

Soil hydric potential (MPa)	partial pressure of acetylene (Pa)	N ₂ O emissions (mg N kg ⁻¹ d ⁻¹)	inhibition of N ₂ O production (%)	nitrification rate (mg N-NO ₃ ⁻ kg ⁻¹ d ⁻¹)	inhibition of nitrate production (%)
<i>hypercalcareous rendosol</i>					
-3.84	0	ND	0	5.10E-01	0
	100	ND	0	ND	100
	10000	ND	0	ND	100
	0	4.82E-02	0	8.28E+00	0
-1.24	100	ND	100	2.98E+00	64
	10000	ND	100	ND	100
	0	1.75E-01	0	1.74E+01	0
-0.41	100	2.71E-02	84	5.23E+00	70
	10000	ND	100	ND	100
	0	2.69E-01	0	2.76E+01	0
-0.13	100	1.95E-01	28	3.77E+01	0
	10000	ND	100	ND	100
	0	4.18E-01	0	4.37E+01	0
-0.05	100	4.51E-01	0	4.18E+01	4
	10000	ND	100	ND	100
<i>redoxic luvisol A</i>					
-3.09	0	2.78E-05	0	ND	0
	100	ND	100	ND	0
	10000	ND	100	ND	0
	0	1.53E-03	0	2.21E+00	0
-0.87	100	3.86E-04	75	ND	100
	10000	3.98E-04	74	ND	100
	0	4.06E-03	0	3.36E+00	0
-0.45	100	2.57E-04	94	ND	100
	10000	2.59E-04	94	ND	100
	0	4.46E-03	0	5.62E+00	0
-0.15	100	4.37E-04	90	ND	100
	10000	3.72E-04	92	ND	100
	0	7.01E-03	0	5.71E+00	0
-0.08	100	4.32E-04	94	1.40E-01	98
	10000	9.02E-04	87	ND	100
<i>redoxic luvisol B</i>					
-24.48	0	ND	0	ND	0
	100	ND	0	ND	0
	10000	ND	0	ND	0
	0	3.41E-03	0	3.79E+00	0
-1.28	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	4.68E-03	0	8.42E+00	0
-0.16	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	9.43E-03	0	9.24E+00	0
-0.03	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	1.24E-02	0	1.49E+01	0
-0.01	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
<i>pachic calcisol</i>					
-25.48	0	ND	0	ND	0
	100	ND	100	ND	0
	10000	ND	100	ND	0
	0	1.23E-03	0	1.13E+00	0
-2.23	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	1.70E-03	0	4.25E+00	0
-0.30	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	1.14E-02	0	1.73E+01	0
-0.06	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	5.64E-02	0	2.90E+01	0
-0.01	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
<i>neoluvisol</i>					
-87.86	0	ND	0	ND	0
	100	ND	0	ND	0
	10000	ND	0	ND	0
	0	2.40E-03	0	2.64E+00	0
-3.73	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	2.64E-03	0	6.48E+00	0
-2.55	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	3.36E-03	0	1.13E+01	0
-0.03	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100
	0	1.03E-02	0	1.73E+01	0
-0.01	100	ND	100	ND	100
	10000	ND	100	ND	100

Table 1 : N₂O emission rates and nitrification rates versus hydric potentials at different acetylene partial pressures (ND : not detectable) in the five studied soils.

Denitrification still occurred on the redoxic luvisol A at hydric potentials less than -0.08 MPa (Fig. 5) at the same time as nitrification and N_2O production. N_2O emission continued to occur from this soil when the nitrification activity was totally inhibited (Table 1). In the presence of acetylene, N_2O emissions were measured on this soil at lower rates of between 0.257 and $0.902 \mu\text{g N-N}_2\text{O kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ (Table 1), which did not clearly vary with soil hydric potential and the dose of acetylene. For the redoxic luvisol A, the N_2O emissions measured in aerobic conditions with ammonium addition, were due to both nitrification and denitrification.

Mechanisms of nitric oxide production

A total inhibition of the nitrification process with acetylene also totally inhibited NO production by all 5 soils (Fig 6). This was also true of the redoxic luvisol A which continued to produce N_2O in the same conditions of hydric potential, ammonium content and acetylene partial pressures (Table 1). NO production appeared to be solely linked to the nitrification process in all 5 soils.

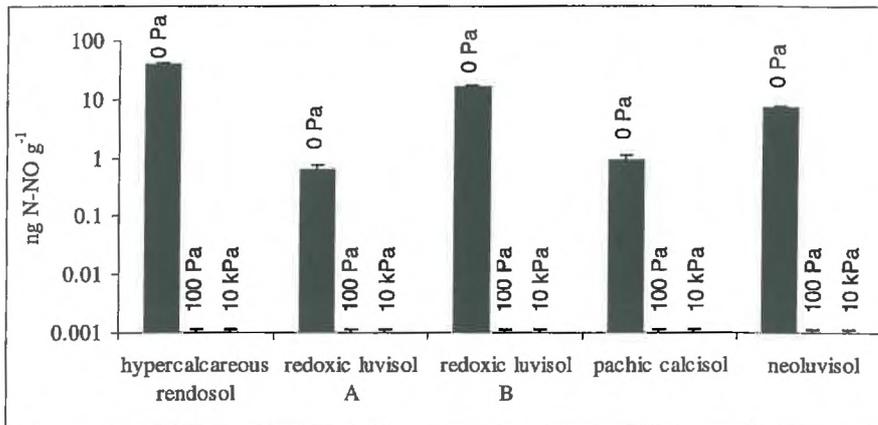


Fig. 6: NO emissions by soil samples of hypercalcareous rendosol ($\Psi = -4.21$ MPa), redoxic luvisol A ($\Psi = -0.84$ MPa), redoxic luvisol B ($\Psi = -0.17$ MPa), pachic calcisol ($\Psi = -2.32$ MPa) and neoluvisol ($\Psi = -2.56$ MPa) after 48 hours of incubation in aerobiosis with ammonium and acetylene (0, 100 and 10000 Pa).

Proportion of nitrified N emitted as N₂O

During incubation, nitrification was the only process involved in N₂O production on the hypercalcareous rendosol, the redoxic luvisol B, the pachic calcisol and the neoluvisol. The N emitted as N₂O during nitrification was proportional to the nitrification rate ($p < 0.05$) for the hypercalcareous rendosol and the redoxic luvisol B. The proportion of N emitted as N₂O during nitrification was 1% and 0.08% for these two soils respectively. The observed proportion of N emitted as N₂O during nitrification changed with Ψ for the calcisol, from 0.04% to 0.2%, and for the neoluvisol, from 0.03% to 0.1%. For these latter two soils, the experimental points of N₂O emission versus nitrification rates were fitted by equations of the form $y = ax + bx^2$ ($p < 0.05$) (Fig. 7). However, the proportion of N emitted as N₂O during nitrification could be assessed by one and same value of 0.06% ($p < 0.01$) for the 3 soils from the Paris Basin (i.e. the redoxic luvisol B, the pachic calcisol and the neoluvisol) for nitrification rates lower than 20 mg N kg⁻¹ d⁻¹ (Fig. 8).

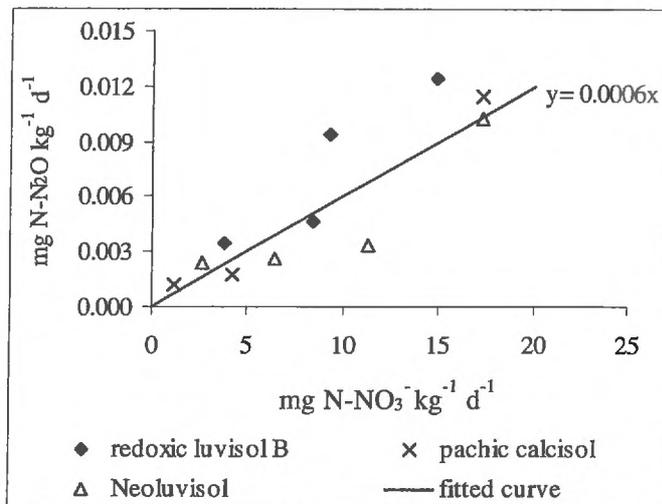


Fig. 8: Relationship between the N₂O emission rate and the nitrification rate for the 3 soils from the Paris Basin for nitrification rates lower than 20 mg N kg⁻¹ d⁻¹.

Both nitrification and denitrification were involved simultaneously in N₂O production by the redoxic luvisol A. These two processes interact with each other as the denitrification rate depends on the nitrate supplied through nitrification. The denitrification rates measured in the presence of acetylene could have been affected by the inhibition of nitrification. Thus, we were not able to determine the proportion of N emitted as N₂O during nitrification by this soil.

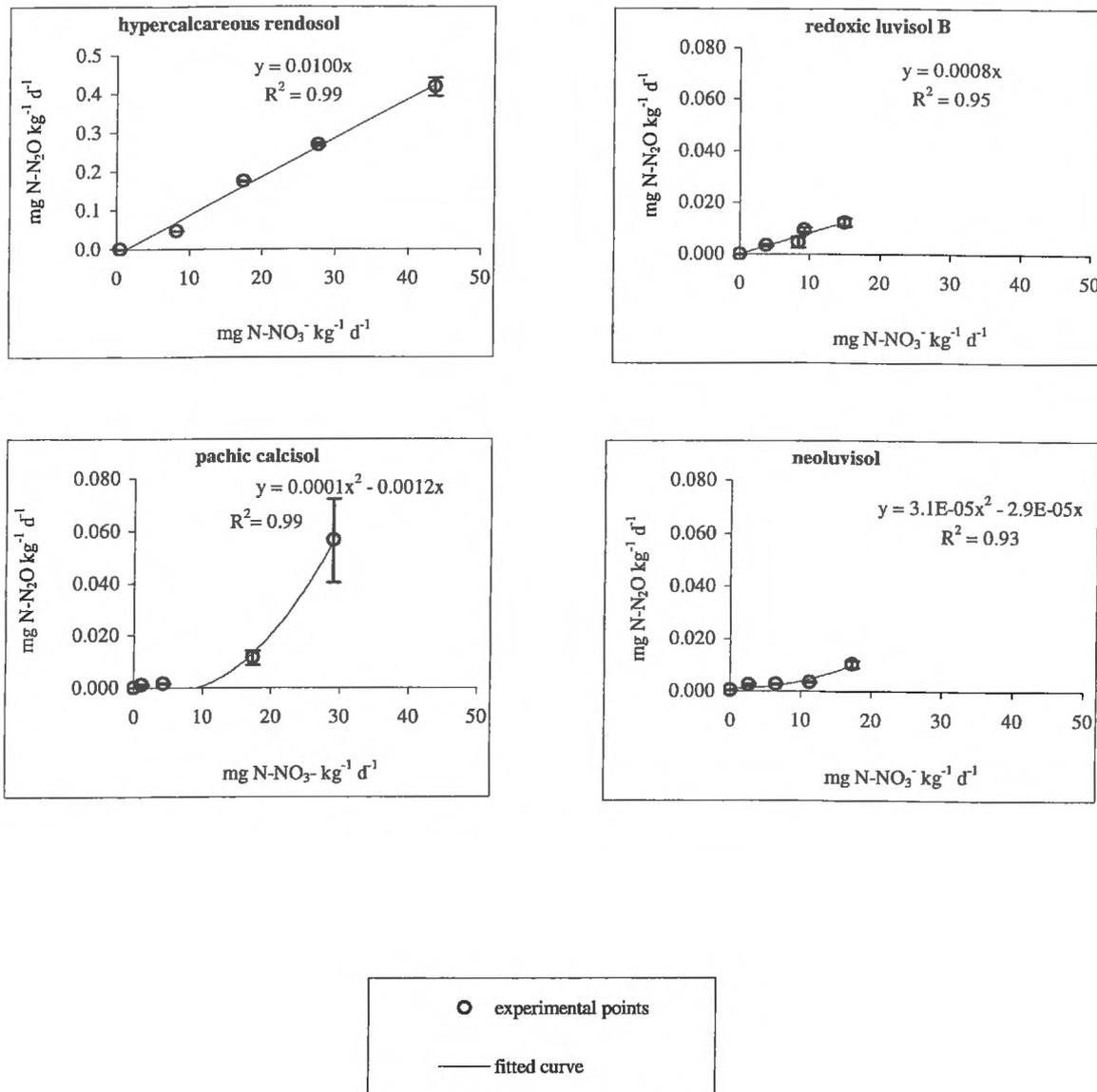


Fig. 7: Relationship between the N_2O emission rate and the nitrification rate. Error bars are the standard errors of means ($n=3$) or are smaller than the symbols.

Proportion of nitrified N emitted as NO

During incubation, nitrification was the only process involved in NO production on all five soils. The NO emission rates were measured over an 8-hour period which was too short to measure nitrification rates. The nitrification rates corresponding to the conditions of NO emission measurements were estimated using the relationship between nitrification rate and soil water potential (Fig. 3). The relationship between NO emission rate and nitrification rate was apparently complex. NO emission rates generally increased with nitrification rates lower than 10 mg N kg⁻¹ d⁻¹ then either remained relatively constant or decreased (Fig. 9). The measured NO emission rates (NO) versus estimated nitrification rates (Ni) were fitted by the

$$\text{equation } NO = a \cdot e^{-0.5 \left[\frac{\ln(Ni/x0)}{b} \right]^2} \quad (p < 0.05) \text{ with NO and Ni in mg N kg}^{-1} \text{ soil d}^{-1}.$$

DISCUSSION

NO and N₂O emissions from dry soils

All five soils placed at hydric potentials lower than -0.01 MPa, amended with ammonium and incubated under aerobic conditions without acetylene produced significant emissions of N₂O and NO. The highest N₂O fluxes measured in these conditions were 4.2×10⁻¹, 7.0×10⁻³, 1.2×10⁻², 5.6×10⁻² and 1.0×10⁻² mg N kg⁻¹ soil d⁻¹ for the rendosol, the redoxic luvisols A and B, the pachic calcisol and the neoluvisol, respectively. We have simply extrapolated these rates on the field scale (1) by taking into account the soil bulk density and (2) by accepting that only the top 20 cm of the soil emits N₂O through nitrification. The main limit of this extrapolation is that it does not take into account the fact that the laboratory measurements were made on soil samples sieved through 1 mm. Nevertheless, the extrapolated fluxes were 1000, 20, 30, 150 and 25 g N-N₂O ha⁻¹ d⁻¹, respectively and corroborate the N₂O emissions of around 20 g N ha⁻¹ d⁻¹ on the hypercalcareous rendosol and the redoxic luvisol A observed during summer under soil moisture conditions of less than 15 % w/w (Hénault et al., 1998). In field conditions, the ammonium contents were always lower than those induced during our experiments, thus limiting the rates of nitrification. All five soils also produced NO in dry conditions which is in accordance with the observed NO emissions from a soil in which the water filled pore space (WFPS) was less than 30% (Skiba et al., 1997).

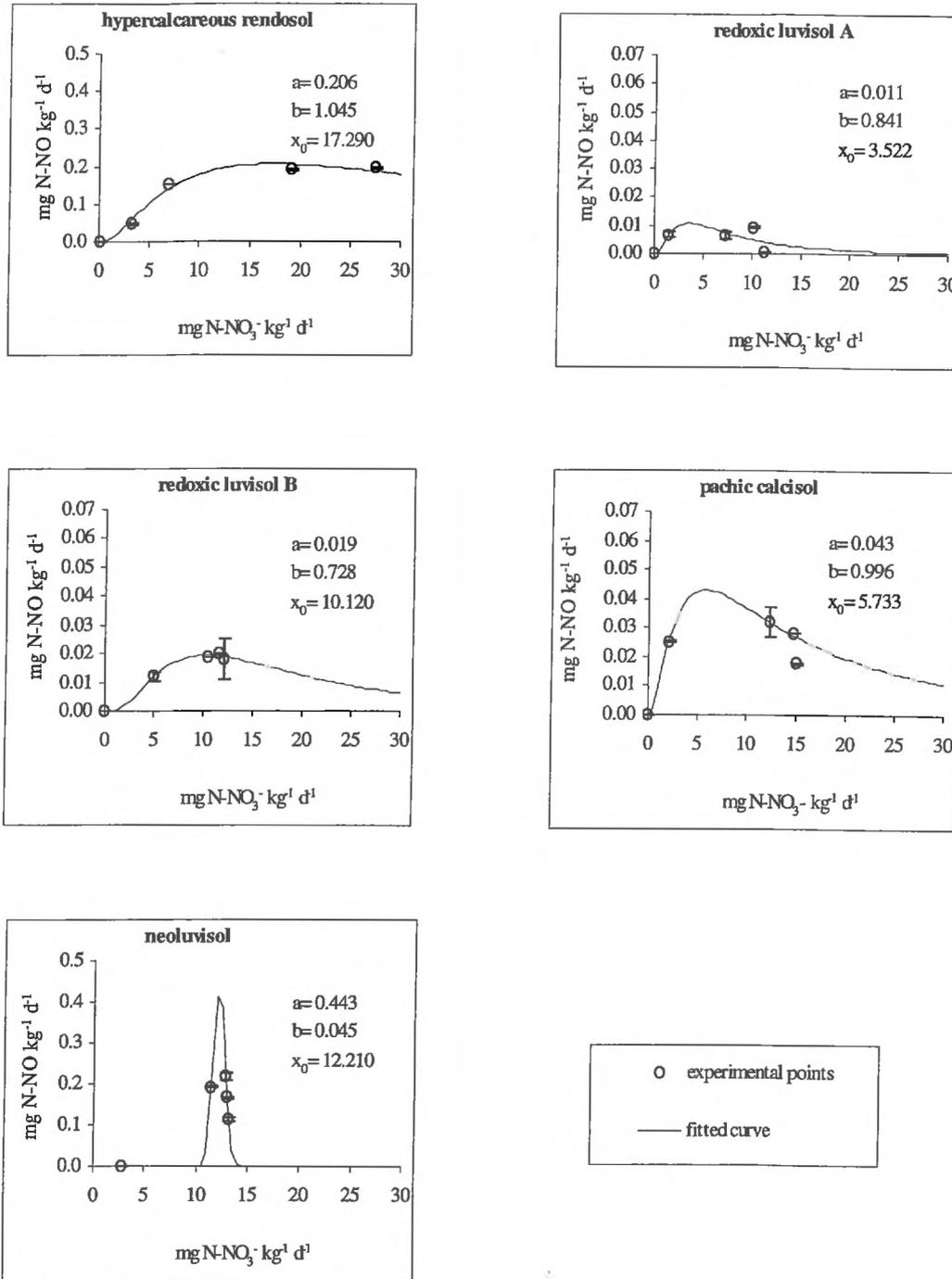


Fig. 9: Relationship between the NO emission rate (NO) and the nitrification rate (Ni). The experimental points

were fitted by curves to equations of the form $NO = a \cdot e^{-0.5 \cdot \left[\frac{\ln(N_i/x_0)}{b} \right]^2}$. Error bars are the standard errors of means (n=3) or are smaller than the symbols.

