le sol (Sexstone et al., 1985), les fruits (Souty et al., 1993) et les nodules de Rhizobium (Masepohl et al., 1993).

a- Principe et fonctionnement

Un schéma des microélectrodes est présenté à la Figure 3.2. Pratiquement, on mesure un courant électrique associé à la réduction de l'O₂ au niveau du bouchon d'or (catalyseur) de la cathode, la réaction se fait en deux étapes:



Lorsque la différence de potentiel entre la cathode et l'électrode de référence est de 0.75 V, l' O_2 est réduit en totalité à la surface du bouchon d'or. Le flux d' O_2 vers la cathode et le courant mesuré, proportionnels au gradient de concentration d' O_2 entre l'extérieur et la cathode, deviennent alors proportionnels à la concentration en O_2 du milieu extérieur. L'ordre de grandeur du courant mesuré est la centaine de pico-ampères (pA). La cathode et l'électrode de référence sont placées dans une solution électrolytique tamponnée à pH 10.3. L'alcalinité de la solution contribue à améliorer la stabilité du signal (Revsbech, 1989).

Par ailleurs, une cathode de garde en argent placée près de la pointe et au même potentiel électrique que le bouchon d'or, permet de réduire les champs électriques entre la pointe de la cathode et son voisinage. Elle diminue ainsi de 3 à 5 fois le bruit électrique de fond, permettant au signal de sortie de rester stable et d'avoir une faible valeur en absence d' O_2 (Revsbech, 1989; ce travail).

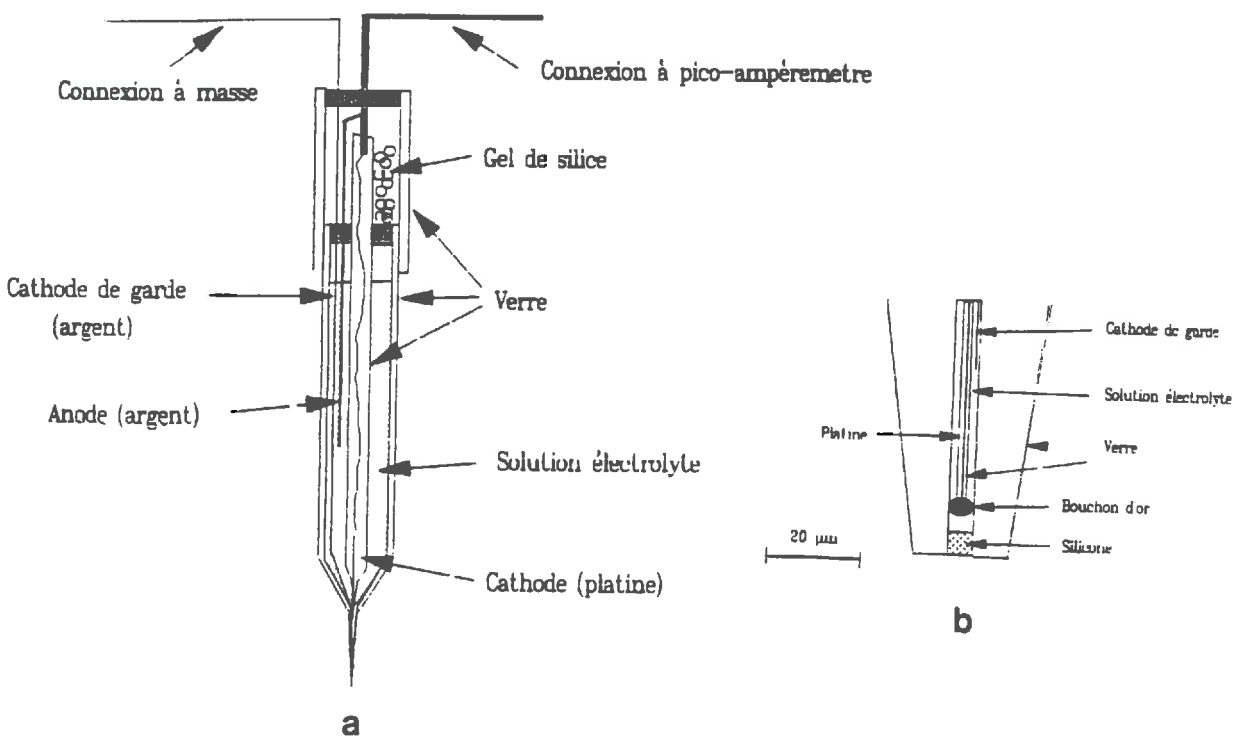


Figure 3.2: Schéma de la microélectrode utilisée: a- aspect général; b- pointe de l'électrode.

Nous avons encore amélioré la stabilité du signal de l'électrode. Afin d'empêcher la décantation d'impuretés de la solution vers la pointe de l'électrode (impuretés entraînant une baisse du signal au cours du temps), le bouchon d'or a été élargi de façon à occuper toute la section de la pointe de la microélectrode. Grâce à cette amélioration, le signal des microélectrodes devient stable pendant plusieurs mois.

Le passage de l'O₂ de l'extérieur vers la cathode est assuré par un bouchon de silicone (Fig. 3.2b). Ce bouchon est extrêmement perméable à l'O₂ mais reste sélectif vis-à-vis des ions de grosse taille comme le Ca²⁺ et le Mg²⁺. Ces ions peuvent contaminer la cathode avec la formation d'hydroxydes et de carbonates à la surface du bouchon d'or (Revsbech et Jorgensen, 1986).

La consommation d'O₂ par la microélectrode est négligeable et la mesure ne change pas la concentration du milieu. A titre d'exemple, le temps nécessaire pour consommer l'O₂ dissous dans 1 mm³ d'eau à 20°C et en équilibre avec l'atmosphère, est de l'ordre de 10 jours.

Pour les expériences visant à mesurer des profil d'O₂ dans l'agrégat, la paroi de la pointe des microélectrodes était plus épaisse afin de faire face à la résistance mécanique du sol (Sextstone et al., 1985) (Fig. 3.2b). La largeur de la pointe de ces électrodes était d'environ 20 µm. A 10-12 mm de la pointe, elle était de 100 µm. Nous avons considéré que cette dernière valeur était le maximum admissible pour éviter de perturber le milieu physique. Ainsi, les profils n'ont pas été réalisés au-delà de 10-12 mm.

Ces électrodes permettent des mesures au sein d'agrégats saturés ou près de la saturation en eau, la pointe étant trop fragile pour être insérée dans un sol sec. Néanmoins, en deçà de la saturation, l'O₂ peut se déplacer préférentiellement par la cavité ménagée par l'électrode et en conséquence biaiser les mesures.

A la Figure 3.3, nous montrons un schéma de l'ensemble du système de mesure. Les microélectrodes sont reliées à un pico-ampèremètre qui peut être éventuellement connecté à un ordinateur pour le stockage des mesures et la programmation de son fonctionnement. Tout le système de mesure est placé dans une cage de Faraday afin de diminuer les bruits électriques.

b- Tests préliminaires

Avant utilisation, chaque électrode était testée: sensibilité à l'O₂ et à la température, temps de réponse, stabilité du signal. Ces paramètres sont spécifiques à chaque microélectrode. Ils dépendent, entre autres, de la géométrie et de la taille du bouchon d'or, du diamètre et de la longueur du bouchon de silicone et de la distance entre les deux bouchons.

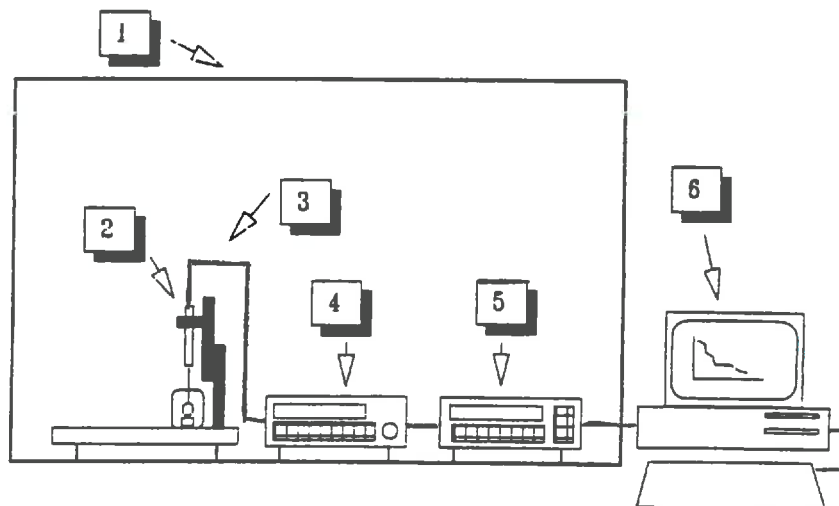


Figure 3.3: Schéma du dispositif de mesure associé aux microélectrodes: 1- cage de Faraday; 2- microélectrode et micromanipulateur; 3- connexion; 4- pico-ampèremètre; 5- scanner; 6- ordinateur.

Les microélectrodes sont étalonnées à 0% et 21% O₂, la réponse étant linéaire sur toute la gamme des concentrations en O₂ (Revsbech et Jorgensen, 1986; ce travail, Fig. 3.4). A 0% d'O₂, le signal est entre 1 et 12 pA. A 21%, il est compris entre 80 et 800 pA. Le bruit de fond n'excède pas 0.3% du signal.

A la Figure 3.5, nous montrons la réponse en fonction du temps d'une microélectrode arrêtée pendant 24 h et mise sous tension à 21% d'O₂. On constate une mise à l'équilibre progressive qui correspond probablement à la consommation de l'O₂ de l'électrolyte ayant migré vers la pointe de la microélectrode avant la mise sous tension. Cette période varie de 1 à 3 minutes selon la microélectrode, le signal restant ensuite très stable. Pour les données de la Figure 3.5, le bruit correspond à 0.1% du signal moyen.

Lors d'un changement de concentration en O₂ de 21% à 100%, le temps de réponse des microélectrodes est de l'ordre de 1 seconde. Il est donc très satisfaisant pour mesurer des changements rapides de concentration.

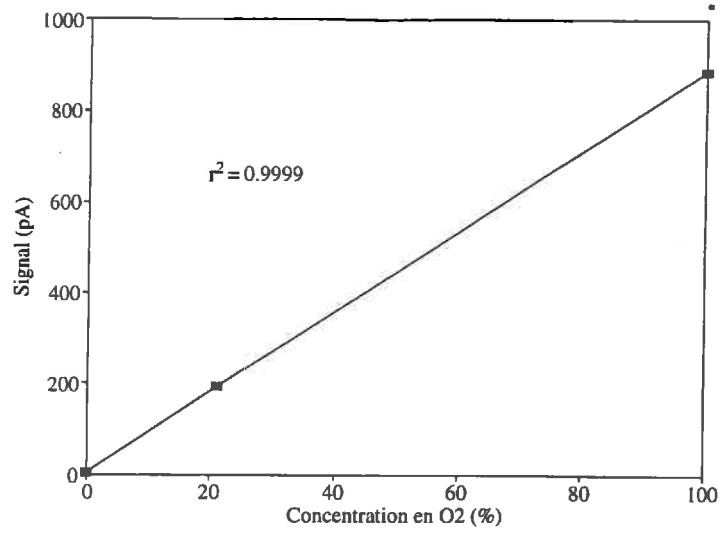


Figure 3.4: Exemple d'étalonnage d'une microélectrode (20 °C).

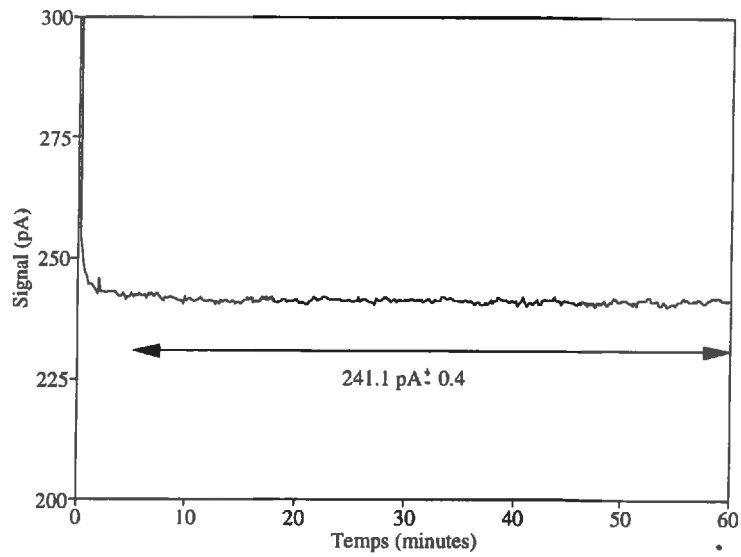


Figure 3.5: Suivi du signal d'une microélectrode après sa mise sous tension à 21% d'O₂ (20 °C).

La réponse est très sensible à la température (Fig. 3.6). En moyenne, pour un changement de 1°C la variation du signal est de 2 à 3%. Cette caractéristique a été prise en compte pendant les expérimentations afin d'augmenter la précision de la mesure. Cette précision est aussi fonction des incertitudes liées aux fluctuations électriques et à l'éfalonage. L'erreur de mesure finale est ainsi de l'ordre de 0.3%-0.5%.

Finalement, nous avons vérifié que les mesures faites au sein des agrégats pour la détermination de profils d'O₂, ne dépendaient pas du mode de déplacement de l'électrode (insertion initiale ou retrait). Nous pouvons donc admettre que les perturbations provoquées par les microélectrodes au sein des agrégats sont négligeables (consommation d'O₂ et modification du milieu physique).

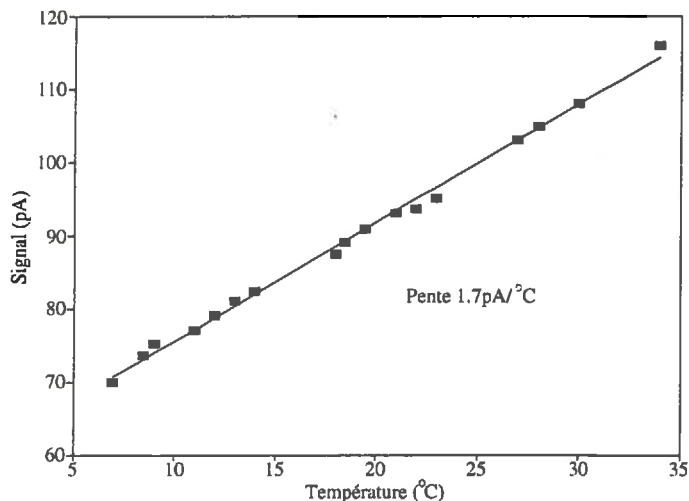


Figure 3.6: Effet de la température sur le signal d'une microélectrode (21% d'O₂).

3.5 Etude des mécanismes de base

Au Tableau 3.4 nous présentons le schéma des différentes analyses réalisées pour l'étude des mécanismes de base.

Type d'agrégat	Classe	Diff. O ₂ (*)	Effet O ₂ -CO ₂ (#)	CO ₂ anox (†)	Est. R _{max} (‡)	Act. Biol. (§)	Abs. CO ₂ (¶)
Naturel	2				oui		
	3				oui		
	4				oui		
	5	oui			oui		
	6				oui		
	7				oui		
	12			oui			
Artificiel	2						
	5	oui					
	7	oui					
	12		oui	oui		oui	oui
Cubes						oui	

(*) Estimation du coefficient de diffusion de l'O₂.

(#) Etude de l'effet de l'O₂ et du CO₂ sur la respiration.

(†) Estimation de la production de CO₂ en conditions d'anoxie.

(‡) Estimation de R_{max}.

(§) Analyse de l'activité biologique dans les agrégats (activité déshydrogénase).

(¶) Etude du pouvoir d'absorption du CO₂.

Tableau 3.4: Analyses des mécanismes de base.

3.5.1 Diffusion de l'oxygène

Afin d'éliminer l'activité biologique et la consommation d'O₂, une série d'agrégats naturels et artificiels saturés en eau ont été stérilisés par rayonnement gamma préalablement aux expériences. La dose totale reçue par les agrégats était d'environ 40 kgray pour une période de 8 heures. Trois agrégats artificiels (2 de la Taille 7 et un de la Taille 5) et trois agrégats naturels (Taille 5) ont été sélectionnés. Les agrégats naturels ont été choisis pour la régularité de leur forme.

Le dispositif expérimental utilisé est similaire à celui décrit par Sexstone et al. (1985) (Fig. 3.7). L'agrégat était placé sur un support perforé permettant un transfert gazeux uniforme sur toute sa surface. La microélectrode, préalablement étalonnée, y était alors introduite à différentes profondeurs à l'aide d'un micromanipulateur et l'opération contrôlée avec un binoculaire. La concentration d'O₂ a été suivie pendant 10 ou 20 minutes après le changement brutal de la concentration d'O₂ autour des agrégats avec une mesure toutes les 40 ou 80 secondes selon la profondeur analysée.

Après chaque cinétique, la concentration en O₂ de la chambre a été ramenée à 21% par un courant d'air saturé afin de permettre à l'agrégat de revenir à son équilibre initial. L'équilibre étant restauré en une heure environ, l'électrode était alors placée à une autre profondeur pour une nouvelle cinétique. Le même protocole a été répété à 3 ou 4 profondeurs. La densité des agrégats utilisés a été estimée en fin d'expérimentation afin de calculer leur porosité.

Nous avons aussi déterminé l'évolution de l'O₂ dans l'atmosphère externe aux agrégats afin de connaître parfaitement les conditions aux limites pour le modèle. Le temps nécessaire pour atteindre 100% d'O₂ dans la chambre était compris entre 20 et 30 secondes.

Le coefficient de diffusion de l'O₂ au sein des agrégats a été estimé par ajustement des données simulées par le modèle de diffusion radial aux résultats expérimentaux. Pour cela, on a utilisé la solution numérique décrite à l'Annexe 1. Le calcul a été réalisé en utilisant une méthode d'ajustement non linéaire (Bard, 1974).

3.5.2 Influence de l'oxygène et du dioxyde de carbone sur la respiration

Des agrégats naturels et artificiels de 1 à 2 mm de rayon ont été placés pendant deux semaines à 90% de saturation en eau et à 20°C pour assurer la reprise de l'activité biologique à la température de l'expérimentation. La taille et l'état hydrique des agrégats utilisés visait à éviter que la respiration soit limitée par le transport des gaz. Ainsi, nous admettons que les concentrations gazeuses étaient constantes au sein des agrégats.

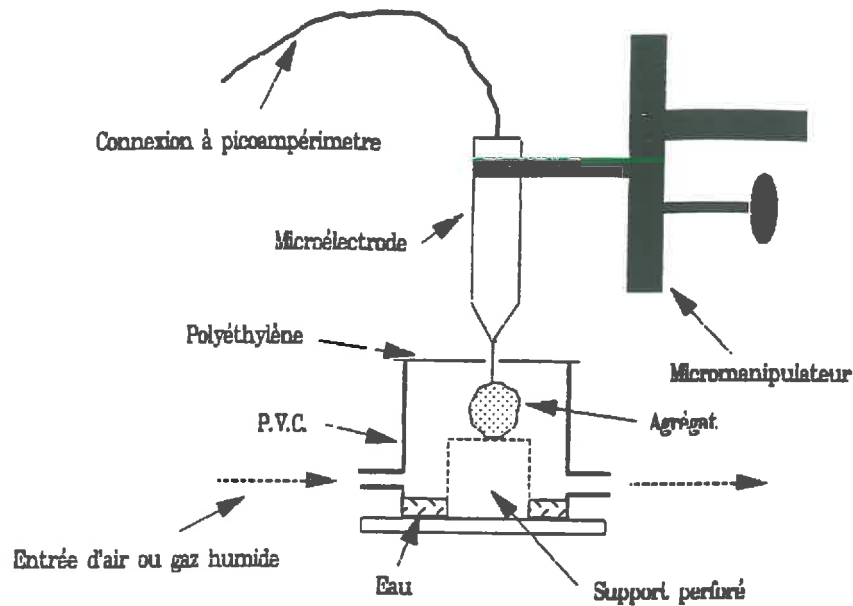


Figure 3.7: Dispositif expérimental utilisé pour l'estimation du coefficient de diffusion de l'O₂.

Pour cette expérience, nous avons utilisé la C.P.G.. Les agrégats étaient placés dans des flacons de 250 ml remplis avec un mélange O₂-CO₂-N₂. Les concentrations d'O₂ étaient comprises entre 2% et 21% et celles du CO₂ entre 0% et 12%. Pour obtenir une concentration de 0% de CO₂, celui-ci était piégé dans une solution de NaOH 3M. La température d'expérimentation était de 20°C. Le prélèvement de gaz (200 µl) a été réalisé à l'aide d'une seringue au travers d'un septum fixé sur le bouchon du flacon. Les concentrations d'O₂ et de CO₂ dans les flacons ont été mesurées pendant 5 ou 6 jours (une mesure journalière).

Les différentes formulations de la loi de Michaelis - Menten ont été ajustées aux données expérimentales en utilisant la méthode non linéaire citée ci-dessus.

Le même protocole expérimental a été utilisé pour:

- estimer la production de CO₂ des agrégats artificiels de 1 à 2 mm de rayon mis en conditions d'anoxie. Dans ce cas les flacons étaient remplis avec 100% de N₂;
- mesurer la respiration des agrégats naturels de différentes tailles placés à 21% d'O₂ et 0% de CO₂. Avant la mesure, les agrégats avaient été brisés à la main afin de les

amener à une taille de 1 à 2 mm. La respiration obtenue dans ces conditions peut être considérée comme proche de la respiration maximale.

La procédure et l'erreur d'estimation de la respiration seront traités au paragraphe 3.6.3.

3.5.3 Activité biologique au sein des agrégats

Cette expérience visait à tester la distribution spatiale de l'activité respiratoire. Pour cela, une estimation de l'activité biologique au sein des agrégats artificiels a été réalisée en utilisant la méthode initialement proposée par Trevors et al. (1982) et ultérieurement modifiée par Norton et Firestone (1991). Cette méthode est considérée comme une évaluation de l'activité déshydrogénase du sol. Elle se base sur la mesure de la capacité du sol de réduire le chlorure de 2,3,5-triphenyl tetrazolium (INT) en chlorure de 2,3,5-triphenyl tetrazolium formazan (INT formazan). L'INT et le sol sont incubés pendant 4 heures à 30°C; la réduction a lieu à l'intérieur des microbes où il y a précipitation de cristaux rouges de l'INT formazan. Ce dernier est ultérieurement extrait avec de la diméthylformamide et dosé par colorimétrie.

Nous avons testé deux types d'incubation: aérobie (concentration gazeuse du laboratoire) et anaérobie (100% N₂). L'expérience a été menée sur des agrégats artificiels et quatre types de mesures ont été réalisés:

- agrégats stérilisés: des agrégats de 1-2 mm ont été stérilisés (autoclave, 1 heure) avant mesure, le but étant de tester la méthode sur du sol sans activité biologique. L'incubation était aérobie;
- agrégats en anaérobiose: des agrégats cubes de 5 mm de côté ont été placés à 100% de N₂ pendant 7 jours avant mesure. Les deux types d'incubation ont été testés;
- profil d'activité: des agrégats cubiques de 2 cm de côté ont été placés à deux concentrations d'O₂ (21% et 10%) pendant 15 jours. Pour chacune des concentrations testées, deux cubes ont alors été découpés à l'aide d'un bistouri afin d'obtenir trois couches du sol (Fig. 3.8): région périphérique, région intermédiaire et région centrale. Avec la même procédure, la région centrale d'un troisième agrégat placé à 21% a été découpé en deux parties (extérieure et intérieure). Chacune des régions a été analysée séparément et dans tous les cas l'incubation a été aérobie.

Sur un quatrième agrégat placé à 21% d'O₂, l'activité biologique de la région périphérique et celle de la région centrale ont été déterminées à la suite d'une incubation anaérobie.

Pour les régions périphérique et intermédiaire, trois répétitions ont été faites, chacune correspondant à une face différente du cube découpé. En raison de la petite quantité de sol, une seule détermination a été réalisée pour la région centrale;

- effet de l'O₂ et du CO₂: des agrégats de 1-2 mm ont été placés à deux concentrations d'O₂ (2% et 21%) et deux concentrations de CO₂ (4% et 8%) pendant 15 jours avant mesure. L'incubation a été aérobie.

Les agrégats étaient saturés en eau sauf pour la dernière expérience où le taux de saturation était de 90%. Les mesures ont été effectuées sur des cubes de sol 35 jours après sa mise en saturation, cette période étant de 20 jours pour les petits agrégats. A la fin de l'expérience, sur un cube de sol qui avait été placé à 21% d'O₂ nous avons mesuré le profil de ce gaz à l'aide des microélectrodes.

Les résultats de cette expérience sont présentés dans l'Annexe 7 car ils ne nous ont pas permis d'arriver à suffisamment de connaissances pour pouvoir les inclure dans la modélisation de l'anoxie⁽²⁾.

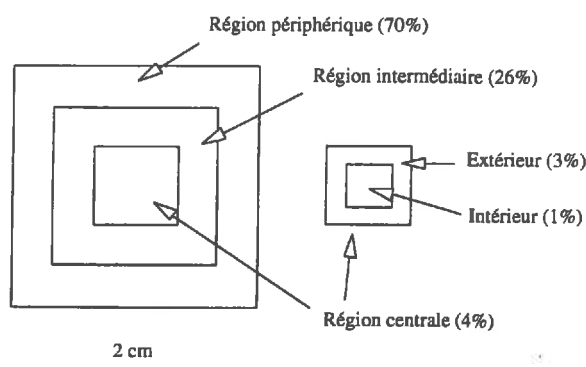


Figure 3.8: Découpage d'un agrégat artificiel pour la mesure de l'activité déshydrogénase. Les numéros entre parenthèse indiquent le pourcentage de volume total de chacune des régions découpées.

⁽²⁾ L'Annexe 7 complète le Chapitre 6 sur les résultats des profils d'O₂. Nous avons préféré cette présentation car l'interprétation des mesures d'activité biologique nécessite la connaissance préalable des résultats de ces profils et de la respiration des agrégats.

3.5.4 Pouvoir d'absorption du dioxyde de carbone par le sol et oxydation des concrétions

Pour estimer le pouvoir d'absorption du CO₂, des agrégats artificiels de 1 à 2 mm de rayon ont été utilisés avec le dispositif expérimental décrit pour étudier les effets de l'O₂ et du CO₂ sur la respiration. La concentration d'O₂ était de 21% et celles de CO₂ de 5.5% et 15%. L'évolution de l'O₂ et du CO₂ a été suivie pendant 8 jours avec des mesures à 0, 30, 60 et 300 minutes après le début de l'incubation. Au-delà de ce temps, nous avons effectué une mesure par jour.

Quelques mesures de consommation d'O₂ ont été réalisées sur des concrétions entières et sur des concrétions cassées. La gamme de concentrations d'O₂ testées était comprise entre 21% et 40%. Le dispositif expérimental est celui utilisé pour les mesures de respiration globale des agrégats naturels (cf. 3.6.1.a).

3.6 Respiration globale des agrégats

3.6.1 Agrégats naturels

a- Comportement moyen des agrégats

Nous avons mesuré la respiration globale des agrégats de différentes tailles (Tailles 2 à 7) en fonction de la concentration d'O₂. Le dispositif expérimental est présenté en Figure 3.9.

Après saturation et mise à l'équilibre à 20°C pendant deux semaines, nous avons soigneusement disposé une couche d'agrégats dans chaque boîte, le nombre d'agrégats variant de 3 à 4 pour la taille la plus grande à environ 30 pour la plus petite. Les boîtes ont ensuite été remplies avec un mélange O₂-N₂. Les concentrations d'O₂ étudiées étaient comprises entre 1% et 40%.

La concentration d'O₂ dans les boîtes a été mesurée durant 5 à 6 jours (une mesure journalière) en utilisant les microélectrodes à oxygène. Pour ce faire, la microélectrode était introduite dans la boîte en traversant un bouchon d'Agar Agar (Fig. 3.9) et le signal suivi durant 10 secondes. La température d'expérimentation était de 20°C ± 1°C. Un étalonnage initial de l'électrode et des répétitions toutes les cinq minutes étaient réalisés afin de tenir compte des variations de la température du laboratoire. Après chaque mesure, une petite couche d'eau était déposée sur le bouchon d'Agar Agar et celui-ci était ensuite couvert d'un

film de polyéthylène afin de réduire les transferts gazeux entre la boîte et l'atmosphère⁽³⁾. En fin d'expérience, nous avons déterminé l'humidité et le volume des agrégats, puis estimé leur rayon équivalent.

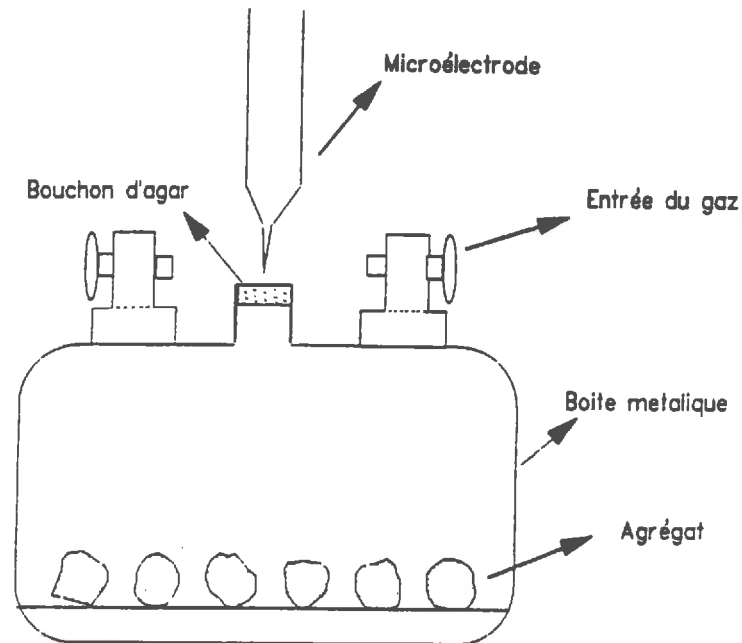


Figure 3.9: Dispositif expérimental utilisé pour la mesure de la respiration globale des agrégats naturels.

b- Variabilité inter-agrégats

Nous avons mesuré la respiration individuelle à 21% d'O₂ de 62 agrégats naturels de la Taille 7 avec le dispositif général décrit ci-dessus. Pour cette expérience, les agrégats ont été placés dans des boîtes d'environ 2 cm³.

⁽³⁾ Nos calculs ont montré que dans ces conditions ce transfert est tout à fait négligeable, ce qui a été vérifié expérimentalement durant la mise au point du dispositif de mesure.

3.6.2 Agrégats artificiels

La respiration globale a été mesurée sur les trois plus grandes tailles d'agrégats artificiels (Tailles 2, 5 et 7). La procédure de saturation des agrégats et de reprise de l'activité respiratoire est celle déjà décrite.

Le dosage des concentrations gazeuses a été réalisé à l'aide de la C.P.G. en utilisant le protocole présenté au paragraphe cf. 3.5.2. Dans cette expérience, les flacons ont été remplis avec un mélange O₂-N₂, les concentrations d'O₂ étaient comprises entre 2% et 21%. La température d'expérimentation était de 20°C. Nous avons mesuré la concentration d'O₂ pendant 5 ou 6 jours en réalisant une détermination journalière.

3.6.3 Procédure de calcul de la respiration et incertitude sur l'estimation

A la Figure 3.10, nous présentons un schéma montrant la procédure générale de calcul de la respiration. Le volume occupé par l'air est d'abord calculé (différence entre le volume de la boîte ou du flacon et le volume occupé par les agrégats). La respiration globale est alors estimée de la manière suivante:

$$respiration = p \times \left(V_{air} / V_{sol} \right) \quad [2]$$

où p est la pente de la régression linéaire entre la concentration d'O₂ et le temps [mol O₂ m⁻³air s⁻¹], V_{air}/V_{sol} est le rapport entre le volume occupé par l'air et celui des agrégats [m³air m⁻³sol], la respiration étant exprimée alors en mol O₂ m⁻³sol s⁻¹.

Connaissant le volume et le nombre d'agrégats naturels utilisés, nous avons calculé le volume moyen des agrégats et leur rayon équivalent d'après l'Equation [1]. Pour les agrégats artificiels, le rayon a été mesuré directement.

Comme les teneurs d'O₂ obtenues avec la C.P.G. expriment un pourcentage relatif de ce gaz par rapport au total des gaz considérés (O₂ + CO₂ + N₂), nous avons corrigé ces valeurs préalablement au calcul de la respiration globale pour tenir compte du changement de pression due à l'absorption du CO₂ par le sol. La correction a été réalisée en admettant que la quantité de N₂ dans le flacon était constante au cours du temps. Cette procédure n'est pas nécessaire pour les mesures faites en utilisant les microélectrodes, celles-ci exprimant la pression partielle d'O₂.

D'après l'Equation [2], l'erreur sur l'estimation de la respiration dépend de l'erreur standard de la pente de la régression linéaire et de l'erreur du rapport V_{air}/V_{sol} . Par ailleurs, l'erreur standard de la pente dépend du nombre des dates de mesures et de l'incertitude sur la détermination des concentrations. Dans le Tableau 3.5 nous montrons les erreurs relatives d'analyse des paramètres nécessaires à l'estimation de la respiration globale. Celle de la mesure de la concentration d'O₂ avec les microélectrodes correspond à l'erreur aléatoire produite par le bruit électrique et l'étalonnage, l'effet de la température ayant été minimisé. L'erreur de la C.P.G. est celle déterminée pendant la mise au point des expérimentations. L'incertitude sur la mesure du volume des agrégats, est issue de l'analyse de la densité des agrégats artificiels (voir Annexe 3). L'erreur sur la pente de la régression linéaire correspond à l'erreur standard relative de celle-là.

Nous avons testé par voie numérique l'influence de l'erreur de chacun de ces paramètres sur l'erreur finale d'estimation de la respiration globale. Il s'agissait premièrement de générer des concentrations d'O₂ parfaitement alignées à intervalles de temps réguliers. Ces données simulées ont alors été bruitées à l'aide d'un générateur des nombres aléatoires respectant l'incertitude expérimentale de la méthode de mesure utilisée (C.P.G. ou microélectrodes). Parallèlement, nous avons généré des valeurs aléatoires de V_{sol} . Dans cette analyse, nous avons négligé les erreurs sur la date des observations et sur le calcul du volume de la boîte ou du flacon.

L'analyse a montré que l'erreur liée à la détermination du volume du sol a un effet négligeable sur l'estimation de la respiration. En conséquence, l'erreur finale sur la respiration est approximativement celle de la pente de la régression. Nos calculs ont aussi révélé que l'erreur standard relative de la pente est de l'ordre de 2-3%, ce qui correspond à 50% environ de l'erreur effectivement observée pendant les expérimentations (Tableau 3.5). Ce constat signifie que des sources d'erreur non envisagées contribuent à celle de la pente de la régression. La simplification faite sur la linéarité de l'évolution des concentrations d'O₂, n'a pas de conséquence importante sur nos calculs face aux variations des teneurs d'O₂ mesurées au cours des différentes expériences. Aussi, les autres sources d'erreur sont probablement liées à l'activité biologique elle même.

Ces considérations restent valables pour l'estimation de la production du CO₂.

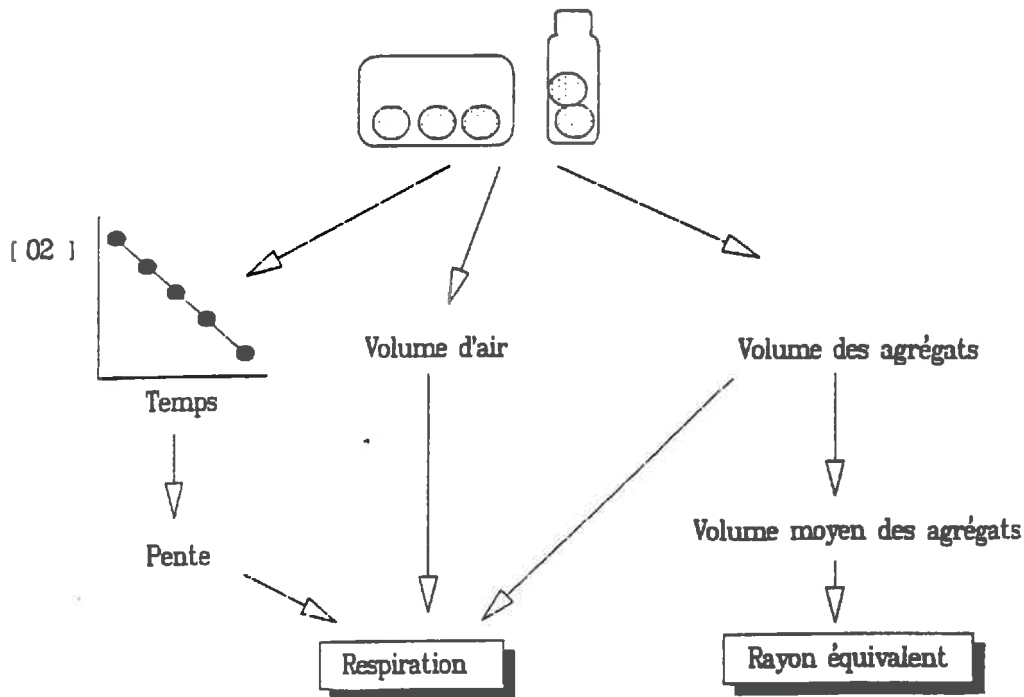


Figure 3.10: Schéma de calcul de la respiration globale des agrégats naturels et des agrégats artificiels.

Paramètre	Erreur relative (%)
Concentration d'O ₂	
C.P.G.	0.5
microélectrodes	0.4
Concentration de CO ₂ (C.P.G.)	0.8
Volume d'agrégats	0.8
Pente (*)	5-8

(*) Correspond à l'erreur standard relative de la pente de régression linéaire de la concentration d'O₂ ou de CO₂ avec le temps.

Tableau 3.5: Erreurs sur les paramètres utilisés dans le calcul de la respiration globale.

3.7 Profils d'oxygène au sein des agrégats

Le dispositif expérimental et la façon d'opérer avec les microélectrodes sont ceux décrits pour l'estimation du coefficient de diffusion de l'O₂ (cf. 3.5.1, Fig. 3.7). Les agrégats ont été mis en équilibre comme décrit ci-dessus. Les profils ont été réalisés sur 28 agrégats naturels de Tailles 2 à 7 et sur 12 agrégats artificiels (Tailles 2, 5 et 7). Un minimum de deux profils d'O₂ a été réalisé dans chaque agrégat. La concentration d'O₂ extérieure à l'agrégat était maintenue constante par la circulation d'air saturé en eau. Les mesures des concentrations d'O₂ ont été faites avec un pas d'espace compris entre 0.1 mm et 0.25 mm jusqu'au centre de l'agrégat.

Selon le même protocole, nous avons suivi le profil d'O₂ d'un agrégat artificiel de 12 mm de rayon durant 40 jours après sa mise en saturation à 20°C. L'agrégat restait sur la table de succion, sauf pour la mesure.

En plus des profils réalisés pour une concentration extérieure en O₂ égale à la concentration atmosphérique (21%), quelques profils ont été mesurés dans des agrégats artificiels placés à 10% ou 15% d'O₂. Dans ce cas, un mélange d'O₂ et de N₂ circulait pendant cinq heures dans la boîte contenant l'agrégat, préalablement aux mesures.

CHAPITRE 4

Estimation des paramètres du modèle

4.1 Introduction

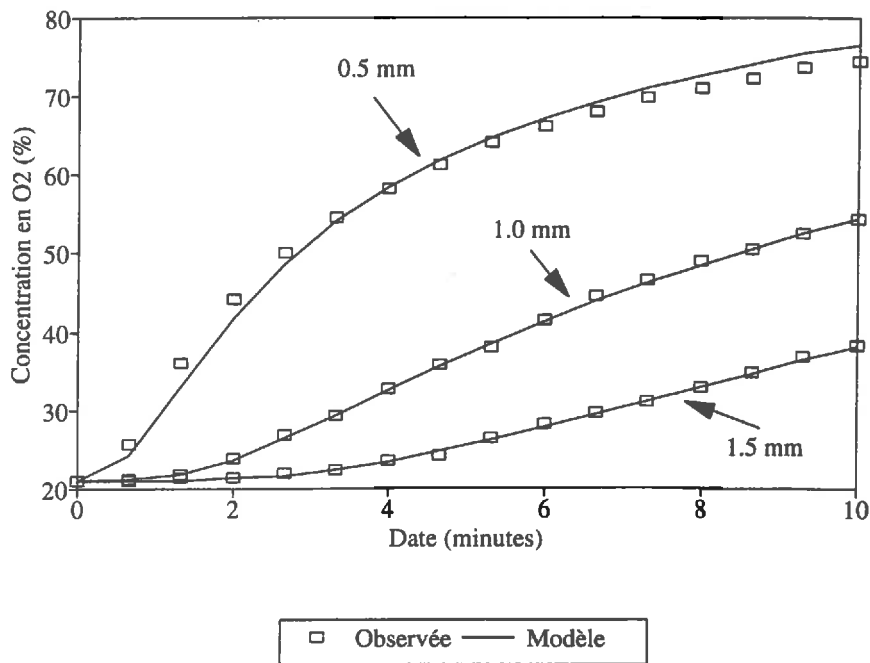
Dans ce chapitre, nous présentons les résultats expérimentaux et les estimations concernant les paramètres du modèle. La première partie se rapporte à la diffusion de l'O₂ au sein des agrégats. Elle est complétée par l'Annexe 5 où nous analysons l'effet de l'activité microbienne sur l'estimation du coefficient de diffusion. La deuxième partie est consacrée aux composantes biologique et physico-chimique du modèle. Dans cette partie, nous avons inclus quelques résultats sur le pouvoir d'absorption du CO₂ par le sol, car ce processus peut rendre difficile l'interprétation des résultats sur les effets de ce gaz sur la respiration.