We have also extrapolated the highest NO fluxes measured on each soil with non-limiting ammonium contents on the field scale. These extrapolated fluxes were around 500, 25, 50, 90 and 500 g N-NO ha⁻¹ d⁻¹ for the rendosol, the redoxic luvisols A and B, the pachic calcisol and the neoluvisol, respectively. Such high fluxes have not yet been observed on the field scale (Davidson and Kinglerlee, 1997; Skiba et al. 1997) where different parameters (ammonium content, temperature, ...) limit the nitrification rates and consequently NO emissions. The magnitude of the N₂O and NO emissions measured on the five soils confirmed that both NO emissions and the gaseous N emitted in aerated conditions should clearly be taken into account in determining the N-budget on cultivated soils.

Mechanisms involved in N₂O and NO emissions from dry soils

Our observations confirm that the hypercalcareous rendosol, the redoxic luvisol B, the pachic calcisol and the neoluvisol, sieved through 1 mm and at hydric potentials lower than -0.01 MPa produced N₂O solely by nitrification. As acetylene inhibits nitrification during the first step of this process, i.e. the oxidation of ammonia to hydroxylamine (Hommes et al., 1998), our results were unable to provide any information about the steps of N₂O formation during nitrification, i.e. during the oxidation of hydroxylamine to nitrite or latter from nitrite (Conrad, 1990).

In the same conditions of hydric potential and ammonium content, the redoxic luvisol A continued to produce N₂O when the nitrification process was totally inhibited by acetylene, but at lower rates between 400 and 900 ng N-N₂O kg⁻¹ d⁻¹. This soil was also the only one to exhibit denitrification activity at hydric potentials below -0.05 MPa and with addition of nitrate. The N₂O emitted in the presence of acetylene and with ammonium addition was probably due to denitrification of the soil nitrate present at sampling. Because of the very low water contents of the soil samples and the very small size of the soil aggregates, the occurrence of anaerobic microsites in our samples and consequently of anaerobic denitrification remained unlikely. Thus, the denitrification observed on the redoxic luvisol A at hydric potentials less than -0.05 MPa was certainly aerobic. However the mechanisms of this aerobic denitrification, biological or chemical, remained unclear. Nelson and Bremner (1970) had observed a chemical formation of N₂O in slightly acid soils, with a similar pH to that of redoxic luvisol A. Recently, aerobic biological denitrification activity has been

reported (Robertson et Kuenen, 1984; Robertson et al., 1989; Lloyd, 1993) due either to denitrifying bacteria of genera *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Moraxella*, *Paracoccus*, *Microvirgula* and *Arthrobacter* which are able to use nitrates as terminal electron acceptor in the presence of oxygen (Robertson et Kuenen, 1984; Brons et Zehnder, 1990; Carter et al., 1995; Patureau et al., 1998) or to autotrophic nitrifying bacteria of the *Nitrosomonas* genus which use both oxygen and nitrite as terminal electron acceptor and as energy source for growth (Robertson et al., 1989; Schmidt et Bock, 1997; Zart et Bock, 1998).

In aerobic conditions, NO was apparently produced from all five soils through nitrification only. The aerobic denitrification observed on the redoxic luvisol A, did not seem to lead to release of this gas. In contrast with N₂O, the NO produced at the beginning of incubation was in most cases further transformed into non identified forms other than N₂O. The rates of NO emission changed with the soil hydric potentials. After first rapidly increasing for all soils they then decreased. Skiba et al. (1997) and Cardenas et al. (1993) reported a similar pattern of NO emission rates versus soil WFPS. They suggested that the increase resulted from the increased number of anaerobic microsites necessary for denitrification and the subsequent decrease from a greater soil water content limiting the escape of NO to the atmosphere. In contrast, our results emphasised the contribution of the nitrification process in NO production. The rates of NO and N₂O emission evolved differently with the increase of soil hydric potential and the sum (N-NO + N-N₂O) also changed with the soil hydric potential and soil nitrification rates in complex ways. Thus the pathways of NO and N₂O formation through nitrification appear to be different and are not simply related. These observations support the hypothesis that soil NO emissions cannot be predicted from N₂O emissions or vice versa (Remde and Conrad, 1991).

Variability of the proportion of nitrified N emitted as NO and N₂O

The proportion of nitrified N emitted as N₂O varied from soil to soil and for certain soils varied with the hydric potential, ranging from 0.03 to 1 %. These results are in accordance with previous results. Bolle (1986) considered that this percentage was between 0.5 and 2 %, Breitenbeck et al. (1980) between 0.09 and 0.28 % and Tortoso and Hutchinson (1990) 0.02 %.

The NO emission rates were measured under conditions in which the nitrification rates were undetectable (i.e. during short incubation periods of 8 hours). To compare the proportion of nitrified N emitted as NO from the five soils (Table 2), the nitrification rates were estimated at -0.001 , -0.01 , -0.1 , -0.5 , -1 , -3 and -5 MPa using the relationship between nitrification rate and soil water potential (Fig. 3), and the corresponding NO emission rates were estimated using the relationship between NO emission rate and nitrification rate (Fig. 9). This estimated proportion of nitrified N emitted as NO varied from soil to soil and also varied with hydric potential for all five soils. The obtained values were between 0 and 2.5 %. The corresponding values obtained by Remde and Conrad (1991) were between 0.6 and 2.1 %, 3 % for Baumgartner and Conrad (1992) and 1.3 and 20 % for Skiba et al. (1998). The molar ratios between emitted N-NO and N-N₂O also varied considerably from soil to soil and with the soil hydric potential for all soils (Table 3). It was generally higher on the neoluvisol than on the other soils and could attain 55 in this soil. This ratio could be lower or higher than 1 in all five soils. The high variability of this ratio has previously been reported in both field and laboratory studies (Table 3).

One aim in this work was to test the possibility of integrating the proportion of nitrified N emitted as NO and N₂O defined in standard conditions in predictive models of soil N₂O or NO emissions. Because these parameters are variable, their use in models would necessitate their measurement in each situation to permit model parametrisation. Robertson et al. (1989) showed that the pH and total soil nitrogen had very marked effects on nitrification rate. Bremner and Blackmer (1981) observed that N₂O emissions in soils could be correlated to both organic carbon and total nitrogen. According to our database which includes 5 cultivated soils for the work on nitrification and NO emission rates and 4 cultivated soils for the proportion of nitrified N emitted as N₂O, the only significant correlations ($p < 0.05$) were observed between nitrification rates and soil organic carbon content at hydric potentials higher than -1 and between the proportion of nitrified N emitted as N₂O and also the soil organic carbon content at hydric potentials higher than -1 . The proportion of nitrified N emitted as NO was not correlated, whatever the soil hydric potential, with any other soil characteristic.

Acknowledgements : This work was supported by the Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME), the Conseil Régional de Bourgogne, and the Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement through the program GESSOL. The authors sincerely thank F. Andreux, B. Nicolardot, O. Theobald and D. Patureau for their interest in this work.

Hydric potential (MPa)	hypercalcareous rendosol			redoxic luvisol A			redoxic luvisol B			pachic calcisol			neoluvisol		
	NR	P _{N-N2O}	P _{N-NO}	NR	P _{N-N2O}	P _{N-NO}	NR	P _{N-N2O}	P _{N-NO}	NR	P _{N-N2O}	P _{N-NO}	NR	P _{N-N2O}	P _{N-NO}
-0.001	34.411	1.000	0.483	12.159	-	0.030	12.346	0.080	0.151	15.202	0.046	0.175	13.096	0.047	1.013
-0.01	34.063	1.000	0.491	11.882	-	0.035	12.220	0.080	0.153	15.040	0.044	0.179	13.056	0.047	1.126
-0.1	30.769	1.000	0.576	9.437	-	0.060	11.028	0.080	0.174	13.512	0.031	0.220	12.662	0.046	2.524
-0.5	19.580	1.000	1.047	3.389	-	0.322	6.990	0.080	0.243	8.395	<0.001	0.476	11.052	0.042	0.358
-1	11.128	1.000	1.698	0.942	-	0.606	3.953	0.080	0.213	4.630	<0.001	0.908	9.324	0.039	<0.001
-3	1.161	1.000	0.631	0.006	-	<0.001	0.404	0.080	<0.001	0.429	<0.001	0.338	4.724	0.037	<0.001
-5	0.121	1.000	0.002	0.000	-	<0.001	0.041	0.080	<0.001	0.040	<0.001	0.000	2.393	0.055	<0.001

Table 2 :Estimated percentage of nitrified nitrogen emitted as N₂O and NO in the five studied soils at different soil hydric potentials. Calculations were performed using relationships defined in Fig. 7 and Fig. 9. NR : estimated nitrification rates (mg N kg⁻¹ d⁻¹), P_{N-N2O} : estimated proportion of nitrified nitrogen emitted as N₂O (%), P_{N-NO} : estimated proportion of nitrified nitrogen emitted as NO (%).

*Not calculated because of interaction between sources of N₂O production (nitrification and denitrification) during incubations.

Soil type	Soil texture	pH	Soil moisture (% w/w)	Soil hydric potential (MPa)	fertilizer	Molar ratio N-NO/N-N ₂ O*	Study type	Source
-	Sandy loam	4.8/5.3	Low	-	NH ₄ NO ₃	>100	Field	Skiba et al., 1992
-	Clay loam	4.9	High	-	NH ₄ NO ₃	<0.001	Field	Skiba et al., 1992
Alkaline cambisol	Loamy clay	7.8	24 to 32	-	NH ₄ NO ₃	>1 to 8	Laboratory	Remde et Conrad, 1991
Acidic cambisol	Sandy clay loam	4.7	33 to 37	-	NH ₄ NO ₃	>2 to 2.6	Laboratory	McKenney et al., 1982
Orthic humic gleysol	clay	7.3	20	-	NH ₄ NO ₃ /NaNO ₂	<0.1	Laboratory	Keeney et al., 1979
Typic Argiudoll	Silt loam	6.8	40	-	NH ₄ NO ₃ /urine	<0.001 to 0.011	Laboratory	Williams et al., 1998
Dystic gleysol	Clay loam	?	35	-	NH ₄ NO ₃	>0.05 to 0.263	Field	Williams et al., 1998
Hypercalcareous rendosol	Clay loam	8.1	15 to 100	-5 to -0.001	(NH ₄) ₂ SO ₄	0 to 1.7	Laboratory	This paper
Redoxic luvisol B	Loam	6.3	8 to 55	-5 to -0.001	(NH ₄) ₂ SO ₄	0 to 3	Laboratory	
Pachic calcisol	Sandy clay loam	7.9	14 to 50	-5 to -0.001	(NH ₄) ₂ SO ₄	0 to 7	Laboratory	
Neoluvisol	Loam clay	7.6	10 to 40	-5 to -0.001	(NH ₄) ₂ SO ₄	0 to 55	Laboratory	

Table 3 :Molar ratios of N-NO to N-N₂O emitted in laboratory and field studies.

*This ratio was calculated only in conditions of significant N₂O emissions (P_{N-N2O} > 0.001)

REFERENCES

- Arah, J. R. M., 1997. Apportioning nitrous oxide fluxes between nitrification and denitrification using gas-phase mass spectrometry. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1295-1299.
- Baumgärtner, M., and Conrad, R., 1992. Role of nitrate and nitrite for production and consumption of nitric oxide during denitrification in soil. *FEMS Microbiol Ecol.* 101, 59-65.
- Blackmer, A. M., Bremner, J. M., and Schmidt, E. L., 1980. Production of nitrous oxide by ammonia oxidizing chemoautotrophic microorganisms in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 1060-1066.
- Bolle, H. J., Seiler, W., and Bolin, B., 1986. Other greenhouse gases and aerosols. In : Bolin, B., Jager, J., Warrick, R.A., and Doos, B.R. (Eds), *The greenhouse effect, climatic change and ecosystems.* Wiley and Sons, New-York, pp. 157-203.
- Breitenbeck, G. A., Blackmer, A. M., and Bremner, J. M., 1980. Effects of different nitrogen fertilizers on emission of nitrous oxide from Soil. *Geophys. Res. Lett.* 7, 85-88.
- Bremner, J. M., and Blackmer, A. M., 1979. Effects of different nitrogen fertilizers on emission of nitrous oxide from soil. *Geophys. Res. Lett.* 7, 85-88.
- Bremner, J. M., and Blackmer, A. M., 1981. Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide. In : Delwiche, C.C. (Eds), *Denitrification, nitrification and atmospheric N₂O.* Wiley and Sons, New-York, pp. 151-170.
- Brons, H. J., and Zehnder, A. J. B., 1990. Aerobic nitrate and nitrite reduction in continuous cultures of *Escherichia coli* E4. *Arch. Microbiol.* 153, 531-536.
- Cardenas, L., Rondon, A., Johansson, C., and Sanhueza, E., 1993. Effects of soil moisture, temperature and inorganic nitrogen on nitric oxide emissions from tropical savannah soils. *J. Geophys. Res.* 98, 14783-14790.
- Carter, J. P., Hsiao, Y. H., Spiro, S., and Richardson, D. J., 1995. Soil and sediment bacteria capable of aerobic nitrate respiration. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 2852-2858.

Conrad, R., 1990. Flux of NO_x between soil and atmosphere : importance and soil metabolism. In: Revsbech N.P. and Sorensen J. (Eds.), Denitrification in soil and sediment. Plenum Press, New York, pp. 105-127.

Crutzen, P. J., 1981. Atmospheric chemical processes of the oxides of nitrogen including nitrous oxide. In: Delwiche C.C. (Eds.), Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide. Wiley and Sons; New-York, pp. 17-44.

Davidson, E.A., and Kinglerlee, W. 1997. A global inventory of nitric oxide emissions from soils. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 48, 37-50.

Firestone, M. K., and Davidson, E. A., 1989. Microbiological basis of NO and N_2O production and consumption in soil. In: Andrea, M.O., and Schimel, D.S. (Eds.), Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. Wiley and Sons, Chichester, pp. 7-21.

Galbally, I. E., and Johansson, C., 1989. A model relating measurements of rates of nitric oxide production and field measurements of nitric oxide emission from soils. *J. Geophys. Res.* 94, 6473-6480.

Garrido, F., Hénault, C., Gaillard, H., and Germon, J.C., 2000. Effects of acetylene on two cultivated soils. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1799-1802.

Granli, T., and Bockman, O.C., 1995. Nitrous oxide emissions from soils in warm climates. *Fert. Res.* 42, 159-163.

Hénault, C., and Germon, J. C., 1995. Quantification de la dénitrification et des émissions de protoxyde d'azote (N_2O) par les sols. *Agronomie* 15, 321-355.

Hénault, C., Devis, X., Page, S., Justes, E., Reau, R., and Germon, J. C., 1998. Nitrous oxide emissions under different soil and land management conditions. *Biol. Fertil. Soils* 26, 199-207.

Hommes, N.G., Russell, S.A., Bottomley, P.J., and Arp, D.J., 1998. Effects of soil on ammonia, ethylene, chloroethane and 1,1,1-trichloroethane oxidation by *Nitrosomonas europaea*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 1372-1378.

- Inubushi, K., Naganuma, H., and Kitahara, S., 1996. Contribution of denitrification and autotrophic and heterotrophic nitrification to nitrous oxide production in andosols. *Biol. Fertil. Soils* 23, 292-298.
- Keeney, D. R., Fillery, I. R., and Marx, G. P., 1979. Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification in a silt loam soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, 1124-1128.
- Keeney, D.R., and Nelson, D.W., 1982. Nitrogen inorganic forms. In: Page, A.L., (Eds), *Methods of soil analysis*, pp. 643-698.
- Knowles, R., 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46, 43-70.
- Li, C., Frohling, S., and Frohling, T. A., 1992. A model of nitrous oxide evolution from soil driven by rainfall events: I. Model structure and sensitivity. *J. Geophys. Res.* 97, 9759-9776.
- Linn, D. M., and Doran, J. W., 1984. Effect of water filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 1267-1272.
- Lloyd, D., 1993. Aerobic denitrification in soils and sediments: from fallacies to facts. *Tree* 8, 352-356.
- McKenney, D. J., Shuttleworth, K. F., Vriesacker, J. R., and Findlay, W. I., 1982. Production and loss of nitric oxide from denitrification in anaerobic brookston clay. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 534-541.
- Mogge, B., Kaiser, E.A., and Munch, J.C. 1999. Nitrous oxide emissions and denitrification N losses from agricultural soils in the Bornhöved lake region: influence of organic fertilizers and land use. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1245-1252.
- Nelson, D.W., and Bremner, J.M., 1970. Gaseous products of nitrite decomposition in soils. *Soil Biol. Biochem.* 2, 203-215.
- Patureau, D., Bernet, N., Dabert, P., Godon, J. J., Steyer, J. P., Delgenes, J. P., and Moletta, R. 1998. Physiological, molecular and modeling studies of an aerobic denitrifier: *Microvirgula aerodenitrificans*. Use of its properties in an integrated nitrogen removal plant. *Wat. Sci. Tech.* 38, 167-175.