4.2 Estimation du coefficient de diffusion de l'oxygène

4.2.1 Résultats

a- Agrégats artificiels

La Figure 4.1 montre quelques exemples d'évolution de la concentration d'O₂ mesurée dans un agrégat artificiel de 4.1 mm de rayon et les données simulées après ajustement du coefficient de diffusion. Nous rappelons ici que les agrégats avaient été stérilisés avant mesure et que le modèle utilisé afin d'ajuster les résultats expérimentaux est celui développé au Chapitre 2 (cf. 2.2.2.a, Eq. [4]) en absence de respiration microbienne. Les valeurs du coefficient de diffusion de l'O₂ que nous présentons ici prennent en compte la solubilité du gaz.



*Figure 4.1: Estimation du coefficient de diffusion de l'O₂.
Evolution de la concentration d'O₂ avec le temps
dans un agrégat artificiel de 4.1 mm de rayon.*

Pour l'agrégat de la Figure 4.1 le coefficient de diffusion estimé pour l'ensemble des trois profondeurs analysées est égal à $1.39 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Pour un deuxième agrégat de même rayon, l'estimation du coefficient de diffusion est de $1.49 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ et, pour un agrégat de 6 mm de rayon elle est de $1.41 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Les intervalles de confiance des valeurs estimées montrent que celles-ci ont un degré de fiabilité très satisfaisante (Tableau 4.1).

Agrégat	Rayon	Valeur estimée	r^2	Limites de confiance
	(mm)	(m^2s^{-1})		(m^2s^{-1})
1	4.1	1.39×10^{-11}	0.998	$1.41 \times 10^{-11} - 1.37 \times 10^{-11}$
2	4.1	1.49×10^{-11}	0.997	$1.52 \times 10^{-11} - 1.46 \times 10^{-11}$
3	6.1	1.41×10^{-11}	0.998	$1.43 \times 10^{-11} - 1.39 \times 10^{-11}$

Tableau 4.1: Valeurs et limites de confiance du coefficient de diffusion de l'O₂ estimé pour trois agrégats artificiels.

La valeur moyenne pour les trois agrégats artificiels est donc de $1.43 \times 10^{-11} m^2 s^{-1}$, le Coefficient de variation (CV) est de 3%. L'analyse statistique basée sur la comparaison des sommes de carrés des résidus (J. Chadoeuf, comm.pers.) a montré qu'il n'y a pas des différences significatives entre les coefficients de diffusion estimés sur les trois agrégats artificiels. Néanmoins, l'écart entre les valeurs estimées pour les agrégats de 4.1 mm de rayon est près de la limite à partir de laquelle la différence est significative. De faibles erreurs sur la profondeur de l'observation ou de petites hétérogénéités au sein des agrégats peuvent être responsables de cette différence. Ces mêmes facteurs peuvent aussi être liés aux écarts entre le modèle et les résultats de la première profondeur analysée qui a été systématique pour les trois agrégats utilisés (Fig. 4.1).

Nous avons aussi réalisé des ajustements en utilisant séparément les données de chaque profondeur afin de tester le degré d'homogénéité de l'agrégat et l'indépendance des résultats à la position d'observation. Les résultats sont très proches de ceux obtenus pour l'ensemble des profondeurs (Tableau 4.2). L'analyse statistique a montré que, pour les trois agrégats, il n'y a pas de différences significatives entre les estimations par profondeur ni entre celles-ci et l'estimation globale. Par ailleurs, on peut observer au Tableau 4.2 qu'il ne semble pas exister de relation entre le coefficient de diffusion estimé et la profondeur de mesure.

Agrégat	Profondeur		
	0.5 mm	1.0 mm	1.5 mm
1	1.37×10^{-11}	1.40×10^{-11}	1.41×10^{-11}
2	1.51×10^{-11}	1.51×10^{-11}	1.47×10^{-11}
3	1.43×10^{-11}	1.42×10^{-11}	1.40×10^{-11}

Tableau 4.2: Valeurs estimées du coefficient de diffusion de l'O₂ (m^2s^{-1}) des agrégats artificiels pour chacune des profondeurs analysées.

b- Agrégats naturels

La Figure 4.2 montre les résultats obtenus pour un agrégat naturel. On peut y observer que l'évolution de la concentration d'O₂ à 1.5 mm est très proche de celle mesurée à 1.0 mm. A 2.5 mm, cette évolution est plus rapide qu'aux deux autres profondeurs.

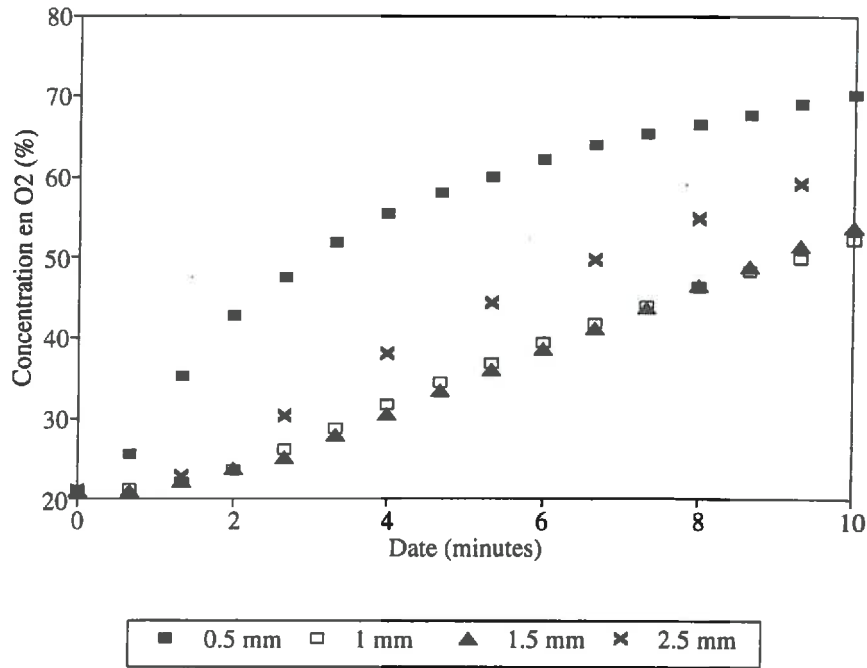


Figure 4.2: Evolution de la concentration d'O₂ avec le temps dans un agrégat naturel de 6.2 mm de rayon.

L'ajustement du modèle pour chacune des profondeurs de l'agrégat correspondant à la Figure 4.2, est présenté sur la Figure 4.3. Dans le Tableau 4.3 on montre les estimations réalisées pour chacune des profondeurs pour les trois agrégats naturels. Les calculs ont été réalisés en considérant le r_{eq} de chaque agrégat. Le sens de ces estimations est discuté ci-dessous. Dans les trois agrégats naturels analysés, les estimations réalisées dans un même agrégat présentent une variabilité assez importante.

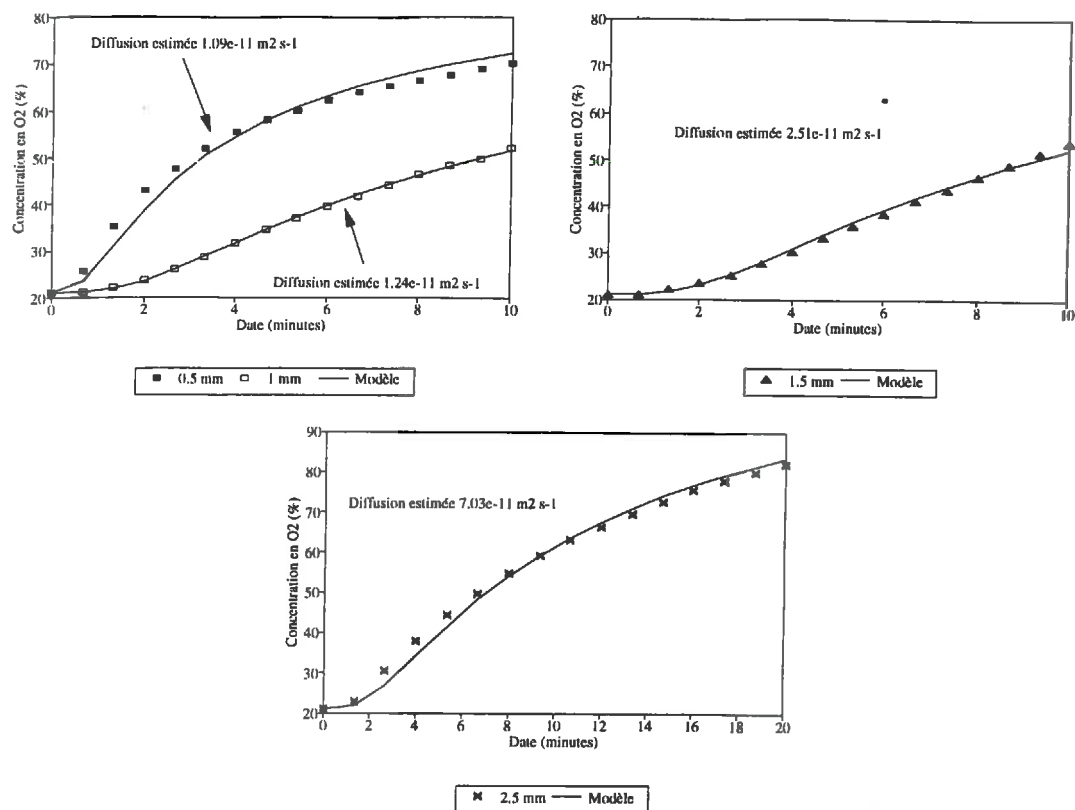


Figure 4.3: Ajustement des données expérimentales de la Figure 4.2.

Agrégat	Rayon ⁽¹⁾ (mm)	Profondeur				C.V. (%)
		0.5 mm	1.0 mm	1.5 mm	2.5 mm	
1	6.2	1.09×10^{-11}	1.24×10^{-11}	2.51×10^{-11}	7.03×10^{-11}	94
2	6.1	1.29×10^{-11}	1.78×10^{-11}	2.15×10^{-11}	-	24
3	6.4	1.62×10^{-11}	1.79×10^{-11}	1.01×10^{-11}	-	28

(1) Le rayon correspond au rayon équivalent.

Tableau 4.3: Valeurs estimées du coefficient de diffusion de l'O₂ ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) pour chacune des profondeurs analysées des agrégats naturels.

4.2.2 Discussion

Le coefficient de diffusion, tel qu'il a été estimé dans notre travail, ne relève pas d'une estimation ponctuelle mais intègre la diffusion de l'O₂ dans un volume du sol entourant le point de mesure. Ainsi, lorsque la mesure est réalisée au centre d'un agrégat, on peut considérer a priori que l'estimation du coefficient de diffusion rendra compte des caractéristiques de transfert de l'ensemble de l'agrégat. Si l'agrégat est absolument homogène, l'estimation ne dépendra pas de la position du point de mesure. C'est le cas des résultats obtenus pour les agrégats artificiels. Ces résultats montrent d'ailleurs que la Loi de Fick constitue un modèle acceptable pour décrire la diffusion de l'O₂ à l'échelle de l'agrégat lorsque ce dernier est saturé.

La variabilité des estimations au sein des agrégats naturels (CV compris entre 24% et 94%, Tableau 4.3), démontre que l'hypothèse d'homogénéité incluse dans le modèle n'est pas vérifiée. Les estimations réalisées pour les agrégats naturels ne sont a priori pas valables. En conséquence, la variabilité des coefficients estimés reflète seulement l'hétérogénéité du milieu mais elle n'est pas une quantification de la variabilité de la diffusion au sein des agrégats.

Par ailleurs, le modèle utilisé décrit la diffusion de l'O₂ pour des agrégats sphériques. Bien que les agrégats naturels aient été sélectionnés pour la régularité de leur géométrie, ils ne sont pas parfaitement sphériques. Une partie des résultats observés sur ces agrégats pourrait donc être liée à leur morphologie.

Le schéma de la Figure 4.4 peut éclairer une partie des résultats obtenus. La présence de fissures, à proximité de la région d'observation, a des effets importants sur l'évolution de la concentration de l'O₂. Si la fissure est saturée en eau, la diffusion de l'O₂ y sera environ 10 fois supérieure à celle dans le reste du volume de sol. Si la fissure est vide, elle sera 10⁵ fois plus élevée (voir Tableau 1.2). Ce phénomène peut expliquer l'existence d'inversions dans l'évolution de la concentration en O₂ en fonction de la profondeur (Fig. 4.2).

Si l'on considère que l'agrégat de la Figure 4.4 est tout à fait homogène, hormis la présence de la fissure, la diffusion "réelle" sera égale pour les trois points de mesure, alors que l'on estimera des coefficients différents en fonction de la distance à la fissure. Pour cette raison, la variabilité des estimations pour les agrégats naturels ne reflète pas la variabilité réelle de la diffusion en leur sein.

Dans le Tableau 4.3, on observe que les coefficients estimés sont similaires pour les deux premières profondeurs des agrégats N° 1 et N° 3. Même s'ils sont statistiquement différents, leur faible différence pourrait indiquer la présence d'une région "homogène" au sein de ces agrégats. Dans ce cas, bien que l'estimation ne soit pas strictement valable, les valeurs obtenues peuvent nous renseigner sur l'ordre de grandeur du coefficient de diffusion pour des régions supposées homogènes au sein des agrégats naturels.

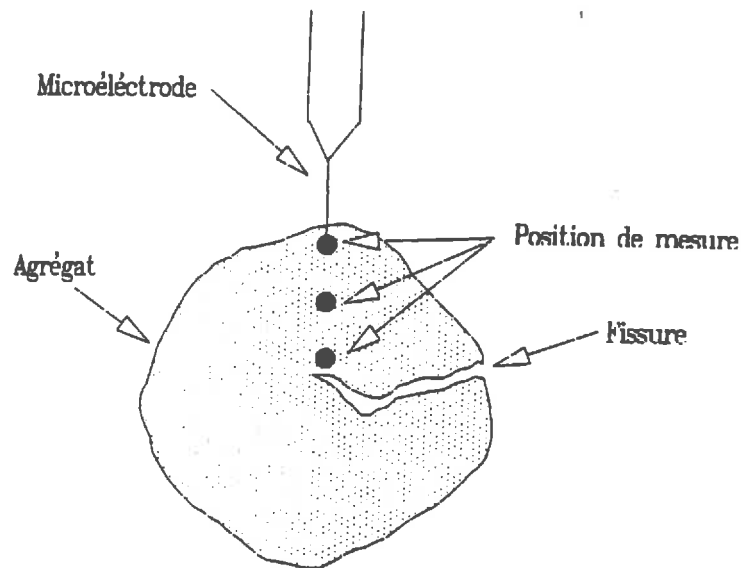


Figure 4.4: Modèle d'agrégat naturel représentant l'influence d'une fissure sur l'estimation du coefficient de diffusion de l'O₂.

La moyenne des coefficients estimés pour les deux premières profondeurs de ces agrégats est de $1.71 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (CV = 9%) pour l'agrégat N° 1 et $1.17 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (CV = 7%) pour l'agrégat N°3. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles des coefficients estimés pour les agrégats artificiels (Tableau 4.1). Ce constat est en accord avec les résultats expérimentaux de la porosimétrie au mercure (Annexe 2). Ces résultats montrent que, pour les agrégats naturels, et malgré la présence de fissures et de cavités en leur sein, une partie importante du volume de ces agrégats est semblable à celui des agrégats artificiels en termes d'assemblage de particules élémentaires et de répartition des pores. Ceci pourrait expliquer que les coefficients estimés dans des régions apparemment homogènes des agrégats naturels soient proches de ceux obtenus pour les agrégats artificiels.

Sexstone et al. (1985) ont estimé le coefficient de diffusion sur quatre agrégats naturels à l'aide de microélectrodes. Si leurs ces estimations sont converties pour prendre en compte la solubilité de l'O₂, les valeurs obtenues dans leur travail sont du même ordre de grandeur que les nôtres ($10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$). La présentation des leurs résultats ne permet pas de savoir si un type d'hétérogénéité a été observée, les auteurs ne mentionnant pas ce phénomène. Néanmoins nos résultats vont dans le même sens que ceux de Bakker et Bronswijk (1993). Ils ont trouvé aussi une forte relation entre la distribution des concentrations d'O₂ et la présence de fissures, à une échelle spatiale similaire à celle utilisée dans notre travail.

On remarquera que, dans le travail de Sexstone et al (1985), le coefficient de diffusion a été estimé dans des agrégats non stérilisés, donc dans un milieu avec consommation d'O₂. Cette procédure donne lieu à des erreurs d'estimation pouvant aller jusqu'à 60% comme nous le montrons dans l'Annexe 5.

4.3 Estimation des paramètres biologiques

4.3.1 Effet de l'oxygène et du dioxyde de carbone sur la respiration

a- Agrégats artificiels

A la Figure 4.5, nous présentons les résultats de l'expérimentation réalisée sur les agrégats artificiels ainsi que l'ajustement de l'ensemble des résultats avec l'équation de Michaelis - Menten incluant une inhibition par le CO₂ de type compétitif.

La relation entre l'inverse de la respiration et l'inverse de la concentration d'O₂ (représentation de Lineweaver et Burk, Fig. 4.5b) montre clairement que l'inhibition compétitive correspond au type d'inhibition le plus adapté à décrire nos expériences⁽¹⁾⁽²⁾. Le Tableau 4.4 montre les paramètres estimés et leurs intervalles de confiance. Compte-tenu du caractère biologique de ces paramètres, nous considérons que les limites de confiance des estimations sont forts acceptables, notamment dans le cas de R_{max} .

Néanmoins, on peut observer Figure 4.5b que, pour les plus grandes concentrations d'O₂ (côté gauche de la Fig. 4.5b), la diminution de l'inverse de la respiration est légèrement plus rapide que celle prédite par le modèle. Cela signifie que la réponse de la respiration est plus linéaire que celle estimée par le modèle.

Afin de tester la cohérence de l'ensemble de résultats, nous avons analysé séparément les séries de données obtenues avec et sans CO₂. Cela nous permet d'étudier l'effet de l'O₂ indépendamment du CO₂ afin de déterminer s'il y a des effets des gaz non décrits par le modèle. L'analyse a montré qu'il n'y a pas de différences significatives entre les estimations de R_{max} et de K_{mO_2} pour les deux séries des valeurs (Tableau 4.5). Ainsi l'ensemble des résultats peut être expliqué par la même équation et les mêmes paramètres.

(1) Afin de comparer les différents types d'inhibition utilisant cette méthode de représentation, on peut voir la Figure 3 de l'Annexe 1.

(2) Ces résultats justifient l'importance accordée à l'inhibition compétitive dans l'étude des modèles de transfert et dans l'analyse de sensibilité du Chapitre 2.

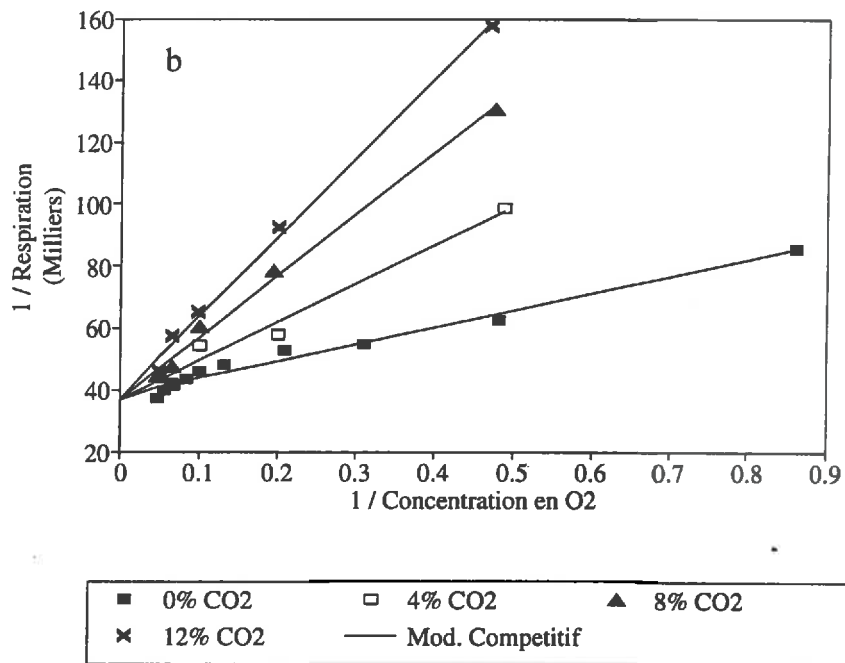
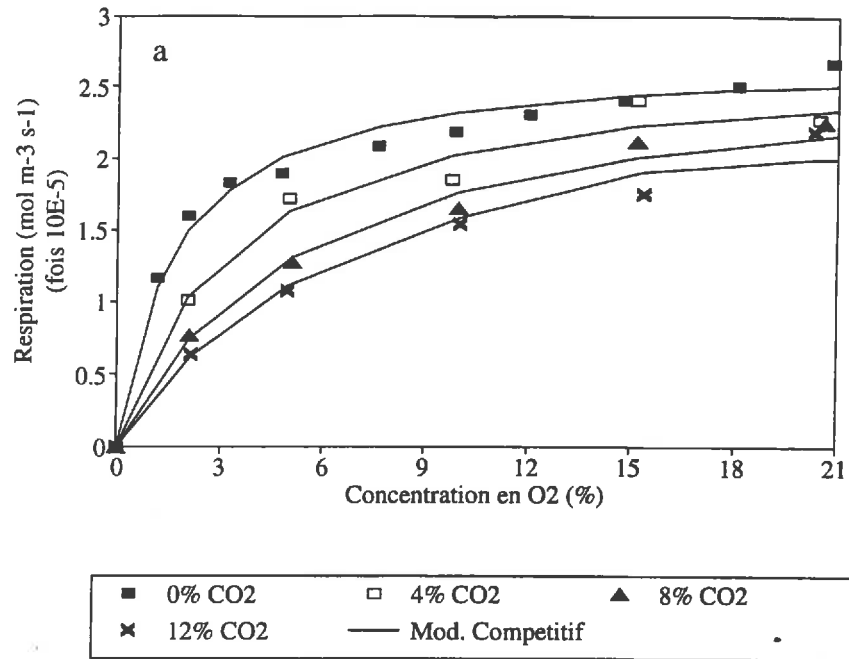


Figure 4.5: Résultats expérimentaux de l'effet de l'O₂ et du CO₂ sur la respiration des agrégats artificiels: a- Données brutes ($r^2=0.986$); b- Représentation de Lineweaver et Burk.

Paramètre	Unité	Valeur estimée	Limites de confiance
R_{max}	$\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$	2.71×10^{-5}	2.83×10^{-5} - 2.59×10^{-5}
K_{mO_2}	mol m^{-3} (%)	0.754 (1.69)	0.924-0.589 (2.07-1.32)
K_{iO_2}	mol m^{-3} (%)	1.571 (3.52)	1.982-1.161 (4.44-2.60)

Tableau 4.4: Valeurs et limites de confiance des paramètres biologiques estimés pour les agrégats artificiels.

Série de données	Nombre d'observations	R_{max} $\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$	K_{mO_2} %	K_{iO_2} %	r^2
Sans CO_2	11	2.66×10^{-5}	1.58	-	0.984
Avec CO_2	18	2.80×10^{-5}	1.92	3.72	0.985

Tableau 4.5: Valeurs des paramètres estimés pour les deux séries de données expérimentales des agrégats artificiels.

Nos résultats contrastent avec ceux obtenus par Macfadyen (1973). Cet auteur avait observé que la respiration microbienne était nulle à 9% de CO_2 dans la plupart des sols utilisés. Dans un cas, elle cessait même dès 1.7% de CO_2 . Dans notre travail, on peut observer que la respiration est encore assez importante à 12% de CO_2 , puisqu'à cette concentration la respiration est égale à 73% de la respiration à 21% d' O_2 et à 0% de CO_2 .

A 21% d' O_2 et à 0% de CO_2 , la respiration ajustée avec le modèle est égale à 93% de la respiration maximale estimée. Ainsi, la respiration maximale ne serait atteinte qu'à une concentration d' O_2 supérieure à la concentration atmosphérique d'après le modèle. Ceci est dû à la valeur élevée de K_{mO_2} . Dans le chapitre suivant, nous discuterons de la signification biologique de ce résultat et nous montrons quelques effets des concentrations d' O_2 supérieures à 21% sur la respiration microbienne.

b- Agrégats naturels

Les résultats expérimentaux obtenus sur les agrégats naturels sont très différents de ceux obtenus sur les agrégats artificiels. Ces différences concernent le niveau et la dépendance de la respiration à la concentration d'O₂, ainsi que l'existence d'un effet de stimulation par le CO₂ à faible concentration (Fig. 4.6a).

La respiration des agrégats naturels est de quatre à cinq fois plus petite que celle des agrégats artificiels. On montrera cependant que ce niveau de consommation d'O₂ varie avec la date des expériences. L'activité microbienne du sol a probablement changé depuis le prélèvement des agrégats malgré leur conservation au froid (température 4°C).

La différence la plus remarquable par rapport aux agrégats artificiels est l'existence d'une activation de la respiration par le CO₂ lorsque sa concentration est de 4%, notamment au dessus de 5% d'O₂ (Fig. 4.6a). On peut aussi observer que l'effet à 12% de CO₂ est plus marqué et que, finalement, la réponse de la respiration à l'O₂ est plus linéaire que dans le cas des agrégats artificiels. En conséquence, la représentation de Lineweaver et Burk montre que les valeurs correspondantes aux concentrations d'O₂ les plus faibles (côté droit de la Figure 4.6b) ne sont pas alignées par rapport à celles des concentrations les plus élevées. Pour ces dernières, il semble qu'une inhibition de type compétitif aux fortes concentrations de CO₂ puisse bien ajuster les données expérimentales.

Néanmoins, pour tenir compte de l'augmentation de la respiration aux faibles concentrations de CO₂, nous avons modifié l'équation originale d'inhibition compétitive par l'introduction d'une fonction empirique. Le modèle utilisé pour l'ajustement est:

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

avec

$$f(C_{CO_2}) = 1 - aC_{CO_2} + bC_{CO_2}^2 \quad [2]$$

où a et b sont des constantes empiriques. L'ajustement obtenu avec ce modèle est présenté aux Figures 4.6a et 4.6b. Les paramètres estimés et les intervalles de confiance sont montrés dans le Tableau 4.6.

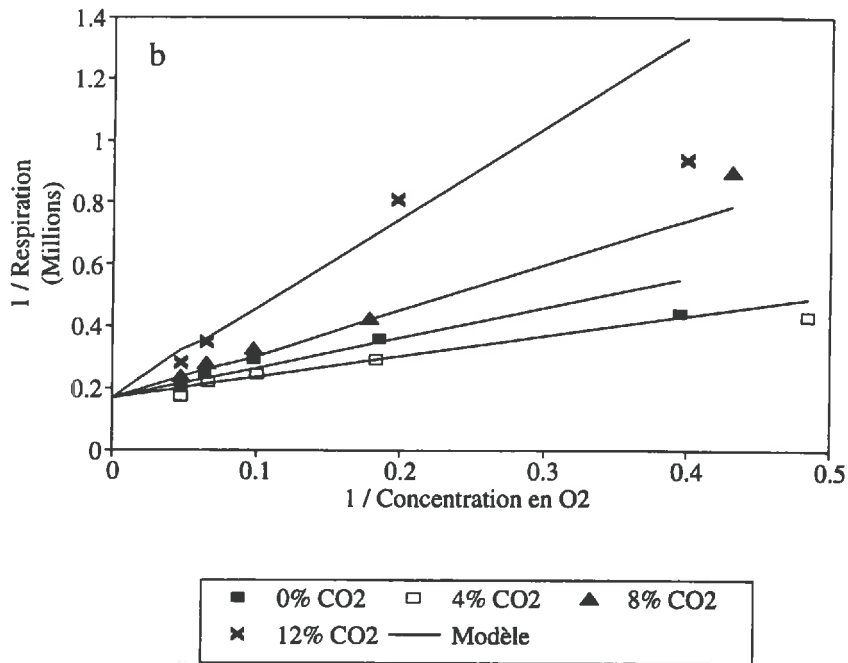
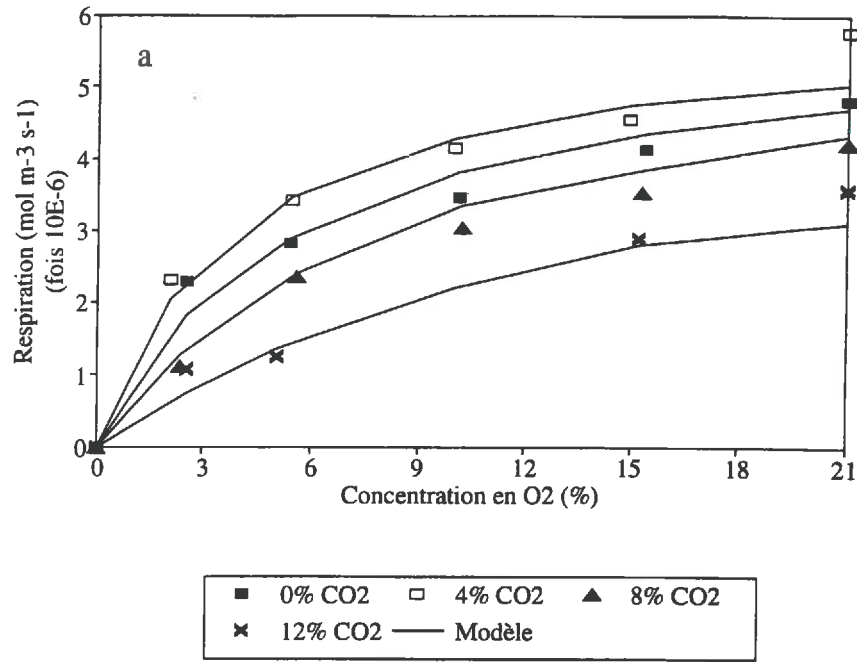


Figure 4.6: Effet de l'O₂ et du CO₂ sur la respiration des agrégats naturels: a- Données brutes ($r^2=0.950$); b- Représentation de Lineweaver et Burk.

Paramètre	Unité	Valeur estimée	Limites de confiance
R_{max}	$\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$	6.00×10^{-6}	$6.75 \times 10^{-6} - 5.25 \times 10^{-6}$
K_{mO_2}	$\text{mol m}^{-3} (\%)$	2.589 (5.80)	3.633-1.549 (8.14-3.47)
a	1/%	0.237	0.346-0.126
b	$(1/\%)^2$	0.038	0.051-0.025

Tableau 4.6: Valeurs et limites de confiance des paramètres biologiques estimés pour les agrégats naturels.

L'ajustement est satisfaisant particulièrement à partir de 5% d'O₂. Néanmoins, les intervalles de confiance des estimations sont plus larges que ceux des agrégats artificiels, principalement pour le K_{mO_2} .

La Figure 4.6b montre que le modèle conserve les caractéristiques de la formulation de Michaelis - Menten avec une inhibition compétitive: les droites obtenues se coupent sur l'axe des ordonnées au même point égal à $1 / R_{max}$ (voir Annexe 1). A 0% de CO₂, $f(C_{CO_2})$ est égal à 1, et l'Equation [1] redonne l'équation de Michaelis - Menten sans inhibition, ce qui nous permet de conserver la dénomination et la définition du K_{mO_2} . Si $f(C_{CO_2}) < 1$, la respiration augmente par rapport à celle correspondant à 0% de CO₂, ce que correspond à une activation. Inversement, la respiration diminue $f(C_{CO_2}) > 1$.

4.3.2 Respiration à 21% d'oxygène et 0% de dioxyde de carbone des agrégats naturels de différentes tailles

La Figure 4.7 montre l'absence de différences de respiration entre les tailles d'agrégats. Comme le protocole expérimental utilisé visait à ne pas limiter la respiration à cause des transferts gazeux (agrégats brisés et non saturés) ou par les concentrations imposées, nous pouvons supposer que la respiration mesurée est un indice très proche de R_{max} , tel qu'il est défini dans l'équation de Michaelis - Menten. Pour cette raison, la consommation d'O₂ mesurée dans cette expérience est très semblable à celle obtenue aux mêmes concentrations gazeuses pour les petits agrégats naturels dans l'expérimentation présentée ci-dessus (Fig. 4.6a). On peut donc admettre a priori que les résultats présentés à la Figure 4.7, indiquent que le R_{max} des agrégats naturels ne varie pas en fonction de leur taille.

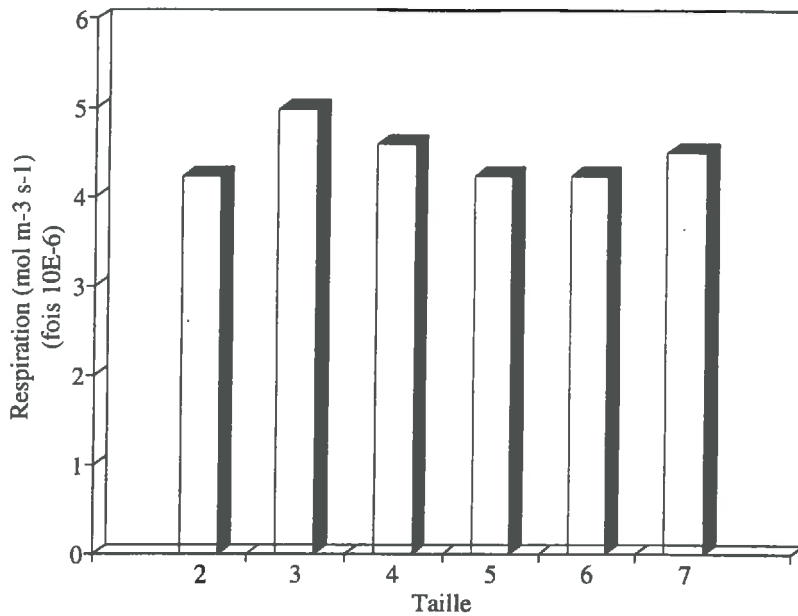


Figure 4.7: Respiration d'agrégats naturels de différentes tailles placés à 21% d'O₂ et 0% de CO₂ (agrégats brisés).

4.3.3 Production de dioxyde de carbone en condition anoxique

Sur la Figure 4.8, nous montrons l'évolution de la concentration du CO₂ pour des agrégats artificiels de 1 à 2 mm de rayon placés en conditions d'anoxie. L'ordre de grandeur de la production apparente de CO₂ (2×10^{-6} mol CO₂ m⁻³s⁻¹) était semblable à celui observé pour des agrégats tout à fait aérobies (Chapitre 5), mais il est très inférieur à celui reporté pour des agrégats en état d'anoxie par Seech et Beauchamp (1988). Ce résultat peut être lié à l'absorption du CO₂ par le sol. Ce phénomène est discuté ci-dessous.

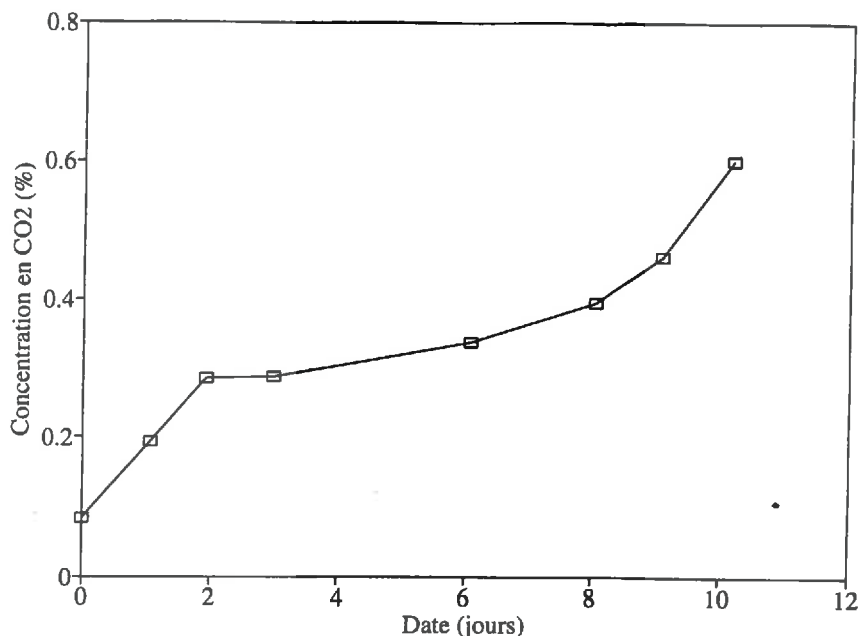


Figure 4.8: Evolution de la concentration de CO₂ pour des agrégats artificiels de 1-2 mm de rayon placés en conditions d'anoxie.

4.3.4 Evolution de l'anoxie au cours du temps

A la Figure 4.9a sont montrés plusieurs profils d'O₂ mesurés à différentes dates sur un même agrégat artificiel de 12 mm de rayon saturé en eau. On remarque que le profil d'O₂ change avec le temps. Ainsi, la profondeur à laquelle la concentration d'O₂ devient nulle augmente; le volume anoxique diminue avec le temps (Fig. 4.9b).

Ce changement du profil d'O₂ et de l'anoxie au sein de l'agrégat, n'est pas une conséquence du régime transitoire du système tel qu'il a été discuté auparavant. Nous avons montré que la durée de la phase transitoire était de l'ordre de quelques heures dans un agrégat de cette taille (voir par exemple la Fig. 2.2b). En Figure 4.9b on peut observer qu'il y a une évolution continue du volume anoxique au sein de l'agrégat et que, même après 40 jours, il ne semble pas avoir atteint une valeur d'équilibre.

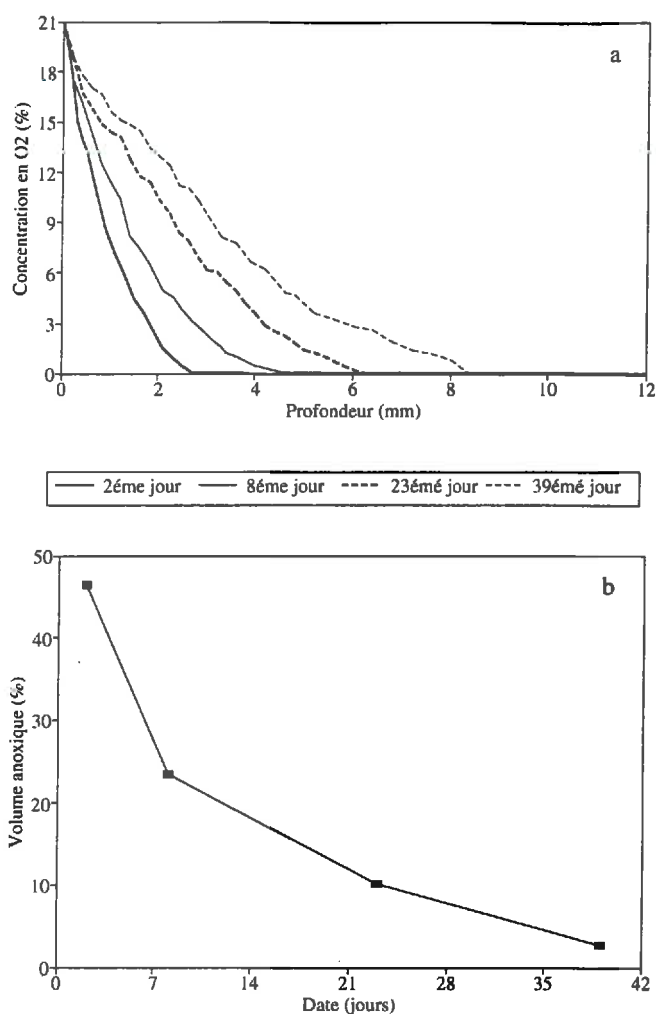


Figure 4.9: Suivi (a) du profil d'O₂ et (b) du volume anoxique d'un agrégat artificiel de 12 mm de rayon saturé en eau.

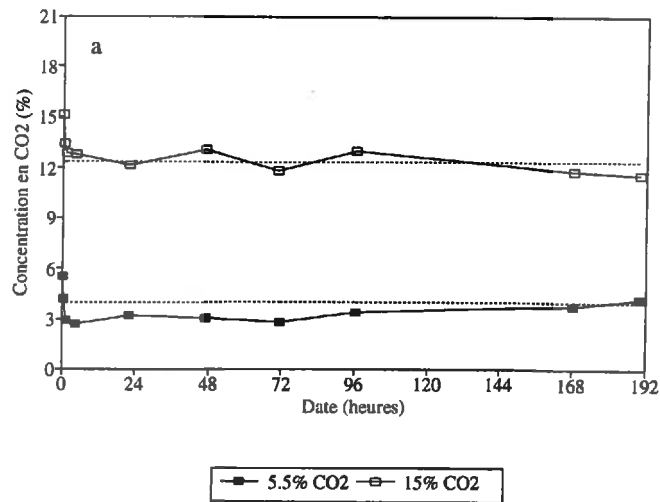
4.3.5 Absorption de dioxyde de carbone

La Figure 4.10a montre l'évolution des concentrations en CO₂ pour des agrégats artificiels de 1 à 2 mm de rayon, mesurée lors de deux expériences présentant des concentrations initiales contrastées. Cette démarche se veut plus une mise en évidence du phénomène qu'une étude rigoureuse sur le processus d'absorption, car l'évolution des concentrations en CO₂ est un bilan entre l'absorption et la libération de ce gaz par la respiration.

La diminution brutale de la concentration de CO₂ aux premières heures de l'expérience, montre clairement que l'absorption est le processus le plus important au cours de cette période

initiale (Fig. 4.10a). Comme pour cette expérience nous avons utilisé de petits agrégats, on peut admettre que l'eau qu'ils contiennent est rapidement en équilibre avec la concentration imposée (V. Valles, comm. pers.). Après avoir été rapidement absorbé le CO_2 atteint, au bout de cinq heures, une concentration qui reste à peu près constante pendant plusieurs jours. L'accroissement de la concentration en CO_2 vers la fin de l'expérience pour la concentration de 5.5%, pourrait être expliquée par le CO_2 libéré par la respiration.

Les lignes pointillées de la Figure 4.10a correspondent aux concentrations théoriques à l'équilibre entre l'eau des agrégats et le CO_2 gazeux. Le calcul a été réalisé sur la base de l'absorption théorique du sol pour les caractéristiques chimiques effectivement mesurées (cf. Chapitre 3) et pour les conditions de l'expérimentation (volume d'air et de l'eau)⁽³⁾. On note qu'il y a un bon accord entre valeurs théoriques calculées et concentrations de CO_2 dans l'atmosphère du flacon, quand celles-ci atteignent une valeur à peu près constante. De plus, on observe que l'absorption est relativement plus importante pour la concentration initiale la plus petite (Fig. 4.10b). Cette observation est aussi en accord avec la théorie.



(Figure 4.10a)

(3) Le calcul a été fait à l'aide du programme AQUA (Valles et de Cockborne, 1992); voir le Chapitre 2 et l'Annexe 2 pour plus de détails sur les équations utilisées, le programme et les résultats théoriques obtenus.

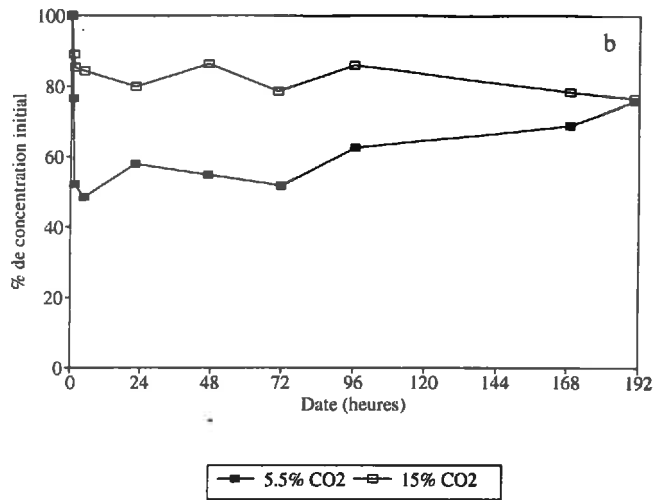


Figure 4.10: Résultats expérimentaux sur le pouvoir d'absorption du CO_2 : a- Variation de la concentration du CO_2 avec le temps; b- Concentration relative par rapport à la teneur initiale.

4.3.6 Oxydation des concrétions

Nous n'avons observé de consommation d' O_2 que pour des concrétions cassées et pour les concentrations d' O_2 supérieures à 21% (Fig. 4.11). Il semble que cette consommation soit mesurable uniquement si la région réduite de la concrétion est exposée à de grandes concentrations d' O_2 . Ceci peut être lié à de phénomènes biologiques et non biologiques (V. Valles, comm. pers.).

Sachant que le volume des concrétions représente seulement 0.5% du volume total du sol, la consommation d' O_2 par les concrétions peut être négligée face à la respiration microbienne, notamment au-dessous de 21% d' O_2 .

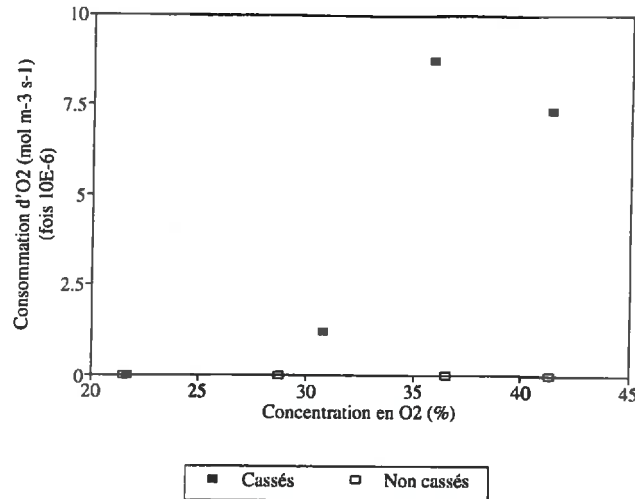


Figure 4.11: Mesure de la consommation d'O₂ par les concrétions.

4.3.7 Discussion

a- Inhibition ou effet autre du dioxyde de carbone ?

L'équation de Michaelis - Menten incluant une inhibition compétitive, partiellement modifiée pour les agrégats naturels, nous a permis de bien ajuster les résultats issus de l'expérimentation. La question qui se pose est de savoir si le modèle décrit les mécanismes réels d'action de l'O₂ et du CO₂ et, par voie de conséquence, s'il est possible d'étendre ces résultats à d'autres situations. Pour répondre à ces questions, trois aspects doivent être considérés:

- l'échelle d'application de la Loi de Michaelis - Menten;
- le sens physique de l'inhibition compétitive;
- les effets indirects du CO₂.

La loi de Michaelis - Menten a été proposée pour décrire l'activité enzymatique où la réaction catalysée est seulement limitée par la concentration du substrat. Postérieurement, cette loi a aussi été utilisée pour modéliser des processus à des échelles supérieures à l'enzymatique: consommation d'O₂ au niveau cellulaire (McElwain, 1978), croissance bactérienne en fonction de l'O₂ et de l'azote (Martin, 1978; Leffelaar et Wessel, 1988), respiration des fruits (Lee et al., 1991), dénitrification dans le sol (Kohl et al., 1976; McConnaughey et Bouldin, 1985a; Arah et Smith, 1989; Grant, 1991), etc. Evidemment, la validité de la loi de Michaelis - Menten à des échelles autres que l'enzymatique est fonction de diverses variables: présence d'autres facteurs limitants et interactions, variabilité biologique des organismes qui réalisent le processus (Kohl et al., 1976).

Dans notre cas, la réponse de la consommation d'O₂ aux concentrations d'O₂ et de CO₂ imposées est fonction de l'ensemble des microbes aérobies présents dans le sol. On a déjà montré que les effets du CO₂ peuvent varier énormément entre les différentes espèces de microbes (cf. Chapitre 1). Par ailleurs, il est probable que cette hétérogénéité puisse être considérée non seulement comme quantitative (p.e., variation de K_{mO_2} et/ou de K_{iO_2} entre les espèces) mais aussi qualitative du fait du changement des mécanismes d'action (p.e., variation du type d'inhibition, Enfors et Molin, 1980; effets d'inhibition et de stimulation). Pour les agrégats naturels, il est clair que la fonction empirique qui décrit les effets du CO₂ ne peut pas être directement utilisée dans d'autres situations, car elle prend en compte des mécanismes qui agissent probablement à différents niveaux du métabolisme cellulaire et/ou sur des populations microbiennes différentes.

L'observation d'un effet stimulateur sur les agrégats naturels nous conduit à nous demander si ce phénomène est aussi présent dans les agrégats artificiels. L'existence de cet effet est possible si les concentrations à effet stimulant sont beaucoup plus petites que la concentration la plus petite ayant été testée dans l'expérimentation. A cause de la diversité microbienne, il est assez probable que coexiste des phénomènes d'inhibition et de stimulation à une même concentration de CO₂. Dans ce cas-là, la réponse de la respiration doit être considérée comme un bilan entre les deux processus dont les importances respectives varient en fonction des concentrations relatives des gaz. L'activation de la respiration microbienne par le CO₂ avait déjà été observée sur *Pseudomonas fluorescens* par Gill et Tan (1979) sans que ces derniers puissent l'expliquer.

Les résultats obtenus montrent que la manipulation du sol, associée à la fabrication des agrégats artificiels, a modifié ses caractéristiques biologiques. Le protocole de fabrication de ces agrégats inclut une phase de saturation en eau (environ 2 jours) puis une phase de séchage (environ 5 jours): il est probable que la population microbienne ait varié au cours de ces périodes. Nos résultats d'activité biologique au sein des agrégats montrent qu'une évolution très importante de celle-ci peut avoir lieu dans l'espace de quelques jours (cf. Annexe 7). Cette variation apparente des caractéristiques biologiques du sol, a suffi pour que la respiration microbienne doive être décrite par des modèles spécifiques au type d'agrégat. Toutes ces considérations mettent en évidence la difficulté de donner un sens biologique précis aux formulations mathématiques utilisées.

Outre l'effet direct qu'il peut avoir sur la respiration, le CO₂ pourrait aussi agir indirectement sur la respiration, soit en affectant la croissance microbienne, soit en affectant le pH et les déplacements des équilibres physico-chimiques associés au pH. Ces effets pourraient par ailleurs être différents en fonction des populations microbiennes. Nos résultats n'ont pas mis néanmoins en évidence ce type d'action du CO₂. En effet, il semble que ces processus devraient provoquer probablement un changement de la respiration maximale en fonction de la concentration de CO₂. Dans ce cas-là les résultats seraient peut-être plus proches de l'inhibition

de type non-compétitif ou "un-compétitive" (voir par exemple Annexe 1). Par ailleurs, nous avons montré pour les agrégats artificiels que le R_{max} estimé ne varie pas entre les séries de résultats obtenus sans ou avec CO_2 .

Dans l'Annexe 2 nous montrons que le pH diminue de 7.9 à 6.6 en théorie, quand la concentration du CO_2 extérieure aux agrégats varie de la concentration atmosphérique à 12%. Probablement, le pH n'affecte pas de façon importante l'activité respiratoire du sol dans cette gamme (G. Soulas, comm. pers.).

Aussi, bien que le schéma d'inhibition compétitive soit utile pour décrire la consommation d' O_2 , la complexité du métabolisme du CO_2 et la diversité des populations microbiennes dans le sol ne nous permettent pas à ce stade de l'étude d'affirmer qu'il correspond à un mode d'action réel.

b- Les valeurs estimées de K_{mO_2}

Les valeurs estimées de K_{mO_2} sont relativement importantes et 100 fois plus grandes que celles reportées pour des cultures pures (Greenwood, 1961; Grant, 1991). Il est intéressant de remarquer qu'un phénomène similaire est décrit pour la dénitrification en relation à l'utilisation de NO_3^- . En effet, le K_{mNO_3} que l'on trouve dans des cultures pures est jusque 6000 fois plus petit que celui estimé dans les sols (Myrold et Tiedje, 1985; Tiedje, 1988; Henault, 1993). Dans ce cas, il semble que l'écart soit dû à la diffusion limitante du NO_3^- vers les régions anoxiques du sol. Dans ces cas, la valeur de K_{mNO_3} ne représenterait pas la vraie constante d'affinité entre le substrat et l'enzyme.

Dans notre travail, nous avons songé à éviter un phénomène similaire. Pour cette expérimentation, nous avons utilisé des petits agrégats (1 à 2 mm de rayon) à 90% de la saturation en eau. Il n'y a pas dans la littérature d'information expérimentale reliant le coefficient de diffusion et le taux de saturation au niveau de l'agrégat. Néanmoins, Collin et Rasmuson (1988) montrent que le coefficient de diffusion de l' O_2 d'un sol non-agrégé augmente environ 100 fois quand le taux de saturation en eau varie de 100% à 90%. Nos calculs ont montré que, pour cette variation du taux de saturation, une augmentation de 10 fois par rapport au coefficient de diffusion que nous avons obtenu (cf. 4.2.1.a) suffit pour avoir un gradient de concentrations gazeuses négligeables au sein des agrégats de 2 mm de rayon, pour toute la gamme de concentrations extérieures utilisées dans notre travail. Nous pouvons donc admettre que, dans notre cas, le protocole expérimental a permis aux concentrations gazeuses de rester constantes au sein des agrégats et dans tout le volume du flacon: l'ensemble des microbes a été soumis aux mêmes concentrations d' O_2 et de CO_2 .

Nous pensons que les valeurs de K_{mO_2} trouvées sont probablement liées au fait que la cinétique de Michaelis - Menten ne décrit pas le véritable effet de l' O_2 sur la respiration à notre échelle de travail: le K_{mO_2} ne correspondrait pas uniquement à une constante d'affinité substrat-enzyme. En ce sens, Kohl et al. (1976) ont démontré que, pour la dénitrification, des mécanismes très différents peuvent donner lieu à des résultats très proches de ceux issus de la cinétique michaelienne. Les auteurs en ont conclu que, bien que l'équation de Michaelis - Menten puisse être utilisée afin de réaliser des estimations, on ne peut pas en déduire le mécanisme réel du processus.

c- Conséquences de la physico-chimie du dioxyde de carbone au niveau de l'agrégat

La physico-chimie du CO_2 dans le sol a des conséquences non négligeables sur notre travail. D'une part, elle nous empêche de mesurer la vraie production de CO_2 , nous obligeant en cela à faire des hypothèses afin de quantifier sa concentration au sein des agrégats.

D'autre part, la modélisation des effets du CO_2 sur la respiration est basée sur des expériences où la variable explicative est le CO_2 de l'air ambiant en équilibre avec différentes formes de CO_2 dans la solution du sol. Comme la concentration en CO_2 dissous est légèrement plus faible que la concentration imposée, le véritable effet du CO_2 est plus fort que celui estimé par le K_{iO_2} . Ces considérations ne changent pas la validité de la modélisation réalisée sur les effets du CO_2 . Dans l'Annexe 2, nous proposons une méthode de correction des concentrations du CO_2 tenant en compte des équilibres physico - chimiques. Le problème principal par rapport au modèle de transfert demeure cependant l'estimation de la production de CO_2 au sein de l'agrégat. Une mauvaise estimation du CO_2 peut entraîner des erreurs dans le calcul de la consommation d' O_2 et donc de l'anoxie au sein des agrégats.

d- Evolution de la respiration maximale

Le changement du profil d' O_2 et de l'anoxie au cours du temps est lié à la diminution progressive de l'activité microbienne dans l'agrégat. Il est bien connu que la réhumectation d'un sol sec s'accompagne d'une reprise très brutale de l'activité biologique qui devient progressivement plus faible (Verdier, 1975; Orchard et Cook, 1983; Rochette et al., 1991; Sierra, 1992). Ce processus est généralement attribué à la consommation du carbone de la biomasse morte avec le séchage du sol. Cette source carbonée est facilement métabolisée et est utilisée rapidement par les micro-organismes.

Dans la suite de notre travail, nous avons admis que la diminution de la quantité de carbone disponible entraîne une diminution de la respiration maximale R_{max} et donc du volume anoxique. En conséquence, le R_{max} estimé est seulement valable pour les conditions de l'expérimentation, c'est à dire pour des agrégats placés deux semaines à saturation et à 20°C.

Pour les agrégats naturels, la comparaison des résultats de respiration présentés dans ce chapitre et de ceux qui seront montrés dans le prochain, nous conduit à considérer aussi l'existence d'une évolution de R_{max} au cours de notre travail.

4.4 Conclusions du Chapitre 4

L'utilisation d'agrégats artificiels dans notre travail avait pour but l'analyse des modèles de transfert gazeux sur un matériel physiquement homogène. Les résultats de la diffusion de l'O₂ obtenus sur ces agrégats rendent compte de cette hypothèse d'homogénéité et qu'il est a priori possible d'analyser le transfert gazeux en une dimension. En revanche, pour les agrégats naturels, la présence d'hétérogénéités nécessite une description des transferts de gaz en trois dimensions. Même si une partie du volume de ces agrégats est homogène vis-à-vis des transferts, il apparaît évident que la présence d'une fissure (comme dans le cas de la Fig. 4.4) peut avoir des grands effets sur l'existence et la localisation de l'anoxie.

Un modèle tridimensionnel peut être utile pour l'étude théorique de l'influence des hétérogénéité sur les transferts. Néanmoins, son utilisation pour expliquer des résultats expérimentaux des profils d'O₂ ou de respiration d'un ensemble d'agrégats sera probablement difficile: il faudra décrire le type d'hétérogénéité, sa localisation et ses caractéristiques de transfert. Dans le cadre de notre travail, une simplification doit être faite, en considérant que la valeur du coefficient de diffusion peut décrire le fonctionnement moyen d'un ensemble d'agrégats. Ceci est le cas des expériences de respiration globale.

Des résultats sur la respiration, nous retiendrons trois aspects essentiels en relation à notre objectif. D'abord, la formulation mathématique utilisée décrit d'une façon satisfaisante les effets de l'O₂ et du CO₂ sur l'activité respiratoire. Deuxièmement, l'évolution de cette activité dans le temps pose le problème de l'hypothèse d'équilibre biologique temporel dans le sol, et des variables qui interviennent. Troisièmement, les équilibres physico-chimiques ayant un effet non négligeable sur le métabolisme du CO₂, doivent être considérés dans le modèle de transfert.

On peut résumer ces trois aspects en disant qu'à présent nous sommes bien placés pour obtenir une bonne estimation des effets des gaz sur l'activité biologique, mais que nous ne connaissons pas les mécanismes par lesquels ils agissent. Sachant que les modèles de

transfert sont beaucoup plus sensibles à R_{max} qu'à l'effet du CO_2 , l'estimation de l'activité respiratoire est indubitablement le problème le plus délicat. Il apparaît nécessaire de considérer cette estimation comme une fonction de la date d'expérimentation.

CHAPITRE 5

Respiration globale des agrégats. Résultats expérimentaux et test des modèles

5.1 Introduction

Ce chapitre a un double objectif:

- la présentation des résultats portant sur la respiration globale des agrégats artificiels et naturels;
- un premier test du modèle et de ses différentes variantes au moyen de ces données.

Pour des raisons déjà discutées (cf. 2.3.2), ce test ne donne pas d'information définitive sur la validité du modèle. Cependant, il permet de bien discriminer entre ses variantes à partir de la respiration d'agrégats de petites tailles. Le rapport expérience-modèle présenté dans ce chapitre doit donc nous servir principalement à:

- évaluer le degré d'amélioration du modèle produit par le changement de la fonction biologique (effets de l'O₂ et du CO₂) et par la prise en compte des équilibres physico-chimiques du CO₂;
- réaliser une première discrimination entre modèles;
- étudier les écarts entre l'expérience et les simulations après calage des paramètres pour déceler d'éventuels processus non pris en compte dans le modèle ou pouvant

varier d'une situation à une autre (p.e. en fonction de la taille ou de la concentration en O_2).

Ce chapitre est complété par l'Annexe 6, où nous analysons les répercussions de la variabilité de la respiration globale sur le test du modèle au moyen de ce type de données.

5.2 Respiration globale des agrégats artificiels

5.2.1 Consommation d'oxygène

La Figure 5.1 montre les résultats de respiration globale des agrégats artificiels. On constate que la variation de la respiration en fonction de la concentration d' O_2 est assez régulière pour les trois tailles analysées. Le classement des trois tailles ne varie pas avec la concentration d' O_2 . Ainsi, l'effet de la taille de l'agrégat serait plus important que la variabilité inter-agrégats et que l'erreur de mesure.

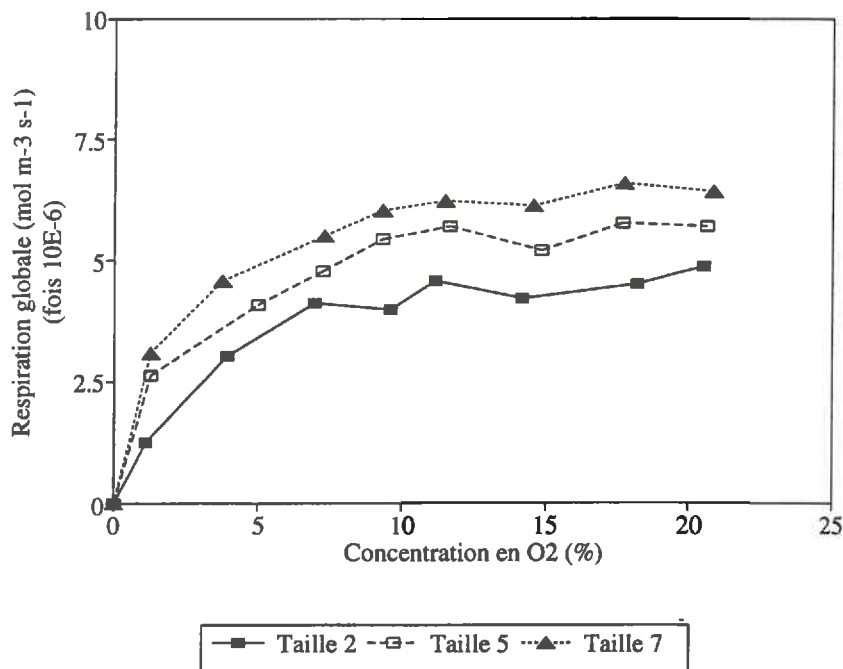


Figure 5.1: Respiration globale des agrégats artificiels.

Par ailleurs, l'augmentation de la respiration est assez faible pour des concentrations supérieures à 10% d'O₂ (Fig. 5.1). Enfin, la respiration globale estimée pour la taille la plus petite (rayon 3 mm) est 5 fois plus petite que celle obtenue pour les agrégats artificiels de 1-2 mm dans l'expérimentation visant à analyser les effets de l'O₂ et du CO₂ (cf. 4.3.1.a). Cet écart peut être lié à l'évolution de la respiration maximale mentionnée auparavant. En effet, l'influence de l'O₂ et du CO₂ a été étudiée deux semaines après réhumectation des agrégats. Au contraire, l'expérimentation présentée ici a été réalisée deux mois environ après cette même réhumectation.

5.2.2 Production apparente de dioxyde de carbone et Quotient Respiratoire (QR)

a- Valeurs observées

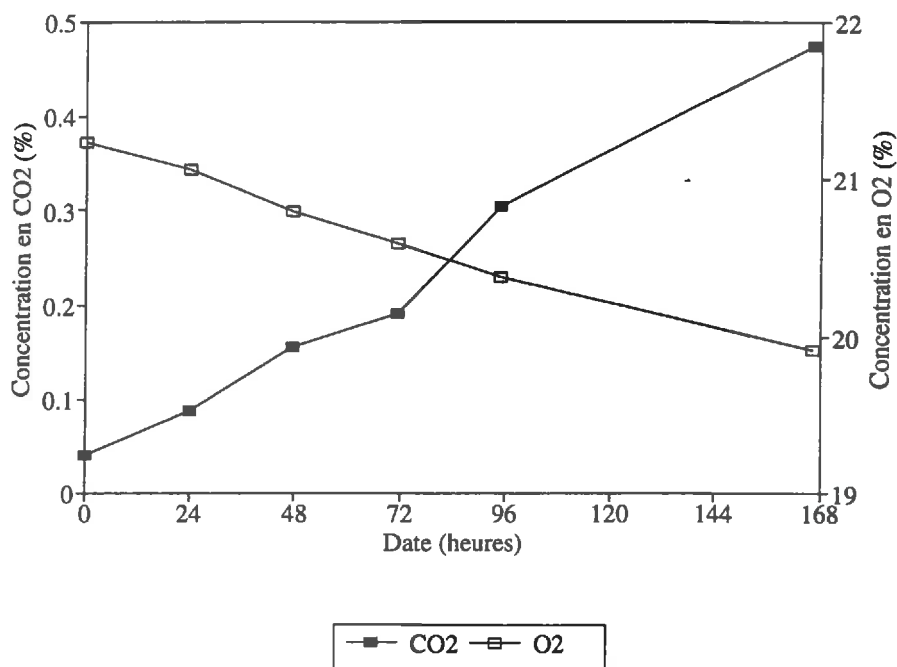
La production apparente de CO₂ est faible par rapport à la consommation d'O₂. La Figure 5.2 montre un exemple d'évolution des concentrations de ces gaz. Pour cet exemple, le QR apparent est égal à 0.33⁽¹⁾. Pour l'ensemble de l'expérience, la valeur du QR apparent est comprise entre 0.3 et 0.65. Aucune relation n'a pu être établie entre le QR et la taille des agrégats ou la concentration d'O₂. D'après les profils d'O₂ obtenus (cf. Chapitre 6), le résultat montré dans la Figure 5.2 correspond à des agrégats totalement aérobies. Par ailleurs, les calculs que nous présentons ci-dessous (cf. 5.4) montrent que, sauf pour les concentrations d'O₂ les plus faibles (< 3%) et pour les agrégats de 12 mm de rayon, l'expérience aurait été réalisée sur des agrégats en état d'aérobiose à cause de leur faible respiration. Il apparaît donc que, dans la plupart de cas, les QR estimés correspondent à un système totalement oxygéné.

La comparaison de la production apparente de CO₂ mesurée dans cette expérience, est du même ordre de grandeur que celle déjà présentée pour des agrégats placés en condition d'anoxie totale. Il semble donc que la production de ce gaz soit similaire en conditions d'aérobiose et d'anaérobiose.

Les valeurs de QR observés sont plus faibles que celles rapportées dans la bibliographie pour divers systèmes biologiques. Par exemple, il est compris entre 0.7 et 1.3 pour l'activité respiratoire des fruits (Kader et al., 1989; Beaudry, 1992). Bridge et Rixon (1976) ont observé que la valeur du QR était de l'ordre de 2 pour des sols à 90% de la saturation en eau et qu'elle diminuait progressivement avec l'augmentation du volume des pores occupés par l'air. Les auteurs expliquent ces résultats par le développement de régions anoxiques aux fortes teneurs

(1) Nous rappelons que le QR est le rapport entre le CO₂ produit et l'O₂ consommé par l'activité biologique. Le QR apparent est une estimation du QR réel. Il peut être calculé par le rapport des flux de sortie du CO₂ et d'entrée de l'O₂, et, en conséquence, au moyen des variations extérieures des concentrations de ces gaz.

en eau et par la production de CO_2 dans ces régions contrairement à l' O_2 qui est consommé seulement dans le volume oxygéné du sol. Dans notre travail, ce pourrait être le cas des agrégats les plus grands et/ou des concentrations d' O_2 les plus petites. Cependant, nous n'avons jamais obtenu de QR apparent supérieur à 0.65.



*Figure 5.2: Evolution des concentrations d' O_2 et de CO_2
(l'exemple correspond aux agrégats artificiels de la Taille 5 placés à 21% d' O_2).*

Par ailleurs, nos calculs montrent que 25% seulement de la variation des QR observés pouvait être attribuée à l'erreur d'estimation faite sur les pentes des régressions linéaires des concentrations gazeuses en fonction du temps. D'autres facteurs sont donc responsables de la variation des QR observés.

Leffelaar (1986) a estimé sur un sol partiellement anoxique un QR apparent de 1. L'auteur considère que cette valeur sous-estime le QR réel car le système n'est pas en régime permanent. Selon l'auteur, la solubilité plus grande du CO_2 par rapport à celle de l' O_2 détermine que le premier soit plus "retenu" dans la solution du sol. En conséquence, pendant la phase transitoire, le flux de sortie du CO_2 est inférieur à celui d'entrée de l' O_2 et le QR est sous-estimé. Cependant, nos valeurs de QR apparent ne sont pas dues à la phase transitoire de notre système. Nous avons montré que la durée de cette phase était de l'ordre de 2 heures pour

un agrégat de 12 mm de rayon. Cette période est négligeable par rapport à celle de l'expérimentation (une semaine).

Nous montrons ci-dessous que la solubilité du CO₂ joue un rôle important sur l'estimation du QR.

b- Interprétation des valeurs de QR

Deux facteurs contribuent à l'obtention de nos faibles valeurs de QR apparent: les caractéristiques physico-chimiques du sol et le protocole expérimental. Verdier (1975) a observé que les QR estimés à 21% d'O₂ pour un sol calcaire (pH 7.6, 17% en calcaire) étaient de l'ordre de 0.3-0.6 contre 0.8 pour un sol acide podzolique. Pourtant, le sol calcaire présentait une plus grande consommation d'O₂ et une activité biologique beaucoup plus importante que celle du sol acide. Ce travail montre que la nature chimique du sol peut influencer considérablement la valeur du QR estimé. Le deuxième facteur à considérer est notre système expérimental. Dans nos expériences, les concentrations extérieures d'O₂ et de CO₂ ne sont pas constantes: elles varient avec le temps.

Nous avons réalisé quelques calculs afin de cerner l'influence de ces deux facteurs sur l'estimation du QR estimé à partir de la variation des concentrations des gaz à l'extérieur des agrégats (QR_{ap}). Le calcul correspond à un agrégat saturé en eau et en équilibre avec l'atmosphère d'une enceinte fermée où les concentrations gazeuses varient au cours du temps. Dans cette situation, nous avons:

$$QR_r \times (\Delta q_{O_2air} + \Delta q_{O_2sol}) = \Delta q_{CO_2air} + \Delta q_{CO_2sol} \quad [1]$$

où QR_r est le QR réel de l'activité biologique, Δq_{O_2air} et Δq_{CO_2air} correspondent aux variations des quantités d'O₂ et de CO₂ dans l'air entourant les agrégats, Δq_{O_2sol} et Δq_{CO_2sol} correspondent aux variations des quantités de ces gaz dans les agrégats. Comme la solubilité de l'O₂ est faible, la quantité de ce gaz dans les agrégats est très petite par rapport à la quantité totale de ce gaz dans le système. Par exemple, pour un rapport "Volume d'air/Volume du sol" égal à 4 et pour une concentration de 21% d'O₂ uniforme dans l'air et en équilibre avec celle des agrégats, la quantité d'O₂ à l'intérieur de ces derniers est égale à 0.3% environ de l'O₂ total. Ceci n'est pas le cas du CO₂ qui a une solubilité 30 fois plus grande que celle de l'O₂. Pour le même rapport "Volume d'air/Volume du sol" et pour une concentration de 1% uniforme dans

tout le système, le CO_2 dans le sol représente 8% environ du CO_2 total. Par la suite, nous négligerons la quantité d' O_2 des agrégats et l'Equation [1] devient:

$$QR_r \times \Delta q_{O_2air} = \Delta q_{CO_2air} + \Delta q_{CO_2sol} \quad [2]$$

Dans notre système fermé, le QR_{ap} est calculé de la manière suivante:

$$QR_{ap} = \frac{\Delta q_{CO_2air}}{\Delta q_{O_2air}} \quad [3]$$

D'après les Equations [2] et [3], le QR_{ap} est donc inférieur au QR_r .

Le QR_{ap} diminue avec l'accroissement de la fraction du CO_2 stockée dans l'agrégat. Cette fraction (q_{CO_2sol}/q_{CO_2tot}), peut être approchée par l'expression suivante (sans considérer les gradients de concentration à l'intérieur des agrégats):

$$\frac{q_{CO_2sol}}{q_{CO_2tot}} = \frac{V_{sol} \times \varepsilon \times S_{CO_2} \times C_{eq}}{(V_{sol} \times \varepsilon \times S_{CO_2} \times C_{eq}) + V_{air}} \quad [4]$$

où V_{sol} est le volume d'agrégats, ε la porosité, S_{CO_2} la solubilité du CO_2 , V_{air} le volume d'air et C_{eq} est un terme qui prend en compte la physico-chimie du CO_2 :

$$C_{eq} = \frac{C_{c-T}(aq)}{CO_2(aq)} \quad [5]$$

A partir des Equation [3] et [4], on peut estimer le QR_{ap} de la façon suivante:

$$QR_{ap} = QR_r \times \left(1 - \frac{q_{CO_2sol}}{q_{CO_2tot}} \right) \quad [6]$$

Le Tableau 5.1 montre les valeurs de QR_{ap} calculées en utilisant l'Equation [6] pour plusieurs rapports V_{air}/V_{sol} et pour deux pH. Nous avons supposé $QR_r = 1$, $\varepsilon = 0.40$, $S_{CO_2} = 0.90$, C_{eq} (pH 6) = 1 et C_{eq} (pH 7.9) = 33. La valeur de C_{eq} à pH 6 correspond à une situation

où tout le carbone dissous est sous la forme de CO_2 . A pH 7.9 (cas de notre sol), le C_{eq} a été calculé en utilisant la fonction déjà décrite au Chapitre 2 et dans l'Annexe 2.

Au Tableau 5.1, on peut constater que la sous-estimation du vrai QR devient de plus en plus importante quand le rapport V_{air}/V_{sol} diminue. Ce phénomène est plus marqué à pH 7.9, car les équilibres physico-chimiques jouent alors un rôle important sur la rétention du CO_2 .

V_{air}/V_{sol}	$QR_{ap}^{(*)}$	
	pH 6	pH 7.9
9/1	0.96	0.43
4/1	0.92	0.25
2/1	0.85	0.14

(*) Voir le texte pour les valeurs des paramètres utilisés dans les calculs.

Tableau 5.1: Valeurs de QR_{ap} pour différentes valeurs du rapport V_{air}/V_{sol} et du pH.

Dans nos expériences, nous avons utilisé un rapport V_{air}/V_{sol} de l'ordre de 9. Dans ces conditions, le QR_{ap} serait d'environ 0.43 en supposant un QR réel égal à 1. Cette valeur est dans la gamme des valeurs observées.

Les calculs réalisés à partir des équations décrites ci-dessus correspondent à une simplification de la réalité car on néglige les gradients de concentrations gazeuses dans les agrégats. Néanmoins, ces estimations montrent que l'ordre de grandeur du QR observé dans nos expériences est compatible avec une situation de forte rétention du CO_2 par le sol, en raison de ses caractéristiques chimiques. Comme nous ne connaissons pas la vraie valeur de QR, nous ne pouvons pas utiliser la production apparente de CO_2 ni les QR observés pour de décrire la production réelle de CO_2 .

5.3 Respiration globale des agrégats naturels

5.3.1 Consommation d'oxygène

Les résultats concernant la consommation d'O₂ des agrégats naturels sont présentés dans la Figure 5.3. Malgré la variabilité observée, on peut constater que la tendance générale de la respiration globale est d'augmenter avec la concentration d'O₂ et avec la diminution de la taille de l'agrégat.

Pour les concentrations d'O₂ inférieures à 5%, les différences entre tailles sont partiellement cachées à cause de la variabilité. Au-dessus de ces concentrations, les différences sont plus nettes. Les deux tailles les plus grandes ont néanmoins une respiration presque identique quelque soit la concentration en O₂ (Fig. 5.3a). Pour ces agrégats, il semble que les facteurs affectant la variabilité de la respiration aient plus d'importance que la taille.

Pour les concentrations au-dessous de 21% d'O₂, les résultats ne montrent pas la présence d'un plateau sauf, peut être, pour les Tailles 2 et 3 (Fig. 5.3a). Afin de tester l'existence d'un tel plateau, nous avons utilisé des concentrations d'O₂ supérieures à la concentration atmosphérique. Même pour ces concentrations, l'existence d'un plateau n'est pas évidente.

Ces résultats diffèrent des résultats obtenus sur les agrégats artificiels. En effet, la relation entre respiration et concentration d'O₂ est plus linéaire pour les petites tailles d'agrégats naturels, en particulier pour la Taille 7 (Fig. 5.3c).

La respiration obtenue pour des concentrations supérieures à 21% est en accord avec les estimations de R_{max} réalisées au Chapitre 4. En effet, nous avons montré que le R_{max} devait être atteint à des concentration d'O₂ supérieures à 21%, les résultats présentés ici confirment cette possibilité.

Cependant, une expérience faite en parallèle (résultats non présentés), a montré que de concentrations en O₂ supérieures à celle de l'atmosphère peuvent entraîner des phénomènes complexes qui évoquent des processus de toxicité. Ceci est notamment le cas des concentrations supérieures à 30% en O₂. Ces résultats nous amènent à ne pas considérer la respiration globale au-dessus de 21% d'O₂ pour l'analyse du rapport expérience-modèle.

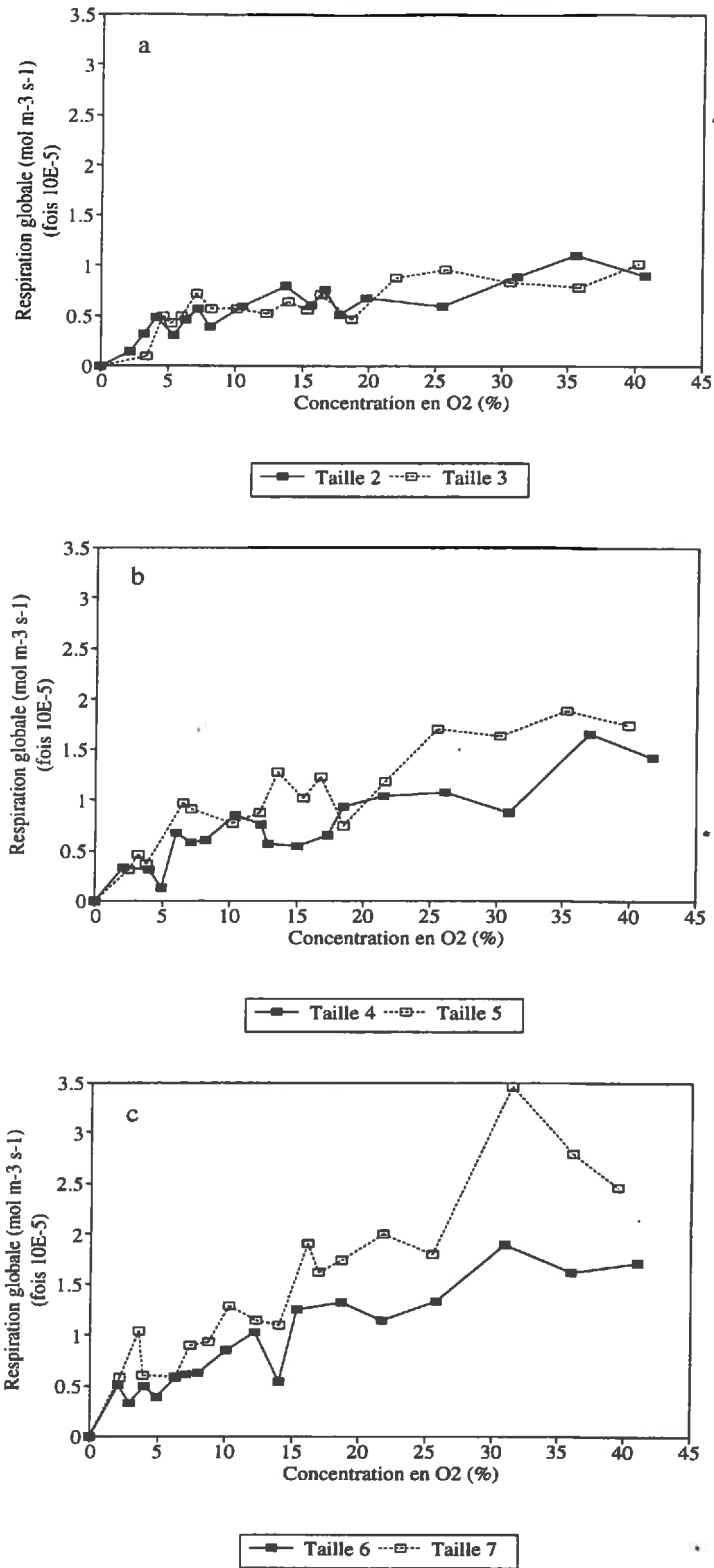


Figure 5.3: Respiration globale des agrégats naturels:
a- Tailles 2 et 3; b- Tailles 4 et 5; c- Tailles 6 et 7.

5.3.2 Variabilité de la respiration globale

La Figure 5.4 montre la distribution de la respiration à 21% d'O₂ mesurée individuellement sur une population de 62 agrégats naturels (Taille 7). La valeur moyenne est de $2.39 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$. Cette valeur est très proche de celle obtenue pour les mêmes taille et concentration dans l'expérience présentée au paragraphe 5.3.1 (Fig. 5.3c). Ces deux expériences avaient été réalisées simultanément.

La variabilité est relativement grande: le coefficient de variation est égal à 41% et les valeurs extrêmes de la distribution observée sont $2.85 \times 10^{-6} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ (10 fois plus petit que la valeur moyenne) et $4.25 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$. Néanmoins, il semble que d'autres processus biologiques, comme la dénitrification, aient une variabilité beaucoup plus importante au niveau de l'agrégat (Sexstone et al., 1985; Seech et Beauchamp, 1988). A une autre échelle, Rochette et al. (1991) ont obtenu des coefficients de variation entre 25 et 69% pour des mesures de respiration in-situ.

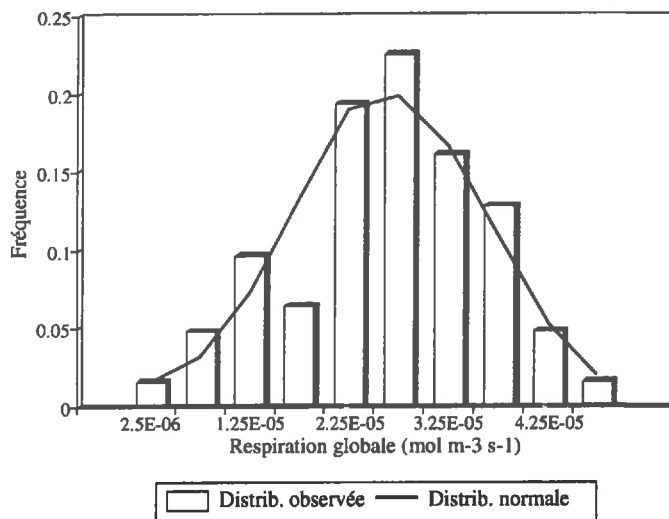


Figure 5.4: Variabilité de la respiration globale mesurée individuellement sur 62 agrégats naturels de la Taille 7 placés à 21% d'O₂.

Les profils d'O₂ que nous présentons dans le chapitre suivant indiquent que le volume des agrégats était totalement aérobie dans les conditions de notre travail (taille des agrégats et concentration d'O₂). La variabilité de la respiration globale observée ne peut donc être

attribuée à des différences de volume anoxique. Elle peut être due à plusieurs facteurs. L'hétérogénéité des transferts gazeux et de la distribution du carbone disponible entre agrégats sont probablement les facteurs dominants. Alors que la disponibilité du carbone agirait sur la respiration potentielle, l'hétérogénéité des transferts gazeux affecterait la respiration par l'intermédiaire des concentrations d'O₂ et de CO₂. En conséquence, même si les agrégats utilisés sont totalement aérobies, les hétérogénéités physiques peuvent entraîner des différences de respiration entre eux.

La Figure 5.4 montre que la distribution des respirations est très proche d'une distribution normale. Les variables biologiques du sol présentent, dans la plupart des situations, une distribution de type lognormal (Parkin et al., 1988; Parkin, 1993). Dans notre cas, les paramètres qui jouent un rôle sur la respiration globale ont probablement des distributions particulières et rendent difficile une interprétation de la distribution observée.

A l'Annexe 8, nous présentons l'influence de la variabilité de la respiration globale sur le rapport expérience-modèle.