- Remde, A., and Conrad, R., 1991. Role of nitrification and denitrification for NO metabolism in soil. *Biochem.* 12, 189-205.
- Robertson, L. A., and Kuenen, J. G., 1984. Aerobic denitrification: a controversy revived. *Arch. Microbiol.* 139, 351-354.
- Robertson, L. A., Cornelisse, R., Vos, P. D., Hadjioetomo, R., and Kuenen, J. G., 1989. Aerobic denitrification in various heterotrophic nitrifiers. *Anton. Leeuw.* 56, 289-299.
- Schmidt, I., and Bock, E., 1997. Anaerobic oxidation with nitrogen dioxide by *Nitrosomonas eutropha*. *Arch. Microbiol.* 167, 106-111.
- Skiba, A. E., Hargreaves, K. J., Fowler, D., and Smith, K. A., 1992. Fluxes of nitric and nitrous oxides from agricultural soils in a cool temperate climate. *Atmos. Environ.* 26A, 2477-2488.
- Skiba, U., Fowler, D., and Smith, K. A., 1997. Nitric oxide emissions from agricultural soils in temperate and tropical climates: sources, controls and mitigation options. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 48, 139-153.
- Skiba, U., Sheppard, L., Pitcairn, C.E.R., Leith, I., Crossley, A., van Dijk, S., Kennedy, V.H., and Fowler, D., 1998. Soil nitrous oxide emissions as indicators of elevated atmospheric N deposition rates in seminatural ecosystems. *Environ. Poll.* 102, 457-461.
- Stevens, R. J., Laughlin, R. J., Burns, L. C., Arah, J. R. M., and Hood, R. C., 1997. Measuring the contributions of nitrification and denitrification to the flux of nitrous oxide from soil. *Soil Biol. Biochem.* 29, 139-151.
- Tortoso, A. C., and Hutchinson, G. L., 1990. Contributions of autotrophic and heterotrophic nitrifiers to soil NO and N₂O emissions. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1799-1805.
- Williams, E. J., Hutchinson, G. L., and Fehsenfeld, F. C., 1992. NO_x and N₂O emissions from soil. *Global Biogeochem. Cy.* 6, 351-388.
- Williams, P. H., Jarvis, S. C., and Dixon, E., 1998. Emission of nitric oxide and nitrous oxide from soil under field and laboratory conditions. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1885-1893.

Zart, D., and Bock, E., 1998. High rate of aerobic nitrification and denitrification by *Nitrosomonas eutropha* grown in a fermentor with complete biomass retention in the presence of gaseous NO₂ or NO. Arch. Microbiol. 169, 282-286.

CHAPITRE 4

Contribution de processus chimiques à la production de N₂O

par les sols à faibles potentiels hydriques

Introduction

L'oxyde nitreux (N₂O) peut être produit par les sols par des processus biotiques et abiotiques. La contribution des processus biotiques est la plus importante (Hopkins et al., 1997) et les principaux mécanismes impliqués sont la dénitrification (Knowles, 1982) et la nitrification (Bremner et Blackmer, 1979). La dénitrification est un mécanisme de réduction des nitrates et des nitrites en composés gazeux (N₂O et N₂). Il est généralement admis que des conditions d'anaérobiose sont favorables à ce processus dans les sols. La nitrification est un mécanisme d'oxydation de l'ammonium successivement en hydroxylamine, nitrites et nitrates qui a lieu en conditions d'aérobiose dans les sols. N₂O est émis par la dénitrification lorsque la réduction du N₂O n'est pas réalisée ou n'est que partielle. En revanche, les mécanismes impliqués dans la formation de N₂O par nitrification ne sont pas encore très bien définis. Le N₂O pourrait être formé soit par réduction des nitrites formés au cours de la nitrification (Yoshida et Alexander, 1970 ; Ritchie et Nicholas, 1972) soit directement à partir d'un composé intermédiaire hypothétique de la nitrification (Conrad, 1990 ; Parton et al., 1996). Les sources abiotiques de N₂O ont été très peu étudiées car elles sont considérées comme négligeables d'un point de vue quantitatif. Certains mécanismes de production chimique de N₂O à partir des nitrites et de l'hydroxylamine ont toutefois été démontrés (Nelson et Bremner, 1970 ; Moraghan et Buresh, 1977 ; Bremner et al., 1980, 1981).

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que les sols à faibles potentiels hydriques produisent du N₂O au cours de l'activité de nitrification et parfois au cours de l'activité de dénitrification aérobie. L'objet de cette partie de travail est de rechercher l'origine biologique et/ou chimique de cette formation de N₂O par les sols en conditions de très faible teneur en eau.

Une démonstration claire de l'intervention de processus chimiques dans la production de N₂O nécessite de montrer que ces processus se produisent en conditions de stérilité totale des sols.

Plusieurs techniques de stérilisation des sols existent mais aucune ne garantit un résultat de stérilité totale. Les principales sont :

- L'autoclavage qui permet de stériliser le sol par la chaleur (120°C). C'est la méthode la plus efficace pour détruire les micro-organismes et les enzymes extracellulaires mais elle peut modifier les propriétés physico-chimiques du sol (Wolf et al, 1989).
- L'utilisation de produits toxiques ou écotoxiques tels que le chlorure mercurique, l'azide de sodium, l'oxyde de propylène permet une stérilisation efficace du sol mais modifie aussi les propriétés physico-chimiques du sol (Wolf et al. 1989).
- Les méthodes de fumigation au chloroforme, d'exposition à des micro-ondes, à des antibiotiques ne permettent qu'une destruction partielle de la microflore du sol.
- L'irradiation au rayons Gamma qui permet de stériliser le sol par bombardement du sol par des rayons gamma (généralement 25 kGy). Cette technique est souvent préférée aux précédentes car elle modifie très peu les propriétés physico-chimiques du sol.

La stérilité d'un sol est généralement vérifiée par des cultures sur boîtes de Pétri qui doivent s'avérer négatives.

Pour réaliser cette étude, nous avons choisi de travailler avec du sol stérilisé aux rayons gamma, en vérifiant la stérilité avec des cultures sur boîtes de Pétri.

Au cours des différentes expérimentations réalisées sur ce thème et malgré l'absence de développement de cultures sur boîtes, nous avons été conduits à remettre en cause la stérilité de nos échantillons de sol. De ce fait, nous n'avons pas pu mener ce travail à son terme.

Nous proposons de présenter ce travail, non achevé, sous la forme d'une étude critique des conditions expérimentales qui ont été réalisées et de la compilation d'un certain nombre d'arguments qui tendent à montrer que des processus chimiques sont impliqués dans les émissions de N_2O sans que nous puissions clairement le démontrer.

Matériels et méthodes

Les prélèvements de sols

Des échantillons de sol ont été constitués à partir de 16 prélèvements d'environ 2 kg de sol réalisés dans l'horizon de surface (0-20 cm) de deux sols agricoles : (i) un rendosol hypercalcaire localisé à Châlons en Champagne (48°57N, 2°25E) avec 20 % w/w d'humidité, 32.4% d'argile, 2.03% de carbone organique, 74.2% de calcaire total, pH 8.1 et (ii) un luvisol rédoxique localisé à Longchamp (47°16N, 5°18E) avec 25 % w/w d'humidité, 20.0% d'argile, 1.08% de carbone organique, un taux de calcaire total inférieur à 1% et de pH6.0. Les échantillons de sol ont été séchés à l'air jusqu'à des humidités respectives de 3.5 et 1.7% w/w, tamisés à 1 mm puis stockés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

La stérilisation des sols, des solutions d'azote minéral et du matériel expérimental

Une partie des échantillons de sols secs a été stérilisée par irradiation aux rayons gamma à 25 kGy au Conservatoire de Dagneux puis stockée à 4°C jusqu'à leur utilisation. Les solutions d'azote minéral et l'ensemble du matériel servant aux expérimentations en conditions stériles ont été stérilisées immédiatement après leur préparation par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

Les incubations de sol

Les incubations ont été réalisées à 20°C sur des échantillons de sol équivalents à 5 g de sol sec en présence ou non d'acétylène (100 Pa ou 10 kPa) dans des fioles de 37 ml fermées hermétiquement.

Les conditions d'humidité des sols et l'enrichissement en azote minéral

L'ensemble des incubations de sol a été réalisé à un potentiel hydrique d'environ -3 MPa pour le rendosol et -2 MPa pour le luvisol. Ces potentiels hydriques ont été obtenus par apport d'eau au sol séché. L'apport de différents substrats azotés dans les sols a été effectué

immédiatement avant les incubations et en même temps que l'apport d'eau. (i) 100g de rendosol et de luvisol ont été homogénéisés avec 1ml d'une solution d'ammonium (1.79M), des aliquotes de 5g de rendosol et de luvisol ont été homogénéisés avec 0.5ml (ii) d'une solution de nitrate de potassium (0.57M) ou (iii) d'une solution de nitrate et de nitrite de potassium (0.57M). De plus, (iv) des aliquotes de 10g de rendosol ont été homogénéisés avec 1ml d'une solution de nitrite de potassium (0.57M).

L'acétylène

L'acétylène est utilisé pour inhiber totalement la première étape de la nitrification à 100 Pa et pour inhiber totalement la N_2O réductase à 10 kPa. Pour les incubations en conditions stériles l'acétylène a été apporté dans les fioles à travers un filtre micropores stériles.

Le suivi de la production de N_2O et de CO_2

Les cinétiques de production de N_2O ont été déterminées en mesurant les changements des concentrations en N_2O dans l'atmosphère gazeuse des fioles pendant les 9 jours d'incubations. 0.5ml de cette atmosphère a été prélevé à t_0 et après 2, 5, 7 et 9 jours d'incubations sur trois échantillons par traitement. Ces échantillons gazeux ont été ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse (Varian 3400 Cx équipé d'un détecteur à capture d'électrons).

Pour certaines incubations, des dosages de CO_2 ont été réalisés par chromatographie en phase gazeuse (MTI équipé d'un détecteur à catharométrie) sur les échantillons gazeux prélevé à T_0 et après 9 jours d'incubations.

Le suivi de l'azote minéral

L'azote minéral du sol a été extrait du sol au KCl (1M) en début et en fin d'incubations sur trois échantillons et analysé par colorimétrie (Perstorp Analytical, Alpkem, Oregon).

Le contrôle de la stérilité des incubations

Dans le but de contrôler la stérilité des incubations, le contenu des fioles ayant incubé stérilement a été mis à agiter pendant 45mn en fin d'expérimentation dans 90ml d'une solution de NaPO_3 (1%). 1ml de l'homogénat obtenu a ensuite été étalé stérilement sur boîtes contenant le milieu modifié de Wollüm pour microflore totale (Wollüm, 1983). Les boîtes ont ensuite été conservées à 28°C pendant 20 jours.

Résultats et discussion

Conditions de stérilité des échantillons de sol

◆ Critères classiques favorables aux conditions stériles

A l'exception de 2 boîtes sur 72, aucun développement de colonies n'a été observé au cours des cultures sur boîtes après 20 jours d'incubation à 28°C. Tous les résultats acquis à partir des échantillons qui ont permis l'ensemencement de ces 2 boîtes n'ont pas été pris en compte dans l'interprétation des résultats. Nous pensons que les colonies obtenues sur ces deux boîtes sont dues à une contamination accidentelle lors de l'étalement de la suspension de sol. L'absence de développement de colonies lors des cultures sur plus de 97 % des échantillons montre que nos expérimentations ont bien été conduites dans les conditions classiques de stérilité du sol, c'est-à-dire au minimum en absence de bactéries cultivables.

◆ Observations inattendues remettant en cause la stérilité des échantillons

. Augmentation du pool d'ammonium au cours des incubations

Au cours de nos travaux nous avons observé une augmentation importante des concentrations en ammonium des échantillons du rendosol au cours des incubations réalisés avec apport d'eau stérile ou d'une solution de nitrites stériles (Tableau 1). Ces conditions d'incubations n'ont pas été réalisées sur le luvisol.

Traitement	Acétylène Pa	N-NH ₄ ⁺ (mg g ⁻¹)		N-N ₂ O (mg g ⁻¹)	
		T _{initial}	T _{final}	T _{initial}	T _{final}
sol + NO ₂ ⁻ + eau ⁻	0	0.08	0.17	0.00	0.19 10 ⁻³
	100	0.07	0.14	0.00	0.14 10 ⁻³
	10 000	0.05	0.15	0.00	0.06 10 ⁻³
sol + eau	0	0.09	0.19	0.00	0.00
	100	0.09	0.15	0.00	0.00
	10 000	0.05	0.08	0.00	0.00
NO ₂ ⁻ + eau	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	100	0.00	0.00	0.00	0.00
	10 000	0.00	0.00	0.00	0.00

Tableau 1: Evolution des pools d'ammonium et de N₂O après 9 jours d'incubations réalisées en conditions stériles sur le rendosol (-3.00 MPa).

Lensi et al. (1991) ont également observé la production d'ammonium par des échantillons de sol 2 mois après leur stérilisation aux rayons gamma. Les auteurs ont interprété cette formation de NH₄⁺ comme résultant d'un processus de désamination de composés organiques azotés et par protéolyse de résidus cellulaires. Ceci suggère toutefois que les enzymes protéases et désaminases sont encore actives. Par ailleurs, Van Cleemput et Patrick (1974) ont montré qu'il existe dans le sol des enzymes de dénitrification résistantes au rayonnement gamma. Dans notre étude, les échantillons de sol ont été stérilisés en 1997 puis conservés à 4°C pendant environ deux ans avant leur utilisation. Aucune donnée de la littérature ne permet de conclure quant à la présence d'activités enzymatiques résiduelles autant de temps après la stérilisation des sols.

Production de CO₂ par les échantillons de sol

Le suivi de la production de CO₂ a permis de mesurer des émissions de dioxyde de carbone dans les échantillons de sol avec apport d'une solution stérile de nitrites et dans les échantillons de sol avec apport d'eau stérile (Fig. 1).

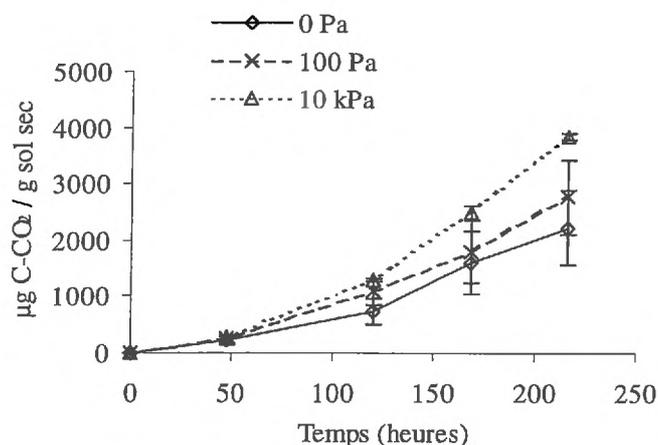


Fig. 1 : Production de CO₂ par le rendosol (-3.00 MPa) enrichi en nitrites et incubé en conditions aérées et stériles en absence et en présence d'acétylène (100 Pa et 10 kPa).

. Effet de l'acétylène sur les productions de CO₂, N₂O et NH₄⁺

Un effet significatif de l'acétylène sur les productions de N₂O, de CO₂ et de NH₄⁺ a été observé au cours de l'incubation « stérile » d'échantillons du rendosol enrichis en nitrites (Table 1, Fig.1). L'augmentation de la production de CO₂ en présence d'acétylène pourrait être attribuée à la décomposition, éventuellement chimique, de ce composé. Mais l'effet de l'acétylène sur les cinétiques de N₂O et de NH₄⁺ vont dans le sens de fonctionnement de processus biologiques. La présence d'acétylène (100 Pa ou 10 kPa) inhibe partiellement les émissions de N₂O après apport de nitrites. Les intensités des flux sont respectivement de 0.835, 0.630 et 0.259 ng N g⁻¹ h⁻¹ pour les traitements 0, 100 et 10 000 Pa. Un effet inhibiteur de l'acétylène sur la production d'ammonium a été mesuré dans les échantillons de sol incubés avec de l'eau « stérile » puisque les vitesses de formation de NH₄⁺ sont respectivement de 0.4, 0.3 et 0.1 µg N g⁻¹ h⁻¹ en présence de 0 Pa, 100 Pa et 10 kPa d'acétylène (Tableau 1).

. Formes des cinétiques

Les cinétiques de production de N₂O et de CO₂ et d'évolution d'azote minéral observées sont continues sur toute la durée des incubations. Elles s'apparentent davantage à des cinétiques

d'origine biologique qu'à des cinétiques d'origine chimique. Ces dernières sont généralement plus rapides, avec un pic, et non pas continues sur une période de plus d'une semaine.

◆ Nuances à apporter aux observations précédentes

Nous venons de répertorier un ensemble d'observations qui remettent en cause les conditions de stérilité au cours des incubations de sols. Ces observations sont néanmoins à nuancer parce qu'elles n'apparaissent pas généralisables à toutes les conditions d'incubation. Elles apparaissent typiquement après un apport de nitrites. En effet, l'ensemble des 4 anomalies (évolution du pool d'ammonium, production de CO₂, effet de l'acétylène, cinétiques continues) n'a été observé simultanément que lors des incubations en présence de nitrites. Le pool d'ammonium n'a pas augmenté pour les deux sols après apport d'une solution contenant seulement des nitrates et ceci quelque soit la pression partielle en acétylène (Tableau 2).

sols	apport N	C ₂ H ₂ (Pa)	milieu stérile	T _i mgN g ⁻¹			T _f = 9j mgN g ⁻¹		
				NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻
rendosol	NO ₃ ⁻	100	Oui	0.04	0.00	1.76	0.00	0.00	1.55
	NO ₃ ⁻	10000	Oui	0.04	0.00	1.76	0.00	0.00	1.47
	NO ₃ ⁻	100	Non	0.04	0.00	1.75	0.00	0.00	1.81
	NO ₃ ⁻	10000	Non	0.03	0.00	1.76	0.00	0.00	1.78
	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	100	Oui	0.04	0.59	0.61	0.00	0.87	0.85
	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	10000	Oui	0.04	0.59	0.61	0.00	0.78	0.93
	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	100	Non	0.04	0.59	0.60	0.00	0.80	0.82
	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	10000	Non	0.04	0.59	0.59	0.00	0.78	0.80
luvisol	NO ₃ ⁻	100	Oui	0.00	0.00	1.74	0.00	0.00	1.60
	NO ₃ ⁻	10000	Oui	0.00	0.00	1.75	0.00	0.00	1.74
	NO ₃ ⁻	100	Non	0.00	0.00	1.56	0.00	0.00	1.08
	NO ₃ ⁻	10000	Non	0.00	0.00	1.55	0.00	0.00	1.08
	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	100	Oui	0.01	0.59	0.61	0.00	0.02	1.16
	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	10000	Oui	0.00	0.59	0.61	0.00	0.00	1.31
	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	100	Non	0.00	0.59	0.60	0.00	0.00	1.60
	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	10000	Non	0.00	0.60	0.58	0.00	0.00	1.53

Tableau 2 : Evolution des pools d'azote minéral dans les échantillons de rendosol et de luvisol ayant incubés avec un apport de nitrates ou de nitrates+nitrites avec différentes pressions partielles en acétylène en conditions stériles ou non stériles.