5.4 Rapport expérience - modèle

5.4.1 Paramètres utilisés et conditions initiales

Dans cette analyse, nous considérons deux variantes du modèle de transfert gazeux:

- la variante correspondant au modèle de Currie (1961) et Greenwood et Berry (1962);
- la variante issue des résultats de notre travail.

Par commodité, nous continuerons à nommer "modèle initial" la première de ces variantes et "modèle alternatif" la deuxième.

Le modèle alternatif décrit les transferts simultanés d'O₂ et CO₂. Il prend en compte l'influence de ces deux gaz sur la respiration. La loi de Michaelis - Menten avec inhibition compétitive due au CO₂ permet de bien décrire cette respiration dans le cas des agrégats artificiels. La même formulation, légèrement modifiée, permet d'étendre cette description au cas des agrégats naturels. Enfin, la physico-chimie du CO₂ adaptée à notre sol est prise en compte dans le modèle.

La production de CO₂ n'ayant pu être bien appréhendée expérimentalement, deux hypothèses ont été envisagées: une production de CO₂ égale à la consommation en O₂ (hypothèse 1) et une production constante (hypothèse 2).

Ainsi, trois modèles ont été confrontés aux données expérimentales:

- le modèle initial,

- le modèle alternatif avec hypothèse 1 de production de CO₂,
 - le modèle alternatif avec hypothèse 2 de production de CO₂.
- Les paramètres utilisés lors du test sont montrés au Tableau 5.2.

Paramètres	Type d'agrégat		Unité
	Artificiel	Naturel	
Physiques			
Coef. de diffusion (*)			
O ₂	1.43×10 ⁻¹¹		m ² s ⁻¹
CO ₂	3.43×10 ⁻¹¹		m ² s ⁻¹
Porosité	0.396	(†)	-
Rayon	(‡)	(‡)	m
Biologiques			
K _{mO2}	0.754	2.59	mol m ⁻³
K _{iO2}	1.57	-	mol m ⁻³
a(#)	-	0.237	1/%
b(#)	-	0.038	(1/%) ²

(*) Les valeurs des coefficients de diffusion tiennent compte de la solubilité de chaque gaz (voir Tableau 2.1).

(#) Ils correspondent à la fonction ajustée pour les agrégats naturels.

(†) La porosité est calculée sur les agrégats effectivement utilisés dans les expériences (moyenne 0.38).

(‡) Le rayon des agrégats artificiels est mesuré à la fin des expériences; celui des agrégats naturels correspond au rayon équivalent estimé à partir du volume mesuré.

Tableau 5.2: Valeurs des paramètres utilisés lors du test des modèles.

En première approche, nous avons considéré que la diffusion de l'O₂ au sein des agrégats naturels est égale à celle dans les agrégats artificiels. Ainsi, nous ne considérons pas l'hétérogénéité des transferts gazeux que nous avons mise en évidence pour les agrégats naturels.

Comme les expérimentations visant à estimer le R_{max} n'ont pas été réalisées à la même époque que celle de respiration globale, le R_{max} a du être à nouveau ajusté. L'analyse a donc été réalisée en considérant le R_{max} comme une variable à caler et en supposant que les autres variables biologiques, physiques et physico-chimiques, ne varient pas avec le temps. La production de CO₂ étant supposée liée à la respiration, l'ajustement de R_{max} a des répercussions sur cette production. La méthode d'ajustement non linéaire proposée par Bard

(1974) a été utilisée et chacune des classes de tailles d'agrégats (naturels ou artificiels) a été ajustée individuellement. Un ajustement de l'ensemble des données a aussi été réalisé pour les deux types d'agrégats afin de le comparer aux ajustements individuels.

Les conditions initiales pour l'O₂ sont identiques à celles utilisées pour les simulations présentées au Chapitre 3. Afin de tenir compte des équilibres physico-chimiques, nous avons considéré, qu'à la surface de l'agrégat, la quantité totale de CO₂ dissous dans l'eau est toujours en équilibre avec une concentration extérieure en CO₂ égale à 0.03%. A l'intérieur de l'agrégat, la concentration initiale de CO₂ dissous était supposée nulle.

Les concentrations extérieures en O₂ et CO₂ ont été supposées constantes dans le temps. Cette simplification est raisonnable tant que l'on privilégie l'étude de la consommation d'O₂ en raison des faibles variations des concentrations d'O₂ et de CO₂ dans nos expériences.

5.4.2 Agrégats artificiels

A la Figure 5.5, nous présentons le rapport entre valeurs expérimentales et valeurs simulées de la respiration globale (après ajustement du modèle) pour les agrégats artificiels. Quelques paramètres issus des ajustements sont présentés au Tableau 5.3.

Pour les Tailles 5 et 7, le modèle initial surestime la respiration aux faibles teneurs en O₂ et la sous-estime au-dessus de 10% (Fig. 5.5a). La pente de la régression linéaire entre valeurs observées et ajustées est significativement plus petite que 1; elle diminue avec la taille de l'agrégat (Tableau 5.3). En effet, ce modèle présente un biais de plus en plus marqué par rapport aux données expérimentales lorsque la taille de l'agrégat diminue.

D'après ce modèle, l'anoxie se développe au-dessous de 17% en O₂ au sein des agrégats de la Taille 2, 5% pour la Taille 5 et 2% pour la Taille 7.

Le modèle alternatif permet un ajustement moins biaisé des données expérimentales (Fig. 5.5b). Les paramètres statistiques du Tableau 5.3 montrent que la qualité de l'ajustement est acceptable: la pente de la régression linéaire entre valeurs observées et ajustées est proche de 1 et l'ordonnée à l'origine est petite et inférieure à celle obtenue avec le modèle initial.

Pour le modèle alternatif, il existe de l'anoxie seulement pour la Taille 2 et au-dessous de 3% en O₂ si l'on considère l'hypothèse 1 de production de CO₂ et de 1% pour l'hypothèse 2. L'anoxie estimée par le modèle alternatif est beaucoup plus faible que celle calculée par le modèle initial. Pour le modèle alternatif, la respiration globale des agrégats diminue aux faibles concentrations d'O₂ du fait de l'effet de ce gaz sur l'activité biologique.

La Figure 5.5 et le Tableau 5.3 montrent que les résultats présentés dans ce chapitre, ne nous permettent pas de choisir entre les deux hypothèses testées sur la production du CO₂. Ceci est dû notamment à la composante physico-chimique du modèle qui réduit fortement les

concentrations de ce gaz au sein des agrégats. Ainsi, la concentration de CO_2 au centre d'un agrégat de 12 mm de rayon soumis à 21% d' O_2 , est équivalente à 3-4 fois sa concentration atmosphérique. A ces teneurs, l'effet de ce gaz sur la respiration est moindre par rapport à celui de l' O_2 .

Par ailleurs, le Tableau 5.3 montre que le R_{max} estimé tend à augmenter avec la diminution de la taille de l'agrégat. Afin de savoir si ces différences sont significatives, nous avons réalisé un test de variances en comparant la somme de carrés des écarts de l'ajustement fait pour l'ensemble des données et la somme des carrés des écarts des ajustements faits séparément pour chaque taille (J. Chadoeuf, comm.pers.). L'ajustement de l'ensemble des données est présenté en Figure 5.6. Cette ajustement n'est pas satisfaisant, notamment en raison de la présence de biais systématiques. L'analyse statistique a montré que la variance de l'ajustement toutes tailles confondues est significativement plus grande que celle des ajustements individuels ($p < 0.01$).

A partir de cette analyse, on ne peut pourtant pas conclure à des différences significatives de R_{max} entre tailles. Ces résultats montrent seulement que la qualité de l'ajustement fait séparément pour chaque taille d'agrégat est significativement supérieure à celle de l'ajustement fait pour l'ensemble des données. Cette différence indique qu'il y a un effet de la taille de l'agrégat qui n'est pas compris dans le modèle ou qui est mal décrit dans sa formulation actuelle.

5.4.3 Agrégats naturels

A la Figure 5.7, nous présentons la comparaison expérience-modèles pour les agrégats naturels. La tendance générale des résultats est similaire à celle trouvée pour les agrégats artificiels, notamment pour les aspects suivants:

- pour les tailles les plus grandes, on n'observe pas de grosses différences entre les modèles;
- pour l'ensemble des tailles, il n'existe apparemment pas d'effet des hypothèses de production du CO_2 considérées dans le modèle alternatif;
- pour les classes d'agrégats les plus petits, le modèle initial surestime la respiration aux faibles concentrations en O_2 et la sous-estime aux teneurs les plus fortes;
- pour ces agrégats, le modèle alternatif ajuste mieux les données de l'expérimentation (Tableau 5.4);
- le R_{max} estimé tend à augmenter avec la diminution de la taille des agrégats.

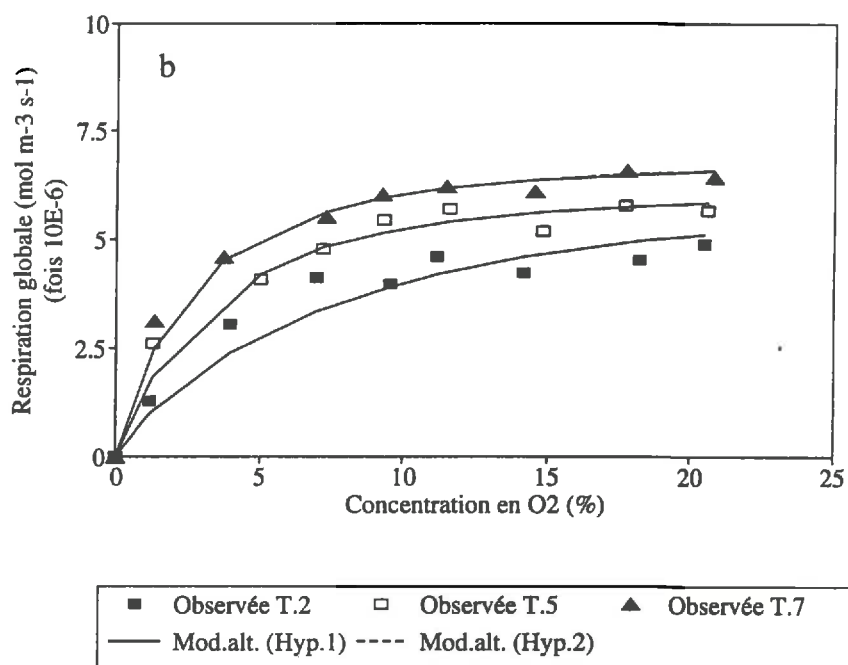
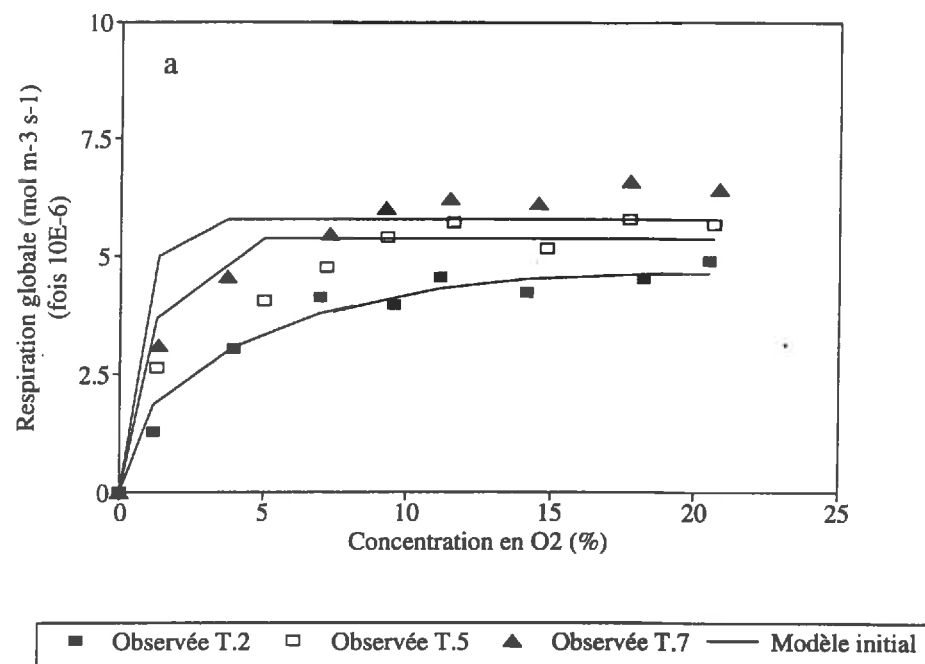


Figure 5.5: Rapport expérience-modèle pour les agrégats artificiels:
a- modèle initial; b- modèle alternatif.

Modèle initial

Paramètre	Taille d'agrégat		
	2	5	7
R _{max} estimé(*)	4.64×10 ⁻⁶	5.18×10 ⁻⁶	5.76×10 ⁻⁶
r ²	0.970	0.892	0.823
Pente(#)	0.92	0.85	0.80
Ord. à l'origine(#)	3×10 ⁻⁷	7×10 ⁻⁷	1×10 ⁻⁶

Modèle alternatif (hypothèse 1)

Paramètre	Taille d'agrégat		
	2	5	7
R _{max} estimé(*)	5.93×10 ⁻⁶	6.39×10 ⁻⁶	7.17×10 ⁻⁶
r ²	0.941	0.972	0.989
Pente(#)	1.04	1.04	1.04
Ord. à l'origine(#)	3×10 ⁻⁷	2×10 ⁻⁷	2×10 ⁻⁷

Modèle alternatif (hypothèse 2)

Paramètre	Taille d'agrégat		
	2	5	7
R _{max} estimé(*)	5.94×10 ⁻⁶	6.40×10 ⁻⁶	7.17×10 ⁻⁶
r ²	0.940	0.972	0.989
Pente(#)	1.04	1.04	1.04
Ord. à l'origine(#)	3×10 ⁻⁷	2×10 ⁻⁷	2×10 ⁻⁷

(*) Exprimé en mol m⁻³ s⁻¹.

(#) Correspond à la comparaison entre les valeurs observées et les valeurs ajustées.

Tableau 5.3: Paramètres et coefficients statistiques issus de l'ajustement des modèles aux données expérimentales relatives aux agrégats artificiels.

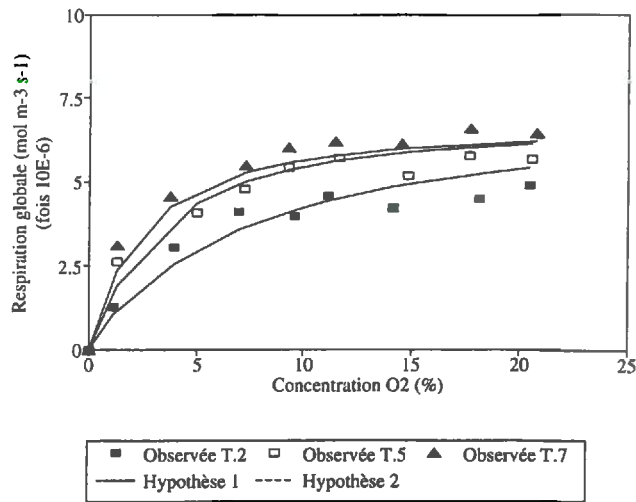
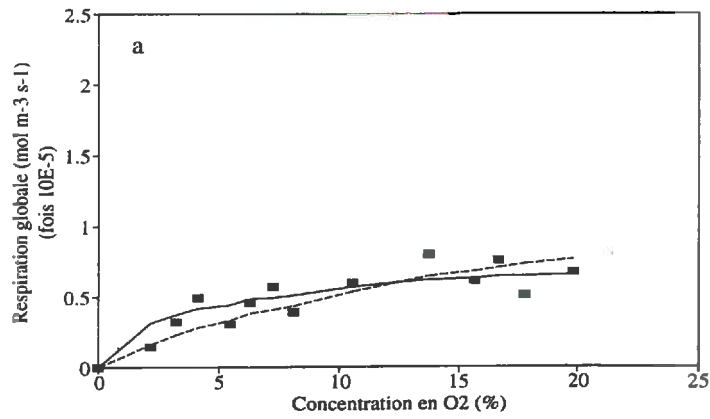


Figure 5.6: Rapport expérience-modèle alternatif pour l'ensemble de l'expérience de respiration globale des agrégats artificiels.

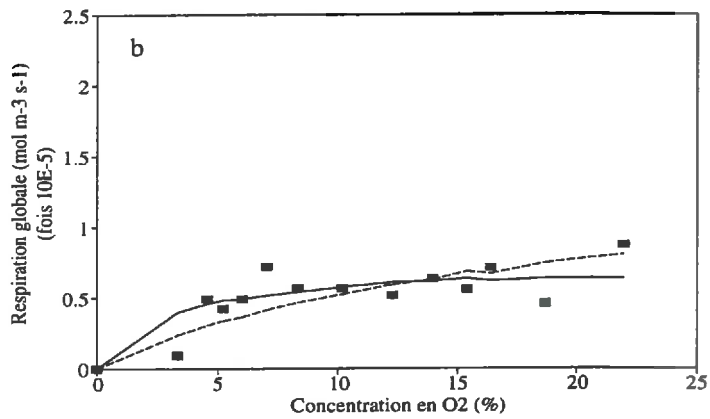
L'absence de différences entre les modèles pour les tailles les plus grandes ne concerne que la respiration globale. Comme il a été discuté au Chapitre 3, le volume anoxique est beaucoup plus sensible que la respiration globale au choix du modèle pour ces agrégats. Ainsi, d'après le modèle alternatif, il existe de l'anoxie seulement pour la Taille 2 et au-dessous de 1% en O₂. Avec le modèle initial, pour cette même taille et à 21% en O₂ il y a déjà 1% de volume anoxique; pour la taille la plus petite (Taille 7), l'anoxie commence à 5% en O₂.

De l'analyse des écarts expérience-modèles (données non montrées), on peut constater que les différences les plus importantes entre le modèle initial et le modèle alternatif, concernent les agrégats les plus petits. Par ailleurs, la pente de la relation entre valeurs observées et valeurs ajustées et le r^2 a été toujours supérieures pour les variantes du modèle alternatif (Tableau 5.4).

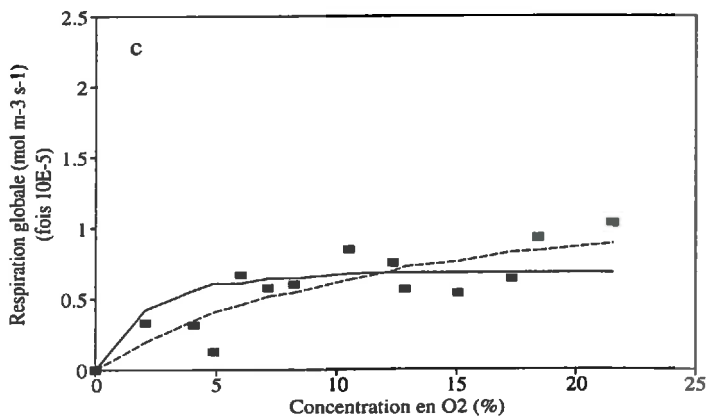
Au Tableau 5.4, on peut constater que le R_{max} estimé augmente aussi avec la diminution de la taille de l'agrégat. L'analyse statistique a montré qu'il y a des différences significatives entre les ajustements individuels et l'ajustement de l'ensemble de données ($p < 0.01$). Nous avons déjà montré qu'il n'y a pas d'évidences sur l'existence de différences de R_{max} entre les classes de tailles d'agrégats naturels (cf. 4.3.2). Il est donc possible que la tendance observée sur le R_{max} estimé soit un artefact du modèle et/ou de ses hypothèses.



■ Observée — Mod. initial - - - M.alt.(Hyp.1) M.alt.(Hyp.2)



■ Observée — Mod. initial - - - M.alt.(Hyp.1) M.alt.(Hyp.2)



■ Observée — Mod. initial - - - M.alt.(Hyp.1) M.alt.(Hyp.2)

(Figures 5.7a, b, c)

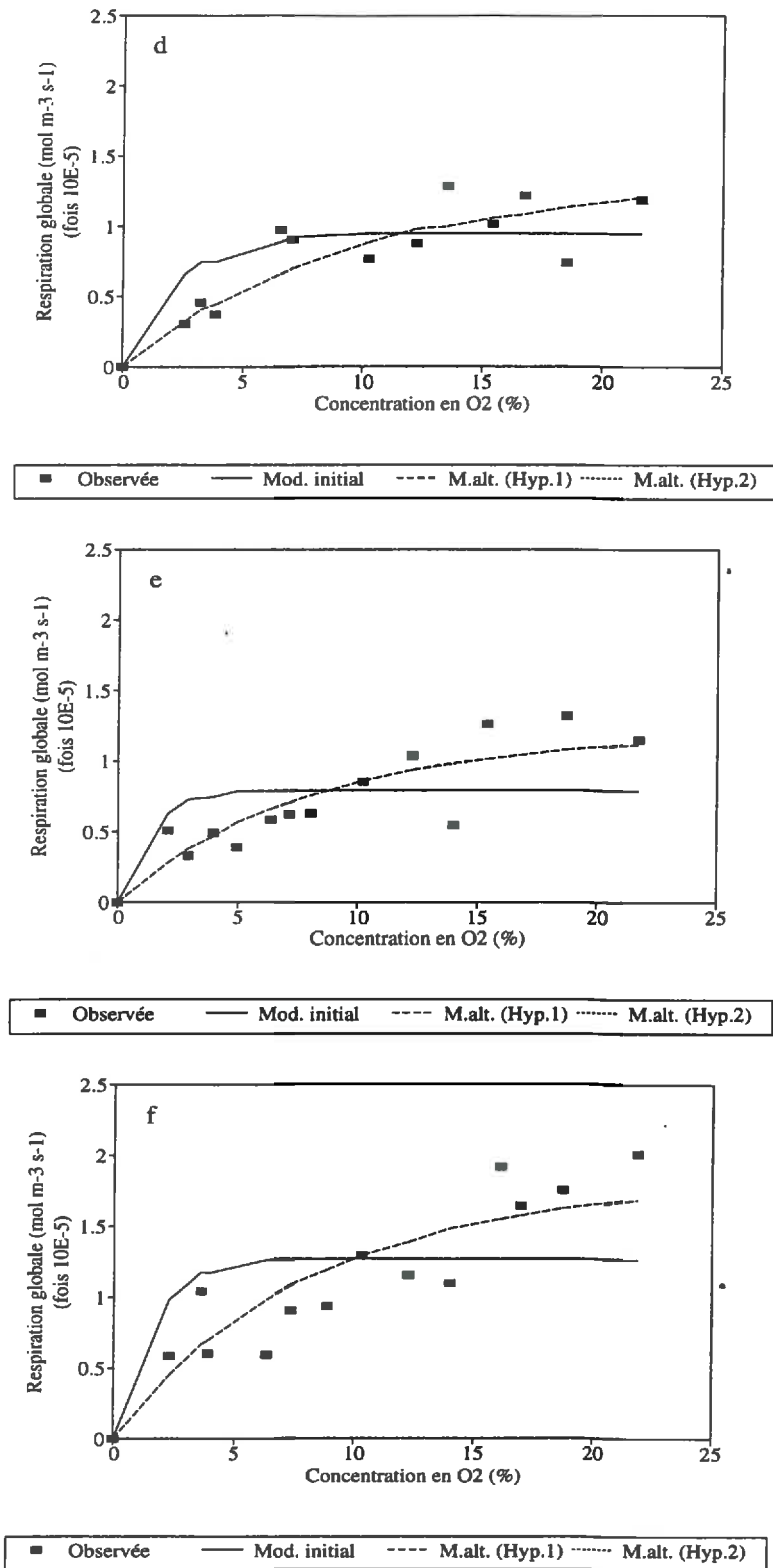


Figure 5.7: Rapport expérience-modèles pour les agrégats naturels: a- Taille 2; b- Taille 3; c- Taille 4; d- Taille 5; e- Taille 6; f- Taille 7.

Modèle initial

Paramètre	Taille d'agrégat					
	2	3	4	5	6	7
R_{\max} estimé ^(*)	6.65×10^{-6}	6.32×10^{-6}	6.82×10^{-6}	9.47×10^{-6}	7.84×10^{-6}	1.25×10^{-5}
r^2	0.798	0.642	0.513	0.656	0.336	0.402
Pente ^(#)	0.70	0.58	0.45	0.55	0.32	0.37
Ord. à l'origine ^(#)	2×10^{-6}	2×10^{-6}	3×10^{-6}	4×10^{-6}	5×10^{-6}	7×10^{-6}

Modèle alternatif (hypothèse 1)

Paramètre	Taille d'agrégat					
	2	3	4	5	6	7
R_{\max} estimé ^(*)	1.28×10^{-5}	1.15×10^{-5}	1.22×10^{-5}	1.62×10^{-5}	1.47×10^{-5}	2.21×10^{-5}
r^2	0.768	0.616	0.698	0.776	0.768	0.800
Pente ^(#)	0.92	0.76	0.74	0.84	0.76	0.78
Ord. à l'origine ^(#)	2×10^{-7}	1×10^{-6}	1×10^{-6}	1×10^{-6}	2×10^{-6}	2×10^{-6}

Modèle alternatif (hypothèse 2)

Paramètre	Taille d'agrégat					
	2	3	4	5	6	7
R_{\max} estimé ^(*)	1.27×10^{-5}	1.15×10^{-5}	1.22×10^{-5}	1.61×10^{-5}	1.47×10^{-5}	2.21×10^{-5}
r^2	0.768	0.617	0.698	0.776	0.768	0.800
Pente ^(#)	0.92	0.76	0.74	0.84	0.75	0.78
Ord. à l'origine ^(#)	2×10^{-7}	1×10^{-6}	1×10^{-6}	1×10^{-6}	2×10^{-6}	2×10^{-6}

(*) Exprimé en $\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$.

(#) Correspond à la comparaison entre les valeurs observées et les valeurs ajustées.

Tableau 5.4: Paramètres et coefficients statistiques issus de l'ajustement des modèles aux données expérimentales relatives aux agrégats naturels.

5.4.4 Analyse des écarts expérience-modèle

La respiration globale est la résultante de plusieurs processus. Pour le modèle alternatif présenté dans ce travail, cette variable est fonction de phénomènes physiques, biologiques et physico-chimiques. Il est alors difficile de définir les facteurs qui expliquent les écarts entre le modèle et la réalité à partir de la respiration globale uniquement. Nous pouvons pourtant privilégier quatre phénomènes qui se sont avérés difficiles à appréhender au cours de nos expériences:

- la production de CO_2 ;
- l'évolution temporelle de l'activité biologique;
- la variabilité de la respiration des agrégats naturels;
- les hétérogénéités physiques affectant les transferts gazeux dans les agrégats naturels.

Dans cette analyse nous ne considérons pas les incertitudes sur l'estimation des paramètres (diffusion de l' O_2 et paramètres biologiques). D'après l'analyse de sensibilité présentée au Chapitre 2 et l'ordre de grandeur des erreurs observées (cf. 4.2 et 4.3), ces incertitudes n'ont pas une grande influence sur la respiration globale. Ces erreurs peuvent affecter principalement l'estimation du volume anoxique. Elles sont analysées dans le chapitre suivant.

On commencera cette analyse pour les agrégats artificiels en ne tenant compte que des deux premiers aspects cités ci-dessus. La composante physique du modèle ayant montré un très bon accord avec l'expérience pour ces agrégats, elle peut être écartée de cette analyse.

L'absence de différences entre les deux variantes du modèle alternatif (hypothèses sur la production de CO_2), montre qu'une erreur commise sur la quantification de la production de CO_2 n'a pas un grand effet sur l'estimation de la respiration globale. Nous avons testé l'influence de la physico-chimie du CO_2 sur les ajustements du modèle. Si l'on ne considère pas ces processus, le R_{max} estimé est légèrement supérieur mais les différences entre tailles et la qualité des ajustements sont conservées. Nous pensons donc qu'une mauvaise appréhension des processus liés au CO_2 n'affecte pas a priori la tendance des valeurs de R_{max} .

Plusieurs autres facteurs d'origine biologique peuvent être évoqués. Nous avons considéré jusqu'ici seulement des variations de R_{max} avec le temps, ces variations étant uniformes au sein des agrégats. Si l'activité microbienne évolue en fonction des concentrations gazeuses à partir d'une situation initiale homogène, il peut se développer progressivement un gradient d'activité biologique en réponse aux gradients gazeux à l'intérieur des agrégats. Ce mécanisme a déjà été proposé par Priesack (1991) afin d'expliquer des gradients d'ATP observés au sein d'agrégats de sol remanié. Si cette hypothèse est vraie, l'activité respiratoire maximale doit varier avec la profondeur, entraînant une hétérogénéité de l'activité respiratoire microbienne. Dans ce cas, la taille de l'agrégat agit sur la respiration maximale par

l'intermédiaire des gradients de concentration gazeuse. Quelques mises en évidences de ce dernier point seront présentées dans le chapitre suivant.

Pour les agrégats naturels, la situation est plus complexe car les transferts gazeux peuvent être affectés par de nombreux facteurs. A priori, la discussion déjà faite sur l'activité biologique reste valable. Cependant, une distribution hétérogène des gradients de concentration au sein de ces agrégats aura un effet énorme sur la distribution des microbes.

Nous avons évoqué l'absence de différences de R_{max} entre tailles d'agrégats naturels. Ce résultat peut éventuellement être un artefact de l'expérimentation. En effet, elle a été réalisée à 21% en O_2 et 0% en CO_2 sur des agrégats brisés à la main afin d'éviter que la respiration soit limitée par les gradients de concentrations des gaz. Nos expériences sur l'activité déshydrogénase au sein des agrégats (cf. Annexe 7) montrent qu'une variation du milieu gazeux peut entraîner une réponse très rapide de l'activité biologique. Il est donc possible que des différences de R_{max} entre tailles d'agrégats naturels, soient effacées du fait de la rupture des agrégats et de la variation brutale des concentrations gazeuses. Cette observation pose le problème de la définition de R_{max} au sein des agrégats et des processus et variables qui l'affectent.

Sur la base des calculs que nous avons présentés en Annexe 6, nous pensons que la variabilité de la respiration des agrégats naturels peut diminuer la qualité de l'ajustement. Cependant, elle ne peut expliquer ni le décalage modèles - expérience pour les agrégats les plus petits, ni les différences entre les ajustements individuels et globaux.

En revanche, les hétérogénéités physiques des agrégats naturels peuvent avoir une grande influence sur les gradients de concentrations gazeuses en leur sein et donc sur leur activité respiratoire. Nous rappelons que lors des ajustements réalisés pour les agrégats naturels, nous avons considéré la même valeur de diffusion pour toutes les tailles et que le transfert gazeux est spatialement homogène dans les agrégats. En faisant cela, nous supposons que, malgré des hétérogénéités qui existent, la respiration moyenne d'un ensemble d'agrégats peut être décrite avec un coefficient de diffusion unique. Cependant, cette simplification sera éloignée de la réalité si l'effet de ces hétérogénéités n'est pas le même en fonction de l'échelle considérée. Par exemple, la présence de fissures ou de cavités à la surface des agrégats, peut ne pas avoir la même influence sur les gradients de concentrations dans des agrégats des tailles différentes. Si c'est le cas, et notamment au sein de petits agrégats, le gradient de concentration réel sera moins prononcé que celui issu du modèle. Pour les agrégats naturels, l'effet de la taille pourrait alors être aussi rapporté à la présence d'hétérogénéités morphologiques et de leur influence sur les transferts gazeux.

5.5 Conclusions du Chapitre 5

Le modèle alternatif a permis une meilleure simulation des données expérimentales de respiration des agrégats artificiels et naturels que le modèle initial, en particulier pour les petits agrégats. Comme nous l'avons déjà analysé au Chapitre 2, c'est sur cette taille d'agrégats que la respiration globale discrimine mieux entre les modèles. Ce constat nous permet donc d'écarter le modèle initial dans la suite de notre travail.

Pour les agrégats artificiels, l'ajustement modèle alternatif-expérience est très satisfaisant si chaque classe d'agrégats est analysée individuellement. Il reste à savoir si la tendance trouvée sur le R_{max} répond à un véritable effet. Si c'est le cas, elle pourrait être liée à la distribution de l'activité biologique au sein des agrégats. Ce sujet est repris dans le chapitre suivant.

Pour les agrégats naturels, nous considérons que les résultats de l'analyse du rapport expérience-modèle sont acceptables en tenant compte des simplifications que nous avons réalisées. Cependant, pour ces agrégats, il y a une contradiction apparente entre les résultats de l'expérimentation visant à mesurer le R_{max} en fonction de la taille et son estimation indirecte faite lors de l'ajustement de la respiration. Il est possible que cette contradiction soit un artefact de l'expérimentation. Si les hétérogénéités présentes dans ces agrégats sont responsables des écarts entre les respirations mesurée et calculée, il nous faudra savoir comment décrire l'influence de ces hétérogénéités sur l'anoxie.

Enfin, les résultats ont montré qu'il n'est pas possible de discriminer entre les deux variantes du modèle alternatif du fait des caractéristiques chimiques du sol. Il semble donc qu'une erreur commise sur l'estimation de la production de CO_2 n'aura pas de grandes conséquences sur le rapport expérience-modèle.

CHAPITRE 6

Profils d'oxygène au sein des agrégats. Résultats expérimentaux et test des modèles

6.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons des profils d'O₂ obtenus au sein d'agrégats artificiels et naturels, ainsi que l'ajustement à ces profils des modèles précédemment décrits. En raison des résultats du chapitre antérieur, nous n'avons retenu que les deux variantes du modèle alternatif.

L'analyse des profils d'O₂ permet de tester plus rigoureusement les modèles et ainsi réfléchir sur les hypothèses de nos modèles. Agrégats naturels et artificiels ne nous donnent pas les mêmes informations:

- en raison des hétérogénéités que présentent les agrégats naturels, l'analyse des profils d'O₂ est qualitative. Elle peut nous aider à appréhender l'importance des hétérogénéités sur le volume du sol en état d'anoxie;
- l'homogénéité physique étant vérifiée pour les agrégats artificiels, la comparaison entre modèles et expérience peut nous renvoyer sur la distribution de la respiration microbienne au sein des agrégats.

Dans ce chapitre, nous nous proposons de tester le modèle alternatif et, parallèlement, d'analyser quelques aspects de la distribution de l'activité respiratoire dans les agrégats. Cette

analyse est complétée par les Annexes 7 et 8. Dans l'Annexe 7, nous présentons les résultats des mesures d'activité déshydrogénase au sein des agrégats artificiels. Dans l'Annexe 8, nous étudions l'effet d'une distribution hétérogène de la consommation potentielle d'O₂ sur le rapport expérience-modèle.

6.2 Résultats de l'expérimentation

6.2.1 Agrégats artificiels

A la Figure 6.1, nous présentons trois profils d'O₂ représentatifs des différentes tailles d'agrégats artificiels. La diminution de la concentration d'O₂ en fonction de la profondeur y est assez régulière, quelque soit l'agrégat. Les agrégats de Tailles 5 et 7 ont toujours montré un profil tout à fait aérobie, la concentration d'O₂ au centre de l'agrégat étant entre 12% et 15% pour la Taille 7 et entre 8% et 10% pour la Taille 5. Les agrégats de la Taille 2 présentent de l'anoxie mais son étendue varie avec le temps.

Les profils ont été obtenus entre 2 et 4 semaines après la mise en saturation des agrégats. Les caractéristiques de ces profils semblent avoir évolué pendant cette période. Cette évolution correspond à un accroissement des concentrations en O₂ dans l'agrégat avec le temps. A la Figure 6.2, nous présentons les profils d'O₂ dans deux agrégats différents de la Taille 7 pour lesquelles les mesures ont été faites après deux semaines (agrégat 1) ou 3 semaines (agrégat 2) après la mise en saturation. Ce phénomène, général aux trois tailles, a été observé pour deux séries d'agrégats artificiels fabriqués à différentes dates au cours de notre travail.

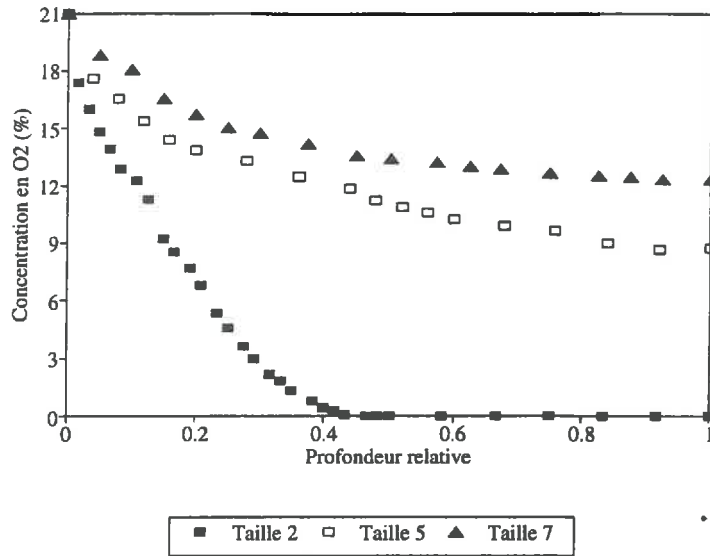


Figure 6.1: Profils d'O₂ dans des agrégats artificiels de différentes tailles.

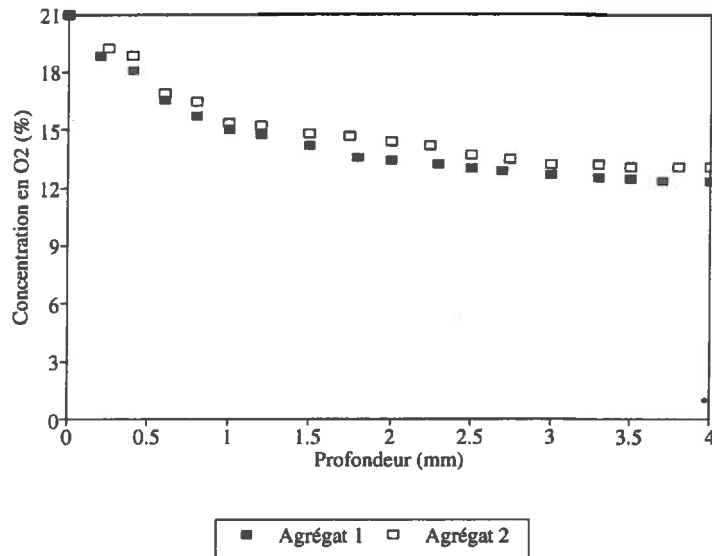


Figure 6.2: Profils d'O₂ mesurés pour deux agrégats artificiels de Taille 7.

6.2.2 Agrégats naturels

Les profils d'O₂ obtenus pour les agrégats naturels ont présenté une très grande variabilité entre agrégats d'une même taille et au sein de chaque agrégat. Il n'y a pas de profil représentatif pour chaque taille mais il existe néanmoins un effet de celle-ci sur les concentrations en O₂ mesurées. A l'intérieur des agrégats des tailles les plus grandes, les teneurs en O₂ sont plus faibles que celles des petits agrégats. Nous n'avons pas constaté la présence d'anoxie pour des agrégats plus petits que 7 mm⁽¹⁾. Cependant, au-dessus de cette taille, l'anoxie n'est pas un phénomène généralisé. Des 28 agrégats naturels utilisés pour cette expérience, 18 mesuraient plus de 7 mm et 6 ont présenté au moins une région en état d'anoxie.

La Figure 6.3 montre des exemples de profils obtenus sur les agrégats naturels. Les figures ont été rangées selon la taille des agrégats et les profils sélectionnés afin de montrer la variabilité existant entre les agrégats et en leur sein.

Il existe deux caractéristiques communes à la plupart des profils observés:

- une très forte diminution de la concentration d'O₂ dans le premier millimètre de profondeur, indépendamment de la taille et de l'existence éventuelle d'une région anoxique (Figs. 6.3a à 6.3f);
- pour les profils qui ne présentent pas d'anoxie, une variation très faible de la concentration d'O₂ au delà de ce premier millimètre.

Cette dernière observation est particulièrement vraie pour les agrégats les plus petits (p.e. Figs. 6.3a, 6.3b et 6.3c), où l'on peut observer que la concentration d'O₂ varie de quelques pour-cent entre 1 mm et le centre de l'agrégat. Cette caractéristique des profils est aussi observable dans les agrégats les plus grands mais plus près du centre de l'agrégat (p.e. profil 1 de la Fig. 6.3d, profils 3 et 4 de la Fig. 6.3f).

Les profils des agrégats naturels sont cohérents avec les résultats portant sur la diffusion de l'O₂ (Chapitre 4). Ces derniers montraient l'influence d'hétérogénéités de structure sur le transfert gazeux. Plusieurs profils semblent s'expliquer par l'existence des chemins préférentiels pour le transfert de l'O₂ entre l'extérieur et l'intérieur des agrégats (p.e. augmentation de la concentration de l'O₂ vers le centre de l'agrégat, Fig. 6.3e). Un phénomène similaire a été observé par d'autres auteurs (Sexstone et al., 1985; Bakker et Bronswijk, 1993).

(1) En raison de l'irrégularité de la géométrie des agrégats naturels, la taille exprime la moitié de la moyenne de trois cordes mesurées dans les trois dimensions de l'agrégat. Le concept de rayon équivalent n'est pas valable dans le cas de profils d'O₂ obtenus sur des agrégats irréguliers.