L'apport d'eau dans le sol ne conduit qu'à la production de CO_2 qui n'est pas affectée par la présence d'acétylène (Fig. 2) contrairement à ce que l'on observe après un apport de nitrites. L'apport de nitrates n'engendre pas de formation d'ammonium (Tableau 2).

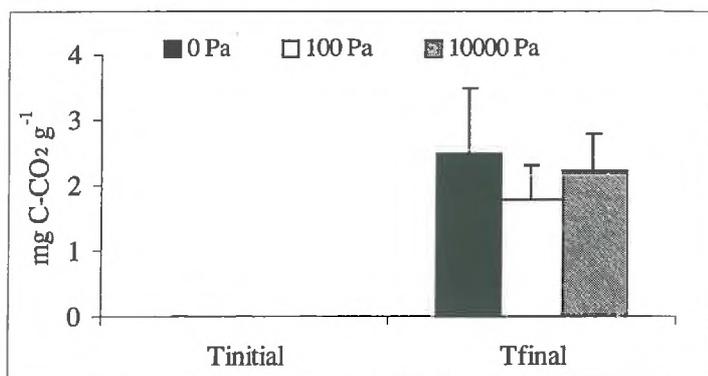


Fig. 2 : Production de CO_2 par le rendosol après 9 jours d'incubation en conditions stériles après un apport d'eau.

◆ Conclusion

A ce stade du travail, nous pouvons montrer que nos incubations ont été réalisées dans des conditions de stérilité qui respectent les critères classiques. Néanmoins, un certain nombre d'observations nous suggère que des activités biologiques semblent maintenues dans nos échantillons de sol. Ces activités pourraient être dues à des bactéries non cultivables ou plus vraisemblablement à des activités enzymatiques extrêmement persistantes. L'expression de ces activités apparaît favorisée par l'introduction du nitrite, composé chimiquement peu stable dans le sol. Ceci suggère que les observations qui nous conduisent à remettre en cause la stérilité du sol sont le fait d'une combinaison complexe entre des processus biologique et chimique. Dans la suite de ce document, le sol traité par rayonnement gamma sera qualifié de sol « stérile ».

Production de N₂O par les sols non « stérilisés »

Le rendosol et le luvisol à faible potentiel hydrique, -3 et -2 MPa respectivement, enrichis en ammonium, 0.52 mg N g⁻¹ ayant incubé en conditions aérées sans apport d'acétylène produisent du N₂O avec des intensités d'émissions respectives de 0.787 et 0.066 ng N g⁻¹ h⁻¹. Les émissions de N₂O mesurées dans le rendosol sont totalement inhibées par 100 Pa d'acétylène. De plus, aucune émission de N₂O n'est observée quand ce sol incube en présence de nitrates (1.76 mg N g⁻¹) et de 10kPa d'acétylène (Fig.3).

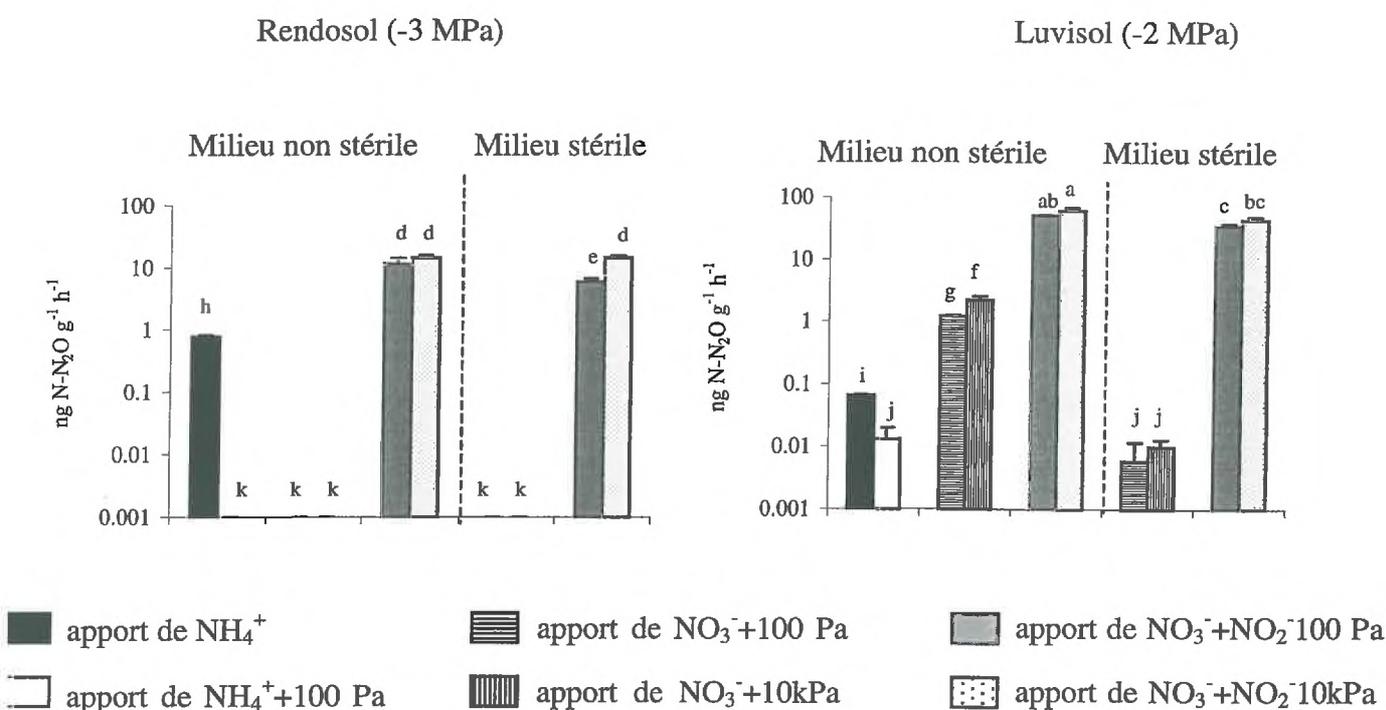


Fig.3 : Emissions de N₂O par le rendosol et le luvisol incubés en conditions aérées stériles et non stériles avec apport d'ammonium, de nitrates ou de nitrites+nitrates en présence de différentes pressions partielles d'acétylène. Les lettres distinguent les groupes significativement différents à p< 0.05.

Ces résultats confirment que la nitrification est la seule source de N₂O dans ces conditions d'incubations. En revanche, seulement environ 80% des émissions de N₂O produites par le luvisol sont inhibées par 100 Pa et 10 kPa d'acétylène, ce qui suggère que, dans ce sol, la

nitrification n'est que partiellement responsable de ces émissions gazeuses et que d'autres mécanismes y sont impliqués. Quand le luvisol incube en présence de nitrates (1.76 mg N g^{-1}) et de 100 Pa d'acétylène, des émissions de N_2O sont observées avec des intensités de $1.21 \text{ ng N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en conditions non stériles. L'intensité des émissions augmente significativement jusqu'à $2.22 \text{ ng N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en présence de 10 kPa d'acétylène (Fig.3). Ces résultats confirment que dans le luvisol un processus de dénitrification produit du N_2O dans ces conditions expérimentales.

Les émissions de N_2O mesurées dans les deux sols en présence de nitrites (0.59 mg N g^{-1}) et de nitrates (0.61 mg N g^{-1}) sont significativement supérieures à celles mesurées dans les échantillons de sols enrichis en nitrates (Fig.3). En présence de nitrites et de nitrates, les intensités des émissions de N_2O sont de 11.79 et $14.53 \text{ ng N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ dans le rendosol et de 51.81 et $61.13 \text{ ng N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ dans le luvisol incubés en présence de 100 Pa et 10 kPa d'acétylène respectivement en conditions non stériles. La présence de nitrites favorise donc la production de N_2O dans les deux sols.

Arguments qui tendent à dire que les sols peuvent produire du N_2O par voie chimique

Bien que l'on ne puisse affirmer que le traitement au rayons gamma du sol ait permis d'obtenir des échantillons parfaitement stériles, les résultats des incubations de sol ainsi traité nous permettent de dégager quelques arguments en faveur d'une production de N_2O par voie chimique dans les sols.

◆ Emissions de N_2O en conditions « stériles » après apport de nitrates

Les échantillons de sol issu du luvisol, après apport de nitrates et d'acétylène, incubés en conditions « stériles » produisent du N_2O avec des intensités d'émissions de l'ordre de $0.01 \text{ ng N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Ces vitesses d'émission, bien que relativement faibles et très inférieures à celles mesurées en conditions non stériles, sont néanmoins tout à fait détectables et significatives. Ces émissions ne sont pas affectées par la quantité d'acétylène apportée (Fig.3). Au cours des incubations « stériles » avec apport de nitrates, aucune des « anomalies » qui nous font remettre en cause la stérilité de nos échantillons (production de NH_4^+ , production de CO_2 , effet de l'acétylène) n'a été observée, ce qui suggère que les éventuelles activités biologiques

persistantes n'ont pu s'exprimer dans ces conditions. S'il en est effectivement ainsi, les émissions de N_2O observées dans ces conditions sont imputables à un processus chimique. On notera néanmoins que les cinétiques de production de N_2O à partir des nitrates en conditions « stériles » sont lentes et continues. Ces observations ne sont faites que sur le luvisol, le rendosol à faible potentiel hydrique ne produisant pas de N_2O à partir de nitrates.

◆ Très faible effet de la « stérilisation » sur la production de N_2O après apport de nitrites

Les émissions de N_2O par le luvisol à partir des nitrates sont affectées par la stérilisation. Ceci montre qu'au moins partiellement, ces émissions sont dues à des processus biologiques. En revanche, les émissions de N_2O mesurées sur chacun des sols avec apport de nitrites et de nitrates ne sont pratiquement pas affectées par la « stérilisation » des sols et des milieux d'incubations, quelle que soit la dose d'acétylène apportée (Fig.3). Ceci suggère fortement que la production de N_2O par les sols à partir de la forme nitrite est d'origine chimique. Le processus chimique de formation de N_2O à partir des nitrites du sol fonctionnerait dans le luvisol et dans le rendosol. On notera néanmoins que l'allure des cinétiques de production de N_2O par les sols « stérilisés » en présence de nitrites, continue, est plus typique de processus biologique que de processus chimiques.

Les mécanismes chimiques de production de N_2O par les sols

◆ A partir des nitrites

L'ensemble des incubations réalisées sur le rendosol et sur le luvisol suggère la possibilité d'une production de N_2O par voie chimique à partir des nitrites dans les deux sols. Dans la littérature, la décomposition chimique des nitrites a été principalement mesurée dans les sols hydromorphes et surtout en présence de certains cations métalliques tel que le Fe^{2+} (Chalamet et Bardin, 1977). Tyler et Broadbent (1960) (in Nelson et Bremner, 1970) ont montré que le taux de décomposition des nitrites dans les sols est fortement diminué par addition de $CaCO_3$ et Nelson et Bremner (1970) ont montré sur 24 sols, à pH compris entre 6.1 et 7.8, que la décomposition des nitrites a principalement lieu dans les sols acides. La stabilité chimique des ions nitrites dans les sols est lié à l'équilibre du couple d'oxydo-réduction HNO_2/NO_2^- (Van Cleemput et al., 1996). Dans les sols acides, l'équilibre est déplacé vers l'acide nitreux

(HNO₂) qui subit alors une réaction de décomposition chimique qui a été décrite comme une réaction de dismutation conduisant à la production d'acide nitrique (HNO₃). Dans la littérature, deux équations bilans sont proposées pour décrire cette réaction : $3 \text{HNO}_2 \rightarrow 2 \text{NO} + \text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ (Allison, 1963) et $5 \text{HNO}_2 \rightarrow 3 \text{HNO}_3 + \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (Nelson et Bremner, 1970 ; Chalk et Smith, 1983 ; Lagacherie et al., 1993). Ceci pourrait expliquer l'évolution de l'azote minéral que l'on a observé dans les deux sols car cette équation est compatible avec nos résultats qui montrent une transformation des nitrites en nitrates. En se référant à ces données de la littérature, le luvisol (CaCO₃ < 1%, pH6.0) semble être un sol qui possède des conditions favorables à la réaction de décomposition chimique des nitrites ce qui expliquerait pourquoi l'ensemble des nitrites apportés est totalement transformé en nitrates au cours des incubations (Tableau 2). En revanche, le rendosol (CaCO₃= 74.2%, pH8.1) semble être un sol qui ne constitue pas un milieu très favorable à la réaction de décomposition chimique des nitrites. Dans ce sol, les nitrites apportés ne sont que partiellement transformés en nitrates au cours des incubations de sol avec apport de nitrites seuls (Tableau 2). Dans les incubations de rendosol enrichis en nitrites et nitrates aucune évolution significative des différents pools d'azote minéral n'a été observée.

De nombreux travaux ont mis en évidence que la décomposition chimique des nitrites dans les sols s'accompagne de dégagement de N₂O et de NO (Allison, 1963 ; Nelson et Bremner, 1970). Van Cleemput et al. (1976) ont montré que la production de N₂O et de NO est importante à pH4.5, que N₂O est le principal oxyde d'azote obtenu à pH6.0 et que seulement des traces de N₂O sont mesurées à pH8.0. Lors de la décomposition chimique des nitrites dans les sols, NO est produit au cours d'une première étape, selon l'équation suivante : $2 \text{HNO}_2 \rightarrow \text{NO} + \text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. Si NO ne peut s'échapper immédiatement du sol vers l'atmosphère, une réaction de réduction de NO en N₂O peut se produire en présence de Fe²⁺ selon la réaction suivante : $2 \text{NO} + 2 \text{Fe}^{2+} + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2\text{O} + 2 \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$ (Chalamet et Bardin, 1977 ; Van Cleemput et Samater, 1996).

◆ A partir des nitrates

L'ensemble des incubations réalisées sur le rendosol et sur le luvisol suggère la possibilité d'une production de N₂O par voie chimique à partir des nitrates dans le luvisol. Des résultats semblables ont été obtenus par Buresh et Moraghan (1976). Ces auteurs ont montré qu'un

processus de réduction chimique des nitrates par les ions ferreux peut avoir lieu dans les sols en présence de Cu^{2+} et conduit à la production de gaz tels que N_2O , NO et N_2 . Le pH, le ratio $\text{Fe}^{2+}/\text{NO}_3^-$ et les quantités d'ions Cu^{2+} présents dans le milieu sont les principaux facteurs qui régulent la réaction de réduction des nitrates et qui contrôlent la nature des produits formés. Les auteurs ont montré que le maximum de réduction des nitrates (93%) et le maximum de production gazeuse azoté (l'azote perdu représentant 61% de l'azote nitrique initial) sont obtenus quand le rapport molaire $\text{Fe}^{2+}/\text{NO}_3^-$ est égale à 12 et que le taux de Cu^{2+} est d'environ 10 ppm. Le ratio $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ diminue lorsque le taux de Cu^{2+} augmente de 1 à 10 ppm.

Perspectives de travail

Un certain nombre de résultats présentés précédemment constituent des arguments en faveur de l'implication de processus chimiques dans les émissions de N_2O par les sols à faibles potentiels hydriques. Cependant, des travaux complémentaires sont nécessaires afin de mener à terme cette étude. Les perspectives peuvent s'articuler de la façon suivante :

- ◆ Vérification des résultats en utilisant d'autres techniques de stérilisation des sols

Nous avons vu que quelques observations remettent en cause la stérilité des échantillons de sol. Il semble donc important de vérifier les premiers résultats obtenus en utilisant une autre technique de stérilisation des sols. Dans un premier temps, nous pourrions stériliser les sols par autoclavage et observer si l'on retrouve les mêmes résultats concernant l'évolution de l'ammonium et la production de CO_2 dans le rendosol enrichi en nitrites. A l'issue de cette étude nous pourrions savoir si nous devons remettre en cause l'utilisation de la stérilisation des sols par irradiation aux rayons gamma et si nous devons utiliser une autre technique pour stériliser nos échantillons dans la suite de nos travaux. Nous choisirons d'utiliser à titre de comparaison, la technique de stérilisation par autoclave car elle constitue la meilleure méthode pour détruire les micro-organismes et les enzymes extracellulaires (Wolf et al., 1989). Par ailleurs, Chèneby (2000) a montré qu'après autoclavage, le rendosol et le luvisol de notre étude ne produisent ni N_2O ni CO_2 en conditions dénitrifiantes confirmant une stérilité totale des échantillons par cette technique.

◆ Les mécanismes chimiques de production de N₂O par les sols

Après avoir défini précisément les conditions de stérilité des sols, nous pourrions envisager des expérimentations afin de définir les mécanismes chimiques de production de N₂O par les sols.