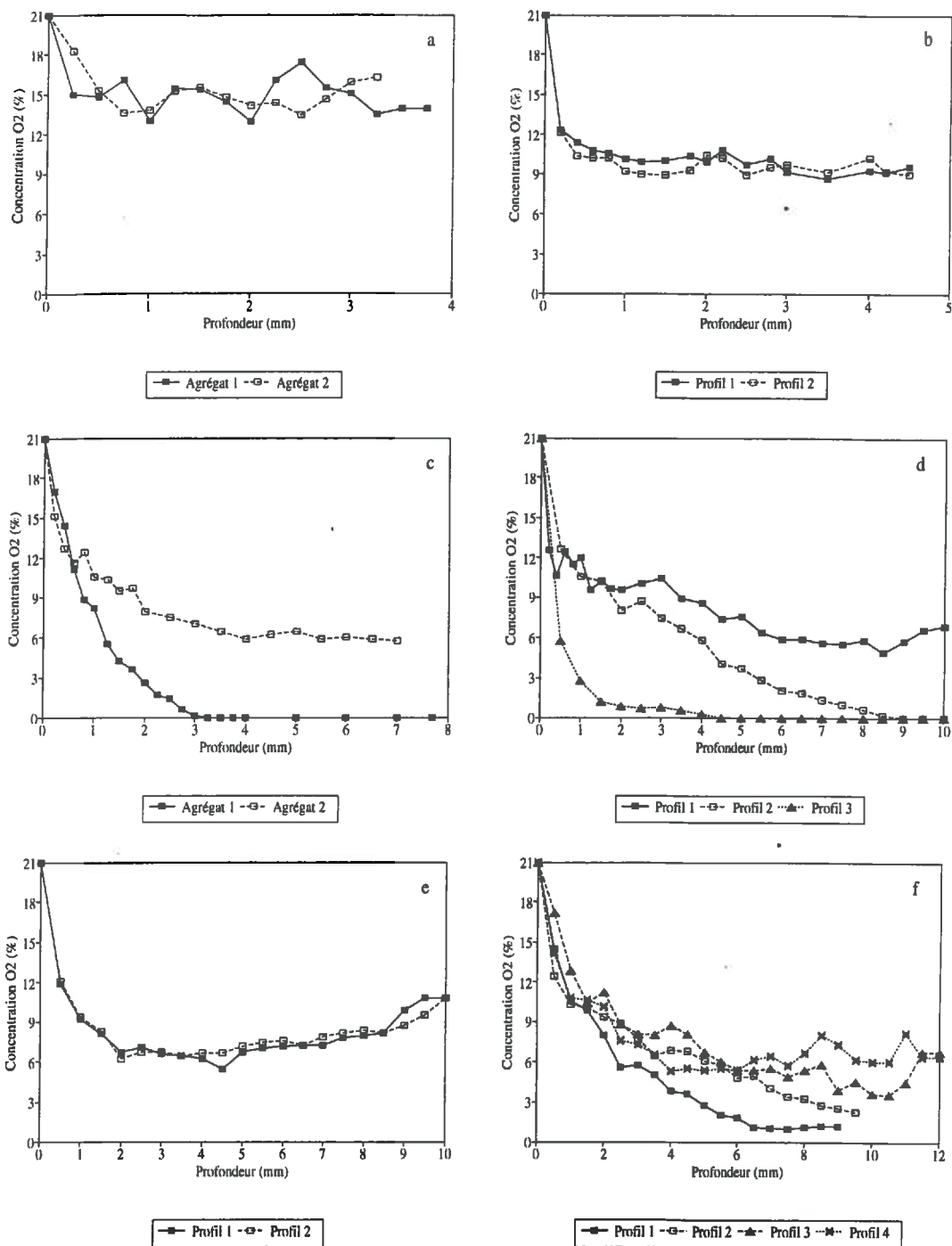


Figure 6.3: Profils d'O₂ obtenus pour des agrégats naturels de différentes tailles.

Vis-à-vis de l'irrégularité des profils, nous ne pouvons pas discriminer en toute rigueur les influences respectives des hétérogénéités d'ordre physique et d'ordre biologique (points de grande consommation d'O₂). Ces dernières peuvent être responsables de la région anoxique constatée pour l'agrégat de la Figure 6.3d. Dans cet agrégat, l'anoxie s'est développée tout près d'une galerie de ver de quelques millimètres de diamètre et non saturée en eau. Malgré cette observation, nous n'avons pas mis en évidence l'existence de points de grande consommation d'O₂ ou "hot-spots" (Parkin, 1987)⁽²⁾. Dans notre cas, nous n'avons pas mené de recherche particulière sur ce sujet. Il est possible que la présence de ce type d'hétérogénéités puisse rester inaperçu face à la variabilité des concentrations en O₂ au sein des agrégats naturels. Pour les six agrégats présentant de l'anoxie, la région anaérobie était toujours localisée dans leur région centrale; elle était continue même si elle pouvait être décalée par rapport au centre de l'agrégat (Fig. 6.3d).

Contrairement à nos résultats, Sexstone et al. (1985) avaient observé une certaine variabilité des profils d'O₂ entre agrégats naturels mais, dans tous les cas reportés, ceux-ci ont présenté une régularité remarquable. Etant donnée que le protocole expérimental utilisé dans notre travail est similaire à celui de Sexstone et al. (1985) (dimension et sensibilité des microélectrodes, pas d'espace de la mesure), ces différences peuvent être attribuées aux caractéristiques du sol et à l'importance des hétérogénéités. En ce sens, les résultats de Bakker et Bronswijk (1993) (voir Fig. 1.11, Chapitre 1) sont plus proches des nôtres en relation à l'importance des fissures sur la régularité des profils d'O₂ observés.

6.3 Rapport expérience - modèle

6.3.1 Paramètres utilisés et conditions initiales

La procédure utilisée pour cette analyse est identique à celle décrite pour la respiration globale (Cf. 5.4.1). Nous avons étudié l'adéquation du modèle alternatif à la simulation des profils obtenus dans les agrégats artificiels uniquement.

Pour les profils mesurés à des concentrations d'O₂ inférieures à 21%, nous avons aussi considéré que l'agrégat était en régime permanent au moment de la détermination, puisque les agrégats ont incubé à ces concentrations durant une période très supérieure à celle estimée pour le régime transitoire.

(2) La rupture de l'agrégat de la Figure 6.3d et son examen visuel n'ont pas montré l'existence de restes végétaux.

6.3.2 Profils à 21% d'oxygène

A la Figure 6.4, nous présentons les ajustements réalisés sur les agrégats de la Figure 6.1. Le Tableau 6.1 donne quelques paramètres issus de ces ajustements. Pour l'ensemble des agrégats artificiels utilisés, le rapport expérience-modèle est similaire à celui de la Figure 6.4.

Comme pour la respiration globale, il n'y a aucune différence entre les profils simulés avec les deux hypothèses de production de CO₂ en raison de la physico-chimie du CO₂ spécifique à notre sol. A très faible concentration en CO₂ les quantités sous forme ionisées peuvent être très importantes. Les calculs montrent qu'au centre d'un agrégat de 12 mm de rayon la pression partielle équivalente de CO₂ (Annexe 2) est comprise entre 2 et 3 fois la pression partielle dans l'atmosphère. Cette valeur est trop petite pour avoir des effets importants sur la respiration.

D'après les paramètres du Tableau 6.1, on peut remarquer que le modèle décrit mieux le profil des agrégats les plus grands. Pour ces agrégats, nous avons toujours constaté que le r^2 était supérieur, la pente de la relation valeurs observées - valeurs ajustées était plus proche de 1 et l'ordonnée à l'origine était beaucoup plus petite.

Le modèle surestime la concentration en O₂ à la périphérie des agrégats, quelque soit la taille mais plus particulièrement pour les deux tailles les plus petites. Pour ces agrégats, la concentration est légèrement sous-estimée au centre. Pour les agrégats les plus grands, il existe une légère sous-estimation de la concentration en O₂ dans la région intermédiaire et une surestimation tout près de la région anoxique. Cette dernière entraîne une sous-estimation du volume anoxique par rapport à la réalité. Pour l'agrégat de la Figure 6.4a, tandis que la région anoxique correspond à 17% de son volume total, le modèle l'estime à 5%. Ceci est dû à une différence d'environ 2 mm entre le rayon des zones anoxiques réelle et simulée.

La concentration en O₂ calculée par le modèle au point où nous avons constaté le début de l'anoxie, est de 0.5%-0.6% selon les agrégats. Dans cette région, l'activité respiratoire théorique est très limitée par l'O₂ et permet donc le maintien de ce gaz à des teneurs faibles sur un volume non négligeable.

Nous avons constaté deux tendances relatives au R_{max} . La première correspond à un effet apparent de la taille sur la valeur de l'estimation (Tableau 6.1). Ainsi les moyennes de ce paramètre ont été de $1.74 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ pour la Taille 2, de $2.18 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ pour la Taille 5 et de $2.70 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ pour la Taille 7. Cette observation est en accord avec les estimations réalisées pour la respiration globale où nous avons trouvé que le R_{max} calculé tendait à augmenter avec la diminution de la taille de l'agrégat (Cf. 5.4.2).

La deuxième tendance est l'évolution temporelle des R_{max} . Ceux-ci tendent à diminuer avec le temps, en accord à l'évolution des profils présentés ci-dessus (Fig. 6.2).

6.3.3 Profils au dessous de 21% d'oxygène

A la Figure 6.5, nous montrons le rapport expérience-modèle pour des profils mesurés à 15% (Taille 2) et 9% (Taille 5) en O₂. Il apparaît évident que pour ces profils on retrouve la même tendance que ci-dessus: le modèle surestime les concentrations en O₂ à la périphérie des agrégats et sous-estime l'importance de la région anoxique. Le R_{max} estimé est de 50% plus élevé que celui correspondant aux mêmes agrégats placés à 21% en O₂.

6.3.4 Suivi du profil d'oxygène

Aux Figures 6.6 et 6.7, nous montrons les ajustements et les écarts entre le modèle et les profils d'O₂ d'un même agrégat à différentes dates. En raison de l'absence d'écart entre les deux variantes du modèle alternatif, ces figures ne reprennent que les résultats obtenus pour la première des ces variantes. Le rapport entre expérience et modèle devient de moins en moins satisfaisant avec le temps. Les écarts entre le modèle et l'expérience montrent clairement que la surestimation de la concentration en O₂ à la périphérie de l'agrégat et la sous-estimation relative de son volume en état d'anoxie s'accroissent avec le temps (Fig. 6.7, Tableau 6.2). Parallèlement, l'écart de concentration en O₂ au point de début de l'anoxie mesurée devient aussi plus grand: il est égal à 0.4% pour le premier profil mesuré (Fig. 6.6a et 6.7a) et à 0.8% pour le profil réalisé 39 jours après la mise en saturation de l'agrégat (Fig. 6.6d et 6.7d).

A la Figure 6.8, nous montrons les estimations de R_{max} des quatre profils mesurés dans cette expérience. D'après ces estimations, le R_{max} serait de l'ordre de 2.5×10^{-5} mol m⁻³ s⁻¹ pour une situation correspondant à 15 jours de saturation. Cette valeur est très proche de celle estimée dans l'expérience visant à étudier les effets de l'O₂ et du CO₂ sur la respiration de petits agrégats artificiels placés deux semaines à saturation (Cf. 4.3.1a). De la même manière, si nous rappelons que la valeur estimée de R_{max} à partir de l'expérience de respiration globale des agrégats artificiels (60 jours de saturation) était de l'ordre de 7×10^{-6} mol m⁻³ s⁻¹, on peut constater que cette valeur est aussi en accord avec la tendance des données de la Figure 6.8.

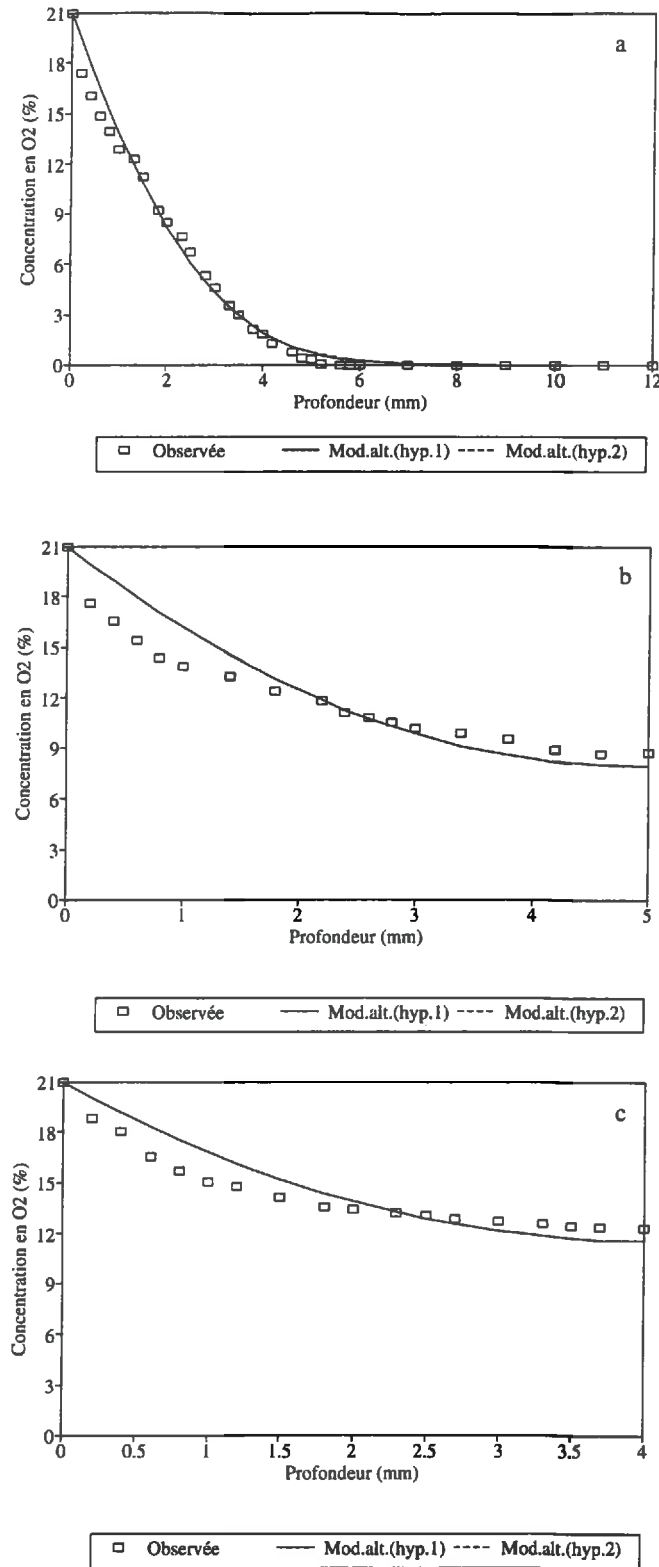


Figure 6.4: Rapport entre les profils d' O_2 mesurés et ajustés à partir du modèle alternatif pour quelques agrégats artificiels de différentes tailles: a- Taille 2; b- Taille 5; c- Taille 7.

Paramètre(*)	Taille d'agrégat		
	2	5	7
R_{\max} estimé(#)	1.71×10^{-5}	2.32×10^{-5}	2.53×10^{-5}
r^2	0.990	0.943	0.918
Pente	1.05	1.26	1.20
Ord. à l'origine	-0.24	-2.70	-2.69

(*) Il n'y a pas de différences entre les paramètres obtenus en considérant la première ou la deuxième hypothèse du modèle alternatif.

(#) Exprimé en $\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$.

Tableau 6.1: Paramètres issus de l'ajustement des profils d' O_2 de la Figure 6.4.

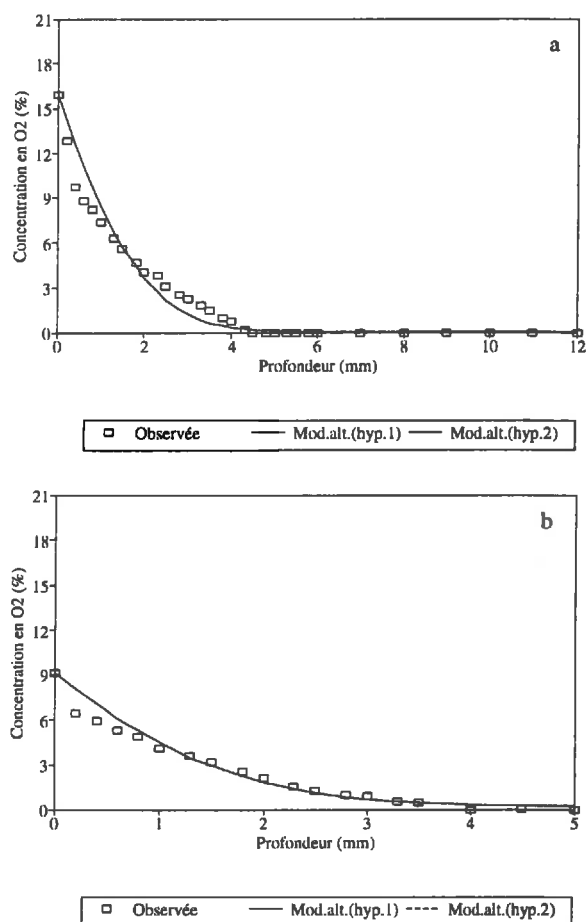


Figure 6.5: Rapport expérience-modèle pour les profils d' O_2 mesurés pour des concentrations extérieures inférieures à 21% d' O_2 : a- agrégat artificiel de Taille 2 (placé à 15% d' O_2); b- agrégat artificiel de Taille 5 (placé à 9% d' O_2).

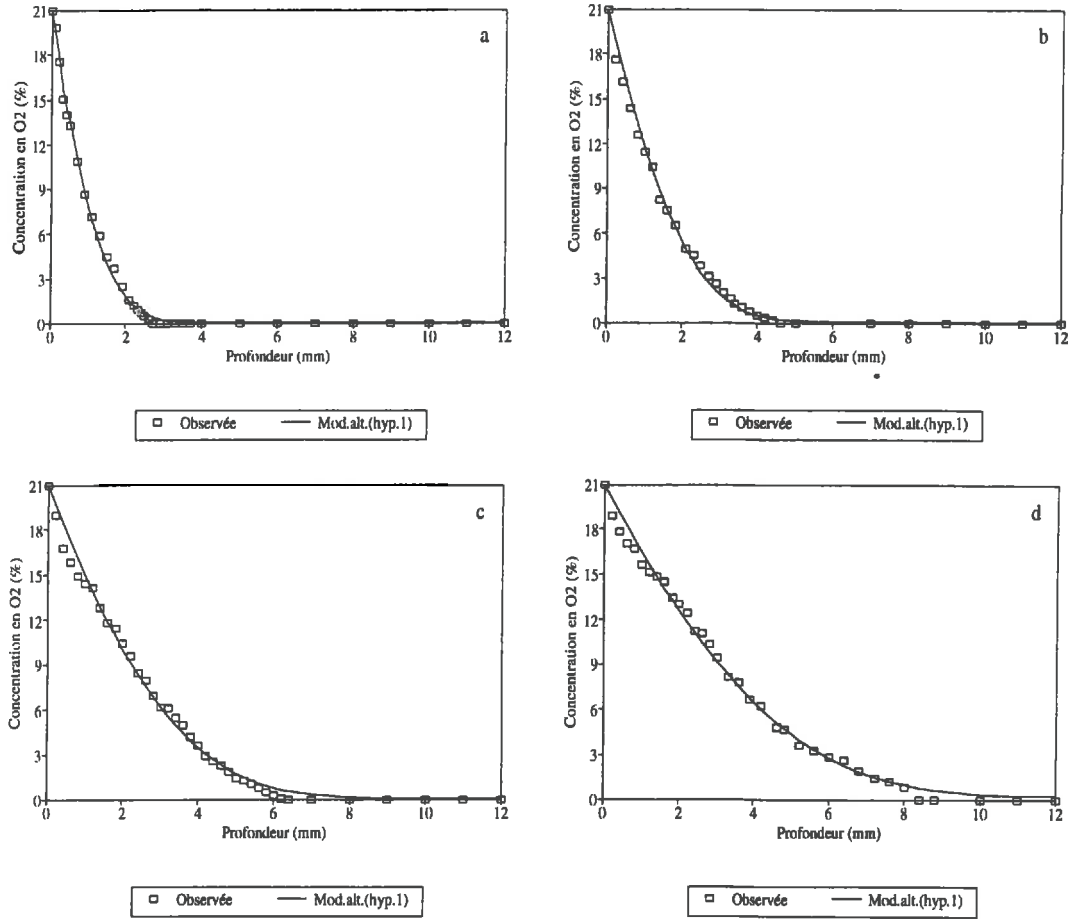


Figure 6.6: Suivi du profil d'O₂ sur un agrégat artificiel de 12 mm de rayon après la reprise de l'activité respiratoire: a- 2 jours; b- 8 jours, c- 23 jours; d- 39 jours.

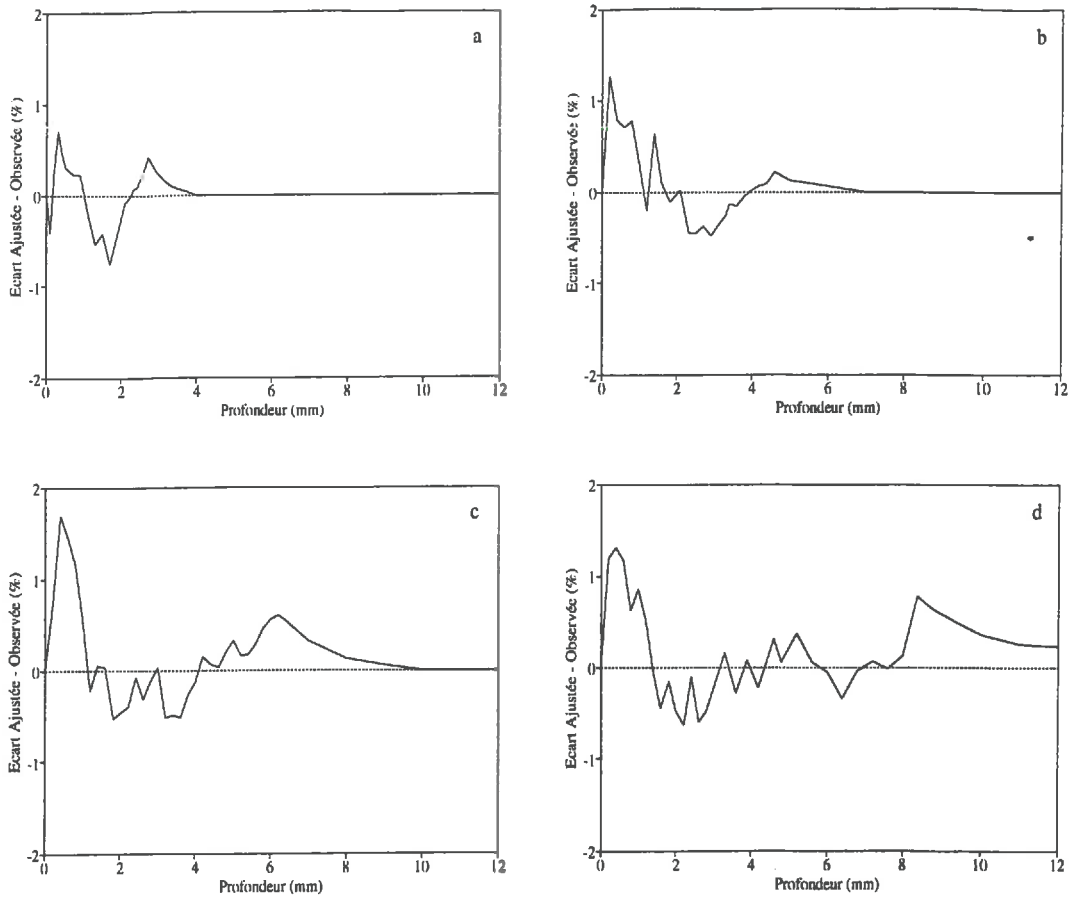


Figure 6.7: Ecarts expérience-modèle pour les profils de la Figure 6.6.

Date(*)	Volume anoxique mesuré (%)	Volume anoxique estimé (%) (#)
2	48.1	33.1
8	23.5	19.9
23	10.2	1.5
39	3.7	0.0

(*) Correspond à la quantité de jours après la reprise de l'activité respiratoire.

(#) Il n'y a pas de différences entre les estimations en utilisant les deux hypothèses de production de CO_2 .

Tableau 6.2: Volume anoxique mesuré et estimé correspondant aux profils de la Figure 6.6.

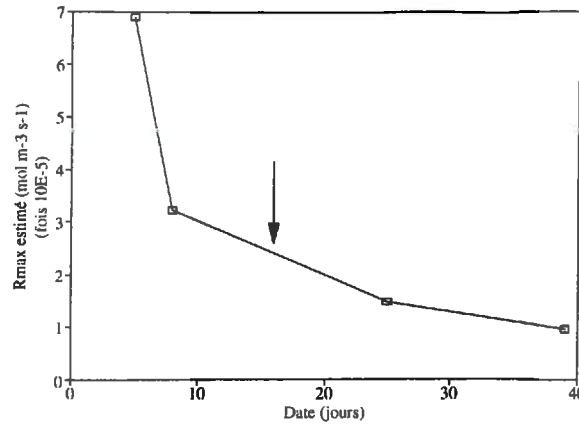


Figure 6.8: Valeurs estimées de R_{max} pour les ajustements des profils de la Figure 6.6. La flèche signale la date correspondant à l'estimation des paramètres biologiques en utilisant les agrégats artificiels de 1-2 mm de rayon.

6.4 Discussion

6.4.1 Ecart modèle-expérience

Les résultats de l'expérience montrent que la diminution de la concentration en O_2 à la périphérie des agrégats est supérieure à celle prédite par le modèle. Ce constat est indépendant de la taille de l'agrégat et de la concentration extérieure en O_2 . Bien que la comparaison avec le modèle ne soit pas possible pour les agrégats naturels, il semble qu'ils présentent la même tendance avec une diminution brutale des teneurs en O_2 dans leur région périphérique. Des profils comme celui de la Figure 6.3e montrent clairement l'importance de cette diminution dans l'espace de quelques dixièmes de millimètre.

Cependant, l'ordre de grandeur de ces écarts est fonction du temps et le modèle est de moins en moins proche de la réalité quand la période écoulée entre la reprise de l'activité biologique et la mesure s'accroît. L'évolution des caractéristiques du profil d' O_2 et du rapport expérience-modèle pourrait donc être liée à celle des caractéristiques biologiques au sein des agrégats. Nous n'envisageons pas la variation d'autres propriétés du sol (p.e. le coefficient de diffusion de l' O_2) au cours du temps.

Dans l'analyse du rapport expérience-modèle, les profils d' O_2 calculés d'après le modèle ont été toujours basés sur des paramètres dont la plupart avaient été déterminés expérimentalement. Ces paramètres possèdent une incertitude liée à leur estimation (voir Tableaux 4.1, 4.4 et 4.6) qui est plus grande pour les paramètres biologiques, notamment pour

K_{mO_2} et K_{iO_2} . Il faudrait y inclure l'erreur due à l'estimation des paramètres sur un système que présente une évolution de l'activité respiratoire.

L'analyse de sensibilité (Chapitre 2) avait montré que la variation de K_{mO_2} a des effets très importants sur le volume en état d'anoxie. Ceci n'est pas le cas de K_{iO_2} pour notre sol. Si nous avons considéré un K_{mO_2} plus grand que sa valeur réelle, il en découle une sous-estimation du volume anoxique par le modèle (voir Fig. 2.9c). Nous avons examiné cette possibilité au cours d'ajustements supplémentaires. Les résultats de cette analyse ont montré que le volume anoxique est plus grand avec un K_{mO_2} plus petit, mais que les écarts expérience-modèle sont plus importants, notamment à la périphérie des agrégats et pour les petits agrégats. De cette analyse nous pouvons conclure que, bien que les erreurs d'estimation des paramètres puissent avoir une influence sur le calcul de la distribution d' O_2 , elles ne sont pas responsables des biais systématiques observés ni de l'évolution des écarts en fonction du temps.

Nous avons discuté auparavant la variation de R_{max} et l'avons interprété comme une conséquence de la diminution de la quantité de carbone disponible pour l'activité respiratoire du sol. Nos résultats montrent que ce n'est qu'un aspect de l'évolution biologique dans les agrégats. En effet, le changement de la consommation d' O_2 avec le temps peut expliquer l'évolution de l'anoxie mais ne suffit pas pour interpréter les écarts entre le modèle et la réalité.

L'évolution des caractéristiques biologiques peut aussi concerner la distribution de la consommation d' O_2 dans les agrégats. Au moment de la saturation des agrégats artificiels initialement secs, on peut les considérer comme homogènes vis-à-vis de la consommation potentielle d' O_2 . Ultérieurement, les gradients de concentrations gazeuses et, éventuellement, de la quantité de carbone disponible, peuvent entraîner une distribution de l'activité microbienne qui deviendrait alors de plus en plus hétérogène (p.e. effet sur la croissance microbienne). Cette hypothèse peut expliquer que le modèle soit plus proche de la réalité 2 jours après la reprise de l'activité respiratoire.

Une distribution hétérogène de la consommation maximale d' O_2 peut aussi expliquer la relation entre les R_{max} estimés et la taille de l'agrégat. En effet, les petits agrégats présentant des gradients de concentrations gazeuses plus faibles auraient une distribution plus uniforme de R_{max} . Ainsi la consommation potentielle d' O_2 de l'ensemble de l'agrégat serait relativement plus grande que celle de gros agrégats. Dans l'Annexe 9, nous analysons cette hypothèse.

Nous avons essayé de tester expérimentalement l'existence d'une distribution hétérogène de la consommation potentielle d' O_2 en mesurant l'activité déshydrogénase au sein des agrégats (Annexe 8). Bien que les résultats montrent qu'une évolution très rapide de cette activité puisse avoir lieu en de quelques jours, des problèmes liés probablement à la méthodologie de mesure ne nous a pas permis de vérifier rigoureusement cette hypothèse.

6.4.2 Les résultats des agrégats naturels

Pour ces agrégats, la tendance générale à présenter une très forte diminution des teneurs en O_2 dans leur région périphérique et leur faible variation dans les régions plus centrales sont difficilement compatibles avec une distribution homogène de l'activité microbienne.

Cependant, ces profils pourraient être aussi une conséquence des différences des caractéristiques de transfert gazeux au sein des agrégats. Par exemple, si la diffusion de l' O_2 à la périphérie est beaucoup plus petite qu'à l'intérieur de l'agrégat (p.e. tassement des particules à la surface), la couche de sol près de la surface représenterait une barrière plus importante à l'entrée du gaz et sa concentration diminuerait brusquement dans cette région. Les résultats de l'expérience de diffusion menée sur les agrégats naturels montrent pourtant que ce n'est pas le cas. Au contraire, ces résultats suggèrent que l'entrée de l' O_2 est favorisée par la présence de fissures ou de cavités à la surface de l'agrégat qui agissent comme de chemins préférentiels au transfert gazeux.

A notre avis, les profils au sein des agrégats naturels indiquent une distribution de l'activité microbienne beaucoup plus différenciée que dans les cas des agrégats artificiels, probablement en relation avec leur environnement. En effet, les agrégats naturels ont été prélevés dans l'horizon 10-30 cm d'un sol présentant de conditions de saturation fréquentes. Dans cette situation, l'intérieur des agrégats serait en état d'anoxie pendant la plupart du temps. En fait, nos mesures des déshydrogénases montrent que le sol possède une grande activité anaérobie. A long terme, cette distribution de l' O_2 entraînerait une localisation préférentielle de l'activité microbienne aérobie à la périphérie de l'agrégat.

6.5 Conclusions du Chapitre 6

Le modèle présente un bon accord avec les résultats des profils d' O_2 quand les agrégats peuvent être considérés homogènes vis-à-vis de l'activité biologique. Ceci ne semble plus être le cas des agrégats artificiels quelques semaines après la reprise de l'activité microbienne et de l'ensemble des agrégats naturels analysés. Dans ce cas-là, le modèle sous-estime l'anoxie, quand il y en a, et produit probablement une mauvaise description de la consommation d' O_2 notamment à la périphérie des agrégats.

Les résultats suggèrent que des écarts entre l'expérience et la théorie seraient plus dus aux hypothèses du modèle qu'à une mauvaise prise en compte des mécanismes de transfert gazeux. En ce sens, le travail devrait être poursuivi afin d'analyser la distribution de l'activité microbienne au sein des agrégats et afin de reformuler, si nécessaire, l'hypothèse d'homogénéité

biologique. Les résultats que nous montrons dans l'Annexe 8 indiquent que ce type d'étude peut présenter quelques problèmes d'ordre méthodologique et aussi théorique au moment de l'interprétation des résultats. Il est possible que plus d'une méthode d'analyse doive être utilisée si l'objectif est d'obtenir une fonction décrivant la distribution des microbes et/ou de leur activité au niveau de l'agrégat.

Les résultats des profils d'O₂ confirment que, dans notre système, l'effet du CO₂ sur l'activité respiratoire est négligeable par rapport à celle de l'O₂. Il semble donc que ce gaz puisse avoir une influence significative sur la consommation d'O₂ seulement dans des agrégats beaucoup plus grands que ceux utilisés dans notre travail ou dans de conditions physico-chimiques différentes.

CONCLUSIONS GENERALES

*The perfection with which nature operates in this respect (microbial activity)
has been termed the "principle of biological infallibility".*

Bernhard Schink

L'objectif de la thèse était d'étudier le déterminisme et l'importance de l'anoxie dans le sol. Deux choix préalables avaient été réalisés quant à notre objet d'étude. Il s'agissait de travailler sur des milieux agrégés et de nous limiter à l'agrégat isolé. Dans le passé, de telles études n'avaient été réalisées que partiellement sur quelques variables affectant l'anoxie et la distribution d'O₂ dans les sols. De ces travaux ressortait la nécessité d'envisager une analyse systématique des mécanismes responsables du développement de l'anaérobiose afin d'améliorer son estimation.

Nous nous étions donc proposés de réaliser un test des processus associés à l'anoxie par voie expérimentale. Grâce à ce travail, nous voulions parallèlement évaluer quelques

variantes d'un modèle décrivant les transferts gazeux et la respiration microbienne au sein des agrégats. Ces variantes décrivent différemment l'activité respiratoire. La contribution de cette étude à l'amélioration des connaissances sur l'anoxie dans les sols concerne la description des mécanismes de base et le test du modèle quand l'ensemble des mécanismes interagissent.

Nous avons montré que la formulation utilisée couramment pour décrire la consommation d'O₂ est trop simplificatrice. La mise en évidence des effets de l'O₂ et du CO₂ sur la respiration microbienne et leur description par la loi de Michaelis - Menten, éventuellement modifiée, ont permis d'améliorer l'estimation de la respiration des agrégats et de la distribution de l'O₂ en leur sein. Par ailleurs, la physico-chimie du CO₂ s'est avérée être un processus essentiel pour quantifier correctement l'influence de ce gaz sur l'activité des micro-organismes. Ce phénomène était généralement négligé dans les travaux antérieurs visant à étudier la respiration des sols.

L'effet du CO₂ sur la respiration n'est pas un processus très important pour la gamme de taille d'agrégats explorée tant que la concentration extérieure de ce gaz reste près de la concentration atmosphérique. Dans ce cas, la teneur en CO₂ est faible dans les agrégats du fait du déplacement des équilibres physico-chimiques vers la formation de bicarbonates. Toutefois, au niveau du profil du sol, la concentration de CO₂ dans l'espace poral inter-agrégats peut augmenter avec la profondeur et le taux de saturation en eau de cet espace. Pour des agrégats placés en conditions naturelles, la teneur en CO₂ au sein des agrégats pourrait donc atteindre des valeurs capables de stimuler et/ou d'inhiber la respiration.

La formulation mathématique retenue pour décrire la respiration n'est probablement pas généralisable car elle décrit un système particulier avec ses caractéristiques biologiques, physiques et physico-chimiques spécifiques. L'étude de la respiration à une échelle plus petite que celle de l'agrégat (p.e. population microbienne in-vitro) pourrait apporter des informations sur les mécanismes d'action de l'O₂ et du CO₂. Cependant, l'extrapolation de ces résultats à une échelle supérieure peut présenter de sérieuses limitations car l'agrégat est colonisé par des populations microbiennes très diverses.

La loi de Fick s'est avérée efficace pour décrire la diffusion de l'O₂ au sein des agrégats artificiels. Les hétérogénéités physiques des agrégats naturels ont une forte influence sur le transfert de ce gaz. Nous avons cependant considéré un coefficient de diffusion "moyen" pour expliquer la respiration de ces agrégats. Cette simplification semble acceptable dans notre étude. Cependant, ce travail reste incomplet sur ce point car nous ne pouvons pas séparer strictement les effets des hétérogénéités d'ordre physique et d'ordre biologique (p.e. "hot-spots"). Une façon d'aborder le problème pourrait être d'analyser l'influence de ces hétérogénéités sur l'anoxie à l'aide d'un modèle 3-D. L'objectif de cette étude serait alors d'analyser les conséquences sur l'anoxie d'une distribution stochastique du coefficient de diffusion et/ou de l'activité microbienne. Grâce à ce type d'investigations, nous pourrions ultérieurement envisager de décrire le comportement global d'une population d'agrégats après

la mise au point de relations simplifiées entre l'anoxie au niveau d'un agrégat et quelques variables aisément estimables (p.e. tailles, respiration potentielle, indices de l'hétérogénéité).

Le modèle issu de notre travail présente un bon accord avec la distribution de l'O₂ dans les agrégats, quand le milieu est homogène physiquement et biologiquement. Néanmoins, il semble qu'un gradient d'activité microbienne puisse se développer progressivement, en réponse probablement aux gradients des concentrations gazeuses. Nous avons obtenu quelques indices de ce genre de comportement, sans toutefois le mettre en évidence directement.

Ce phénomène est important vis-à-vis de l'anoxie, de plus en plus fortement sous-estimée au cours du temps par le modèle actuel. La distribution de l'O₂ dans les agrégats naturels montre que ce gradient d'activité microbienne pourrait avoir plus de conséquences sur l'anoxie que les hétérogénéités physiques. Des méthodes sont actuellement disponibles pour analyser la distribution des populations microbiennes et leur évolution. Le marquage génétique de bactéries aérobies est probablement l'une des plus intéressantes. Il permettrait de cerner la répartition spatiale du potentiel d'activité microbienne au sein des agrégats. Ce type d'étude pourrait être complété par des analyses plus classiques sur l'activité déshydrogénase afin d'appréhender la distribution de la consommation d'O₂.

Trois orientations de recherche pourraient faire suite à cette thèse. La première concerne l'amélioration de l'estimation de l'anoxie au niveau de l'agrégat avec, notamment, la prise en compte des hétérogénéités physiques et biologiques. Ce travail pourrait se faire avec le souci d'aboutir à des modèles simplifiés au niveau de l'agrégat.

Sans changement de l'échelle de travail, la deuxième orientation concerne le couplage des modèles décrivant l'anoxie et la dénitrification. Pour ce faire, il existe déjà des éléments de modélisation. D'un point de vue expérimental, des microélectrodes aptes à mesurer simultanément l'O₂ et le N₂O et présentant les mêmes avantages que les microélectrodes utilisées dans notre travail, ont été décrites dans la littérature. Elles pourraient aider à tester ce type de modèles. Cette démarche devrait être menée avant l'estimation de la dénitrification à l'échelle du profil cultural.

La troisième ligne de recherche concerne l'estimation de l'anoxie au niveau du profil. Un préalable à ce type de travail concerne la sensibilité de l'anoxie à cette échelle aux paramètres qui décrivent l'anoxie au niveau de l'agrégat. Ceci permettrait de définir les variables essentielles à prendre en compte, la précision nécessaire à leur détermination et les simplifications éventuellement acceptables. Néanmoins, il semble que le problème le plus délicat correspond à la validation in situ du modèle du fait de la variabilité spatiale et temporelle de l'anoxie. Dans un premier temps, une démarche possible serait de limiter cette validation à la distribution de l'O₂ dans l'espace poral inter-agrégats.

Pour pouvoir passer de notre étude concernant l'anoxie à une meilleure connaissance des processus microbiens qui en dépendent (dénitrification et méthanogénèse entre autres), il reste nécessaire d'appréhender mieux les phénomènes d'anoxie en situation réelle. Ceux-ci

semblent plus importants dans les sols dont la structure ne correspond pas à celle d'un milieu agrégé. Il faut donc généraliser notre travail à des situations plus complexes. Par ailleurs, il nous faut appréhender les autres facteurs limitants les processus étudiés. Pour la dénitrification, il s'agit entre autre des transferts de NO_3^- des régions aérées du sol aux sites en état d'anoxie. Enfin, les études sur la dénitrification étant de plus en plus souvent motivées par les problèmes de pollution atmosphérique en N_2O , il est nécessaire de coupler les études sur l'anoxie à des études sur le transfert et la biodégradation du N_2O . Actuellement, on commence à bien connaître les facteurs influençant cette biodégradation, mais il reste encore beaucoup de travail à réaliser pour arriver à des modèles qui les prennent en compte.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALEXANDER M.** 1961 Introduction to soil microbiology. J. Wiley & Sons (2nd Edition), New York.
- ARAH J.R.M. ET SMITH K.A.** 1989 Steady-state denitrification in aggregated soils: a mathematical model. *J. Soil Sci.* **40**: 139-149
- ARAH J.R.M.** 1988 Modelling denitrification in aggregated and structureless soils, 433-444. En: D.S. Jenkinson et K.A. Smith (Ed.). Nitrogen efficiency in agricultural soils. Elsevier Applied Science, London.
- BALL B.C. ET SMITH K.A.** 1991 Gas Movement, 511-549. En: K.A. Smith et C.E. Mullins (Ed.). Soil Analysis: Physical Methods. M. Dekker Inc., New York
- BAKKER D.M. ET BRONSWIJK J.J.B.** 1993 Heterogeneous oxygen concentrations in a structured clay soil. *Soil Sci.* **155**: 309-315
- BARD A.** 1974 Non-linear parameter estimation. Academic Press, New York
- BAVER L.D., GARDNER W.H. ET GARDNER W.R.** 1972 Soil Physics. J. Wiley & Sons. (4th Edition), New York.
- BEAUDRY R.M., CAMERON A.C., SHIRASI A. ET DOSTALLANGE D.L.** 1992 Modified-atmosphere packaging of blueberry fruit: Effect of temperature on package O₂ and CO₂. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **117**: 436-441
- BOURRIE G.** 1976 Relations entre le pH, l'alcalinité, le pouvoir tampon et les équilibres de CO₂ dans les eaux naturelles. *Science du Sol* **3**: 141-160
- BRIDGE B.J. ET RIXON A.J.** 1976 Oxygen uptake and respiratory quotient of field soil cores in relation to their air-filled pore space. *J. Soil Sci.* **27**: 279-286
- BUCKINGHAM E.** 1904 Contributions to our knowledge of the aeration of soils. U.S.D.A Bureau of Soils Bull. **25**.
- CASIDA JR. L.E.** 1977 Microbial metabolic activity in soil as measured by dehydrogenase determinations. *Appl. Environ. Microbiol.* **34**: 630-636
- CHRISTENSEN S., SIMKINS S. ET TIEDJE J.** 1990a Spatial variation in denitrification: dependency of activity centers on the soil environment. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **54**: 1608-1613
- CHRISTENSEN S., SIMKINS S. ET TIEDJE J.** 1990b Temporal patterns of soil denitrification: their stability and causes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **54**: 1614-1618
- COLLIN M. ET RASMUSON A.** 1988 A comparison of gas diffusivity models for unsaturated porous media. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **52**: 1559-1565
- COSTES C.** 1978 Elements de biochimie structurale. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Chaire de Chimie Biologique (Centre de Grignon).
- CRANK J.** 1957 The mathematics of diffusion. Oxford University Press, London.
- CURRIE J.A.** 1960a Gaseous diffusion in porous media. I. A non-steady state method. *Brit. J. App. Phys.* **11**: 314-317
- CURRIE J.A.** 1960b Gaseous diffusion in porous media. II. Dry granular materials. *Brit. J. App. Phys.* **11**: 318-324
- CURRIE J.A.** 1961 Gaseous diffusion in the aeration of aggregated soils. *Soil Sci.* **92**: 40-45

DOMMERGUES Y. ET MANGENOT F. 1970 Ecologie microbienne du sol. Mason, Paris.