- Concernant les incubations de sol après enrichissement en ammonium, seules des expérimentations en conditions non stériles ont été effectuées. Il serait utile de réaliser ces mêmes incubations en conditions stériles afin de vérifier la présence ou non d'une voie chimique de formation de N₂O à partir de l'ammonium dans les sols.

- Nos résultats ont suggéré la possibilité d'une production de N₂O par voie chimique à partir des nitrates dans le luvisol. Ce résultat est à vérifier car il reste possible que les émissions de N₂O mesurées en conditions stériles dans le luvisol enrichi en nitrates puissent résulter d'une activité biologique résiduelle. Pour cela, il sera nécessaire de refaire ces incubations en garantissant la stérilité des échantillons et en réalisant un suivi de la production de CO₂.

- Les incubations réalisées sur le rendosol enrichi en nitrites ont suggéré que les nitrites pouvaient jouer un rôle déterminant dans la production de N₂O par voie chimique dans les sols. Ce résultat est à vérifier à la fois sur le rendosol mais aussi sur le luvisol.

- Des dosages de Fe²⁺ et de Cu²⁺ sont à réaliser sur les deux sols afin de vérifier les hypothèses formulées précédemment concernant l'implication de ces deux cations dans la production de N₂O par voie chimique à partir des nitrites et des nitrates.

Références

- Allison, F. E., 1963. Losses of gaseous nitrogen from soils by chemical mechanisms involving nitrous acid and nitrites. *Soil Sci.* 96, 404-409.
- Bremner, J. M., and Blackmer, A. M., 1979. Effects of acetylene and soil water content on emission of nitrous oxide from soils. *Nature*, 380-381.
- Bremner, J. M., Blackmer, A. M., and Waring, S. A., 1980. Formation of nitrous oxide and dinitrogen by chemical decomposition of hydroxylamine in soils. *Soil Biol. Biochem.* 12, 263-269.
- Bremner, J. M., Breitenbeck, G. A., and Blackmer, A. M., 1981. Effect of anhydrous ammonia fertilization on emission of nitrous oxide from soils. *J. Environ. Qual.* 10, 77-80.
- Buresh, R. J., and Moraghan, J. T., 1976. Chemical reduction of nitrate by ferrous iron. *J. Environ. Qual.* 5, 320-325.
- Chalamet, A., and Bardin, R., 1977. Action des ions ferreux sur la réduction de l'acide nitreux dans les sols hydromorphes. *Soil Biol. Biochem.* 9, 1-5.
- Chalk, P. M., and Smith, C. J., 1983. Chemodenitrification. In: Freney, J.R. and Simpson, J.R. (Ed.). *Gaseous loss of nitrogen from plant-Soil systems*, 1, pp. 65-89.
- Chèneby, D., 2000. Caractérisation par des méthodes moléculaires de la microflore dénitrifiante isolée de trois sols agricoles en lien avec leur aptitude à produire ou à réduire N₂O au cours de la dénitrification. Université de Lyon. Thèse en cours.
- Conrad, R., 1990. Flux of NO_x between Soil and atmosphere: importance and Soil metabolism. In: Revsbech, N.P. and Sorensen, J. (Ed.). *Denitrification in soil and sedimentol.* Plenum Press, New York, 1, pp. 105-127.
- Hopkins, D. W., Dundee, L., Webster, E. A., and Simek, M., 1997. Biological production and consumption of nitrous oxide in soils. *Eur. J. Soil Biol.* 33, 145-151.
- Knowles, R., 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46, 43-70.

- Lagacherie, B., Couton, Y., and Germon, J. C., 1993. Essai de valorisation agricole de déchets industriels contenant de l'azote nitreux et nitrique. *Agronomie* 13, 165-178.
- Lensi, R., Lescure, C., Steinberg, C., Savoie, J. M., and Faurie, G., 1991. Dynamics of residual enzyme activities denitrification potential and physico chemical properties in a alpha sterilized soil. *Soil Biol. Biochem.* 23, 367-373.
- Moraghan, J. T., and Buresh, R. J., 1977. Chemical reduction of nitrite and nitrous oxide by ferrous iron. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 47-50.
- Nelson, D. W., and Bremner, J. M., 1970. Gaseous products of nitrite decomposition in soils. *Soil Biol. Biochem.* 2, 203-215.
- Parton, W. J., Mosier, A. R., Ojima, D. S., Valentine, D. W., Schimel, D. S., Weier, K., and Kulmala, A. E., 1996. Generalized model for N₂ and N₂O production from nitrification and denitrification. *Global Biogeochem. Cy.* 10, 401-412.
- Ritchie, G. A. F., and Nicholas, D. J. D., 1972. Identification of the sources of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomonas europaea*. *Biochem. J.* 126, 1181-1191.
- Van Cleemput, O., Patrick, W.H., 1974. Nitrate and nitrite reduction in flooded gamma-irradiated soil under controlled pH and redox potential conditions. *Soil Biol. Biochem.* 6, 85-88.
- Van Cleemput, O., Patrick, W. H., and Mc Ilhenny, R. C., 1976. Nitrite decomposition in flooded soil under different pH and redox potential conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40, 55-60.
- Van Cleemput, O., and Samater, A. H., 1996. Nitrite in soils : accumulation and role in the formation of gaseous N compounds. *Fert. Res.* 45, 81-89.
- Wolf, D.C., Dao, T.H., Scott, H.D., and Lavy, T.L., 1989. Influence of sterilization methods on selected soil microbiological, physical, and chemical properties. *J. Environ. Qual.* 18, 39-44.
- Wollum, A. G., 1983. Cultural methods for soil microorganisms. In: Page, A. (Ed.). *Methods of soil analysis*, 2 (9), pp. 781-802.

Yoshida, T., and Alexander, M., 1970. Nitrous oxide formation by *Nitrosomonas europaea* and heterotrophic micro-organisms. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 880-882.

CHAPITRE 5

DISCUSSION GENERALE

L'objectif de notre travail était d'étudier les potentialités des sols à produire des oxydes d'azote gazeux (NO et N₂O) en conditions aérées. Des mesures d'émission de N₂O, réalisées *in situ* par le Laboratoire de Microbiologie des Sols sur deux sols cultivés du Nord Est de la France, ont été en partie à l'origine de ce travail. En effet, des flux de N₂O de l'ordre de 20 g N ha⁻¹ j⁻¹ avaient été mesurés alors que les sols se trouvaient dans des conditions de faible humidité généralement considérées comme non favorables au processus de dénitrification et aux émissions de N₂O (Hénault et al., 1998).

Nous avons alors décidé d'évaluer l'importance des émissions de N₂O dans ces conditions, de vérifier que la nitrification pouvait en être à l'origine et plus généralement d'identifier les mécanismes impliqués. Le travail a également porté sur les émissions de NO par les sols. Ce composé n'est généralement pas pris en compte dans les bilans azotés en partie par manque de mesures et de connaissances sur l'importance et la régulation des émissions de ce gaz par les sols. Ce dernier volet a nécessité l'installation d'un dispositif de laboratoire pour mesurer ce gaz.

1. La démarche expérimentale

Pour conduire cette étude, nous avons cherché à optimiser les conditions expérimentales, c'est à dire à réaliser nos expérimentations dans des conditions favorables à l'activité de nitrification (non limitantes en oxygène et en ammonium), défavorables à l'activité de dénitrification et limitant les problèmes d'hétérogénéité spatiale. Pour cela, les incubations ont généralement été réalisées sur des échantillons de sol tamisés à 1 mm, fortement enrichis en ammonium, et incubés sous air ambiant. Les agrégats de petites tailles accentuent les conditions d'aération du sol et limitent la création de microsites anaérobies au cœur des échantillons de sol (Sexstone et al. 1985 ; Renault et Stengel, 1994). Pour les très faibles teneurs en eau, chaque agrégat de sol était indépendant des autres agrégats, tandis que pour les niveaux d'humidité les plus élevés de notre étude, des agrégats de taille plus importante se sont constitués dans les fioles d'incubation. Nous avons toutefois pu travailler sur des échantillons de sol où la dénitrification anaérobie était inactive. En préliminaire des expérimentations présentées nous avons observé que l'hétérogénéité des émissions de gaz et des activités de nitrification et dénitrification était très fortement limitée par l'utilisation

d'échantillons de sol tamisé à 1 mm, ce qui nous a permis d'obtenir des différences significatives entre les différents traitements appliqués.

Afin de réaliser nos études sur les émissions de NO et de N₂O par les sols en conditions de faibles teneurs en eau, il était nécessaire de disposer d'un outil méthodologique pour distinguer les mécanismes biologiques (nitrification et dénitrification) à l'origine de la production de ces gaz. Nous avons donc testé les possibilités d'utiliser la technique couramment employée dans le cadre de tels travaux, c'est-à-dire la technique d'inhibition sélective de la nitrification et de l'activité de la N₂O réductase par l'acétylène (Klemetsson et al, 1989). Au cours de ce travail de mise au point méthodologique, nous avons observé que l'utilisation de cette technique dans les conditions généralement citées dans la littérature pouvait dans certains cas conduire à des interprétations erronées, l'efficacité de l'acétylène comme inhibiteur de la nitrification, n'étant plus totale aux doses classiquement utilisées. En effet, nous avons montré des différences de capacité d'inhibition de l'acétylène sur la nitrification en fonction des sols et de leur état hydrique. Sur un des sols étudiés (le rendosol) l'effet inhibiteur de l'acétylène sur la nitrification s'atténue avec l'augmentation de la teneur en eau du sol. A ce jour, les hypothèses que nous formulons pour expliquer ces observations sont :

- Des interactions physico-chimiques entre les inhibiteurs et les composés du sol qui limitent l'efficacité des inhibiteurs (Powell, 1986).
- Une distribution, une structure et un micro-environnement de la communauté nitrifiante particuliers sur le rendosol.
- Une protection de l'AMO par certains composés du rendosol tel que le Ca²⁺.

La vérification de l'ensemble de ces hypothèses constitue des perspectives de travail.

Cette technique étant très largement utilisée pour évaluer la contribution de la nitrification dans la production de N₂O par les sols, nous avons souhaité faire connaître nos résultats sous forme d'une publication qui souligne que les conditions d'utilisation de cette technique doivent être redéfinies pour chaque cas d'étude. Nos incubations du rendosol ont été réalisées dans des conditions où le processus de dénitrification était inactif ce qui nous a permis d'utiliser l'acétylène simplement pour inhiber la nitrification avec des doses allant jusqu'à 10 kPa.

2. Les émissions de N₂O et de NO par les sols en conditions aérées

L'ensemble du travail a été réalisé sur cinq sols agricoles français appartenant tous à des classes de sols très répandues dans la moitié nord de la France. Nous avons montré que les 5 sols à faible teneur en eau et incubés en aérobiose produisent des émissions non négligeables de N₂O et de NO. Si on extrapole de manière simplifiée les résultats obtenus au laboratoire à l'échelle de la parcelle, les flux maximum de N₂O obtenus sont compris entre 20 et 1000 g N ha⁻¹ j⁻¹ et de NO entre 25 et 500 g N ha⁻¹ j⁻¹. Ces valeurs donnent une idée de l'importance des flux « potentiels » que l'on peut mesurer *in situ*. Néanmoins, les conditions que nous avons réalisées au laboratoire ne sont jamais observées sur le terrain.

Les flux de NO mesurés dans le cadre de notre étude peuvent être supérieurs aux flux de N₂O mesurés dans les mêmes conditions expérimentales. Ces résultats montrent qu'il est nécessaire de prendre en considération les émissions de NO dans les bilans environnementaux car contrairement à ce qui est généralement admis les émissions de NO ne sont pas négligeables. Parallèlement à nos travaux de laboratoire des mesures de terrain effectuées sur l'un des sols de cette étude (Claman, 1999) ont corroboré l'importance des émissions de NO par les sols agricoles.

3. Implication de la nitrification dans la production de N₂O et de NO par les sols

Pour 4 des 5 sols étudiés, nous avons pu montrer que les émissions de N₂O dans nos conditions expérimentales étaient exclusivement liées au processus de nitrification. La démonstration a reposé sur les 2 critères suivants : (1) l'absence d'activité de dénitrification dans les échantillons de sol et (2) l'absence d'émission de N₂O quand on inhibe l'activité de nitrification des sols. Les mêmes critères ont été utilisés pour montrer que l'activité de nitrification pouvait conduire à la production de NO et pour les 5 sols étudiés, la nitrification est apparue le seul processus impliqué dans la production de NO dans nos conditions expérimentales. Notre étude n'a pas apporté d'informations sur les mécanismes de formation de N₂O et de NO au cours de la nitrification, mais elle a montré que les parts de N₂O et de NO émises au cours de la nitrification étaient variables d'un sol à l'autre et que pour certains sols elles pouvaient changer avec le potentiel hydrique du sol. Ce ratio varie entre 0.03 et 1% pour le N₂O et entre 0 et 2.5% pour le NO en fonction du sol et de son état hydrique. Cette

variabilité entre les sols est à nuancer car nous avons pu définir pour les trois sols de Beauce un ratio pour le N_2O similaire et chiffré à 0.06% lorsque l'activité nitrifiante est inférieure à $20 \text{ mg N kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$. Néanmoins, le ratio chiffré à 1% mesuré sur le sol de Champagne souligne la grande variabilité de ce ratio entre les sols.

4. Extrapolation de nos résultats à l'échelle de la parcelle

Le développement des modèles d'émissions de NO et de N_2O par les sols nécessite entre autre que les connaissances sur l'implication du processus de nitrification dans ces émissions soient plus approfondies et formalisées par un ensemble de paramètres et/ou de relations. Les relations que nous avons définies entre (1) l'humidité massique des sols et leur potentiel hydrique, (2) l'activité nitrifiante et le potentiel hydrique des sols, (3) les émissions de N_2O et de NO et l'activité nitrifiante des sols sont sous des formes compatibles avec les modèles opérationnels tels que NEMIS (Hénault et Germon, 2000) ou NGAS (Parton et al. 1996).

Toutefois, plusieurs réserves s'imposent pour utiliser ces relations à l'échelle de la parcelle cultivée.

- Les points expérimentaux ont été ajustés avec des relations statistiquement significatives. D'autres ajustements, aussi statistiquement significatifs, auraient dans certains cas pu également être effectués. Le choix de l'ajustement des points expérimentaux est déterminant lors des estimations utilisant ces fonctions.
- Nos expérimentations ont été réalisées dans des conditions de sol déstructuré et la validité des relations ainsi établies sur du sol en place reste à vérifier. En l'occurrence au cours de nos incubations, la dénitrification anaérobie était inactive dans les échantillons de sol déstructurés à des humidités massiques où la dénitrification anaérobie est active dans des sols en place. Nous ne connaissons pas actuellement les modifications engendrées par nos conditions expérimentales sur la nitrification dans le sol en place.
- Nous avons travaillé en conditions contrôlées et constantes, entre autres, de teneur en ammonium et de température des échantillons de sol. Nous ne connaissons pas non plus l'impact la variation de ces paramètres sur l'intensité des émissions de N_2O au cours de la nitrification.

Sur un autre plan, nous avons observé que l'intensité des émissions de N_2O et de NO au cours de la nitrification était très variable d'un sol à un autre et pour certains sols, dépendait aussi de son état hydrique. Cette observation suggère que, tant que le déterminisme de l'intensité des émissions gazeuses au cours de la nitrification ne sera pas mieux compris, une paramétrisation spécifique à chaque sol sera nécessaire pour estimer les émissions de N_2O au cours de la nitrification.

Les différentes équipes du programme GESSOL¹ ont constitué une banque de données sur le calcisol, le luvisol « B » et le néoluvisol utilisés au cours de cette thèse. A titre d'exemple, nous avons appliqué les relations (1), (2) et (3) précédemment citées aux variables de la banque de données, concernant l'évolution journalière de l'humidité massique, de la température et de la teneur en ammonium des sols entre novembre 98 et juin 99. Le tableau ci-dessous (Tab. 1) présente l'estimation des flux minimum et maximum journaliers et des émissions totales de N_2O produits par nitrification sur cette période. Pour estimer l'activité nitrifiante des sols, nous avons utilisé les relations entre humidité massique, potentiel hydrique et activité nitrifiante des sols spécifiques à chaque sol et, nous avons introduit une relation entre la température et l'activité nitrifiante, de type Arrhénius avec $Q_{10} = 2$, et une relation entre la teneur en ammonium et l'activité nitrifiante des sols, de type Michaélis avec $K_m = 5 \text{ mg N kg}^{-1} \text{ sol}$. Pour tester la sensibilité de notre module d'émission de N_2O au cours de la nitrification à la part d'azote nitrifié émise sous forme N_2O , nous avons croisé les activités nitrifiantes estimées sur chacun des sites avec les différentes relations établies expérimentalement entre l'activité nitrifiante et les émissions de N_2O .

¹ Programme GESSOL « Evaluation des flux spatio-temporels de protoxyde d'azote en fonction du type de sol, du type de pratique culturale et de l'état hydrique », financé par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et l'Environnement, coordination JC Germon.

Sol sur lequel a été estimée la relation entre la nitrification et les émissions de N ₂ O	Flux simulés	Sol sur lequel la banque de données a été établie		
		Redoxic luvisol B	Pachic calcisol	Neoluvisol
Rendosol	Minimum	20.9	0	0
	Maximum	129.7	82	126
	Total	12529	6633	8396
Redoxic luvisol B	Minimum	1.7	0	0
	Maximum	10.4	6.5	10
	Total	1002	531	672
Pachic calcisol	Minimum	0	0	0
	Maximum	0	0	0
	Total	0	0	0
Neoluvisol	Minimum	0	0	0
	Maximum	1.6	0.7	1.5
	Total	80.6	21.8	34.1
3 sols de Beauce ⁽¹⁾	Minimum	1.3	0	0
	Maximum	7.8	4.9	7.5
	Total	752	398	504

Tableau 1 : Estimations des flux de N₂O produits par nitrification. Le tableau contient les flux minimum et maximum journaliers (g N ha⁻¹ j⁻¹) et les émissions totales estimées sur la période d'étude, novembre 98 à juin 99 (g N-N₂O ha⁻¹). Les valeurs en gras représentent les estimations où la fonction entre l'activité nitrifiante et les émissions de N₂O a bien été définie sur le sol sur lequel les variables d'entrée ont été mesurées.