DOWDELL R.J., SMITH K.A., CREES R. ET RESTALL S.W.F. 1972 Field studies of ethylene in the soil atmosphere. Equipment and preliminary results. *Soil Biol. Biochem.* 4: 325-331

DRURY C.F., MCKENNEY D.J. ET FINDLAY W.I. 1992 Nitric oxide and nitrous oxide production from soil: water and oxygen effects. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 766-770

ENFORS S.O. ET MOLIN G. 1980 Effect of high concentrations of carbon dioxide on growth rate of *Pseudomonas fragi*, *Bacillus cereus* and *Streptococcus cremoris*. *J. App. Bact.* 48: 409-416

FIES J.C. 1984 Analyse de la répartition du volume des pores dans les assemblages argile - squelettes: comparaison entre un modèle d'espace poral textural et les données fournies par la porosimétrie au mercure. *Agronomie* 4: 891-899

FIES J.C. 1992 Analysis of soil textural porosity relative to skeleton particle size using mercury porosimetry. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 1062-1067

FIES J.C. ET STENGEL P. 1981a Densité texturale de sols naturels. I. Méthode de mesure. *Agronomie* 1: 651-658

FIES J.C. ET STENGEL P. 1981b Densité texturale de sols naturels. II. Eléments d'interprétation. *Agronomie* 1: 659-666

FIRESTONE M.K. 1982 Biological denitrification, 289-326. En: F.J. Stevenson (Ed.). Nitrogen in agricultural soils. Agronomy Monograph. N° 22. ASA, Madison.

FLÜHLER H., STOLZY L.H. ET ARDAKANI M.S. 1976 A statistical approach to define aeration in respect to denitrification. *Soil Sci.* 122: 115-123

FOCHT D.D. 1974 The effect of temperature, pH, and aeration on the production of nitrous oxide and gaseous nitrogen: a zero-order kinetic model. *Soil Sci.* 118: 173-179

FOLORUNSO O.A. ET ROLSTON D.E. 1984 Spatial variability of field-measured denitrification gas fluxes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48: 1214-1219

GERMON J.C. 1983 Microbiology of denitrification and other processes involving the reduction of oxygenated nitrogenous compounds, 31-46. En: H.L. Golterman (Ed.). Denitrification in the nitrogen cycle. Plenum Press, New York.

GERMON J.C., COUTON Y., JACQUES D., GUIRAUD G. ET CATROUX G. 1985 Etude de la dénitrification dans différents sols cultivés. Effet des facteurs pédologiques, climatiques et culturaux. Congrès "Nitrates dans les Eaux", 22-23-24 octobre 1985. Paris.

GILL C.O. ET TAN K.H. 1979 Effect of carbon dioxide on growth of *Pseudomonas fluorescens*. *App. Environ. Microb.* 38: 237-240

GHIORSE W.C. 1988 Microbial reduction of manganese and iron, 305-331. En: A.J.B. Zehnder (Ed.). Biology of anaerobic microorganisms. J. Wiley & Sons, New York.

GRANT R.F. 1991 A technique for estimating denitrification rates at different soil temperatures, water contents, and nitrate concentrations. *Soil Sci.* 152: 41-52

GREENWOOD D.J. 1961 The effect of oxygen concentration on the decomposition of organic materials in soil. *Plant Soil* 4: 360-376

GREENWOOD D.J. ET BERRY G. 1962 Aerobic respiration in soil crumbs. *Nature* 195: 161-163

- GREENWOOD D.J. ET GOODMAN D.** 1967 Direct measurements of the distribution of oxygen in soil aggregates and in columns of fine soil crumbs. *J. Soil Sci.* **18**: 182-196
- GRUNDMANN G.L., ROLSTON D.E. ET KACHANOSKI R.G.** 1988 Field soil properties influencing the variability of denitrification gas fluxes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **52**: 1351-1355
- HATTORI T.** 1973 Microbial life in the soil. An introduction. Dekker, New York.
- HENAULT C.** 1993 Quantification de la dénitrification dans les sols à l'échelle de la parcelle cultivée, à l'aide d'un modèle prévisionnel. Thèse Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier. 108 p.
- JAYNES D.B. ET ROGOWSKI A.S.** 1983 Applicability of Fick's law to gas diffusion. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **47**: 425-430
- HISINGER P. ET METTAUER H.** 1989 De l'application de la perméabilité à l'air des sols en agronomie. I. Notion de perméabilité à l'air et méthodologie, mise au point bibliographique. *Agronomie* **9**: 3-12
- KADER A.A., ZAGORY D. ET KERBEL E.L.** 1989 Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **28**: 1-30
- KENNER R.A. ET ACHMED S.I.** 1975 Measurements of electron transport activities in marine phytoplankton. *Mar. Biol.* **33**: 119-127
- KILBERTUS G.** 1980 Etude des microhabitats contenus dans les agrégats du sol. Leur relation avec la biomasse bactérienne et la taille des procaryotes présents. *Rev. Ecol. Biol. Sol* **17**: 543-557
- KNOWLES R.** 1982 Denitrification. *Microbiol. Rev.* **46**: 43-70
- KOHL D.H., VITHAYATHIL F., WHITLOW P., SHEARER G. ET CHIEN S.H.** 1976 Denitrification kinetics in soil systems: the significance of good fits of data to mathematical forms. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **40**: 249-253
- KOROM S.** 1992 Natural denitrification in the saturated zone: a review. *Water Resour. Res.* **28**: 1657-1668
- KRISTENSEN K.J.** 1966 Factors affecting measurements of oxygen diffusion rate (ODR) with bare platinum microelectrodes. *Agron. J.* **58**: 351-354
- KRISTENSEN K.J. ET LEMON E.R.** 1964 Soil aeration and plant root relations. III. Physical aspects of oxygen diffusion in the liquid phase of the soil. *Agron. J.* **56**: 295-301
- LEE D.S., HAGGAR P.E. ET YAM K.L.** 1991 Model for fresh produce respiration in modified atmospheres based on principles of enzyme kinetics. *J. Food Sci.* **56**: 1580-1585
- LEFFELAAR P.A.** 1979 Simulation of partial anaerobiosis in a model soil in respect to denitrification. *Soil Sci.* **128**: 110-120
- LEFFELAAR P.A.** 1986 Dynamics of partial anaerobiosis, denitrification, and water in a soil aggregate: experimental. *Soil Sci.* **142**: 352-366
- LEFFELAAR P.A.** 1988 Dynamics of partial anaerobiosis, denitrification, and water in a soil aggregate: simulation. *Soil Sci.* **146**: 427-444
- LEFFELAAR P.A. ET WESSEL W.W.** 1988 Denitrification in a homogeneous, closed system: experiment and simulation. *Soil Sci.* **146**: 335-349

- LEMON E.R. ET ERICKSON A.E. 1952 The measurement of oxygen diffusion in the soil with a platinum microelectrode. *Soil Sci. Proc.* 16:160-163
- LEMON E.R. ET ERICKSON A.E. 1955 Principle of the platinum microelectrode as a method of characterizing soil aeration. *Soil Sci.* 79: 383-392
- MARTIN G. 1978 Le problème de l'azote dans les eaux. Technique et Documentation, Paris
- MACFADYEN A. 1973 Inhibitory effects of carbon dioxide on microbial activity in soil. *Pedobiologia* 13: 140-149
- MASEPOHL B., WITTY J.F., RIEDEL K.U., LIPP W. ET PÜHLER A. 1993 *Rhizobium meliloti* mutants defective in symbiotic nitrogen fixation affect the oxygen gradient in alfalfa (*Medicago sativa*) root nodules. *J. Experim. Bot.* 259: 419-426
- MCCONNAUGHEY P.K. ET BOULDIN D.R. 1985a Transient microsite models of denitrification: I. Model development. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49: 886-891
- MCCONNAUGHEY P.K. ET BOULDIN D.R. 1985b Transient microsite models of denitrification: II. Model results. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49: 891-895
- MCCONNAUGHEY P.K. ET BOULDIN D.R. 1985c Transient microsite models of denitrification: III. Comparison of experimental and model results. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49: 896-901
- MCELWAIN D.L.S. 1978 A re-examination of oxygen diffusion in a spherical cell with Michaelis-Menten oxygen uptake kinetics. *J. Theor. Biol.* 71: 255-263
- MCINTYRE D.S. 1966 Characterizing soil aeration with a platinum microelectrode. I. Response in relation to field moisture conditions and electrode diameter. *Aust. J. Soil Res.* 4: 95-102
- MARRERO T.R. ET MASON E.A. 1972 Gaseous diffusion coefficients. *J. Phys. Chem.* 9: 1-8
- MARSHALL T.J. 1958 A relation between permeability and size distribution of pores. *J. Soil Sci.* 9: 1-8
- MILLINGTON R.J. ET QUIRK J.P. 1961 Permeability of porous media. *Trans. Faraday Society* 57: 1200-1207
- MILLINGTON R.J. ET SHEARER R.C. 1971 Diffusion in aggregated porous media. *Soil Sci.* 111: 372-378
- MOLZ F.J., WIDDOWSON M.A. ET BENEFIELD L.D. 1986 Simulation of microbial growth dynamics coupled to nutrient and oxygen transport in porous media. *Water Resour. Res.* 22: 1207-1216
- MONNIER G., STENGEL P. ET FIES J.C. 1973 Une méthode de mesure de la densité apparente de petits agglomérats terreux. Application à l'analyse des systèmes de porosité du sol. *Ann. Agron.* 24: 533-545
- MYROLD D.D. ET TIEDJE J. 1985 Diffusional constraints on denitrification in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49: 651-657
- NIELSON K.K., ROGERS V.C. ET GEE G.W. 1984 Diffusion of radon through soils: a pore distribution model. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48: 482-487
- NORTON J.M. ET FIRESTONE M.K. 1991 Metabolic status of bacteria and fungi in the rhizosphere of Ponderosa Pine seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 1161-1167

- ORCHARD V. ET COOK F.J.** 1983 Relationship between soil respiration and soil moisture. *Soil Biol. Biochem.* **15**: 447-453
- OREN A.** 1987 On the use of tetrazolium salts for the measurement of microbial activity in sediments. *Microb. Ecol.* **45**: 127-133
- OUYANG Y. ET BOERSMA L.** 1992a Dynamic oxygen and carbon dioxide exchange between soil and atmosphere. I. Model development. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **56**: 1695-1702
- OUYANG Y. ET BOERSMA L.** 1992b Dynamic oxygen and carbon dioxide exchange between soil and atmosphere. II. Model simulations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **56**: 1702-1710
- PANKOW J.F.** 1991 Aquatic chemistry concepts. Lewis Publishers Inc., Michigan.
- PAPENDICK R.I. ET RUNKLES J.R.** 1965 Transient-state oxygen diffusion in soil: I. The case when rate of oxygen consumption is constant. *Soil Sci.* **100**: 251-261
- PAPENDICK R.I. ET RUNKLES J.R.** 1966 Transient-state oxygen diffusion in soil: II. A case when rate of oxygen consumption varies with time. *Soil Sci.* **102**: 223-230
- PARKIN T.B.** 1987 Soil microsites as a source of denitrification variability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **51**: 1194-1199
- PARKIN T.B.** 1990 Characterizing the variability of soil denitrification, 213-228. En: N.P. Revsbech et J. Sorensen (Ed.). Denitrification in soil and sediment. Plenum Press, New York.
- PARKIN T.B.** 1993 Spatial variability of microbial processes in soil - A review. *J. Environ. Qual.* **22**: 409-417
- PARKIN T.B., MEINSINGER J.J., CHESTER S.T., STARR J.L. ET ROBINSON J.A.** 1988 Evaluation of statistical estimation methods for lognormally distributed variables. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **52**: 323-329
- PARKIN T.B., STARR J.L. ET MEISINGER J.J.** 1987 Influence of sample volume on measurement of soil denitrification. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **51**: 1492-1501
- PENMAN H.L.** 1940 Gas and vapour movements in the soil. I. The diffusion of vapours through porous solids. *J. Agric. Sci.* **30**: 437-462
- PHENE C.J., CAMPBELL R.B. ET DOTY C.W.** 1976 Characterization of soil aeration in situ with automated oxygen diffusion measurements. *Soil Sci.* **122**: 271-281
- PRIESACK E. ET KISSER-PRIESACK G.M.** 1993 Modelling diffusion and microbial uptake of ¹³C-glucose in soil aggregates. *Geoderma* **56**: 561-573
- RASMUSON A., GIMMI T. ET FLÜHLER H.** 1990 Modeling reactive gas uptake, transport and transformation in aggregated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **54**: 1206-1213
- REFSGAARD J.C., CHRISTENSEN T.H. ET AMMENTORP H.C.** 1991 A model for oxygen transport and consumption in the unsaturated zone. *J. Hydrol.* **129**: 349-369
- RENAULT P.** 1988a Etude et modélisation du coefficient de diffusion en phase gazeuse en fonction de la morphologie de l'espace poral textural des sols cultivés. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. 196p
- RENAULT P.** 1988b Theoretical studies of mercury intrusion in some networks: testing the applicability of mercury intrusion in the size characterisation of the lacunar pore space of soil samples. *Transport in Porous Media* **3**: 529-547

- RENAULT P. ET STENGEL P. 1994 Modelling oxygen diffusion in aggregated soils. I. Anaerobiosis inside the aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* (accepté pour publication).
- RENAULT P. ET SIERRA J. 1994 Modelling oxygen diffusion in aggregated soils. I. Anaerobiosis in topsoils layers. *Soil Sci. Soc. Am. J.* (accepté pour publication).
- REVSBECH N.P. 1989 An oxygen microelectrode with a guard cathode. *Limnol. Oceanogr.* **34**: 474-478
- REVSBECH N.P. ET JORGENSEN B.B. 1986 Microelectrodes: their use in microbial ecology, 293-352. En: K.C. Marshall (Ed.). *Advances in microbial ecology*. Plenum Press, New York.
- REVSBECH N.P. ET WARD D.M. 1983 Oxygen microelectrode that is insensitive to medium chemical composition: use in an acid microbial mat dominated by *Cyanidium caldarium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**: 755-759
- RICE C.W., SIERZEGA P.E., TIEDJE J.M. ET JACOBS L.W. 1988 Stimulated denitrification in the microenvironment of a biodegradable organic waste injected into soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **52**:102-108
- ROCHETTE P., DESJARDINS R.L. ET PATTEY E. 1991 Spatial and temporal variability of soil respiration in agricultural fields. *Can. J. Soil Sci.* **71**: 189-196
- ROLSTON D.E. 1986 Gas diffusivity, 1089-1102. En: A. Klute (Ed.). *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods*. Agronomy Monograph N° 9 (2nd Edition). ASA-SSSA, Madison.
- ROLSTON D.E., RAO P.S.C., DAVIDSON J.M. ET JESSUP R.E. 1984 Simulation of denitrification losses of nitrate fertilizer applied to uncropped, cropped, and manure-amended field plots. *Soil Sci.* **137**: 270-279
- SEECH A.G. ET BEAUCHAMP E.G. 1988 Denitrification in soil aggregates of different sizes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **52**: 1616-1621
- SEXSTONE A.J., REVSBECH N.P., PARKIN T.B. ET TIEDJE J.M. 1985 Direct measurement of oxygen profiles and denitrification rates in soil aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **49**: 645-651
- SIERRA J. 1992 Relationship between mineral N content and N mineralization rate in disturbed and undisturbed soil samples incubated under field and laboratory conditions. *Aust. J. Soil Res.* **30**: 477-492
- SKOPP J. 1985 Oxygen uptake and transport in soils: analysis of the air-water interfacial area. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **49**: 1327-1331
- SMITH K.A. 1977 Soil aeration. *Soil Sci.* **123**: 284-291
- SMITH K.A. 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.A. 1990 Anaerobic zones and denitrification in soil: modelling and measurement, 229-244. En: N.P. Revsbech et J. Sorensen (Ed.). *Denitrification in soil and sediment*. Plenum Press, New York.
- SMITH K.A. ET DOWDELL R.J. 1974 Field studies of the soil atmosphere. I. Relationships between ethylene, oxygen, soil moisture content, and temperature. *J. Soil Sci.* **25**: 217-230
- SOUTY M., RENAULT P., CHAMBROY Y., JACQUEMIN G., GUINEBRETIERE M.H., REICH M., BREUILS L., HOUAL L. ET SIERRA J. 1993 Etude sur l'amélioration des conditions

de survie et de commercialisation des fraises. Rapport Final 1992. Conseil Regional Provence - Alpes - Cote d'Azur.

STENGEL P. 1979 Utilisation de l'analyse des systèmes de porosité pour la caractérisation de l'état physique du sol *in situ*. *Ann. Agron.* **30**: 27-51

STOUTHAMER A.H. 1988 Dissimilatory reduction of oxidized nitrogen compounds, 245-303. En: A.J.B. Zehnder (Ed.). *Biology of anaerobic microorganisms*. J.Wiley & Sons, New York.

TIEDJE J.M. 1988 Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium, 179-244. En: A.J.B. Zehnder (Ed.). *Biology of anaerobic microorganisms*. J.Wiley & Sons, New York.

TREVORS J.T., MAYFIELD C.I. ET INNIS W.E. 1982 Measurement of Electron Transport System (ETS) activity in soil. *Microb. Ecol.* **8**: 163-168

VALLES V. 1987 Modélisation des transferts d'eau et des sels dans un sol argileux. Application au calcul des doses d'irrigation. *Sci.Géol., Mém.* **79**. 148 p.

VALLES V. ET DE COCKBORNE A.M. 1992 Elaboration d'un logiciel de géochimie appliquée à l'étude de la qualité des eaux. En: *Altération et restauration de la qualité des eaux continentales*, 27-30. Colloque à Port-Leucate, 1 et 2 octobre 1992.

VAN BAVEL C.H.M. 1951 A soil aeration theory based on diffusion. *Soil Sci.* **72**: 33-46

VAN BAVEL C.H.M. 1952 A theory on the soil atmosphere in and around a hemisphere in which soil gases are used and released. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **16**: 150-153

VERDIER B. 1975 Etude de l'atmosphère du sol. Eléments de comparaison et signification écologique de l'atmosphère d'un sol brun calcaire et d'un sol lessivé podzolique. *Rev. Ecol. Biol. Sol* **12**: 591-626

WEAST R.C. 1988 Handbook of chemistry and physics. CRC Press Inc. (69th edition). Boca Raton, Florida.

WEIL J.H. 1987 Biochimie Générale. Mason (5ème Edition), Paris.

WILSON G.V., THIESSE B.R. ET SCOTT H.D. 1985 Relationships among oxygen flux, soil water tension and aeration porosity in a drying soil profile. *Soil Sci.* **139**: 30-36

WOOD J.T. ET GREENWOOD D.J. 1971 Distribution of carbon dioxide and oxygen in the gas phase of aerobic soils. *J. Soil Sci.* **22**: 281-288

ZAUSIG J., STEPNIIEWSKI W. ET HORN R. 1993 Oxygen concentration and redox potential gradients in saturated model soil aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **57**: 908-916

ZEHNDER A.J.B. ET STUMM W. 1988 Geochemistry and biogeochemistry of anaerobic habitats, 1-38. En: A.J.B. Zehnder (Ed.). *Biology of anaerobic microorganisms*. J.Wiley & Sons, New York.

BIBLIOGRAPHIE

ANDERSON J.P.E Soil respiration, 831-871. En: A.I. Page, R.H. Miller et Keeney D.R. (Ed.). Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Agronomy Monograph N° 9 (2nd Edition). ASA-SSSA, Madison.

BREMMER J.M. ET BLACKMER A.M. 1986 Composition of soil atmospheres, 873-901. En: A.I. Page, R.H. Miller et Keeney D.R. (Ed.). Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Agronomy Monograph N° 9 (2nd Edition). ASA-SSSA, Madison.

REVSBECH N.P. 1988 Microsensor analysis of stratified microbial communities. Institut for Genetik og økologi. Aarhus Universitet.

RAPPOLDT C. 1992 Diffusion in aggregated soil. Wageningen Agricultural University. Wageningen.

ANNEXES

ANNEXE 1

SOLUTIONS AUX EQUATIONS REGISSANT LES TRANSFERTS D'OXYGENE ET DIOXYDE DE CARBONE ET LA RESPIRATION MICROBIENNE

1- Introduction

L'objectif de cette annexe est de présenter quelques solutions analytiques et une méthode de résolution numérique des équations régissant les transferts gazeux et la respiration microbienne au sein d'agrégats sphériques. Quelques tests ont été réalisés afin de vérifier la performance de la méthode numérique. Nous décrivons finalement, les différentes expressions de la loi de Michaelis - Menten pour tenir compte de l'effet du substrat et d'un inhibiteur sur l'activité enzymatique.

2- Solutions aux équations régissant le transfert gazeux

a- Solution analytique (avec fonction puits)

Dans le cadre des hypothèses présentées au paragraphe 2.2.3, l'équation de transfert (Eq. [4], Chapitre 2) admet une solution analytique en régime permanent. La concentration d'O₂ au sein de l'agrégat peut être calculée par la formule suivante (Currie, 1961):

- si, il n'y a pas d'anaérobiose

$$C_{O_2} = C_{ext} - \frac{R_{O_2}}{6 \times D_{O_2}} \times (r_{ag}^2 - r^2) \quad [1]$$

- si une région anoxique existe au sein de l'agrégat, on a:

pour $r_{ag} > r > r_{an}$

$$C_{O_2} = C_{ext} - \frac{R_{O_2}}{6 \times D_{O_2}} \times \left[(r_{ag}^2 - r^2) - 2 \times r_{an}^3 \times \left(\frac{1}{r} - \frac{1}{r_{ag}} \right) \right] \quad [2]$$

pour $r_{an} > r > 0$

$$C_{O_2} = C_{O_2-crit} \quad [3]$$

où r_{an} est le rayon de la région anoxique et C_{O_2-crit} est la concentration critique d'O₂ en deçà de laquelle il n'y a plus d'activité aérobie. En général, C_{O_2-crit} est considérée comme voisine de 0. D'après Smith (1980), r_{an} peut être calculé par:

$$r_{an} = - \frac{r_{ag} \times \cos \theta}{2 \times \cos \left(\frac{\theta}{3} \right)} \quad [4]$$

où

$$\theta = \sin^{-1} \left(\frac{r_c}{r_{ag}} \right) \quad [5]$$

et r_c est le rayon critique déjà défini (cf. 1.2.3.a).

La fraction aérobie f_{ox} d'un agrégat est alors donnée par:

$$f_{ox} = \frac{r_{ag}^3 - r_{an}^3}{r_{ag}^3} \quad [6]$$

Dans les Equations [4], [5] et [6], r_{ag} peut être remplacé par le rayon équivalent r_{eq} dans le cas des agrégats non sphériques (cf. 1.2.3.a) (Greenwood et Berry, 1962; Renault et Stengel, 1994).

Comme la respiration est supposée constante dans toute la région aérobie de l'agrégat, on a alors la relation:

$$R_{glob} = f_{ox} \times R_{O_2} \quad [7]$$

où R_{glob} est la respiration globale de l'agrégat exprimée par unité du volume d'agrégat.

b- Solution analytique (sans fonction puits)

La solution a été donnée par Crank (1957). Elle correspond à la variation des concentrations dans une sphère suite à un changement brutal de la concentration extérieure. La sphère a une concentration initiale C_{O_2init} uniforme et la concentration extérieure C_{ext} est constante dans le temps:

$$\frac{C_{O_2} - C_{O_2init}}{C_{ext} - C_{O_2init}} = 1 + \frac{2r_{ag}}{\pi r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \sin \frac{n\pi r}{r_{ag}} e^{-D_{O_2} n^2 \pi^2 t / r_{ag}^2} \quad [8]$$

où t est la date.

c- Méthode de résolution numérique

Dans la plupart des cas, il n'existe pas de solution analytique au modèle présenté dans le deuxième chapitre. Il est néanmoins possible d'approcher la solution exacte par une méthode numérique. Dans ce travail, nous avons utilisé la méthode des éléments finis selon le schéma de Galerkin. Le domaine spatial de résolution de l'équation a été subdivisé en domaines élémentaires n'ayant que leurs extrémités en commun. Dans cette annexe, nous présentons de façon simplifiée cette méthode en ne l'appliquant qu'au transfert et à la consommation de l' O_2 . Il est aisé de généraliser notre présentation en remplaçant quelques grandeurs scalaires par des grandeurs vectorielles.

Dans le cas de l' O_2 , l'équation de conservation de la masse présentée dans le deuxième chapitre peut être réécrite sous la forme :

$$\varepsilon \frac{\partial c_{O_2}}{\partial t} = D_{O_2} \left(\frac{\partial^2 c_{O_2}}{\partial r^2} \right) - m \quad [9]$$

où $c_{O_2} = r \times C_{O_2}$ et $m = r \times M$.

La méthode des éléments finis (schéma de Galerkin) consiste alors à considérer que la solution à l'Equation [9] est aussi la solution à :

$$\int_0^R \Psi(r) \left[D_{O_2} \frac{\partial^2 c_{O_2}}{\partial r^2} - m - \varepsilon \frac{\partial c_{O_2}}{\partial t} \right] dr = 0 \quad \forall \Psi(r) \quad [10]$$

L'intégrale précédente peut être décomposée en une somme d'intégrales sur un ensemble de domaines élémentaires $[r_i, r_{i+1}]$ n'ayant que leurs extrémités en commun. Si l'on restreint l'ensemble des fonctions $\Psi(r)$ à l'ensemble des fonctions dérivables une fois sur chaque sous-domaine, la première de ces intégrales peut ne plus faire apparaître de dérivée à l'ordre 2 :

$$\int_{r_i}^{r_{i+1}} \Psi(r) \left[D_{O_2} \frac{\partial^2 c_{O_2}}{\partial r^2} \right] dr = \left[\Psi(r) D_{O_2} \frac{\partial c_{O_2}}{\partial r} \right]_{r_i}^{r_{i+1}} - \int_{r_i}^{r_{i+1}} \frac{\partial \Psi}{\partial r} D_{O_2} \frac{\partial^2 c_{O_2}}{\partial r^2} dr \quad [11]$$

Afin de simplifier les écritures mathématiques, il s'avère intéressant d'exprimer chacune de ces intégrales dans le domaine de référence $[0,1]$ plutôt que dans les domaines réels $[r_i, r_{i+1}]$. Le passage de l'un à l'autre se fait par la transformation :

$$r = (1 - \xi, \xi) \begin{Bmatrix} r_i \\ r_{i+1} \end{Bmatrix} \quad [12]$$

Les fonctions c_{O_2} , m et Ψ peuvent s'exprimer de la même façon en fonction de ξ :

$$u = \langle 1 - \xi, \xi \rangle \left\{ \begin{array}{l} u_i \\ u_{i+1} \end{array} \right\} \quad \text{pour } u = c_{O_2}, m \text{ ou } \Psi \quad [13]$$

Les dérivées de c_{O_2} , m et Ψ : en fonction de r peuvent s'exprimer en fonction de ξ :

$$\frac{\partial u}{\partial r} = \frac{\partial u}{\partial \xi} \frac{\partial \xi}{\partial r} = \langle -1, 1 \rangle \left\{ \begin{array}{l} u_i \\ u_{i+1} \end{array} \right\} \frac{1}{(r_{i+1} - r_i)} \quad [14]$$

Dans ce cadre, il est possible de montrer que chaque intégrale appliquée sur un domaine élémentaire peut s'écrire sous la forme :

$$\int_{r_i}^{r_{i+1}} \text{fonction } dr = \langle \Psi_i, \Psi_{i+1} \rangle [B] \left\{ \begin{array}{l} (c_{O_2})_i \\ (c_{O_2})_{i+1} \end{array} \right\} \quad [15]$$

Pour assurer la stabilité de notre résolution, le système a été résolu selon un schéma implicite : les intégrales élémentaires relatives au gradient de la fonction c_{O_2} dans l'espace et de la fonction m sont exprimées pour la date $t + \Delta t$ pour laquelle on cherche la solution. L'intégrale relative au gradient de la fonction c_{O_2} dans le temps est exprimé entre les dates t et $t + \Delta t$ en supposant une variation linéaire de cette fonction. La fonction ψ ne varie pas dans le temps. Elle est par ailleurs nulle aux points où l'équation [9] n'a pas à être vérifiée. Il s'agit des 2 frontières du domaines où deux équations supplémentaires décrivent les conditions au limites. Finalement, nous obtenons un système non linéaire à résoudre. La qualité de la résolution dépendra en particulier du poids des hypothèses de linéarité dans l'espace et le temps. La solution sera donc a priori bonne pour de petits pas d'espaces et de petits pas de temps.

d- Test de la méthode de résolution numérique

Dans un premier temps, nous avons comparé la résolution numérique avec la solution de l'Equation [8]. Ce test sert à analyser la phase transitoire d'un agrégat sans fonction puits.

Nous avons utilisé cette étude pour définir les pas de temps et d'espace convenables aux calculs.

Les valeurs des paramètres utilisés sont présentés dans le Tableau 1. Un pas de temps de 20 s, s'avère adapté à l'obtention d'un excellent accord entre les deux types de solutions, pour un pas d'espace de 0.0001 m (Fig. 1). On constate aussi que, pour ce même pas de temps, un Δr de 0.0002 m provoque une sous-estimation de la concentration d'O₂ (Fig. 1e).

Paramètre	Valeur	Unité
Coef. de Diffusion de l'O ₂	3.33×10 ⁻¹⁰	m ² s ⁻¹
Solubilité de l'O ₂	0.03	-
Porosité	0.4	-
Rayon	0.006	m
Conc. d'O ₂ initiale	9.37 (21)	mol m ⁻³ (%)
Conc. d'O ₂ extérieure	44.64 (100)	mol m ⁻³ (%)

Tableau 1: Valeurs de paramètres utilisés lors de la comparaison entre la solution analytique et la résolution numérique.

Ultérieurement, nous avons testé la résolution numérique avec la solution analytique décrivant la distribution d'O₂ dans un agrégat présentant une fonction puits microbienne (Eqs. [1] à [5]). Dans ce cas, nous avons considéré R_{O_2} égal à 2.5×10^{-5} mol m⁻³ s⁻¹. Le pas de temps était de 20 s et le pas de espace de 0.0001 m. La concentration d'O₂ initiale était 0% dans l'agrégat et la concentration extérieure était constante dans le temps et égale à 21%. Les valeurs du coefficient de diffusion, de la solubilité de l'O₂ et de la porosité sont celles présentées au Tableau 1. La comparaison est présentée à la Figure 2 où l'on peut constater que la solution numérique est très satisfaisante. Des résultats similaires ont été obtenus pour des concentrations extérieures en O₂ inférieures à 21%.

De tests ultérieurs ont montré que, s'il existe une fonction puits, le pas de temps peut être augmenté progressivement entre 20 s et 600 s sans modifier la qualité des résultats. En revanche, la variation du pas d'espace peut entraîner des erreurs sur l'estimation du rayon anoxique. Dans le cadre de nos objectifs, nous avons préféré utiliser toujours un pas d'espace constant et égal à 0.0001 m pour tous nos calculs.

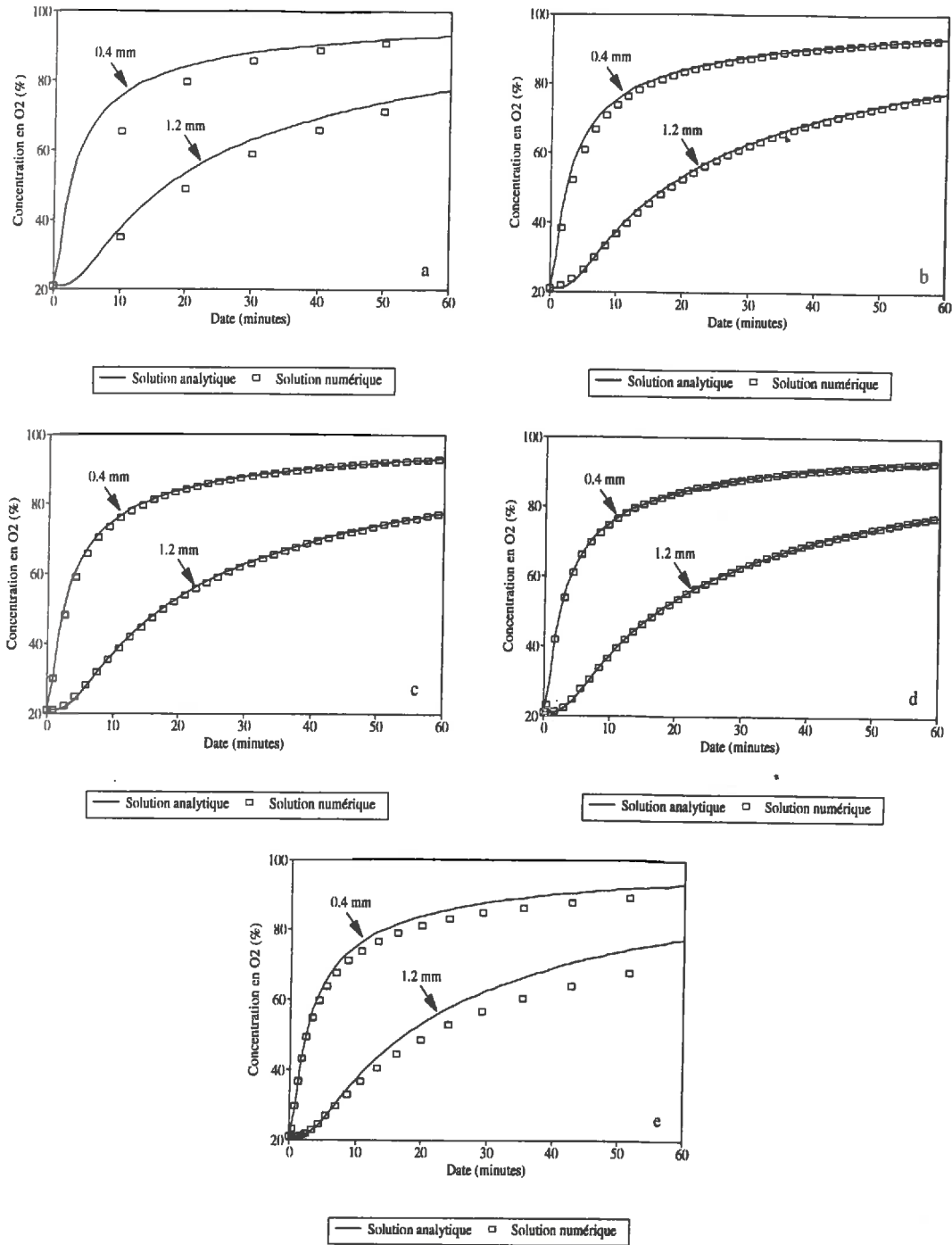


Figure 1: Comparaison entre la solution analytique et la résolution numérique pour un agrégat sans fonction puits. Les Figures a, b, c et d, correspondent à un pas d'espace de 0.0001 m avec différents pas de temps: a- 600 s; b- 100 s; c: 50 s; d: 20 s.

Figure e: pas de temps 20 s, pas d'espace 0.0002 m

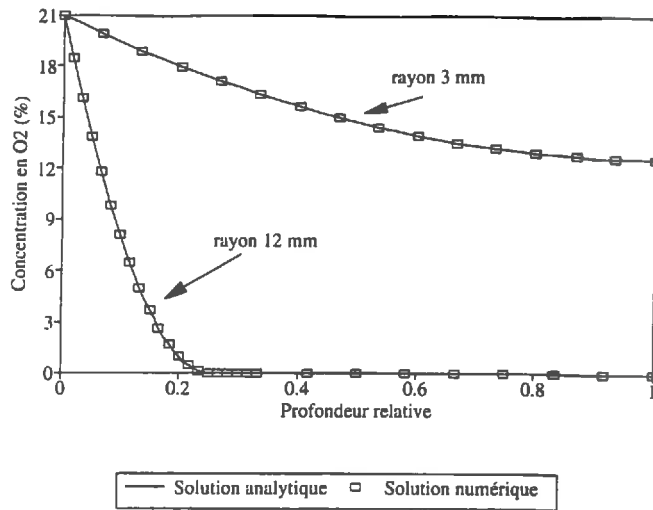


Figure 2: Comparaison entre la solution analytique et la résolution numérique pour la distribution d' O_2 au sein des agrégats présentant une fonction puits microbienne.

4- Fonction puits

Nous présentons trois formulations de la loi de Michaelis - Menten décrivant différents types d'inhibition de l'activité enzymatique (Costes, 1978). Ces équations sont appliquées ici au cas de l' O_2 (substrat) et du CO_2 (inhibiteur).

Dans l'inhibition de type compétitif, l'inhibiteur peut se fixer sur le centre actif de l'enzyme sans subir la réaction catalysée. Dans ce cas, l'inhibiteur et le substrat sont en compétition pour occuper le site actif et l'effet apparent correspond à une modification de K_{mO_2} sans variation de l'activité maximale (Figs. 3a et 3b). La formulation est donnée au paragraphe 2.2.2.b.

Pour l'inhibition du type non compétitif l'inhibiteur se fixe sur un site allostérique différent du site actif, il provoque l'inactivation du complexe enzyme-substrat. Dans ce type d'inhibition, la vitesse maximale de la réaction est réduite sans variation de K_{mO_2} (Figs. 3c et 3d). L'expression est:

$$R_{O_2} = R_{\max} \left(\frac{K_{iO_2}}{C_{CO_2} + K_{iO_2}} \right) \left(\frac{C_{O_2}}{C_{O_2} + K_{mO_2}} \right) \quad [16]$$

Enfin, le troisième type correspond à l' "uncompetitive inhibition", où l'inhibiteur ne se combine qu'avec le complexe enzyme-substrat qu'il rend inactif. Ce type d'inhibition a un effet

sur la vitesse maximale de la réaction mais aussi sur le K_{mO_2} (Figs. 3e et 3f). La formulation est:

$$R_{O_2} = R_{\max} \left(\frac{K_{iO_2}}{C_{CO_2} + K_{iO_2}} \right) \left[\frac{C_{O_2}}{C_{O_2} + K_{mO_2} \left(\frac{K_{iO_2}}{C_{CO_2} + K_{iO_2}} \right)} \right] \quad [17]$$

Dans les Figures 3b, 3d et 3f, nous donnons la représentation de Lineweaver et Burk, laquelle est fréquemment utilisée pour analyser les différents types d'inhibitions (Costes, 1978; Lee et al., 1991). Pour cette représentation de la loi de Michaelis - Menten, les droites correspondant à chaque concentration de CO_2 se coupent sur l'axe des ordonnées au point égal à $1 / R_{\max}$.

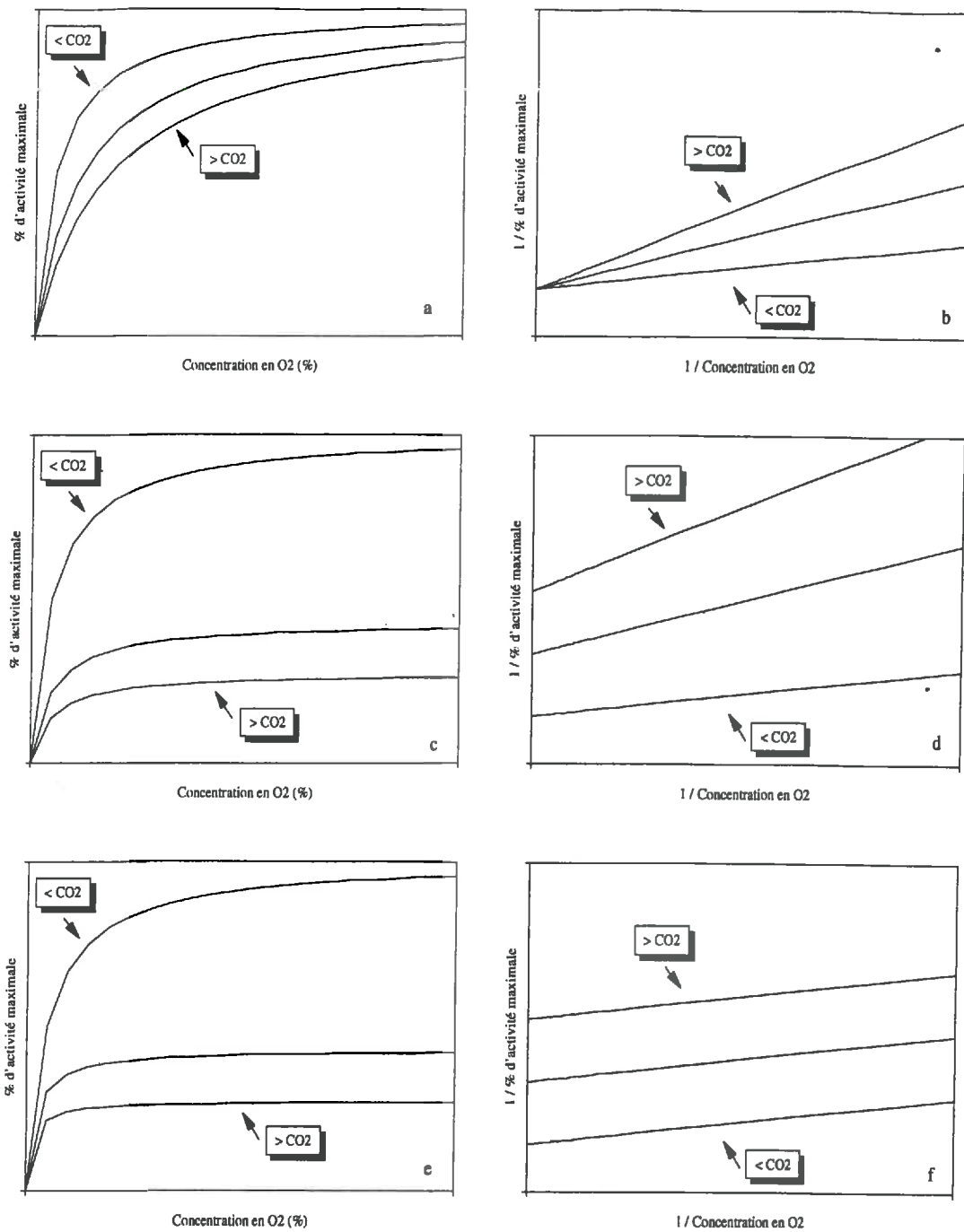


Figure 3: Représentation des différentes formulations de la loi de Michaelis - Mentèn:
a et b: inhibition compétitive; c et d: inhibition non compétitive; e et f: "uncompetitive inhibition".
 Les Figures b, d et f, correspondent à la représentation de Lineweaver et Burk.

ANNEXE 2

PHYSICO-CHIMIE DU DIOXYDE DE CARBONE

1- Introduction

Dans cette Annexe, nous donnons quelques résultats théoriques concernant la physico-chimie du CO_2 . L'objectif de cette analyse est de cerner l'influence de ces processus sur la concentration en CO_2 de la solution du sol. Nous présentons aussi le cadre conceptuel à partir duquel découlent les équations utilisées pour tenir compte des équilibres physico-chimiques du CO_2 dans le modèle de transfert gazeux.

2- Influence de la pression partielle du dioxyde de carbone sur le déplacement des équilibres physico-chimiques

Dans un système défini par ses caractéristiques physico-chimiques (p.e. pH, présence du calcaire), la pression partielle du CO_2 ($p\text{CO}_2$) gouverne les équilibres CO_2 -bicarbonates-carbonates (Pankow, 1991). Nous avons fait quelques calculs afin de quantifier l'influence de la $p\text{CO}_2$ sur la distribution des espèces du carbone et sur le pH, cette étude devant nous servir notamment à:

- évaluer les effets indirects possibles du CO_2 sur l'activité biologique (effet du pH);
- analyser la contribution de la phase solide (calcaire) sur la quantité de carbone dissous;
- aboutir à la formulation d'une fonction qui rende compte des équilibres physico-chimiques dans le modèle de transfert gazeux.

Nous avons utilisé le logiciel AQUA (Valles et de Cockborne, 1992) fondé sur un modèle thermodynamique (Valles, 1987). Ce programme permet de calculer la composition

chimique des eaux lors de la modification des conditions du système (température, aération, $p\text{CO}_2$, etc.). Pour nos calculs, nous avons retenu les caractéristiques chimiques du sol utilisé (cf. 3.2.1, Tableau 3.1). Nous avons considéré un système ouvert (Fig. 1), c'est à dire un système qui échange du CO_2 avec une atmosphère imposant une $p\text{CO}_2$ constante. L'eau est en équilibre avec le CO_2 de la phase gazeuse et il existe une phase solide qui intervient aussi dans le processus.

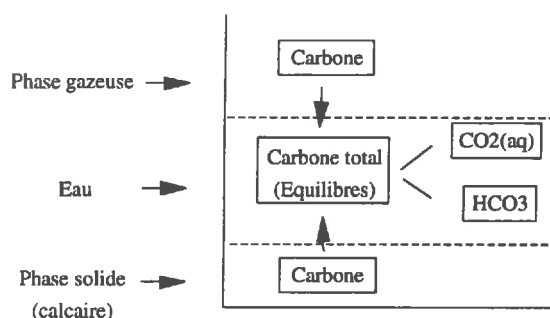


Figure 1: Schéma de la physico-chimie du CO_2 dans un système ouvert en présence de calcaire.

Aux Figures 2 à 4, nous présentons les résultats obtenus. Ils correspondent à l'état d'équilibre de l'eau à différentes $p\text{CO}_2$ (température fixée à 20°C). La $p\text{CO}_2$ est exprimée en pourcentage afin de simplifier la présentation et de conserver une cohérence par rapport à la présentation des résultats expérimentaux.

A la Figure 2, on peut observer que le pH varie entre 7.9 (pH original du sol) et 6.55, en réponse à une variation de la $p\text{CO}_2$ comprise entre 0.03% (concentration atmosphérique) et 12%. Ainsi, même pour la plus grande concentration en CO_2 utilisée dans notre expérimentation (cf. Chapitre 3), le pH n'atteindrait pas un niveau défavorable à l'activité biologique. Il est intéressant de noter, qu'en l'absence du calcaire, le pH était descendu jusqu'à 5.85 pour une $p\text{CO}_2$ de 12%. Ceci montre la contribution du calcaire au pouvoir tampon du sol.

La contribution du $\text{CO}_2(\text{aq})$ au carbone total dissous est très faible quand la $p\text{CO}_2$ est petite (Figure 3). A $p\text{CO}_2$ égale à 1%, le $\text{CO}_2(\text{aq})$ représente seulement 5% du carbone minéral total. A des pressions partielles plus grandes, la contribution du $\text{CO}_2(\text{aq})$ devient plus importante mais toujours très inférieure à celle des bicarbonates. Ces résultats démontrent que, si les équilibres physico-chimiques ne sont pas considérés, il y aura une surestimation des concentrations en CO_2 dans le sol, ce décalage étant relativement plus important quand la $p\text{CO}_2$ est plus petite.

La Figure 4 montre la contribution du carbone fixé à partir de la phase gazeuse du système et celle du carbone produit par la dissociation du calcaire. Ce dernier représente entre 41% et 47% du carbone total dissous pour la gamme des pressions partielles analysées. Il n'est donc pas négligeable et il faut en tenir compte dans les calculs de la concentration de CO_2 dans la solution du sol.

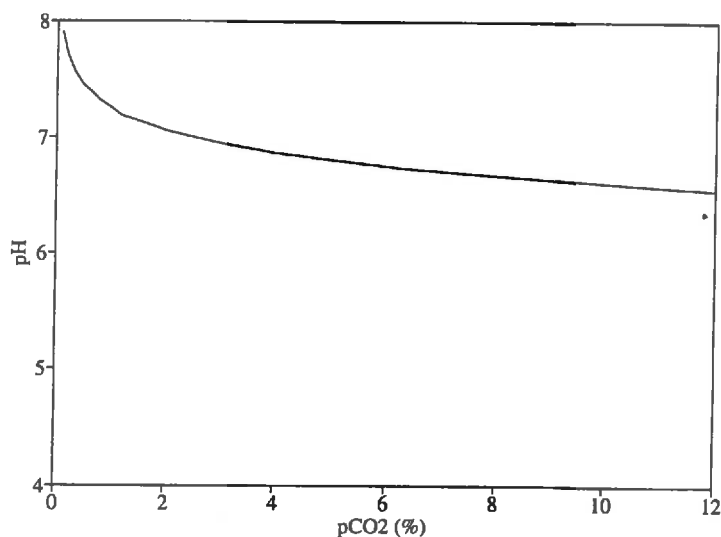


Figure 2: Effet de la $p\text{CO}_2$ sur le pH.

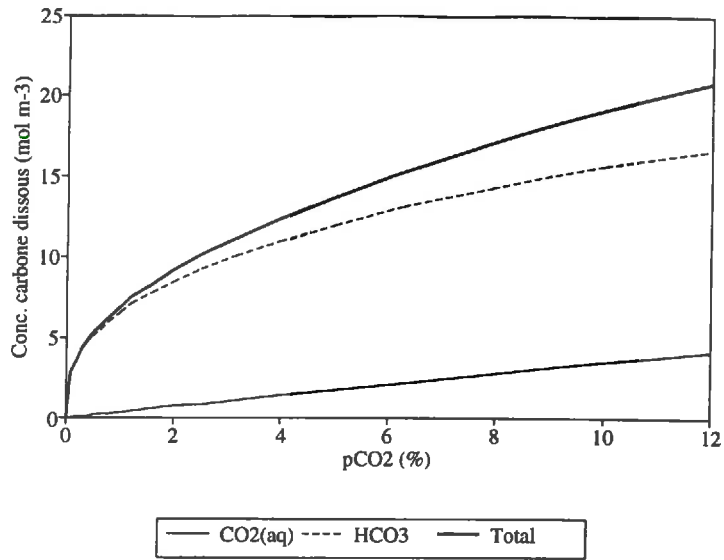


Figure 3: Contributions relatives du CO₂(aq) et des bicarbonates au carbone minéral dissous.

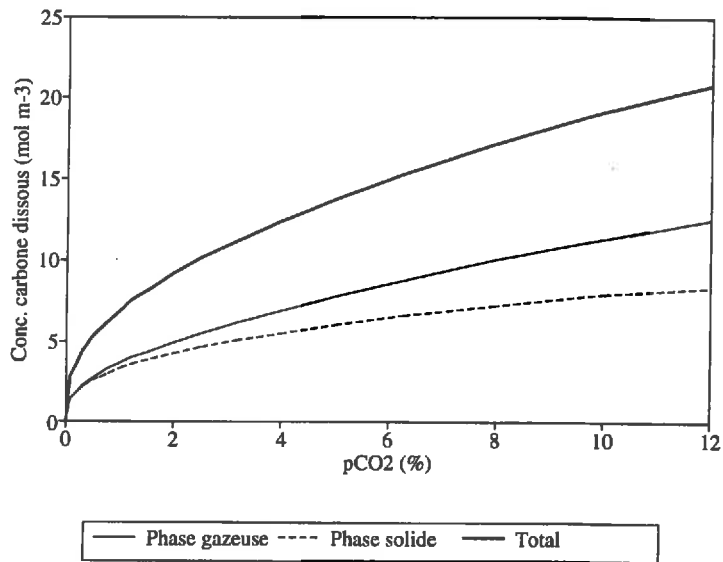


Figure 4: Contributions relatives du carbone fixé à partir de la phase gazeuse et du carbone produit par la dissociation du calcaire.

3- Formulation d'une fonction empirique pour la prise en compte des équilibres physico-chimiques

a - Définition du système

D'après le schéma de la Figure 1, la concentration du carbone minéral total dissous dans l'eau $C_{c-T}(aq)$ peut être exprimée par la formule suivante:

$$C_{c-T}(aq) = C_{c-pg} + C_{c-dis} \quad [1]$$

où C_{c-pg} est la concentration du carbone provenant de la phase gazeuse du système et C_{c-dis} est la concentration du carbone produit par la dissociation du calcaire.

Ce schéma n'est pas adapté à notre démarche. Dans le sol, la présence du CO_2 produit par la respiration et la prise en compte de la diffusion imposent de considérer autrement la pCO_2 de la phase gazeuse et le carbone qui provient de cette phase.

Le schéma de la Figure 5 représente de façon simplifiée notre système. Dans un certain volume de l'agrégat, nous admettons qu'il y a trois sources de carbone: celui produit par la respiration (composante biologique), celui produit par la dissociation de la phase solide (composante physico-chimique), et le carbone des entrées - sorties du système dû à la diffusion (composante physique). Tout le carbone minéral participe aux équilibres physico-chimiques et, pour notre système, le carbone minéral total est composé de bicarbonates et du $CO_2(aq)$ (ou $H_2CO_3^*$), ce dernier étant la variable utilisée pour décrire la respiration.

L'équation générale que définit le système de la Figure 5, est la suivante:

$$\Delta C_{c-T}(aq) = Entrées - Sorties + P_{CO_2} + Dissociation \quad [2]$$

où $\Delta C_{c-T}(aq)$ est la variation de la concentration du carbone minéral total dissous, (Entrées - Sorties) correspond au transfert physique des composés carbonés, P_{CO_2} est le carbone produit par la respiration et Dissociation celui provenant de la phase solide⁽¹⁾.

(1) Les calculs montrent que dans notre système il n'y a pas de précipitation. Aussi, ce processus n'est pas inclus dans l'Equation [2].

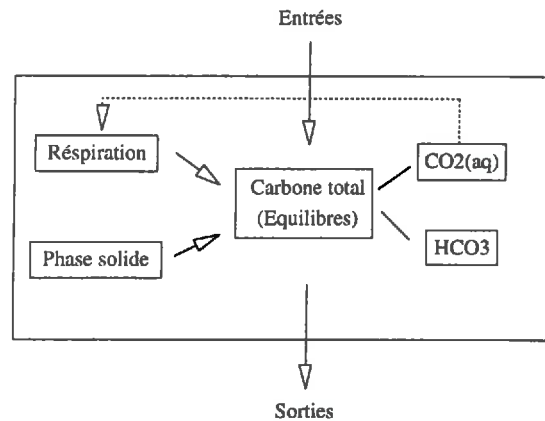


Figure 5: Schéma représentant les processus physiques, biologiques et physico-chimiques qui affectent la concentration de CO₂ dans le sol.

b - Formulation de la fonction empirique

Bien qu'il n'existe pas de phase gazeuse dans un agrégat saturé, on peut définir une $p\text{CO}_2$ équivalente comme la $p\text{CO}_2$ de la phase gazeuse qui serait en équilibre avec $C_{c-T}(\text{aq})$ en un point donné du sol (Pankow, 1991). Cette pression partielle équivalente correspond donc à notre définition de la concentration de CO₂ donnée au Chapitre 2 (C_{CO_2}).

De la même manière, on peut admettre que la production de CO₂ et que la fraction des entrées et de sorties associées à cette production est l'équivalent du carbone fixé de la phase gazeuse du système de la Figure 1; nous définirons cette variable comme C_{c-pg} . Rasmuson et al. (1990) ont utilisé le même concept pour prendre en compte les équilibres physico-chimiques pour la modélisation du transfert du CO₂ sans toutefois considérer le carbone produit par la respiration.

Dans notre système $C_{c-T}(\text{aq})$ peut donc être exprimé:

$$C_{c-T}(\text{aq}) = C_{c-pg} + C_{c-dis} \quad [3]$$

La résolution rigoureuse des équations associées au transport de CO_2 nécessiterait de traiter les transferts (et leurs interactions) de $\text{CO}_2(\text{aq})$, H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-} , des espèces complexées et, aussi, des cations associés dont le Ca^{2+} . En effet, le transfert d'une mole de $\text{CO}_2(\text{aq})$ n'aura pas les mêmes conséquences physico-chimiques que le transfert d'une mole de CO_3^{2-} et d'une mole de Ca^{2+} .

Aussi, nous ne décrivons pratiquement que le transfert de C_{c-pg} . Cette composante est la somme de toutes les formes de carbone issues de la production microbienne et des transferts associés à ces formes. Les résultats précédents nous servent alors à calculer la concentration de CO_2 gazeuse en équilibre avec toutes les formes de carbone dissous dans la solution du sol à chaque point de l'agrégat et, ainsi, l'inhibition ou l'activation de la respiration liées à ce composé (Eq. [9], Chapitre 2).

D'après la Figure 5, on note que la diffusion affecte deux formes différentes du carbone: le $\text{CO}_2(\text{aq})$ et les bicarbonates. Dans le cadre de notre travail, nous avons admis que les coefficients de diffusion des deux espèces sont égaux. Cette hypothèse semble raisonnable d'après la bibliographie (Leffelaar, 1988; Rasmuson et al., 1990).

ANNEXE 3

CARACTERISATION PHYSIQUE ET CHIMIQUE DES AGREGATS

1- Analyse de la densité et du volume des agrégats

Nous avons réalisé une analyse sur la variabilité de la densité et du volume des agrégats naturels afin de déterminer l'hétérogénéité du matériau, cette hétérogénéité pouvant avoir des effets sur l'estimation de l'anoxie au sein des agrégats.

Une première étude a été faite sur les agrégats naturels à l'humidité du sol au moment du prélèvement (environ 85% de la saturation en eau). Puis, nous avons réalisé des mesures pour des agrégats totalement saturés. Ces mesures concernaient les six tailles d'agrégats naturels utilisées durant toute l'expérimentation (Tailles 2 à 7) et les agrégats artificiels. Les mesures ont été effectuées individuellement pour les agrégats de plus grande taille (Taille 2 et 3). Pour les autres tailles, un nombre variable d'agrégats a été utilisé afin d'avoir une bonne précision sur l'estimation.

A 85% de saturation, les résultats montrent que la densité varie entre 1.7 et 1.75, qu'il n'y a pas de différences significatives entre tailles et que la variabilité au sein d'une classe est légèrement supérieure à celle entre tailles (Fig. 1a). Les valeurs de densité trouvées conduisent à une porosité totale de 34-36%⁽¹⁾. L'absence d'écarts significatif entre tailles a été retrouvé sur les agrégats saturés. Leur densité d'environ 1.65, conduit à une porosité totale de 38% (Fig. 1b). Cette variation de densité est probablement liée à un gonflement de l'ordre de 10% par suite de la saturation des agrégats. Pour l'ensemble de cette analyse, le coefficient de variation de la densité était de l'ordre de 5% pour chacune des tailles

Il est connu que la densité des agrégats tend généralement à augmenter quand leur taille diminue. Cette tendance est due à la disparition progressive des pores structuraux avec la diminution de taille des agrégats (Fies et Stengel, 1981a et 1981b). La large gamme des

(1) La porosité est calculée tenant compte que la densité du solide mesurée pour notre sol est égale à 2.65.

volumes analysés (2000 fois de différence de volume entre les tailles extrêmes), fait penser comme origine de cette non variation de densité à une caractéristique du sol utilisé: le matériel constituant les agrégats est essentiellement le même en termes de porosité.

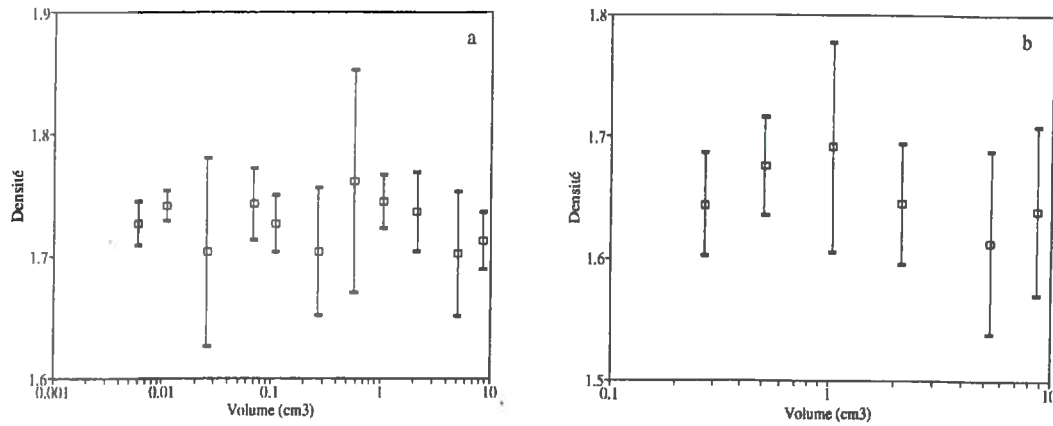


Figure 1: Densité des agrégats naturels: a- à 85% de la saturation en eau; b- à saturation.

La densité des agrégats artificiels à saturation (1.60 ± 0.01) est légèrement inférieure à celle des agrégats naturels dans les mêmes conditions, une part de cette différence pouvant être due à l'élimination des concrétions (densité égale à 2.0). La variation relative de la densité des agrégats artificiels est de 0.8%, valeur qui peut être assimilée à l'erreur de la méthode de mesure.

Pour les agrégats naturels, le volume mesuré à saturation présente une variabilité pour chaque taille de l'ordre de 10% à 40% (données non montrées). Dans notre travail, l'hétérogénéité du volume des agrégats est prise en compte par l'utilisation du rayon équivalent.

2- Répartition du volume des pores

A la Figure 2, nous présentons les résultats obtenus par porosimétrie au mercure. Il n'est pas possible de considérer comme équivalentes les courbes porosimétriques et celles de

distribution de la taille des pores (Renault, 1988a,b; Fies, 1992). Néanmoins, notre but étant de réaliser seulement une comparaison qualitative entre les agrégats naturels et les agrégats artificiels, il nous est possible d'utiliser les courbes de porosimétrie (P. Renault, comm.pers.).

La Figure 2 montre que, pour les agrégats artificiels, l'entrée du mercure est pratiquement nulle jusqu'à un diamètre d'environ 10 μm . Si nous considérons cette valeur comme seuil minimum de taille des pores de la porosité structurale, on constate que celle-ci représente à peu près 15% de la porosité totale des agrégats naturels⁽²⁾. Cette porosité pourrait être liée à la présence de fissures et de cavités en leur sein. Pour ce type d'agrégats, il n'existe apparemment pas de différences importantes entre les trois tailles étudiées. On peut donc supposer que la répartition des pores est assez similaire pour la gamme analysée.

La présence de fissures et de cavités dans les agrégats naturels peut éventuellement affecter le transfert gazeux en leur sein si elles ne sont pas saturées en eau du fait de sa taille. Elle peut expliquer une certaine hétérogénéité sur la mesure du coefficient de diffusion.

Il est intéressant de noter que, pour les deux types d'agrégats, le mercure entra principalement pour des pressions correspondant à des diamètres similaires: entre 1 et 4 μm . Ceci peut indiquer qu'une fraction importante du volume des agrégats naturels a une répartition des pores similaire à celle des agrégats artificiels.

3- Analyse du carbone et de l'azote

Les résultats concernant les quantités totales et leur fraction légère sont données en Figure 3. On peut observer qu'il n'y a pas de différences entre tailles, ni entre la moyenne des agrégats naturels et celle des agrégats artificiels.

Ces résultats suggèrent que s'il existe une influence de la taille d'agrégat sur l'activité microbienne, elle ne serait pas liée aux valeurs totales du carbone et de l'azote ou de ses fractions légères.

(2) Le calcul est basé sur la différence entre le volume total de mercure entré dans les agrégats et le volume de mercure entré pour des pores ayant un diamètre supérieur à 10 μm (J.C. Fies, comm.pers.).

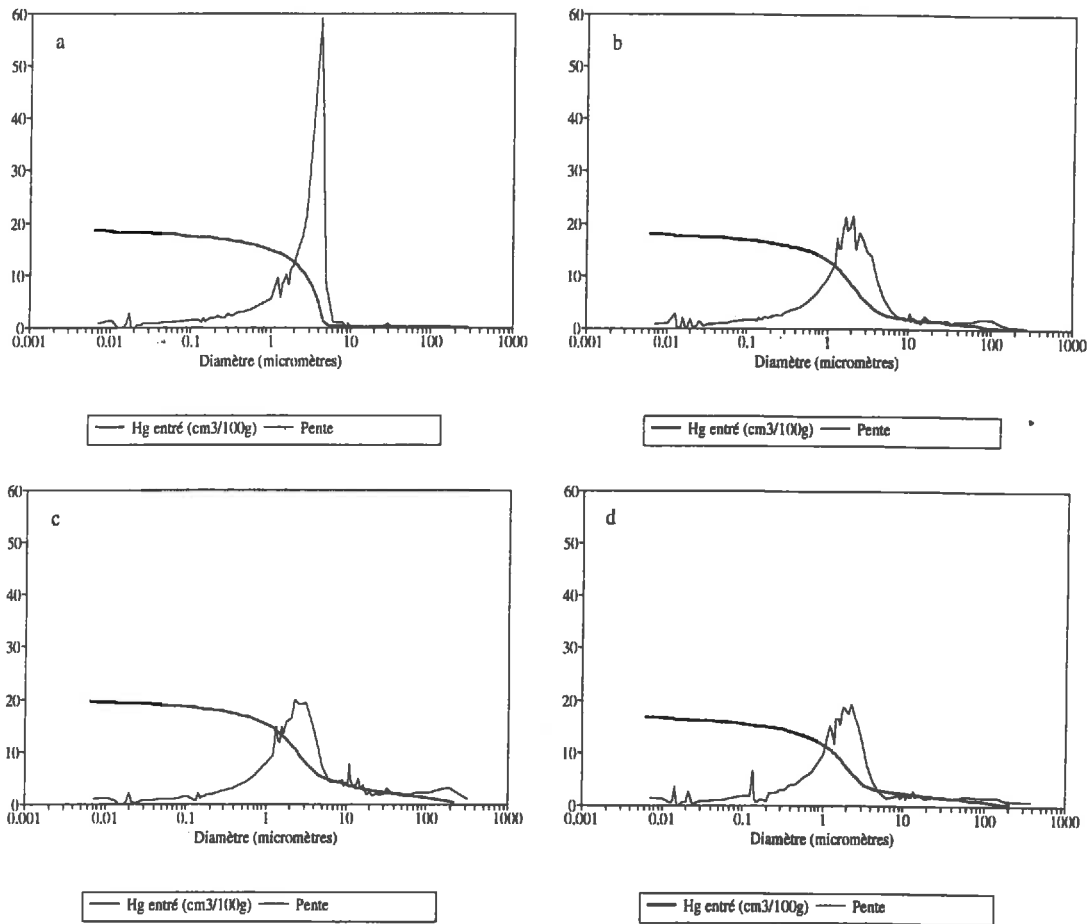


Figure 2: Résultats de la porosimétrie au mercure: a- agrégat artificiel (Taille 5); b- agrégat naturel (Taille 2); c- agrégat naturel (Taille 4); d- agrégat naturel (Taille 7).

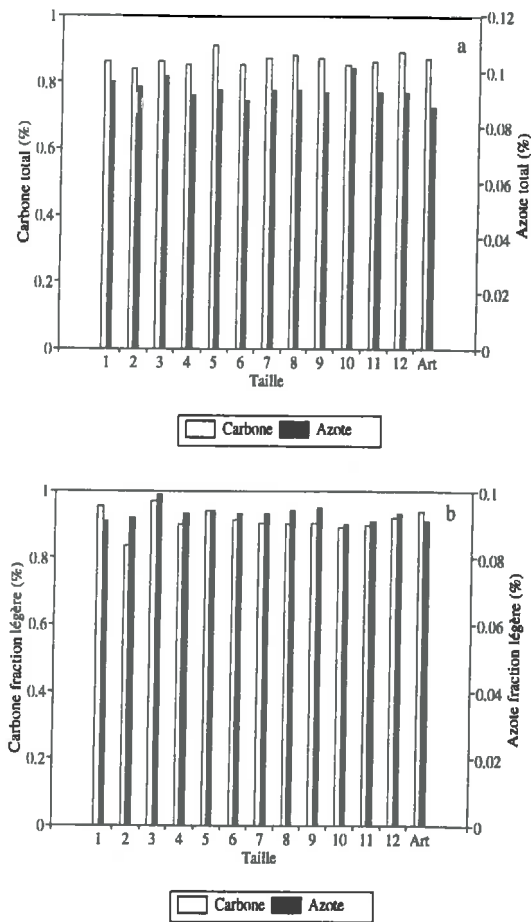


Figure 3: Caractérisation chimique des agrégats: a- carbone et azote total; b- carbone et azote des fractions légères des matières organiques. Les valeurs des fractions légères sont exprimées par rapport à la masse de ces fractions.

ANNEXE 4

ESTIMATION DU RAPPORT SURFACE/VOLUME DES AGREGATS

1- Introduction

Greenwood et Berry (1962) avaient proposé une estimation du rapport Surface/Volume d'agrégats de forme quelconque mais approximativement convexes:

$$\frac{S_{ag}}{V_{ag}} = \frac{4}{c_{moy}} \quad [1]$$

où S_{ag} est la surface de l'agrégat, V_{ag} son volume et c_{moy} la moyenne de tous les segments possibles reliant deux points de la surface de l'agrégat.

L'importance de cette estimation tient au fait qu'à partir de la connaissance du rapport Surface/Volume des agrégats non sphériques, on peut calculer un rayon équivalent pouvant être utilisé dans les modèles de transfert gazeux proposés pour des sphères (Greenwood et Berry, 1962; Renault et Stengel, 1993).

Dans cette Annexe notre objectif a été:

- de tester si l'Equation [1] est généralisable à d'autres géométries;
- de présenter les résultats que nous avons obtenu en utilisant la méthode mise à point dans notre travail (Cf. 3.3.1.c).

2- Analyse de la méthode de Greenwood et Berry (1962)

Pour le cas de la sphère, on peut relier c_{moy} (Eq. [1]) et le rayon de l'agrégat r_{ag} par l'Equation suivante (Greenwood et Berry, 1962):

$$c_{moy} = \left(\frac{4}{3}\right) \times r_{ag} \quad [2]$$

Nous avons analysé l'Equation [2] en utilisant le schéma montré en Figure 1.

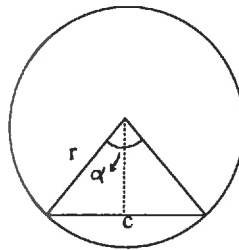


Figure 1: Schéma utilisé pour l'analyse de l'Equation [2] dans les cas d'une sphère (c est un segment reliant deux points de la surface de la sphère).

Chaque segment c est calculé par:

$$c = 2 \times r_{ag} \times \sin\left(\frac{\alpha}{2}\right) \quad [3]$$

On en déduit:

$$c_{moy} = 2 \times r_{ag} \times \left[\frac{\sum \sin\left(\frac{\alpha}{2}\right)}{n} \right] \quad [4]$$

où n est le nombre de segments. Quand n tend vers l'infini, $[\sum \sin(\alpha/2)]/n$ tend vers $2/3$, et c_{moy} a pour expression:

$$c_{moy} = 2 \times r_{ag} \times \left(\frac{2}{3}\right) = \left(\frac{4}{3}\right) \times r_{ag} \quad [5]$$

L'Equation [2] est donc valable pour des agrégats sphériques.

On a réalisé par calcul numérique des estimations de c_{moy} pour des cubes et des parallélépipèdes de dimensions variées. Les résultats sont présentés et comparés à ceux de la sphère à la Figure 2. La relation change en fonction de la forme considérée. Elle est de plus en plus éloignée de la fonction proposée par les sphères lorsque la géométrie analysée est de moins en moins symétrique.

L'Equation [1] n'est donc pas généralisable à toutes les géométries. Elle ne peut pas être utilisée pour les agrégats naturels.

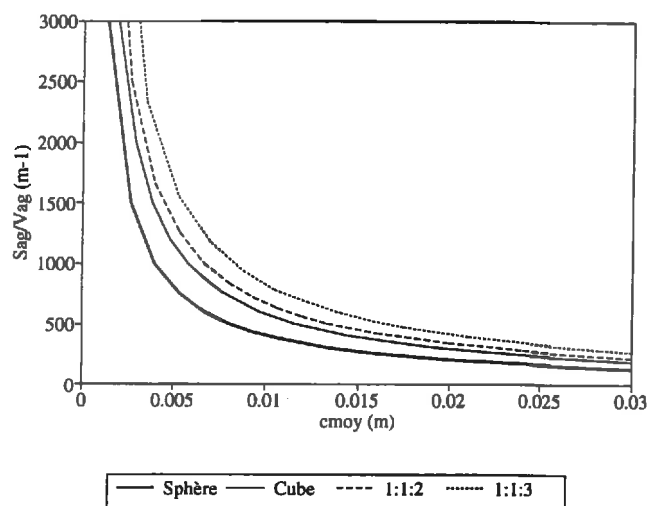


Figure 2: Rapport Surface/Volume en fonction de c_{moy} pour différentes géométries (1:1:2 et 1:1:3 correspond à des parallélépipèdes de ces dimensions).

3- Résultats obtenus avec la méthode proposée dans ce travail

Les résultats de la méthode décrite au paragraphe Cf. 3.3.1.c sont donnés à la Figure 3. Ils sont comparés aux résultats théoriques obtenus pour des cubes et des sphères. Il y a un bon accord entre les mesures faites sur les billes et la fonction théorique pour la sphère. On peut donc considérer que l'erreur de mesure est acceptable. Pour les agrégats les plus petits, il existe une certaine variabilité due notamment à la difficulté d'enrober les agrégats tout en évitant la présence d'irrégularités sur la surface de la silicone.

La Figure 4 montre les rayons équivalents estimés r_{eq} et l'ajustement obtenu en fonction du volume des agrégats. La qualité de l'ajustement est satisfaisante. La valeur de la puissance (0.301, Eq.[1] du Chapitre 3) est très proche de la valeur théorique 0.33 de la fonction qui relie r_{eq} et V_{ag} pour de formes géométriques bien définies (p.e. cubes, sphères, parallélépipèdes, etc.). On a donc considéré l'ajustement obtenu comme approprié à l'estimation du r_{eq} .

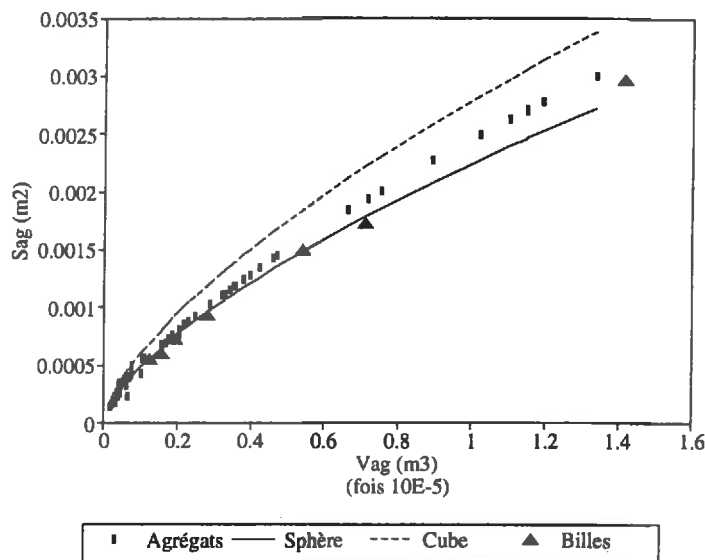


Figure 3: Relation entre la surface mesurée des agrégats et des billes et leur volume.

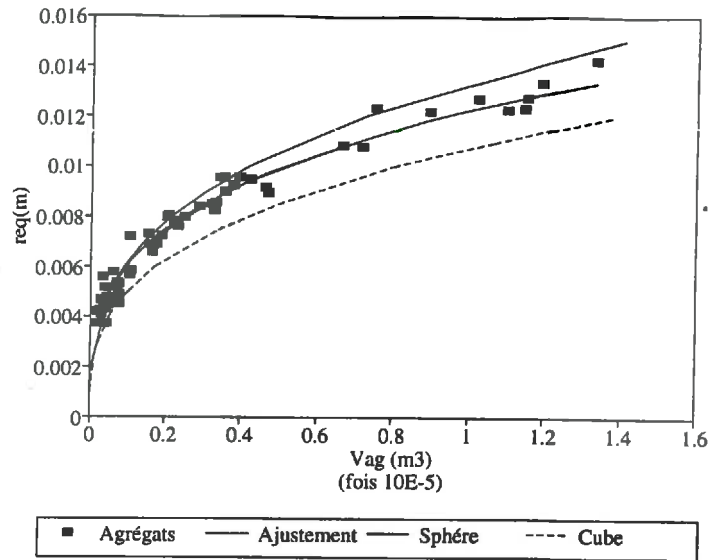


Figure 4: Rayon équivalent des agrégats en fonction de leur volume.

ANNEXE 5

EFFET DE LA CONSOMMATION D'OXYGENE SUR L'ESTIMATION DU COEFFICIENT DE DIFFUSION

1- *Introduction*

Sexstone et al. (1985) ont estimé le coefficient de diffusion de l'O₂ dans plusieurs agrégats naturels à l'aide de microélectrodes. Dans leur travail, ils ont utilisé des agrégats non stérilisés consommant de l'O₂. L'évolution des concentrations d'O₂ était suivie après un changement de la concentration extérieure allant de 21% O₂ à 100% O₂ ou 0% N₂. L'estimation du coefficient de diffusion était alors faite par l'ajustement des données expérimentales avec un modèle de diffusion radiale (sans fonction puits). Les valeurs des coefficients ainsi calculés étant similaires quelque soit le gaz utilisé. Les auteurs en ont conclu que l'activité respiratoire au sein des agrégats n'affectait pas l'estimation du coefficient de diffusion.

En théorie, l'activité respiratoire dans les agrégats doit donner lieu à des écarts entre valeurs estimées et valeurs réelles des coefficients de diffusion, ces écarts étant fonction du type d'expérimentation (p.e. passage à 100% d'O₂ ou à 100% de N₂).

Dans cette annexe, nous présentons une analyse de l'influence de la consommation d'O₂ sur l'estimation du coefficient de diffusion de l'O₂ afin de vérifier si les valeurs reportées le travail de Sexstone et al. (1985) sont comparables aux nôtres. (cf. Chapitre 4).

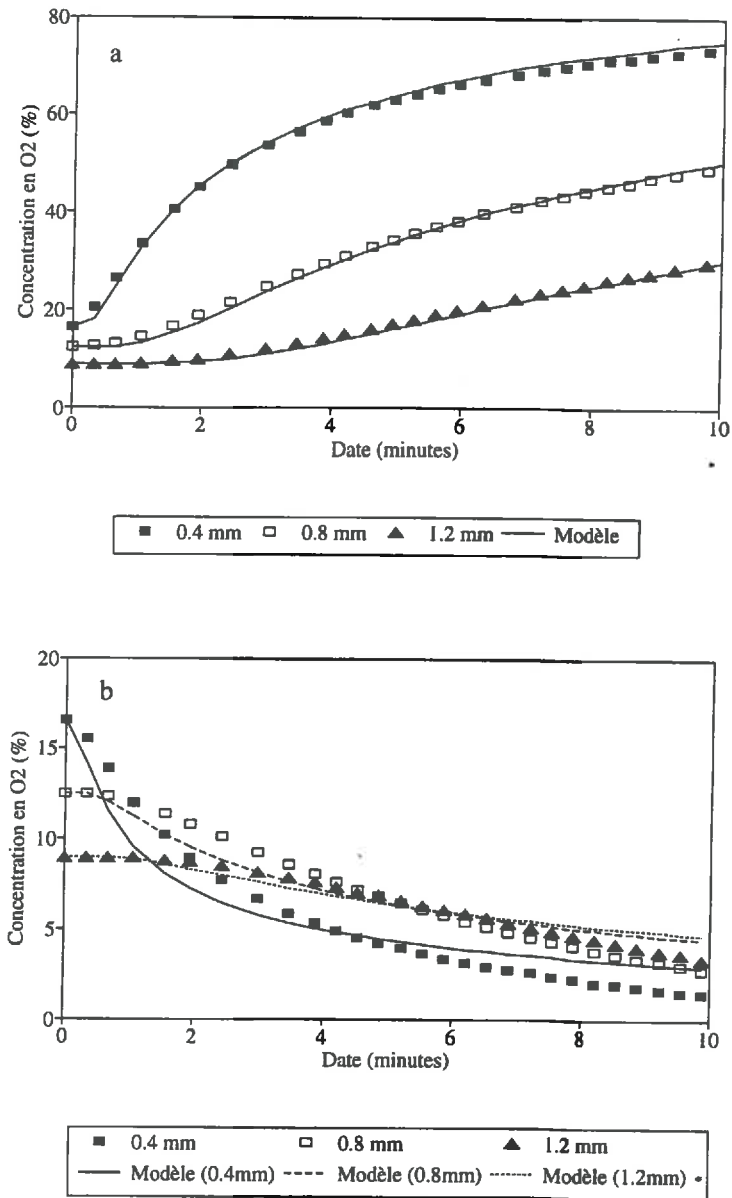
2- Procédure de calcul et résultats

Nous avons simulé l'évolution de la concentration en O_2 au sein d'un agrégat de 8 mm de rayon. Il s'agit de la taille utilisée dans le travail de Sexstone et al. (1985). Pour la simulation, nous avons choisi une situation initiale correspondant à un agrégat en état d'équilibre à 21% O_2 . Le profil des concentrations initiales a été calculé avec le modèle initial lequel avait été considéré dans ce travail. Les valeurs retenues des paramètres du modèle sont de $2.50 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ pour R_{max} et $1 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ pour le coefficient de diffusion de l' O_2 . Ces valeurs sont proches de celles rapportés dans le travail déjà cité. En utilisant ce même modèle, nous avons simulé l'évolution de la concentration d' O_2 au sein de l'agrégat après un changement brutal de la concentration extérieure passant soit à 100% soit à 0% d' O_2 . Ces résultats ont été ajustés avec le modèle de diffusion radiale à trois profondeurs. Les profondeurs analysées sont celles prises en compte par Sexstone et al. (1985).

A la Figure 1, nous présentons les concentrations en O_2 simulés et leur ajustement. Nous rappelons que les données de base sont simulés en considérant la respiration microbienne et ajustées avec un modèle qui ignore cette activité. La qualité de l'ajustement est très bonne quand la diffusion est estimée suite à un changement de 21% à 100% d' O_2 (Fig. 1a). Inversement, si l'estimation est réalisé entre 21% et 0% d' O_2 (Fig. 1b), il existe des écarts systématiques, notamment aux profondeurs les plus grandes. Le coefficient de diffusion estimé est égal à $8.59 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ quand la concentration d' O_2 a été varié de 21% à 100%, et il est de $2.13 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ pour la variation de 21% à 0% en O_2 . Il existe donc des écarts très importants par rapport à la vraie valeur du coefficient de diffusion ($1 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$). En conséquence, un bon accord entre valeurs expérimentales et modèle ne signifie pas nécessairement une bonne estimation de la valeur réelle.