(1) fonction définie en poolant toutes les données obtenues sur les 3 sols de Beauce quand les intensités d'activité nitrifiante étaient inférieures à 20 mg N kg⁻¹ j⁻¹.

Les estimations des émissions totales de N₂O par nitrification au cours d'une période de 8 mois varient de 0 à 12.5 kg N ha⁻¹. On remarque que l'amplitude des variations entre les sites sur lesquels la banque de données a été constituée (dans le cas de l'application d'une relation commune entre la nitrification et les émissions de N₂O) n'est pas aussi importante que l'amplitude de variations induite par l'utilisation de l'une ou de l'autre des fonctions entre les émissions de N₂O et l'activité de nitrification. Lorsque l'on effectue les estimations avec la relation entre l'activité nitrifiante et les émissions de N₂O spécifique au sol, l'estimation des émissions de N₂O sur une durée de 8 mois est de 34, 0 et 1000 g N ha⁻¹ pour le néoluvisol, le calcisol et le luvisol respectivement.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'ensemble de notre travail a porté sur (1) l'importance des flux de N_2O et de NO par les sols en conditions aérées, (2) l'identification des mécanismes à l'origine de ces émissions et (3) sur l'étude de la contribution de la nitrification dans ces émissions gazeuses.

1. Les émissions d'oxyde d'azote par nitrification

Dans nos conditions expérimentales, la nitrification est le seul processus à l'origine de la production de N_2O pour 4 des 5 sols étudiés, et le seul processus à l'origine de la production de NO pour l'ensemble des sols étudiés. Nos études ont montré une grande variabilité de la part d'azote nitrifié émis sous forme gazeuse en fonction des sols et de leur état hydrique. Ce ratio varie entre 0.03 et 1% pour le N_2O et entre 0 et 2.5% pour le NO en fonction du sol et de son état hydrique. Toutefois, au cours de notre travail, nous n'avons pas pu identifier quel facteur du sol pouvait expliquer cette variabilité.

L'ensemble de nos travaux a été réalisé dans des conditions expérimentales standardisées et simplifiées par rapport aux conditions réelles. Le sol a été déstructuré et placé à des niveaux d'humidité relativement faibles et à des concentrations en ammonium très élevées. Il serait donc important d'effectuer des travaux expérimentaux complémentaires pour tester les modifications engendrées par nos conditions expérimentales sur les émissions gazeuses et sur le fonctionnement des activités microbiennes du sol, en particulier la nitrification. Pour cela, nous pouvons envisager de travailler sur du sol non déstructuré placé dans des gammes de concentrations en ammonium plus proches de celles observées au champ afin d'étudier les problèmes posés par ce changement d'échelle et de vérifier que, par nos conditions expérimentales, nous ne surestimons pas les émissions de N_2O issues de la nitrification.

2. Prise en compte de ces émissions dans un modèle

A partir de nos travaux expérimentaux, nous avons pu établir des relations qui permettent de calculer l'activité nitrifiante des sols en fonction de leur niveau d'humidité et de calculer l'intensité des émissions de N_2O ou de NO en fonction de l'activité nitrifiante. Ces relations ont la même forme pour tous les sols mais les paramètres de ces relations différents d'un sol à l'autre. Actuellement, il est envisageable de coupler ces fonctions, qui constitueraient un

module permettant de simuler les émissions de N_2O et de NO issues de la nitrification dans les sols, avec un modèle existant déjà pour simuler les émissions d'oxydes d'azote gazeux issues de la dénitrification. Ainsi, on pourrait obtenir un modèle de simulation des émissions de N_2O qui prendrait en compte à la fois la nitrification et la dénitrification. Néanmoins, n'ayant pas pu définir de relations directement utilisable pour n'importe quel sol, il est nécessaire de reparamétriser chacune de ces fonctions pour chaque sol étudié. En confrontant les résultats des simulations avec les résultats de mesures de terrain pour les cinq sols étudiés, nous pouvons envisager une première calibration et validation d'un tel modèle.

3. Les émissions d'oxydes d'azote par nitrification dans le contexte agro-environnemental

Les résultats acquis au cours de cette thèse montrent également que les émissions de N_2O et de NO au cours de la nitrification doivent être prises en compte dans les bilans azotés et environnementaux à l'échelle de la parcelle cultivée et que la part d'azote nitrifié perdue sous forme gazeuse peut être très variable d'un sol à un autre. Par ailleurs, les estimations des pertes en N_2O dans les sols en fonction de la nature des fertilisants azotés vont généralement dans le sens où les émissions sont accrues après l'apport de formes ammoniacales (Eichner, 1990 ; Bouwman, 1996 ; Hénault et al. 1998).

Il apparaît donc qu'un raisonnement croisant le choix des fertilisants minéraux avec les caractéristiques de fonctionnement de la nitrification du sol sur lequel le fertilisant sera employé pourrait limiter la création de situations très favorables aux émissions d'oxydes d'azote. Par exemple, nous pensons qu'un apport d'azote ammoniacal est à déconseiller sur un sol présentant des caractéristiques de fonctionnement de la nitrification proches du rendosol étudié dans cette thèse.

Par ailleurs, l'emploi d'inhibiteurs de la nitrification couplé à l'apport des fertilisants minéraux est une pratique souvent recommandée par nos collègues anglo-saxons pour limiter les émissions de N_2O par les sols, en favorisant un apport différé de l'azote nitrique aux plantes. Compte-tenu de la variabilité de la part de N_2O émise au cours de la nitrification, il serait utile de vérifier que les conditions créées par l'emploi de ces inhibiteurs ne favorisent pas les émissions gazeuses au cours de la nitrification.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Abraham, Z. H. M., Lowe, D. J., and Smith, B. E., 1993. Purification and characterization of the dissimilatory nitrite reductase from *Alcaligenes xylooxidans subsp. xylooxidans* (N.C.I.M.B. 11015): evidence for the presence of both type 1 and type 2 copper centres. *Biochem. J.* 295, 587-593.
- Aleem, M.I.H., 1975. Biochemical reaction mechanisms in sulphur oxidation by chemosynthetic bacteria. *Plant and Soil* 43, 556-558.
- Allison, F. E., 1963. Losses of gaseous nitrogen from soils by chemical mechanisms involving nitrous acid and nitrites. *Soil Sci.* 96, 404-409.
- Anderson, I. C., and Levine, J. S., 1986. Relative rates of nitric oxide and nitrous oxide production by nitrifiers, denitrifiers, and nitrate respirers. *Appl. Environ. Microbiol.* 51(5), 938-945.
- Anderson, I.C., Burdige, D., and Homstead, J., 1991. A comparison of nitrogen trace gas production by autotrophic and heterotrophic nitrifiers. In: 10th International Symposium on Environmental Biogeochemistry Abstracts, San Fransisco, pp.2.
- Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasan, T. B. S., and Srinath, E. G., 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. W. P. C. F.* 48(5), 835-852.
- Arah, J.R.M., Crichton, I.J., Smith, K.A., 1993. Denitrification measured directly using a single-inlet mass spectrometer and by acetylene inhibition. *Soil Biol. Biochem.* 25, 233-238.
- Arah, J. R. M., 1997. Apportioning nitrous oxide fluxes between nitrification and denitrification using gas-phase mass spectrometry. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1295-1299.
- Arciero, D. M., and Hooper, A. B. 1993. Hydroxylamine oxidoreductase from *Nitrosomonas europaea* is a multimer of an *octa*-heme subunit. *J. Biol. Chem.* 268(20), 14645-14654.
- Arciero, D. M., and Hooper, A. B., 1997. Evidence for a crosslink between *c*-heme and a lysine residue in cytochrome *P*₄₆₀ of *Nitrosomonas europaea*. *FEBS Lett.* 410, 457-460.
- Arciero, D. M., Golombek, A., Hendrich, M. P., and Hooper, A. B., 1998. Correlation of optical and EPR signals with the *P*₄₆₀ heme of hydroxylamine oxidoreductase from *Nitrosomonas europaea*. *Biochemistry* 37(2), 523-529.

- Arya, S.P., 1988. Introduction to micrometeorology, Academic press, Inc. (Ed.), San Diego.
- Aulakh, M. S., Rennie, D. A., and Paul, E. A., 1984. The influence of plant residues on denitrification rates in conventional and zero tilled soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 790-794.
- Aulakh, M. S., Doran, J. W., and Mosier, A. R., 1992. Soil denitrification significance, measurement, and effects of management. *Adv. Soil Sci.* 18, 1-57.
- Baumgärtner, M., and Conrad, R., 1992. Role of nitrate and nitrite for production and consumption of nitric oxide during denitrification in soil. *FEMS Microbiol Ecol.* 101, 59-65.
- Betlach, M. R., and Tiedje, J. M., 1981. Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification. *Appl. Environ. Microbiol.* 42(6), 1074-1084.
- Blackmer, A. M., Bremner, J. M., and Schmidt, E. L., 1980. Production of nitrous oxide by ammonia oxidizing chemoautotrophic microorganisms in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 1060-1066.
- Bleakley, B.H., and Tiejje, J.M., 1982. Nitrous oxide production by organisms other than nitrifiers or denitrifiers. *Appl. Environ. Microb.* 44, 1342-1348.
- Bock, E., Koops, H. P., and Harms, H., 1986. Cell biology of nitrifying bacteria. In: Prosser, J.J. (Ed.), *Nitrification* IRL Press, Oxford, pp. 17-38.
- Bock, E., Koops, H. P., Möller, U. C., and Rudert, M., 1990. A new facultatively nitrite oxidizing bacterium, *Nitrobacter vulgaris* sp. nov. *Arch. Microbiol.* 153, 105-110.
- Bolle, H. J., Seiler, W., and Bolin, B., 1986. Other greenhouse gases and aerosols. In : Bolin, B., Jager, J., Warrick, R.A., and Doos, B.R. (Ed.), *The greenhouse effect, climatic change and ecosystems.* Wiley and Sons, New-York, pp. 157-203.
- Bollmann, A., and Conrad, R., 1997. Recovery of nitrification and production of NO and N₂O after exposure of soil to acetylene. *Biology and Fertility of Soils* 25, 41-46.
- Bouwman, A. F., 1990. Analysis of global nitrous oxide emission from terrestrial natural and agro ecosystems. *Congress of Soil Sci.* 2, 261-266.

- Bouwman, A. F., 1995. Compilation of a global inventory of emissions of nitrous oxide.
- Bouwman, A. F., 1996. Direct emission of nitrous oxide from agricultural soils. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 46, 53-70.
- Bouwman, A. F., Fung, I., Matthews, E., and John, J., 1993. Global analysis of the potential for N₂O production in natural soils. *Global Biogeochem. Cy.* 7(3), 557-597.
- Breitenbeck, G. A., Blackmer, A. M., and Bremner, J. M., 1980. Effects of different nitrogen fertilizers on emission of nitrous oxide from Soil. *Geophys. Res. Lett.* 7, 85-88.
- Bremner, J. M., and Blackmer, A. M., 1978. Nitrous oxide: Emission from soils during nitrification of fertilizer nitrogen. *Science* 199, 295-296.
- Bremner, J. M., and Blackmer, A. M., 1979. Effects of acetylene and soil water content on emission of nitrous oxide from soils. *Nature* 280, 380-381.
- Bremner, J. M., Blackmer, A. M., and Waring, S. A., 1980. Formation of nitrous oxide and dinitrogen by chemical decomposition of hydroxylamine in soils. *Soil Biol. Biochem.* 12, 263-269.
- Bremner, J. M., and Blackmer, A. M., 1981. Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide. In: Delwiche, C.C., (Ed.), *Denitrification, nitrification and atmospheric N₂O*, J. Wiley and L. Sons, Chichester, pp. 151-170.
- Bremner, J. M., Breitenbeck, G. A., and Blackmer, A. M., 1981. Effect of anhydrous ammonia fertilization on emission of nitrous oxide from soils. *J. Environ. Qual.* 10, 77-80.
- Brons, H. J., and Zehnder, A. J. B., 1990. Aerobic nitrate and nitrite reduction in continuous cultures of *Escherichia coli* E4. *Arch. Microbiol.* 153, 531-536.
- Bronson, K. F., and Mosier, A. R., 1991. Effect of encapsulated calcium carbide on dinitrogen, nitrous oxide, methane and carbon dioxide emissions from flooded rice. *Biol. Fertil. Soils* 11, 116-120.
- Buresh, R. J., and Moraghan, J. T., 1976. Chemical reduction of nitrate by ferrous iron. *J. Environ. Qual.* 5, 320-325.

Cardenas, L., Rondon, A., Johansson, C., and Sanhueza, E., 1993. Effects of soil moisture, temperature and inorganic nitrogen on nitric oxide emissions from tropical savannah soils. *J. Geophys. Res.* 98, 14783-14790.

Carter, J. P., Hsiao, Y. H., Spiro, S., and Richardson, D. J., 1995. Soil and sediment bacteria capable of aerobic nitrate respiration. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 2852-2858.

Cellier, P., and Laville, P., 1999. Les émissions de N₂O par les sols agricoles en France : quelle évaluation possible ? *C.R. Acad. Agri. de France* 85,177-192.

Chalamet, A., and Bardin, R., 1977. Action des ions ferreux sur la reduction de l'acide nitreux dans les sols hydromorphes. *Soil Biol. Biochem.* 9, 1-5.

Chalk, P. M., and Smith, C. J., 1983. Chemodenitrification. In: Freney, J.R. and Simpson, J.R. (Ed.). *Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems*, 1, pp. 65-89.

Chèneby, D., 2000. Caractérisation par des méthodes moléculaires de la microflore dénitrifiante isolée de trois sols agricoles en lien avec leur aptitude à produire ou à réduire N₂O au cours de la dénitrification. Université de Lyon. Thèse en cours.

Chèneby, D., Philippot, L., Hartmann, A., Hénault, C., and Germon, J.C., 2000. 16S rDNA analysis for characterization of denitrifying bacteria isolated from three agricultural soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 1176, 1-8.

Claman, X., 1999. Mesure des émissions de composés azotés (NO_x) par les agrosystèmes fertilisés. Technique de la REA (Related Eddy Accumulation). DEA, Université de Toulouse, 38p.

Conrad, R., 1990. Flux of NO_x between Soil and atmosphere: importance and Soil metabolism. In: Revsbech, N.P. and Sorensen, J. (Ed.). *Denitrification in soil and sedimentol.* Plenum Press, New York, 1, pp. 105-127.

Corbet AS, 1935. The formation of hyponitrous acid as an intermediate compound in the biological or photochemical oxidation of ammonia to nitrous acid. II. Microbiological oxidation. *Agric. Res.*, 1086-1096.

Coyle, C.L., Zumft, W.G., Kroneck, P.M.H., Körner, H., and Jakob, W., 1985. Nitrous oxide from denitrifying *Pseudomonas perfectomarina*: purification and properties of a novel

multicopper enzyme. *Eur. J. Biochem.* 153, 459-167.

Crutzen, P. J., 1979. The role of NO and NO₂ in the chemistry of the troposphere and stratosphere. *Ann. Rev. Earth Planet. Sci.* 7, 443-472.

Crutzen, P. J., 1981. Atmospheric chemical processes of the oxides of nitrogen including nitrous oxide. In: Delwiche, C.C. (Ed.), *Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide*. Wiley and Sons, New-York, pp. 17-44.

Davidson, E. A., Swank, W. T., and Terry, T. O., 1986. Distinguishing between nitrification and denitrification as sources of gaseous nitrogen production in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 52(6), 1280-1286.

Davidson, E. A., 1991. Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. In: Rogers, J.E., and Withman, W.B., (Ed.), *Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides and halomethanes*, Washington, pp. 219-235.

Davidson, E. A., and Kinglerlee, W., 1997. A global inventory of nitric oxide emissions from soils. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 48, 37-50.

Delorme, S., 1995. Les émissions de protoxyde d'azote (N₂O) par la jachère énergétique. ENESAD, Quéigny. 39p.

Denariáz, G., Payne, W. J., and LeGall, J., 1991. The denitrifying nitrite reductase of *Bacillus halodenitrificans*. *Biochem. Biophys. Acta* 1056, 225-232.

Doxtader, K. G., 1965. *Nitrification by heterotrophic micro-organisms*. Cornell University, New-York.

Doxtader KG, Alexander M., 1966. Nitrification by heterotrophic soil micro-organisms. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 30, 351-355.

Drozd, J. W., 1976. Energy coupling and respiration in *Nitrosomonas europaea*. *Arch. Microbiol.* 110, 257-262.

Dunglas, J., 1993. Effet de serre et activités humaines (gaz à effet de serre d'origine anthropique). *Sécher.* 4(4), 211-220.

- Eichner, M.J., 1990. Nitrous oxide emissions from fertilized soils: summary of available data. *J. Environ. Qual.* 19, 272-280.
- Ferguson, S. J., 1994. Denitrification and its control. *Anton. Leeuw.* 66, 89-110.
- Firestone, M. K., and Davidson, E. A., 1989. Microbiological basis of NO and N₂O production and consumption in soil. In: Andrea, M.O., and Schimel, D.S., (Ed.), Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere, J. Wiley and L. Sons, Chichetser, United Kingdom, pp. 7-21.
- 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(3), 173-179.
- Fontelle, J.P., Chang, J.P., Allemand, N., Audoux, N., Lévy, C., Rivière, E., 1998. Inventaire des émissions dans l'air en France au cours de la période 1990-96. CITEPA, Paris.
- Fujiwara, T., and Fukumori, Y., 1996. Cytochrome *cb* type nitric oxide reductase with cytochrome *c* oxidase activity from *Paracoccus denitrificans* ATCC35512. *J. Bacteriol.* 178(7), 1866-1871.
- Galbally, I.E., 1985. The emission of nitrogen to the remote atmosphere. In: Galbally, I.E., Charlson, R.J., Andrea, M.O., and Rohde, O., (Ed.), The biochemical cycling of sulfur and nitrogen in the remote atmosphere, Reidel Publishing Company, Dordrecht, pp. 27-53.
- Galbally, I. E., and Johansson, C., 1989. A model relating measurements of rates of nitric oxide production and field measurements of nitric oxide emission from soils. *J. Geophys. Res.* 94(D5), 6473-6480.
- Gamble, T. N., Betlach, H. R., and Tiedje, J. M., 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 33(4), 926-939.
- Garcia, J.L., 1973. Séquence des produits formés au cours de la dénitrification dans les sols de rizières du Sénégal. *Ann. Microbiol.* 124 B, 351-362.
- Garrido, F., Hénault, C., Gaillard, H., and Germon, J.C., 2000. Effects of acetylene on two cultivated soils. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1799-1802.
- Garrido, F., Hénault, C., Guérin, N., Chèneby, D., and Germon, J. C., 1996. Soils abilities to

reduce nitrous oxide: an indicator of in "situ" N₂O emission. Transactions of the 9th nitrogen workshop, Braunschweig, Germany, p. 487.