Le coefficient de variation entre ces deux estimations est de 60%; il ne peut pas être négligée dans le calcul de l'anoxie au sein des agrégats. Il faut noter qu'une consommation plus forte que celle considérée dans nos calculs, entraînerait des écarts plus grands entre les deux méthodes d'estimation et entre celles-ci et la valeur réelle. Par ailleurs, nous avons répété les calculs en utilisant le modèle alternatif et les résultats obtenus montrent la même tendance que celle décrite pour le modèle initial. Ces résultats justifient la stérilisation des agrégats dans notre expérimentation.

Finalement, les valeurs du coefficient de diffusion obtenues par Sexstone et al. (1985) peuvent être considérées comme une référence quant à l'ordre de grandeur, car celui-ci ne change pas selon les procédures expérimentales utilisées.



*Figure 1: Simulation de l'évolution de la concentration en O₂ et ajustement du modèle de diffusion radial pour deux types de variation de la concentration extérieure en O₂:
a- de 21% à 100%; b- de 21% à 0%.*

ANNEXE 6

INFLUENCE DE LA VARIABILITE DE LA RESPIRATION GLOBALE SUR LE RAPPORT EXPERIENCE - MODELE

1- Introduction

Nous avons montré au Chapitre 5 la grande variabilité observée sur la respiration globale. Notre but est d'analyser l'influence de cette variabilité sur la qualité et les caractéristiques du rapport expérience - modèle. Cette étude doit nous aider:

- d'une part, à définir quelques aspects méthodologiques pour le test des modèles;
- d'autre part, à évaluer si la variabilité de la respiration peut engendrer des biais entre expérience et modèle.

2- Procédure de calcul

Nous avons réalisé plusieurs simulations en utilisant le modèle alternatif. Les paramètres et la procédure retenus pour ces simulations sont ceux déjà décrits au Chapitre 3. Les agrégats avaient 4.2 mm de rayon; cette valeur correspond au rayon équivalent de la Taille 7 des agrégats naturels. Les simulations ont été conduites de façon à reproduire la variabilité de la respiration globale observée pour cette taille d'agrégat (cf. 5.3.3).

Nous n'avons fait varier que le R_{max} entre les agrégats. Cette simplification n'a pas d'importance car notre objectif est uniquement de générer une certaine variabilité de la respiration globale. Pendant les simulations, nous avons généré une série aléatoire de 10000 valeurs de R_{max} , ayant une distribution normale avec une moyenne de 2.5×10^{-5} mol m⁻³ s⁻¹ et une variance de 2.25×10^{-10} (coefficient de variation de 60%). Ces paramètres ont été choisis

pour obtenir une distribution et une variabilité de la respiration globale, semblable à celle de l'expérimentation.

A partir de ces valeurs de R_{max} , nous avons généré 3 séries de 10 données correspondant chacune à la respiration globale de 30 agrégats soumis à une concentration d'O₂ fixée (Fig. 1). Ce dernier chiffre est égal au nombre d'agrégats utilisés pour chaque concentration d'O₂ dans l'expérimentation sur la respiration globale de la Taille 7. Toute la procédure de génération et de distribution des valeurs a été réalisée à l'aide d'un générateur des nombres aléatoires.

Chacune des trois séries de données de respiration globale a été ajustée en utilisant le modèle de départ, R_{max} étant la variable à ajuster.

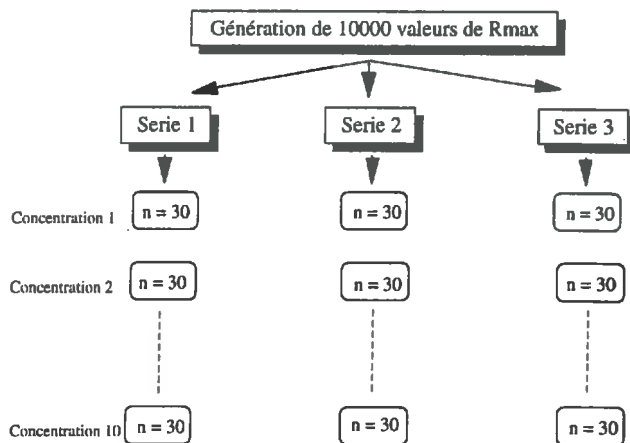


Figure 1: Procédure de génération et de distribution des valeurs aléatoires de R_{max}

3- Résultats de la simulation

Les 90 données de respiration globale (30 pour chacune des séries) correspondant à 21% d'O₂ ont présenté une distribution normale avec un coefficient de variation égal à 45.6%. Cette valeur est proche de celle obtenue dans l'expérimentation sur la respiration individuelle des agrégats naturels de Taille 7. Le coefficient de variation et la variance de la respiration globale sont inférieurs pour les concentrations les plus petites (résultats non montrés). Ceci

pourrait nécessiter de transformer les données afin d'atteindre une variance homogène pour l'analyse du rapport expérience - modèle.

Les résultats des trois séries de données sont présentés à la Figure 2. On constate qu'elles reproduisent approximativement la variabilité obtenue dans l'expérimentation, notamment l'existence d'inversions de respiration globale par rapport à la concentration d'O₂. Les ajustements sont néanmoins satisfaisants ($r^2 > 0.85$). Cependant, les estimations de R_{max} sont inférieures à la valeur originale. Afin de modifier le poids des résidus des différentes concentrations en O₂, nous avons aussi travaillé sur l'ajustement des données après transformation logarithmique. Cette transformation amène à une sous-estimation de R_{max} beaucoup plus importante et produit des biais systématiques aux fortes concentrations d'O₂. Nous avons donc écarté cette méthode d'analyse.

Les résultats obtenus montrent que la variabilité de la respiration globale n'empêche pas d'atteindre un ajustement acceptable, malgré un petit biais sur le paramètre R_{max} ajusté.

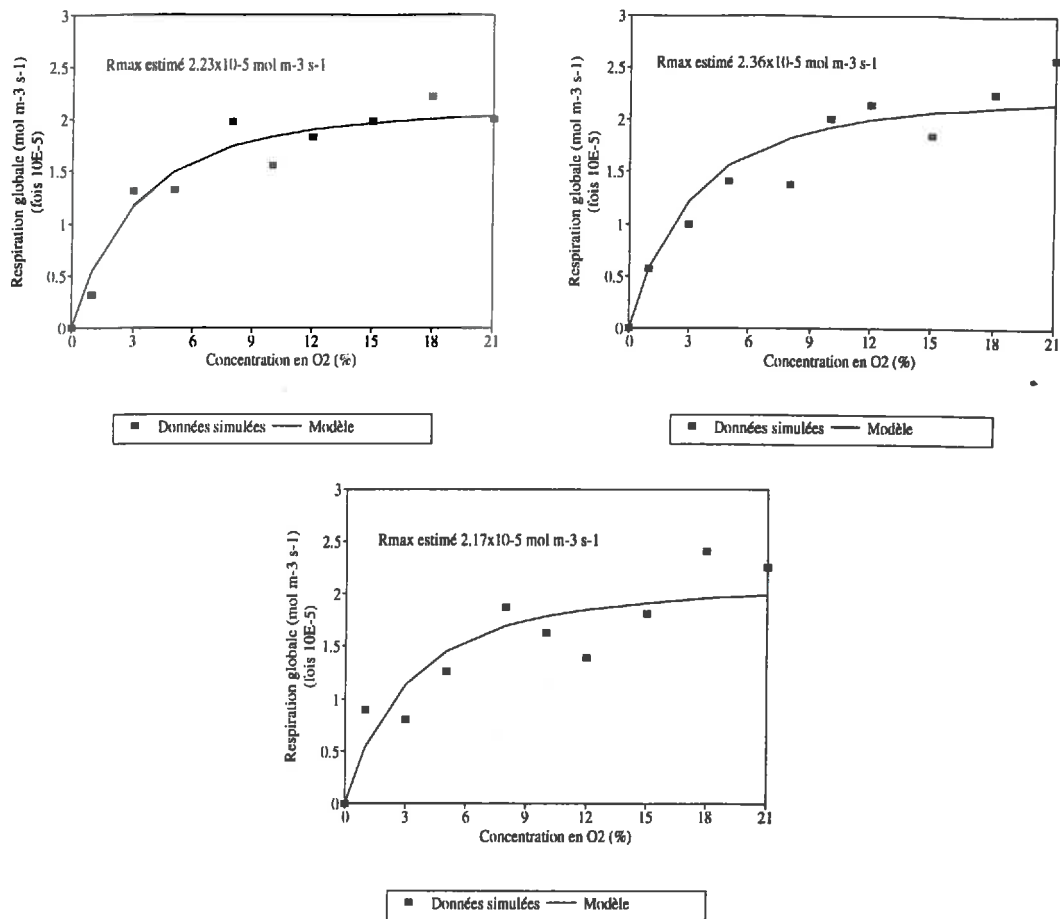


Figure 2: Résultats et ajustement des trois séries de respiration globale simulées.

ANNEXE 7

ESTIMATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE AU SEIN DES AGREGATS

1- *Introduction*

L'objectif de cette étude était d'analyser l'influence des concentrations gazeuses sur la distribution de l'activité microbienne au sein des agrégats. La méthode utilisée a été choisie car plusieurs auteurs ont constaté son bon accord avec la consommation d'O₂ ou avec la biomasse active dans différents milieux biologiques (Kenner et Achmed, 1975; Casida, 1977; Trévors et al., 1982; Norton et Firestone, 1991). La méthode et le protocole de l'expérimentation ont été déjà décrits au Chapitre 3 (Cf. 3.5.3). Dans cette annexe, nous présentons les résultats expérimentaux et nous les discutons.

En raison de la complexité du sujet, cette analyse doit être considérée comme un premier travail sur la distribution de l'activité microbienne au niveau de l'agrégat du sol.

2- *Résultats*

Nous n'avons pas observé de réduction d'INT pour les agrégats stériles, bien qu'une mesure préalable faite sur des agrégats stérilisés à 110°C avait montré une valeur de 1.4 µg INT réduit g⁻¹sol. En conséquence, la réaction peut avoir lieu en l'absence d'activité biologique dans certaines conditions.

Pour des agrégats qui avaient subi des conditions d'anaérobiose pendant 7 jours, nous avons obtenu une valeur de 10.1 µg g⁻¹ (CV 25%) quand la détermination était faite après une incubation anaérobie (100% N₂) et 5.4 µg g⁻¹ (CV 34%) pour l'incubation aérobie (21% en O₂). La différence entre les deux types d'incubation est statistiquement significative ($p < 0.05$).

La variabilité observée est assez grande, d'autant plus que l'analyse a été réalisée sur des agrégats artificiels.

Les résultats du profil d'activité biologique au sein des agrégats sont donnés aux Figures 1 et 2. Il s'agit d'agrégats artificiels cubiques qui avaient été placés à 21% d'O₂ (Fig. 1) ou à 10% d'O₂ (Fig. 2), pendant 15 jours avant la mesure. A la Figure 1 on peut constater que la capacité de réduction d'INT a tendance à croître entre la périphérie de l'agrégat et son centre (agrégat 1 et 2) et que cette tendance continue dans la région centrale (agrégat 3). Le rapport entre l'activité détectée dans la partie intérieure de la région centrale et celle de la périphérie de l'agrégat est de l'ordre de 20.

La réduction d'INT dans la région centrale a été beaucoup plus forte quand l'incubation était anaérobie (80 µg g⁻¹, agrégat 4), alors qu'à la périphérie, l'activité était semblable à celle observée en utilisant l'incubation aérobie.

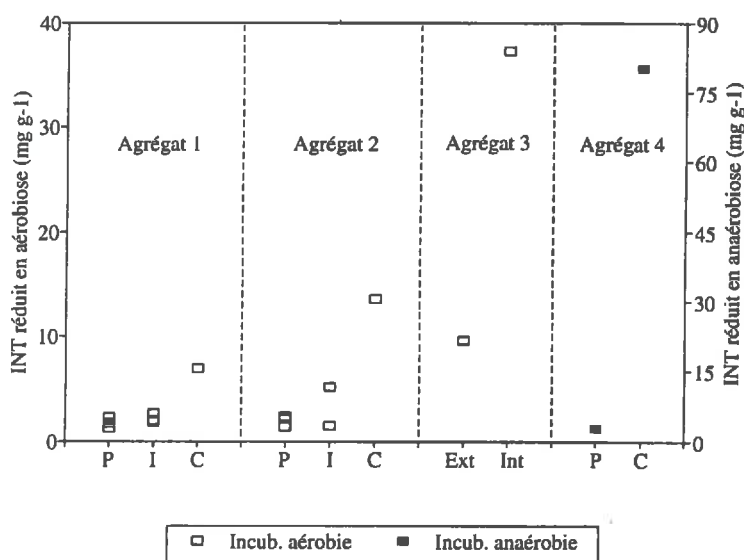


Figure 1: Réduction d'INT au sein des agrégats artificiels cubiques de 20 mm de côté placés à 21% d'O₂.

(P: région périphérique; I: région intermédiaire; C: région centrale; Int: partie intérieure de la région centrale; Ext: partie extérieure de la région centrale).

Pour les agrégats placés à 10% d'O₂ avant la mesure (Fig. 2), la tendance était similaire à celle décrite ci-dessus. Néanmoins, l'activité de la région intermédiaire était légèrement supérieure et celle de la périphérie légèrement inférieure à celles des agrégats placés à 21%

d'O₂, respectivement. Ces différences ne sont pas significatives. Pour les régions périphériques et intermédiaires, la variabilité entre répétitions était généralement comprise entre 15% et 40%, mais une valeur de 80% a été observée pour la région intermédiaire de l'agrégat 2 placé à 21% d'O₂ (Fig. 1).

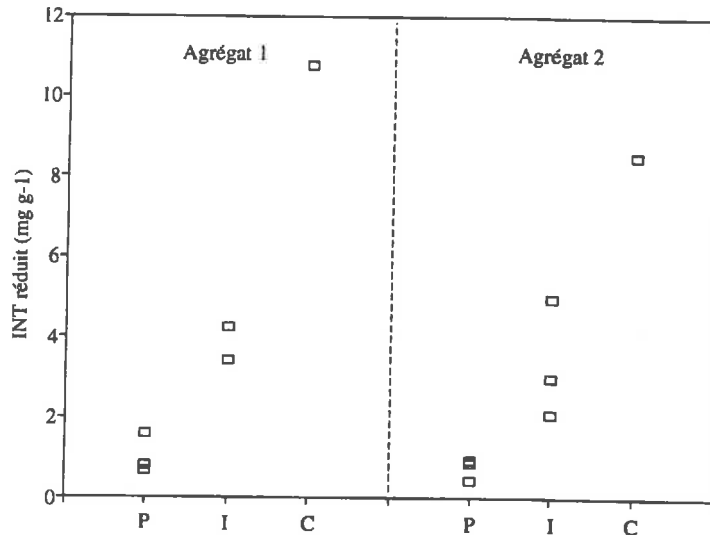


Figure 2: Réduction d'INT au sein des agrégats placés à 10% d'O₂.

On n'a pas trouvé de différences significatives entre les valeurs obtenues pour des agrégats artificiels de 1-2 mm de rayon soumis à différentes concentrations en O₂ et en CO₂ (Tableau 1).

Le profil d'O₂ (Fig. 3) a montré que tout le volume de la région centrale et environ 25% de la région intermédiaire étaient anoxiques au moment de la mesure de l'activité biologique pour les agrégats cubiques placés à 21% d'O₂. On peut donc supposer que, pour les agrégats placés à 10% d'O₂, la région centrale et une grande partie de la région intermédiaire étaient anaérobies pendant l'expérience.

Traitement(*)	INT réduit $\mu\text{g g}^{-1}$	CV %
21% O ₂ - 4% CO ₂	4.0	16
21% O ₂ - 8% CO ₂	3.1	15
2% O ₂ - 4% CO ₂	3.1	24
2% O ₂ - 8% CO ₂	4.0	24

(*) Correspond aux concentrations en O₂ et en CO₂ auxquelles les agrégats avaient été placés avant la mesure

Tableau 1: Réduction d'INT par des agrégats artificiels de 1-2 mm de rayon soumis à différentes concentrations en O₂ et en CO₂.

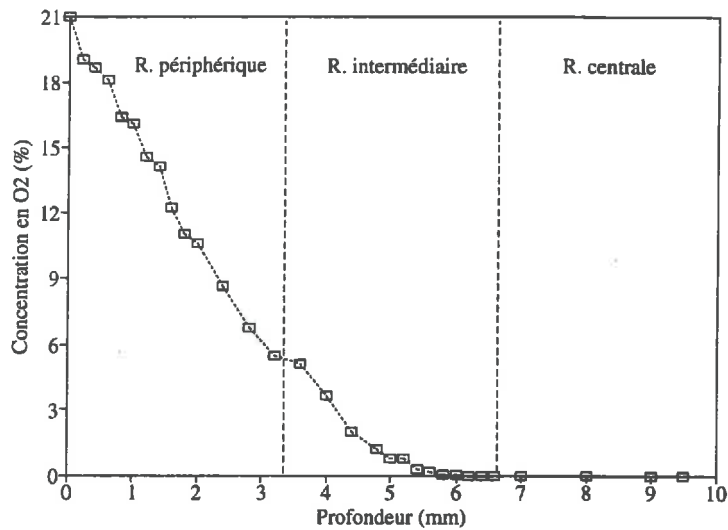


Figure 3: Profil d'O₂ déterminé dans un agrégat artificiel cubique placé à 21% d'O₂.

4- Discussion

a- Réduction de l'INT dans les régions anoxiques

L'ensemble des résultats a montré que la capacité à réduire l'INT était toujours supérieure à l'intérieur des régions qui avaient subi des processus liés à l'anoxie avant la mesure. Ceci est notamment vrai en conditions d'incubation anaérobie mais, bien que plus faible, une activité significative est maintenue en milieu aérobie. Ce résultat est assez étonnant compte tenu du fait que les cellules anaérobies doivent, pour accomplir un travail identique, consommer beaucoup plus (jusqu'à 20 fois) de glucose par unité de temps que les cellules aérobies (Weil, 1987).

Nous ne connaissons pas strictement les organismes peuplant les régions anoxiques des agrégats. Cependant deux hypothèses peuvent être retenues:

- la réduction de l'INT dans une région anoxique mise en conditions d'aérobiose est principalement réalisée par les organismes aérobies facultatifs;
- l'activité des anaérobies obligatoires peut être estimée par la différence entre les valeurs mesurées des incubations anaérobies et aérobies.

Des organismes aérobies ayant des formes de résistance à l'anoxie, pourraient contribuer à l'activité totale si leur métabolisme est repris pendant les quatre heures d'incubation. Nous négligeons cette possibilité.

Bien que ces hypothèses soient seulement une approche de la réalité, elles sont utiles pour réaliser une analyse des résultats obtenus. Ainsi, il semble que, pour les agrégats placés en conditions anoxiques pendant 7 jours, l'activité des deux types d'organismes ait été similaire. En revanche, l'activité anaérobie a été 8 fois plus forte que celle des aérobies facultatifs dans la région centrale des agrégats placés à 21% d'O₂ (Fig. 1). Si l'on considère que la région centrale de cet agrégat avait été 15 jours en état d'anoxie, les résultats montrent l'existence d'une évolution de l'activité anaérobie au cours du temps. Cette évolution concernerait notamment les anaérobies et dans une moindre mesure les aérobies facultatifs.

Tenant compte du fait que la plupart des organismes qui gèrent la réduction du Fe³⁺ et du Mn⁴⁺ sont des anaérobies stricts (Ghiorse, 1988), nous pensons que l'abondance de ces cations dans notre sol pourrait être pour une part responsable de l'activité de réduction d'INT en anoxie. Pourtant, il semble que ce type de métabolisme ne peut pas expliquer le niveau de réduction de l'INT observé.

Oren (1987) considère que, pour certaines bactéries anaérobies, la capacité à réduire l'INT serait plutôt liée au potentiel d'activité du Système de Transfert d'Electrons (STE) qu'une mesure de son activité actuelle. Cette hypothèse est basée sur les observations que l'auteur a réalisées sur *Clostridium* sp. (anaérobie obligatoire avec production de H₂), espèce qui préfère comme accepteur d'électrons l'INT aux accepteurs carbonés naturels. Aussi, l'INT peut avoir éventuellement des effets de stimulation sur le STE.

Dans les Chapitres 4 et 5, nous avons montré que, a priori, la production apparente de CO₂ était similaire pour des agrégats totalement anoxiques et des agrégats aérobies. Comme une partie du métabolisme biologique en anoxie a comme produit final le CO₂ (Zehnder et Stumm, 1988), les résultats de respiration seraient en contradiction avec la forte activité détectée en conditions anoxiques en utilisant la méthode de l'INT. En conséquence, un effet de stimulation de l'INT sur le STE des anaérobies peut être à l'origine de l'absence de relation entre les résultats des deux expériences.

Ce type de phénomène ne peut pas pourtant expliquer l'évolution de l'activité anaérobie au cours du temps ni la relativement grande activité que présentent les régions anoxiques en milieu aérobie. En considérant que le STE des aérobies facultatifs est absolument différent de celui des anaérobies (Stouthamer, 1988), il apparaît assez difficile que l'INT puisse avoir des effets de stimulation sur des STE biologiquement très éloignés.

Selon Zehnder et Stumm (1988), les milieux anoxiques pourraient être caractérisés par des associations biologiques syntrophiques, où le produit carboné final du métabolisme d'une population microbienne est utilisé comme source d'énergie par une autre population. Evidemment, ce type de processus peut provoquer une évolution au cours du temps de la taille des populations anaérobies, la disponibilité du carbone étant le facteur clé.

La libération des composés carbonés pendant l'anoxie a été aussi considérée par Tiedje (1988) dans son hypothèse sur la distribution des microbes au sein des agrégats. Pour cet auteur, les régions intermédiaires des agrégats subissant des processus d'aérobiose et d'anaérobiose alternatives, seraient peuplés notamment de bactéries aérobies facultatives (p.e. dénitrifiants). Pendant la période d'anoxie, ces microbes utiliseraient le carbone libéré par l'activité anaérobie, permettant ainsi leur croissance et une meilleure compétition avec les aérobies quand le milieu devient oxygéné. Une liaison entre les métabolismes des organismes anaérobies et des aérobies facultatifs par l'intermédiaire du carbone disponible, pourrait être la cause de l'activité observée dans les régions anoxiques de nos agrégats quand elles sont soumises à des conditions oxygénées.

Les associations décrites entre les organismes anaérobies d'une part, et entre ceux-ci et les aérobies facultatifs d'autre part, peuvent nous aider à comprendre au moins en partie les résultats obtenus avec la méthode de l'INT. Cependant, elles n'expliquent pas l'absence de relation entre ces résultats et ceux de la respiration. En plus, la différence d'activité au sein de la région centrale ne peut être expliquée a priori par le type d'activité ou le carbone disponible (agrégat 3, Fig. 1). Donc d'autres facteurs que ceux mentionnés ici semblent jouer un rôle non négligeable sur la réduction d'INT en anoxie.

b- Réduction de l'INT dans les régions aérobies

Les résultats d'activité à la périphérie des agrégats et sur de petits agrégats placés à différentes concentrations d'O₂ et de CO₂, sont du même ordre de grandeur que ceux reportés dans la bibliographie pour des conditions d'aérobiose (Casida, 1977; Trevors, 1982).

En tenant compte des différentes durées de la période entre la mise à saturation des agrégats et la mesure, l'activité plus grande des petits agrégats par rapport à celle de la région périphérique des agrégats cubiques peut être due à la diminution du carbone disponible au cours du temps. Nous avons déjà montré au Chapitre 4 que ce facteur est probablement à l'origine de l'évolution du volume anoxique.

La réduction de l'INT dans des conditions d'aérobiose ne reflète pas les niveaux de respiration que nous avons trouvés aux différentes concentrations d'O₂ et de CO₂ (Chapitre 4). Nos résultats contrastent avec ceux de la littérature citée auparavant. Bien qu'il soit possible que la méthode ne soit pas utile pour détecter les différences d'activité aérobie dans le cas de notre sol, les résultats peuvent être aussi un artefact de l'expérimentation. Ceci pourrait être dû à la température d'incubation (30 °C) ou à la variation du milieu gazeux pendant la mesure par rapport aux concentrations imposées initialement. Dans ce dernier cas, nos résultats pourraient indiquer que les effets de l'O₂ et du CO₂ ne sont pas irréversibles, ce qui serait la situation si les gaz affectent la respiration mais non la croissance microbienne.

c- Variabilité de la capacité de réduction de l'INT

La variabilité observée est assez importante, sachant que l'expérience a été réalisée sur des agrégats a priori homogènes. C'est vrai pour les milieux aérobies et anaérobies et pour les deux tailles d'agrégats analysés.

Actuellement, nous ne pouvons pas séparer la part de la variabilité due à la méthode et celle due à l'hétérogénéité dans ou entre les agrégats. Il est par ailleurs possible que des fragments végétaux restants présents dans le sol puissent avoir des effets importants, compte tenu de la masse du sol utilisée dans ce type de mesures (≈ 1g de sol humide).

4- Commentaire final

La question implicitement posée au début de cette expérience était de savoir si les gradients de concentrations gazeuses dans les agrégats avaient une influence sur la distribution de l'activité microbienne en leur sein. Dans l'état actuel de cette étude, nous ne pouvons pas répondre sans ambiguïté à cette question.

Nos résultats suggèrent que l'activité biologique, telle qu'elle a été estimée, est fortement liée à des conditions d'anoxie. Le carbone disponible pourrait être un des facteurs responsables de cette liaison, bien que des artefacts liés à la méthode utilisée ou aux conditions de l'expérience ne puissent être écartés. Indépendamment de cette sensibilité à l'anoxie, l'absence de relation entre l'activité mesurée et la consommation d'O₂ ou la production de CO₂, nous obligent à ne pas considérer ces résultats comme un test de l'homogénéité biologique.

Il est clair que l'étude de la distribution des organismes au sein des agrégats pose des problèmes d'ordre méthodologique et théorique. Par exemple, l'estimation des effets des gaz sur cette répartition devrait être menée sans variation des concentrations gazeuses pendant l'expérimentation, ce qui est particulièrement délicat quand l'étude est réalisée sur les couches intérieures des agrégats. Néanmoins, il semble que la difficulté méthodologique la plus sérieuse concerne notamment l'influence de l'accepteur d'électrons sur le STE.

Malheureusement, l'activité biologique ne peut pas être "fixée" dans le temps et les interactions entre les différents groupes d'organismes et leur évolution au cours du temps ne constituent pas un sujet très abordé dans la littérature. De plus, il apparaît difficile qu'une seule méthode d'estimation de l'activité microbienne puisse rendre compte de tous ces phénomènes. Des mesures de biomasse et le dénombrement des organismes au sein des agrégats, pourraient être très utiles afin de compléter les déterminations d'activité.

ANNEXE 8

INFLUENCE DE LA DISTRIBUTION DE L'ACTIVITE RESPIRATOIRE SUR LE RAPPORT EXPERIENCE-MODELE

1- Introduction

D'après l'analyse des profils d'O₂ dans les agrégats artificiels et naturels, nous avons montré que la distribution de la consommation potentielle d'O₂ en leur sein ne semble pas homogène, mais qu'elle serait relativement plus forte dans leur région périphérique. Si cette hypothèse est vraie, l'analyse des résultats de l'expérimentation avec un modèle admettant l'homogénéité de l'activité biologique pourrait donner lieu à de fausses estimations de cette activité. Dans notre étude, c'est particulièrement important car nos analyses sont basées sur l'ajustement de R_{max} à partir des données expérimentales.

L'objectif de cette annexe est d'analyser par simulation si les écarts entre le modèle de transfert gazeux et les résultats expérimentaux relatifs aux profils d'O₂ et à la respiration globale, peuvent être la conséquence de la présence d'un gradient de l'activité respiratoire maximale au sein des agrégats. Notre but n'est donc pas de proposer une théorie sur la distribution de R_{max} au sein des agrégats, mais d'utiliser une fonction plus ou moins arbitraire afin d'interpréter les résultats de l'expérimentation.

Finalement, nous nous proposons aussi d'analyser quelques hypothèses liées à la distribution des microbes en utilisant un schéma de répartition des microbes proposé par Tiedje (1988).

2- Protocole de calcul

Nous avons réalisé une série de simulations concernant les profils d'O₂ et la respiration globale d'agrégats de différentes tailles. Les simulations ont été réalisées en utilisant le modèle alternatif (hypothèse 1) mais en considérant que le R_{max} varie au sein des agrégats en fonction des concentrations d'O₂ et de CO₂. Ceci pourrait représenter l'effet des gaz sur la croissance microbienne et donc sur la consommation potentielle d'O₂. Pour cela, le R_{max} a été calculé en utilisant l'équation de Michaelis - Menten incluant le K_{mO_2} et le K_{iO_2} que nous avons estimé expérimentalement pour la respiration. C'est à dire que la même équation et les mêmes paramètres sont utilisés pour estimer le R_{max} et, ultérieurement, la respiration à chaque profondeur. Nous avons considéré que le R_{max} est de $2.5 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ quand il n'y a pas de limitation par l'O₂ ou le CO₂. Cette valeur peut être considérée comme une sorte de R_{max} "potentiel". Le reste des paramètres et du protocole de calcul est celui décrit pour l'analyse de la respiration globale et les profils d'O₂.

Les résultats des simulations ont été finalement analysées avec le modèle sans distribution de l'activité microbienne et le R_{max} de ce modèle a été ajusté.

3- Résultats des simulations des profils d'oxygène

A la Figure 1, nous montrons la distribution de R_{max} en fonction de la profondeur pour deux tailles d'agrégats. On peut constater que la fonction utilisée aboutit à un gradient très faible de l'activité respiratoire maximale au sein des agrégats de 3 mm de rayon. Par contre, ce gradient est plus marqué pour un agrégat de 12 mm. Dans ce cas, le R_{max} n'atteint pas zéro, ce qui indique qu'il n'y a pas d'anoxie pour cette taille d'agrégat.

Les profils simulés et leur ajustement par le modèle à distribution homogène de l'activité microbienne sont présentés en Figure 2. Pour l'agrégat de 3 mm, l'écart entre les données simulés et l'ajustement sont négligeables. Le R_{max} estimé à $2.43 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ est très proche du R_{max} "potentiel" considéré initialement. Ce résultat est logique puisque ce paramètre varie peu au sein de l'agrégat. Pour celui de 12 mm, les écarts sont plus prononcés (Fig. 3). Pour cet agrégat, le R_{max} estimé est égal à $1.92 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$.

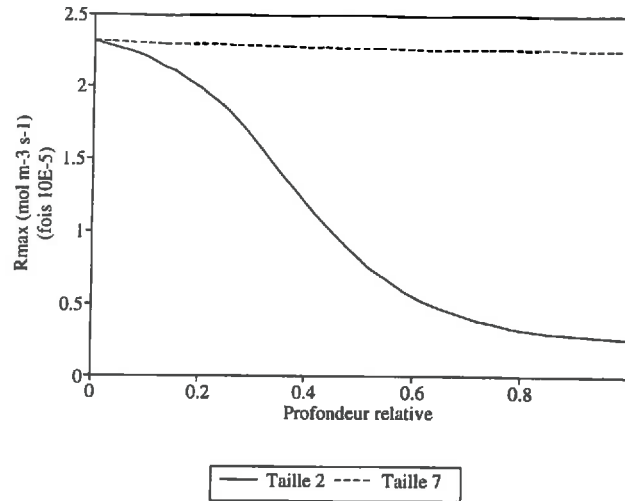


Figure 1: Distribution de la respiration maximale au sein des agrégats.

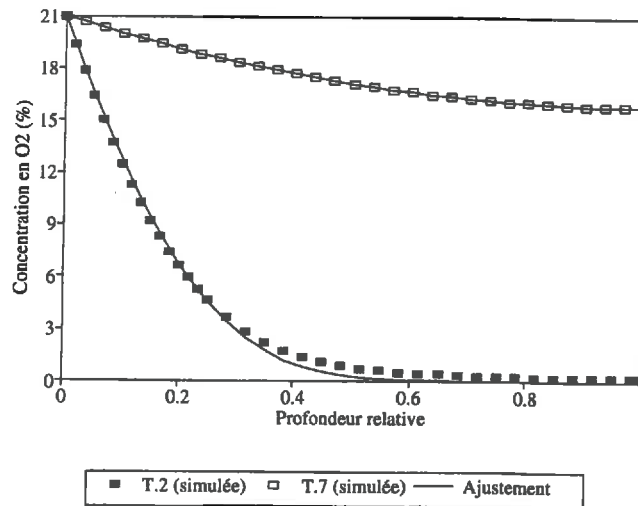


Figure 2: Profil d'O₂ au sein des agrégats.

L'utilisation d'un modèle qui fait une hypothèse d'homogénéité de distribution de l'activité respiratoire maximale pour analyser des données issues d'un système où cette hypothèse n'est pas réelle, donne des estimations de R_{max} biaisées. Sa valeur dépend de la taille de l'agrégat: elle devient de plus en plus grande quand l'agrégat est de plus en plus petit. On retrouve là la tendance que nous avons observée pour le rapport entre le modèle et l'expérience.

Pour le système que nous avons simulé, l'estimation de R_{max} n'a pas de sens biologique strict. En toute rigueur, on ne peut donc pas affirmer que le R_{max} varie en fonction de la taille de l'agrégat car la définition de ce paramètre n'est plus valable pour la situation analysée.

Par ailleurs, pour un agrégat où la respiration potentielle diminue en profondeur, la consommation d'O₂ à la périphérie sera relativement plus importante par rapport au même agrégat où R_{max} est homogène. En conséquence, la prise en compte d'une hypothèse d'homogénéité produira une surestimation de la concentration en O₂ dans cette région (Fig. 3). Etant donné que la base de la méthodologie d'ajustement est la minimisation des écarts observé-ajusté, la sous-estimation des teneurs en O₂ dans la région centrale compense les surestimations près de la surface. Pour cette raison la distribution de ces écarts en fonction de la profondeur n'est pas aléatoire.

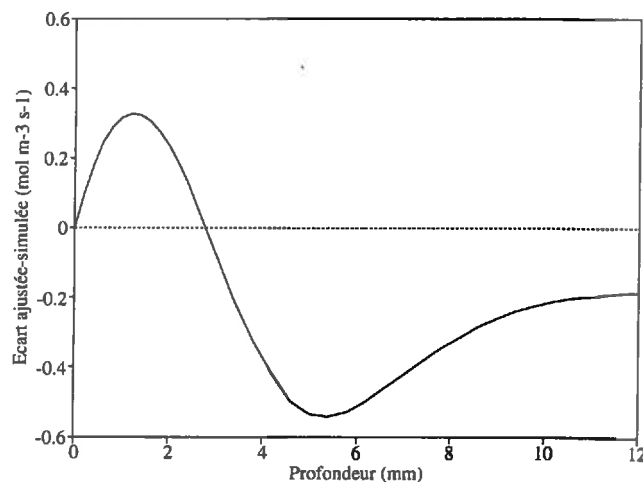


Figure 3: *Écarts entre les valeurs simulées (avec hypothèse d'hétérogénéité de R_{max}) et les valeurs ajustées (avec hypothèse d'homogénéité de R_{max}).*

Les données correspondent à un agrégat de 12 mm de rayon.

A la Figure 3, on peut constater que la tendance des écarts est similaire à celle que nous avons observé dans l'expérimentation pour des agrégats ne présentant pas d'anoxie. Dans cette figure, nous ne montrons pas les écarts correspondant à l'agrégat de 3 mm car ils sont négligeables. Dans l'expérience, nous avons trouvé que les écarts modèle-expérience étaient assez importants pour les agrégats artificiels de 4 mm. Donc, si l'hypothèse d'un gradient de

R_{max} est vraie, il semble que sa distribution soit beaucoup plus différenciée au sein des agrégats réels que ce que nous avons considéré ici.

4- Résultats des simulations de respiration globale

A la Figure 4, nous présentons les résultats de la simulation de la respiration globale et les ajustements obtenus. Le modèle ajusté sous-estime la respiration globale aux concentrations en O_2 les plus fortes et, au contraire, les surestime aux teneurs les plus faibles. Ces écarts sont plus importants quand la taille de l'agrégat est plus petit. Les R_{max} estimés sont égaux à $1.98 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ pour la Taille 2, $2.05 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ pour la Taille 5 et $2.10 \times 10^{-5} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ pour la Taille 7.

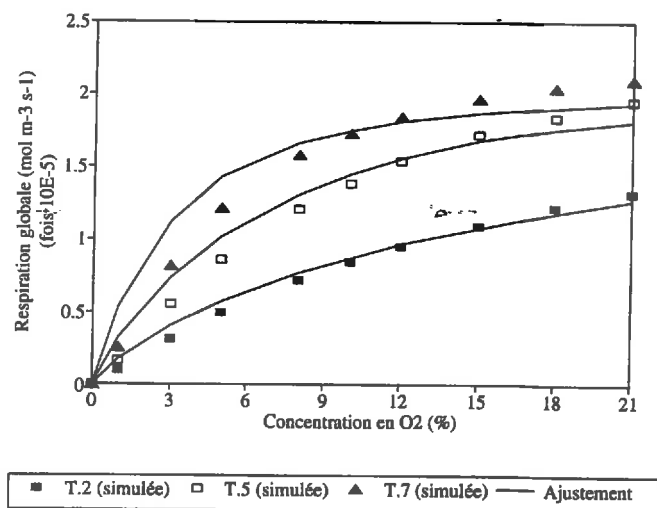


Figure 4: Respiration globale simulée pour différentes tailles d'agrégats.

De la même manière que pour les profils d' O_2 , on montre que le \dot{R}_{max} estimé augmente avec la diminution de la taille de l'agrégat en accord avec ce que nous avons constaté dans l'analyse du rapport entre le modèle et les expériences relatives à la respiration globale des agrégats artificiels et des agrégats naturels.

Par ailleurs, la Figure 4 montre quelques tendances qui ressemblent au rapport modèle-expérience pour les agrégats naturels. En effet, nous avons observé que, alors que pour les

gros agrégats l'ajustement était satisfaisant, les écarts les plus importants correspondaient aux tailles les plus petits notamment à cause de la sous-estimation de la respiration aux fortes concentrations en O_2 . Inversement, pour les agrégats artificiels nous n'avions pas trouvé d'écarts systématiques entre le modèle et les résultats expérimentaux.

5- *Quelques considérations sur la distribution des microbes au sein des agrégats*

D'après les résultats que nous avons présentés ci-dessus, il apparaît évident que la prise en compte d'une distribution hétérogène de la consommation potentielle d' O_2 au sein des agrégats, permet d'expliquer la plupart des écarts et tendances que nous avons trouvés dans l'analyse du rapport entre le modèle et l'expérience de respiration globale et de distribution de l' O_2 dans les agrégats.

Bien sur, cela n'implique pas que l'hypothèse de distribution hétérogène de R_{max} soit vraie ni, si c'est le cas, qu'il soit le seul paramètre biologique qui varie dans les agrégats. Néanmoins, nous considérons que cette analyse peut servir de point de départ pour un travail visant à étudier la répartition de l'activité biologique au niveau de l'agrégat et ses causes.

Ce dernier aspect est, à notre avis, de la plus haute importance. Dans les simulations que nous avons présentées dans cette annexe, nous avons considéré une fonction assez simple afin d'obtenir une distribution hétérogène de l'activité respiratoire maximale. Cependant, cette fonction implique des hypothèses vis-à-vis des mécanismes qui déterminent la répartition spatiale de cette activité:

- nous admettons que l'équation de Michaelis - Menten peut décrire la variation de R_{max} ;
- nous ignorons la variation du type de population microbienne;
- la variation spatiale de R_{max} est fonction des concentrations gazeuses seulement. Sa distribution change donc avec la concentration extérieure.

Quelques une de ces hypothèses peuvent être très éloignées de la réalité mais il n'y a pas d'information expérimentale sur ce sujet. Nous aurions pu proposer d'autres cas de figures. Par exemple, des agrégats prélevés d'une couche du sol où l'environnement change peu ou très lentement, peuvent présenter une répartition des populations microbiennes plus nette et plus stable dans le temps que des agrégats placés près de la surface du sol avec des variations plus rapides et extrêmes du milieu (Kilbertus, 1980).

L'hypothèse proposée par Tiedje (1988) selon laquelle les microbes aérobies seraient concentrés à la périphérie des agrégats, les dénitrifiants dans la région intermédiaire et les anaérobies dans la région centrale, correspondraient plutôt au premier type de situation décrite. Par ailleurs, Tiedje (1988) suppose l'existence d'un gradient de carbone disponible entre la

périphérie et le centre des agrégats. Dans ce type de répartition spatiale des microbes, la distribution du carbone disponible peut être reliée à la plus grande efficacité de l'activité aérobie pour la dégradation des matières organiques.

Les hypothèses que nous avons détaillées ci-dessus peuvent être analysées sur la base du schéma proposé par Tiedje (1988):

- si le type de population microbienne varie avec la profondeur de l'agrégat, il est probable que l'ensemble des paramètres biologiques accompagne cette variation (p.e. R_{max} , K_{mO_2} , K_{iO_2});
- un changement temporel de la concentration extérieure en O_2 et, en conséquence, du gradient des teneurs gazeuses au sein des agrégats, n'aura pas d'effets sur la distribution initiale des microbes si le carbone disponible est la principale limitation à l'activité biologique;
- la taille de l'agrégat, en affectant sa fraction aérobie, peut aussi affecter le gradient de carbone disponible et donc la distribution de la consommation potentielle d' O_2 ;
- dans ces conditions, si l'équation de Michaelis - Menten est encore valable pour décrire le phénomène, elle devrait inclure au moins l'effet du carbone disponible.

L'évolution très rapide de l'activité biologique dans les agrégats artificiels (cf. Annexe 7), suggère que ces agrégats peuvent être utiles afin d'étudier les différents aspects de la distribution microbienne. Il est pourtant évident que cette étude devrait être complétée sur des agrégats naturels parce que leurs caractéristiques biologiques peuvent dépendre fortement des conditions de leur environnement originel.