Germon J.C., Hénault C., Garrido F., Reau R., 1999. Mécanismes de production, régulation et possibilités de limitation des émissions de N₂O à l'échelle agronomique. C.R. Acad. Agri. de France 85,148-162.

Goodroad, L. L., and Keeney, D. R., 1984. Nitrous oxide production in aerobic soils under varying pH, temperature and water content. Soil Biol. Biochem. 16(1), 39-43.

Granli, T., and Bockman, O. C., 1994. Nitrous oxide from agriculture. Norw. J. Agr. Sci. 12(supplément), 7-128.

Granli, T., and Bockman, O.C., 1995. Nitrous emissions from soils in warm climates. Fert. Res. 42, 159-163.

Grant, R. F., 1991. A technique for estimating denitrification rates at different soil temperatures, water contents, and nitrate concentrations. Soil Sci. 152(1), 41-52.

Grant, R. F., Juma, N. G., and McGill, W. B., 1993. Simulation of carbon and nitrogen transformations in soil: microbial biomass and metabolic products. Soil Biol. Biochem. 25(10), 1331-1338.

Grant, R. F., 1995. Mathematical modelling of nitrous oxide evolution during nitrification. Soil Biol. Biochem. 27(9), 1117-1125.

Grundmann, G. L., Lensi, R., and Chalamet, A., 1993. Delayed NH₃ and NO₂ uptake by maize leaves. New Phytol. 124, 259-263.

Guiraud, G., 1984. Contribution du marquage isotopique à l'évaluation des transferts d'azote entre les compartiments organiques et minéraux dans les systèmes sol-plante. Thèse, Paris 6, 335 p.

Haynes, R. J., 1986. Nitrification. In: Haynes, R.J., (Ed.), Mineral nitrogen in the plant-Soil system, Academic Press, New-York, pp. 127-165.

Hénault, C., 1993. Quantification de la dénitrification dans les sols à l'échelle de la parcelle cultivée, à l'aide d'un modèle prévisionnel, ENSA, Montpellier. 108p.

- Hénault, C., and Germon, J. C., 1995. Quantification de la dénitrification et des émissions de protoxyde d'azote (N₂O) par les sols. *Agronomie* 15, 321-355.
- Hénault, C., Devis, X., Page, S., Justes, E., Reau, R., and Germon, J. C., 1998. Nitrous oxide emissions under different soil and land management conditions. *Biol. Fertil. Soils* 26, 199-207.
- Hénault, C., Devis, X., Lucas, J.L., and Germon, J.C., 1998. Influence of different agricultural practices (type of crop, form of N-fertilizer) on soil nitrous oxide emissions. *Biol. Fertil. Soils* 27, 299-306.
- Hénault, C., and Germon, J.C., 2000. NEMIS, a predictive model of denitrification on the field scale. *Eur. J. Soil Sci.* 51, 257-270.
- Hommes, N.G., Russell, S.A., Bottomley, P.J., and Arp, D.J., 1998. Effects of soil on ammonia, ethylene, chloroethane and 1,1,1-trichloroethane oxidation by *Nitrosomonas europaea*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(4), 1372-1378.
- Hooper A.B., Debey P., Andersson K.K., Balny C., 1983. Heme P₄₆₀ of hydroxylamine oxidoreductase of *Nitrosomonas*. Reaction with CO and H₂O₂. *Eur. J. Biochem.* 134, 83-87.
- Hopkins, D. W., Dundee, L., Webster, E. A., and Simek, M., 1997. Biological production and consumption of nitrous oxide in soils. *Eur. J. Soil Biol.* 33, 145-151.
- Hoppert, M., Mahony, T. J., Mayer, F., and Miller, D. J., 1995. Quaternary structure of the hydroxylamine oxidoreductase from *Nitrosomonas europaea*. *Arch. Microbiol.* 163, 300-306.
- Hulse, C. L., and Averill, B. A., 1990. Isolation of a high specific activity pink, monomeric nitrous oxide reductase from *Achromobacter cycloclastes*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 166(2), 729-735.
- Hyman M.R., and Wood P.M., 1983. Methane oxidation by *Nitrosomonas europaea*. *Biochem. J.* 212, 31-37.
- Hyman, M. R., and Wood, P. M., 1984. Ethylene oxidation by *Nitrosomonas europaea*. *Arch. Microbiol.* 137, 155-158.
- Hyman, M. R., and Wood, P. M., 1985. Suicidal inactivation and labelling of ammonia mono

- oxygenase by acetylene. *Biochem. J.* 227, 719-725.
- Inubushi, K., Naganuma, H., and Kitahara, S., 1996. Contribution of denitrification and autotrophic and heterotrophic nitrification to nitrous oxide production in andosols. *Biol. Fertil. Soils* 23, 292-298.
- IPCC, 1995. Climate change 1994. Report of working groups I and III of the intergovernmental panel on climate change, Cambridge University Press, UK, 339 p.
- IPCC, 1996. Climate change 1995. The science of climate change, contribution of working group to the second assessment report of the intergovernmental panel on climate change, Cambridge University Press, UK, 572 p.
- Iwasaki, H., and Matsubara, T., 1971. Cytochrome *c*₅₅₇ (551) and cytochrome *cd* of *Alcaligenes faecalis*. *J. Biochem.* 69, 847-857.
- Johannssen, W., Gerberding, H., Rohde, M., Zaborosch, C., and Mayer, F., 1991. Structural aspects of the soluble NAD dependent hydrogenase isolated from *Alcaligenes eutrophus* H16 and from *Nocardia opaca* 1b. *Arch. Microbiol.* 155, 303-308.
- Kastrau, D. H. W., Heiss, B., Kroneck, P. M. H., and Zumft, W. G., 1994. Nitric oxide reductase from *Pseudomonas stutzeri*, a novel cytochrome *bc* complex. Phospholipid requirement, electron paramagnetic resonance and redox properties. *Eur. J. Biochem.* 222, 293-303.
- Kawasaki, S., Arai, H., Kodoma, T., and Igarashi, Y., 1997. Gene cluster for dissimilatory nitrite reductase (*nir*) for *Pseudomonas aeruginosa*: sequencing and identification of a locus for heme *d*₁ biosynthesis. *J. Bacteriol.* 179(1), 235-242.
- Keeney, D. R., Fillery, I. R., and Marx, G. P., 1979. Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification in a slit loam soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, 1124-1128.
- Keeney, D.R., and Nelson, D.W., 1982. Nitrogen inorganic forms. In: Page, A.L., (Ed.), *Methods of soil analysis*, pp. 643-698.
- Keerthisinghe, D. G., Freney, J. R., and Mosier, A. R., 1993. Effect of wax-coated calcium carbide and nitrapyrin on nitrogen loss and methane emission from dry-seeded flooded rice. *Biol. Fertil. Soils* 16, 71-75.

- Killham, K., 1986. Heterotrophic nitrification. In: Prosser, J.I., (Ed.), Nitrification, IRL Press, pp. 1-16.
- Kirstein, K., and Bock, E., 1993. Close genetic relationship between *Nitrobacter hamburgensis* nitrite oxidoreductase and *Escherichia coli* reductases. Arch. Microbiol. 160, 447-453.
- Kleiner, D., 1985. Bacterial ammonium transport. FEMS Microbiol. Rev., 32, 87-100.
- Klemedtsson, L., Svensson, B. H., and Rosswall, V., 1988. A method of selective inhibition to distinguish between nitrification and denitrification as sources of nitrous oxide in soil. Biol. Fertil. Soils 6(6), 112-119.
- Klotz, M. G., Alzerreca, J., and Norton, J. M., 1997. A gene encoding a membrane protein exists upstream of the *amoA/amoB* genes in ammonia oxidizing bacteria: a third member of the amo operon. FEMS Microbiol. Lett. 150, 65-73.
- Knowles, R., 1982. Denitrification. Microbiol. Rev. 46, 43-70.
- Lagacherie, B., Couton, Y., and Germon, J. C., 1993. Essai de valorisation agricole de déchets industriels contenant de l'azote nitreux et nitrique. Agronomie 13, 165-178.
- Lensi, R., Lescure, C., Steinberg, C., Savoie, J. M., and Faurie, G., 1991. Dynamics of residual enzyme activities denitrification potential and physico chemical properties in a alpha sterilized soil. Soil Biol. Biochem. 23, 367-373.
- Li, C., Frohling, S., and Frohling, T. A., 1992. A model of nitrous oxide evolution from soil driven by rainfall events: I. Model structure and sensitivity. J. Geophys. Res. 97(D9), 9759-9776.
- Li, C., Narayanan, V., and Harriss, R. C., 1996. Model estimates of nitrous oxide emissions from agricultural lands in the United States. Global Biogeochem. Cy. 10(2), 297-306.
- Linn, D. M., and Doran, J. W., 1984. Effect of water filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 48, 1267-1272.
- Lipschultz, F., Zafiriou, O. C., Wofsy, S. C., McElroy, M. B., Valois, F. W., and Watson, S. W., 1981. Production of NO and N₂O by Soil nitrifying bacteria. Nature 294, 641-643.

- Lloyd, D., 1993. Aerobic denitrification in soils and sediments: from fallacies to facts. *Tree* 8, 352-356.
- Logan, J. A., 1983. Nitrogen oxides in the troposphere: global and regional budgets. *J. Geophys. Res.* 88(C15), 10,785-10,807.
- MacTavish, H., Fuchs, J. A., and Hooper, A. B., 1993. Sequence of the gene coding for ammonia monooxygenase in *Nitrosomonas europaea*. *J. Bacteriol.* 175(8), 2436-2444.
- Mahne, I., and Tiedje, J. M., 1995. Criteria and methodology for identifying respiratory denitrifiers. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1110-1115.
- Masson, P., Arciero, D. M., Hooper, A. B., and Balny, C., 1990. Electrophoresis at elevated hydrostatic pressure of the multiheme hydroxylamine oxidoreductase. *Electrophoresis* 11, 128-133.
- Masuko, M., Iwasiki, H., Sakurai, T., Suzuki, S., and Nakahara, A., 1984. Characterization of nitrite reductase from a denitrifier *Alcaligenes Sp.* NCIB 1105. A novel copper protein. *J. Biochem.* 96, 447-454.
- Mayer, F., Elliott, J. I., Sherod, D., and Ljungdahl, L. G., 1982. Formyltetrahydrofolate synthase *Clostridium thermoaceticum*. An electron microscopic study and specific interaction of the enzyme with ATP and ADP. *Eur. J. Biochem.* 124, 397-404.
- McKenney, D. J., Shuttleworth, K. F., Vriesacker, J. R., and Findlay, W. I., 1982. Production and loss of nitric oxide from denitrification in anaerobic brookston clay. *Appl. Environ. Microbiol.* 43(3), 534-541.
- Miller, L. G., Coutaki, M. D., Oremland, R. S., and Ward, B. B., 1993. Selective inhibition of ammonium oxidation and nitrification-linked N₂O formation by methyl fluoride and dimethyl ether. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 2457-2464.
- Mogge, B., Kaiser, E.A., and Munch, J.C. 1999. Nitrous oxide emissions and denitrification N losses from agricultural soils in the Bornhöved lake region: influence of organic fertilizers and land use. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1245-1252.
- Moir, J. W. B., Crossman, L. C., Spiro, S., and Richardson, D. J., 1996. The purification of ammonia monooxygenase from *Paracoccus denitrificans*. *FEBS Lett.* 387, 71-74.

- Mollina, J.A.E., Clapp, C.E., Shaffer, M.J., Chichester, F.W., and Larson, W.E., 1983. NCSOIL, a model of nitrogen and carbon transformations in soil: description, calibration, and behavior. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47, 85-91.
- Moraghan, J. T., and Buresh, R. J., 1977. Chemical reduction of nitrite and nitrous oxide by ferrous iron. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 47-50.
- Mosier, A. R., 1980. Acetylene inhibition of ammonium oxidation in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 12, 443-444.
- Müller C., Sherlock R.R., and Williams P.H., 1997. Mechanistic model for nitrous oxide emission via nitrification and denitrification. *Biol. Fertil. Soils* 24, 231-328.
- Murray RE, and Knowles R, 2000. Influence of pH on production and consumption of NO by an agricultural soil under denitrifying conditions. *Biol. Fertil. Soils*. Sous presse.
- Myrold, D.D., 1988. Denitrification in ryegrass and winter wheat cropping systems of western Oregon. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 412-416.
- Nägele W., and Conrad R., 1990 Influence of pH on the release of NO and N₂O from fertilized and unfertilized soil. *Biol. Fertil. Soils* 10, 139-144.
- Nägele W., and Conrad R., 1990 Influence of soil pH on the nitrate reducing microbial populations and their potential to reduce nitrate to NO and N₂O. *FEMS Microbiol Ecol.* 74, 49-57.
- Nelson, D. W., and Bremner, J. M., 1970. Gaseous products of nitrite decomposition in soils. *Soil Biol. Biochem.* 2, 203-215.
- Neufeld J. D., and Knowles R., 1999. Inhibition of nitrifiers and methanotrophs from an agricultural humisol by allylsulfide and its implications for environmental studies. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 2461-2465.
- Oremland, R. S., and Culbertson, C. W., 1992. Evaluation of methyl fluoride and dimethyl ether as inhibitors of aerobic methane oxidation. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(9), 2983-2992.
- Papen H., Hellmann B., Papke H., Rennenberg H., 1991 Emission of N-oxides from acid irrigated and limed soils of a coniferous forest in Bavaria. In: Oremland RS (Ed.) Tenth

- International Symposium on Environmental Biogeochemistry, U.S. Geol. Surv., San Francisco, California, 1, pp. 245-260.
- Parton, W. J., Mosier, A. R., and Schimel, D. S., 1988. Rates and pathways of nitrous oxide production in a shortgrass steppe. *Biogeochemistry* 6, 45-58.
- Parton, W. J., Mosier, A. R., Ojima, D. S., Valentine, D. W., Schimel, D. S., Weier, K., and Kulmala, A. E., 1996. Generalized model for N₂ and N₂O production from nitrification and denitrification. *Global Biogeochem. Cy.* 10(3), 401-412.
- Patureau, D., Bernet, N., Dabert, P., Godon, J. J., Steyer, J. P., Delgenes, J. P., and Moletta, R., 1998. Physiological, molecular and modeling studies of an aerobic denitrifier: *Microvirgula aerodenitrificans*. Use of its properties in an integrated nitrogen removal plant. *Wat. Sci. Tech.* 38, 167-175.
- Pennock, D., 1999. A scaling-up to the Landscape. In: Desjardins, R. L., Keng J. C., and Haugen-Kozyra, K. (Ed.), *International Workshop on reducing nitrous oxide emissions from agroecosystems*. Banff, Alberta, Canada.
- Philippot, L., Clays-Josserand, A., Lensi, R., Trinsoutreau, I., Normand, P., and Potier, P., 1997. Purification of the dissimilative nitrate reductase of *Pseudomonas fluorescens* and the cloning and sequencing of its corresponding genes. *Biochim. Biophys. Acta* 1350, 272-276.
- Philippot, L., and Hojberg, O., 1999. Dissimilatory nitrate reductase in bacteria. *Biochem. Biophys. Acta* 1446, 1-23.
- Philippot, L., Mirleau, P., Mazurier, S., Siblot, S., Hartmann, A., Lemanceau, P., and Germon, J. C., soumis en 2000. Genetic and transcriptional analyses of *Pseudomonas fluorescens* denitrifying clusters containing the *nar*, *nir*, *nor* and *nos* genes.
- Potter, C. S., Randerson, J. T., Field, C. B., Matson, P. A., Vitousek, P. M., Mooney, H. A., and Klooster, S. A., 1993. Terrestrial ecosystem production: a process model based on global satellite and surface data. *Global Biogeochem. Cy.* 7(4), 811-841.
- Potter, C. S., Matson, P. A., Vitousek, P. M., and Davidson, E. A., 1996. Process modeling of controls on nitrogen trace gas emissions from soils worldwide. *J. Geophys. Res.* 101(D1), 1361-1377.

- Powell, S.J., 1986. Laboratory studies of inhibition of nitrification. In: Prosser, J.I. (Ed.), *Nitrification*, pp. 79-97.
- Pratt, P. F., Davis, S., and Laag, A. E., 1977. Manure management in an irrigated basin relative to salt leachate to ground water. *J. Environ. Qual.* 6(4), 397-401.
- Prosser, J. I., 1986. *Nitrification*, IRL Press, Oxford.
- Rees M.K., 1968. Studies of the hydroxylamine metabolism of *Nitrosomonas europaea*. II. Molecular properties of the electron transport particle, hydroxylamine oxidase. *Biochem.* 7, 366-372.
- Remacle, J., 1977. Microbial transformation of nitrogen in forests. *Oecol. Plant.* 12(1), 33-43.
- Remde, A., Slemr, F., and Conrad, R., 1989. Microbial production and uptake of nitric oxide in Soil. *FEMS Microbiol Ecol.* 62, 221-230.
- Remde, A., and Conrad, R., 1991. Role of nitrification and denitrification for NO metabolism in soil. *Biochem.* 12, 189-205.
- Renault, P., and Stengel, P. 1994. Modeling oxygen diffusion in aggregated soils: I. anaerobiosis inside the aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1017-1023.
- Renault, P., Parry, S., Sierra, J., and Bidel, L., 1997. Les transferts de gaz dans les sols, implications environnementales et agronomiques. *Courrier de l'environnement de l'INRA* 32, 33-50.
- Renault P., 1999 Les modèles opérationnels d'émissions de N₂O par les sols aux échelles régionales. *C.R. Acad. Agri. de France* 85, 163-176.
- Riedacker, A., 1999. La convention cadre sur le climat et le protocole de Kyoto. *C.R. Acad. Agri. de France* 85, 13-34.
- Ritchie, G. A. F., and Nicholas, D. J. D., 1972. Identification of the sources of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomonas europaea*. *Biochem. J.* 126, 1181-1191.

- Ritchie, G. A. F., and Nicholas, D. J. D., 1972. Identification of the sources of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomonas europaea*. *Biochem. J.* 126, 1181-1191.
- Robertson, L. A., and Kuenen, J. G., 1984. Aerobic denitrification: a controversy revived. *Arch. Microbiol.* 139, 351-354.
- Robertson, G.P., 1989. Nitrification and denitrification in humid tropical ecosystems: Potential controls on nitrogen retention, in mineral nutrient. In: Procter, J., (Ed.), *Tropical Forest and Savanna Ecosystems*, Blackwell Scientific, Boston, Mass., pp. 55-69.
- Robertson, L. A., Cornelisse, R., Vos, P. D., Hadjioetomo, R., and Kuenen, J. G., 1989. Aerobic denitrification in various heterotrophic nitrifiers. *Anton. Leeuw.* 56, 289-299.
- Robertson, L. A., Dalsgaard, T., Revsbech, N. P., and Kuenen, J. G., 1995. Confirmation of aerobic denitrification in batch cultures using gas chromatography and ^{15}N mass spectrometry. *FEMS Microbiol Ecol.* 18, 113-120.
- Rohde, M., Lim, F., Wallace, J.C., 1986. Pyruvate carboxylase from *Saccharomyces cerevisiae*. Quaternary structure, effects of allosteric ligands and binding of avidin. *Eur. J. Biochem.* 156, 15-22.
- Rolston, D. E., Rao, P. S. C., Davidson, J. M., and Jessup, R. E., 1984. Simulation of denitrification losses of nitrate fertilizer applied to uncropped, cropped, and manure amended field plots. *Soil Sci.* 137(4), 270-279.
- Sallade, Y. E., and Sims, J. T., 1992. Evaluation of thiosulfate as a nitrification inhibitor for manures and fertilizers. *Plant Soil* 147, 283-291.
- Sayavedra-Soto, L. A., Hommes, L. A., and Arp, D. J., 1994. Characterization of the gene encoding hydroxylamine oxidoreductase in *Nitrosomonas europaea*. *J. Bacteriol.* 176(2), 504-510.
- Schlesinger, W. H., 1991. *Biogeochemistry an analysis of global change*, Academic press, London.
- Schmidt, E. L., and Belser, L. W., 1982. *Nitrifying bacteria*, Madison USA.

- Schmidt, I., and Bock, E., 1997. Anaerobic oxidation with nitrogen dioxide by *Nitrosomonas eutropha*. Arch. Microbiol. 167, 106-111.
- Sextone, A.J., Revsbech, N.P., Timothy, B.P., and Tiedje, J.M., 1985. Direct measurement of oxygen profiles and denitrification rates in soil aggregates. Soil Sci. Soc. Am. J. 49, 645-651.
- Shaffer, M.J., Halvorson, A.D. and Pierce F.J., 1991. Nitrate leaching and economic analysis package (NLEAP): model description and application. Managing Nitrogen for Grounwater Quality and Farm Profitability, Soil Sci. Soc. Am. J. 285-322.
- Shears J.H., Wood P.M., 1985. Spectroscopic evidence for a photosensitive oxygenated state of ammonia mon oxygenase. Biochem. J. 226, 499-507
- Skiba, A. E., Hargreaves, K. J., Fowler, D., and Smith, K. A., 1992. Fluxes of nitric and nitrous oxides from agricultural soils in a cool temperate climate. Atmos. Environ. 26A, 2477-2488.
- Skiba, U., Fowler, D., and Smith, K. A., 1997. Nitric oxide emissions from agricultural soils in temperate and tropical climates: sources, controls and mitigation options. Nutr. Cycl. Agroecosys. 48, 139-153.
- Skiba, U., Sheppard, L., Pitcairn, C.E.R., Leith, I., Crossley, A., van Dijk, S., Kennedy, V.H., and Fowler, D., 1998. Soil nitrous oxide emissions as indicators of elevated atmospheric N deposition rates in seminatural ecosystems. Environ. Poll. 102 (S1), 457-461.
- 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, M. S., and Zimmerman, K., 1981. Division S3 soil microbiology and biochemistry: Nitrous oxide production by nondenitrifying soil nitrate reducers. Soil Sci. Soc. Am. J., 45, 865-871.
- Smith, K. A., and Arah, J. R. M., 1990. Losses of nitrogen by denitrification and emissions of nitrogen oxides from soils. Fert. Soc. Proc. 299, 1-34.
- Spieck, E., Ehrich, S., Aamand, J., and Bock, E., 1998. Isolation and immunocytochemical location of the nitrite-oxidizing system in *Nitrospira moscoviensis*. Arch. Microbiol. 169, 225-230.

- Stanford, G., Dziena, S., Vander Pol, R.A., 1975. Effect of temperature on denitrification rate in soil. *Soil Sci. Amer. Proc.* 39, 867-870.
- Stark, J. M., and Firestone, M. K., 1995. Mechanisms for soil moisture effects on activity of nitrifying bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 218-221.
- Stevens, R. J., Laughlin, R. J., Burns, L. C., Arah, J. R. M., and Hood, R. C., 1997. Measuring the contributions of nitrification and denitrification to the flux of nitrous oxide from soil. *Soil Biol. Biochem.* 29, 139-151.
- Stouthamer, A. H., 1988. Dissimilatory reduction of oxidized nitrogen compounds. In: Zehnder, A.J.B., (Ed.), *Biology of anaerobic microorganisms*, J. Willey Sons, Chichester, pp. 245-303.
- Sundermeyer-Klinger, H., Meyer, W., Warninghoff, B., and Bock, E., 1984. Membrane bound nitrite oxidoreductase of *Nitrobacter*: evidence for a nitrate reductase system. *Arch. Microbiol.* 140, 153-158.
- Suzuki, I., Dular, U., and Kwok, S.C., 1974. Ammonia or ammonium ions as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *J. Bacteriol.* 120, 556-558.
- Terry, K. T., and Hooper, A. B., 1981. Hydroxylamine oxidoreductase: a 20-heme; 200000 molecular weight cytochrome *c* with unusual denaturation properties which forms a 63 000 molecular weight monomer after heme removal. *Biochemistry* 20, 7076-7032.
- Tiedje, J. M., 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: Zehnder, A.J.B., (Ed.), *Biology of anaerobic microorganisms*, J. Wiley and Sons, New York, pp. 179-244.
- Tortoso A.C., Hutchinson G.L., Guenzi W.D., 1986. Nitric and nitrous oxide emissions during nitrification and denitrification in soil. In: *Agronomy Aso.*, (Ed.), *Agronomy Abstracts*, Madison, pp 190-191.
- Tortoso, A. C., and Hutchinson, G. L., 1990. Contributions of autotrophic and heterotrophic nitrifiers to soil NO and N₂O emissions. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(6), 1799-1805.
- Tsien, H. C., Lambert, R., and Laudelout, H., 1968. Fine structure and the localisation of the nitrite oxidizing system in *Nitrobacter winogradskyi*. *Anton. Leeuw.* 34, 483-494.

- Van Cleemput, O., Patrick, W.H., 1974. Nitrate and nitrite reduction in flooded gamma-irradiated soil under controlled pH and redox potential conditions. *Soil Biol. Biochem.* 6, 85-88.
- Van Cleemput, O., Patrick, W. H., and Mc Ilhenny, R. C., 1976. Nitrite decomposition in flooded soil under different pH and redox potential conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40, 55-60.
- Van Cleemput, O., and Samater, A. H., 1996. Nitrite in soils : accumulation and role in the formation of gaseous N compounds. *Fert. Res.* 45, 81-89.
- Van Moortel, E., Boeckx, P., and Van Cleemput O. 2000. Inventory of nitrous oxide emissions from agriculture in Belgium calculations according to the revised 1996 Intergovernmental Panel on Climate Change guidelines. *Biol. Fertil. Soils.* 30, 500-509.
- Wackett L.P., Hartweg E.A., King J.A., Orme-Johnson W.H., Walsh C.T., 1987. Electron microscopy of nickel containing methanogenic enzymes: methyl reductase and F₄₂₀ reducing hydrogenase. *J. Bacteriol.* 169, 718-727.
- Watson, S. W., 1971. Reisolation of *Nitrosospira briensis* S. Winogradsky and H. Winogradsky 1933. *Arch. Microbiol.* 75, 179-188.
- Wehrfritz, J. M., Reilly, A., Spiro, S., and Richardson, D. J., 1993. Purification of hydroxylamine oxidase from *Thiosphaera pantotropha*. *FEBS Lett.* 335(2), 246-250.
- Weier, K. L., MacRae, I. C., and Myers, R. J. K., 1993. Denitrification in a clay soil under pasture and annual crop: estimation of potential losses using intact soil cores. *Soil Biol. Biochem.* 25(8), 991-997.
- Williams E.J., Parrish D.D., Fehsenfeld C.F., 1987 Determination of nitrogen oxide emissions from soils: results from a grassland site in Colorado, united states. *J. Geophys. Res.* 92, 2173-2179.
- Williams, E. J., Hutchinson, G. L., and Fehsenfeld, F. C., 1992. NO_x and N₂O emissions from soil. *Global Biogeochem. Cy.* 6(4), 351-388.
- Williams, P. H., Jarvis, S. C., and Dixon, E., 1998. Emission of nitric oxide and nitrous oxide from soil under field and laboratory conditions. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1885-1893.

- Wingen, L. M., and Finlayson-Pitts, B. J., 1998. An upper limit on the production of N₂O from the reaction of O(1D) with CO₂ in the presence of N₂. *Geophys. Res. Lett.* 25(4), 517-520.
- Wolf, D.C., Dao, T.H., Scott, H.D., and Lavy, T.L., 1989. Influence of sterilization methods on selected soil microbiological, physical, and chemical properties. *J. Environ. Qual.* 18, 39-44.
- Wollum, A. G., 1983. Cultural methods for soil microorganisms. In: Page, A. (Ed.). *Methods of soil analysis*, 2 (9), pp. 781-802.
- Wood, P. M., 1986. Nitrification as a bacterial energy source. In: Prosser, J.I., (Ed.), *Nitrification*, IRL Press, Oxford, pp. 39-62.
- Xu, C., Shaffer, M.J., Al-Kaisi, M., 1998. Simultaneous impact of management practices on nitrous oxide emissions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62, 736-742.
- Yamanaka, T., and Fukumori, Y., 1988. The nitrite oxidizing system of *Nitrobacter winogradskyi*. *FEMS Microbiol. Rev.* 54, 259-270.
- Yamanaka, T., Shinra, M., Takahashi, K., and Shibasaki, M., 1979. Highly purified hydroxylamine oxidoreductase derived from *Nitrosomonas europaea*. *J. Biochem.* 86, 1101-1108.
- Yoshida, T., and Alexander, M., 1970. Nitrous oxide formation by *Nitrosomonas europaea* and heterotrophic micro-organisms. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 34, 880-882.
- Zafiriou, O. C., and Hanley, Q. S., 1989. Nitric oxide and nitrous oxide production and cycling during dissimilatory nitrite reduction by *Pseudomonas perfectomarina*. *J. Biol. Chem.* 264(10), 5694-5699.
- Zart, D., and Bock, E., 1998. High rate of aerobic nitrification and denitrification by *Nitrosomonas eutropha* grown in a fermentor with complete biomass retention in the presence of gaseous NO₂ or NO. *Arch. Microbiol.* 169, 282-286.
- Zumft, W. G., Gotzmann, D. J., and Kroneck, P. M. H., 1987. Type 1, blue copper proteins constitute a respiratory nitrite reducing system in *Pseudomonas aureofaciens*. *Eur. J. Biochem.* 168, 301-307.

Zumft, W. G., Döhler, K., Körner, H., Löchelf, S., Viebrock, A., and Frunzke, K., 1988. "Defects in cytochrome *cd₁* dependent nitrite respiration of transposon *Tn₅* induced mutants from *Pseudomonas stutzeri*. Arch. Microbiol. 149, 492-498.

Zumft, W. G., Viebrock-Sambale, A., and Braun, C., 1990. Nitrous oxide reductase from denitrifying *Pseudomonas stutzeri*: genes for copper-processing and properties of the deduced products, including a new member of the family of ATP/GTP-binding proteins. Eur. J. Biochem. 192, 591-599.

Zumft, W. G., and Walter, G., 1994. Current topics in the biochemistry and genetics of bacterial denitrification. Nova Acta Leopold 70(288), 237-249.

Zumft, W. G., 1997. Cell biology and molecular basis of denitrification. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61(4), 533-536.

CURRICULUM VITAE

Francis GARRIDO

Né le 18 décembre 1972 à Montbard (21)

Célibataire

Dégagé des obligations militaires



Adresse personnelle : Laboratoire de Microbiologie des Sols

INRA - CMSE

17, rue Sully BP 86510

21 065 Dijon Cedex

☎ 03 80 69 30 94

e-mail: francis.garrido@dijon.inra.fr

Cursus professionnel et fonctions exercées :

- 1997-2000 : Thèse de Doctorat en Sciences de la Terre
Ecole Doctorale « Sciences de la Terre », Université de Bourgogne
Co-financement ADEME-Conseil Régional de Bourgogne
Sujet : « les mécanismes de production d'oxydes d'azote gazeux (N_2O et NO) dans les sols en conditions d'aérobiose ». Travail réalisé au Laboratoire de Microbiologie des Sols de l'INRA Dijon
- 2000 : Classé 2^{ème} au concours de recrutement de Maître de Conférences à l'Etablissement National d'Enseignement Supérieur Agronomique de Dijon « Sciences du sol, agronomie et systèmes d'information géographique »
- 1998-2000 : Agent Temporaire Vacataire, Université de Bourgogne
Enseignements de Biologie Végétale en DEUG B (108h TP + 33h TD)
Enseignements de Biologie Animale en Licence de Biologie (21h TP)
- 1996-1997 : Emploi temporaire de 4 mois à la Chambre d'Agriculture de Côte d'Or
Synthèse de résultats pour la labellisation du programme FERTIMIEUX mis en place sur le Bassin de la Tille et mise en place d'un réseau d'essais agronomiques sur cette zone d'étude
- 1995-1996 : Stage de DEA de Sciences Agronomiques (ENSAIA-INPL Nancy)
Sujet : « Emissions de N_2O au cours de la nitrification dans les sols ». Travail réalisé au Laboratoire de Microbiologie des Sols de l'INRA Dijon
- 1995 : Emploi temporaire de 4 mois à la Chambre d'Agriculture de Côte d'Or
Aide Technique sur les programmes « Fertilisation azotée », « Minéralisation des Sols » et « Cultures Intermédiaires »
- 1994 : Stage volontaire de 6 semaines au Laboratoire de Microbiologie des Sols de l'INRA Dijon.
Sujet : « Etude de l'aptitude de différents sols à produire et à consommer N_2O »

Titres universitaires :

- 2000 : Doctorat en Sciences de la Terre
Mention très honorable avec félicitations du jury
UFR Sciences de la Terre, Université de Bourgogne (Dijon)
- 1996 : DEA de Sciences Agronomiques
Mention Bien, ENSAIA-INPL (Nancy)
Stage effectué au Laboratoire de Microbiologie des Sols, INRA Dijon
- 1995 : Maîtrise de Biologie Cellulaire mention Sciences et Technologies du végétal
Mention Assez Bien, Université de Bourgogne (Dijon)
- 1994 : Licence de Biologie
Université de Bourgogne (Dijon)
- 1993 : DEUG B
Mention Assez Bien, Université de Bourgogne (Dijon)

Domaines de compétence :

Recherche et développement

- Définition des mécanismes microbiologiques du sol producteurs de gaz à effet de serre
- Etude du cycle de l'azote dans les sols et ses impacts environnementaux
- Gestion de la fertilisation azotée à l'échelle agronomique
- Elaboration de modèles prédictifs

Technique

- Méthodes d'analyses par chromatographie en phase gazeuse et par chimiluminescence
- Méthodes de dosages physico-chimiques d'azote minéral
- Mesures d'activités enzymatiques
- Maîtrise du travail en conditions stériles
- Modélisation mathématiques d'activités biologiques
- Maîtrise des outils informatiques (Excel, Word, Power point, Access, Sigmaplot...)
- Maîtrise du réseau Internet

Encadrement d'équipes et gestion de projet

- Conduite de projets de recherche et développement dans le domaine agro/environnement
- Mise en place de réseau d'essais agronomiques à l'échelle régionale

Enseignements

- Réalisation de cours et encadrement d'étudiants en 1^{er} et 2nd cycle universitaire

Synthèse, rédaction et communication

- Ecriture d'articles dans des revues internationales à comité de lecture
- Elaboration et présentation de posters et de communications pour des congrès à audience internationale
- Ecriture de documents de vulgarisation

Langues

- Anglais : lu, écrit et parlé

Divers :

Sport

- Pratique du Volley-Ball au sein de l'équipe de l'Association Sportive du Ministère de l'Agriculture (ASMA 21).

Musique

- Pratique instrumentale (trombone) au sein d'une harmonie de 100 musiciens à Vitteaux (21) et au sein d'un groupe de Jazz-Blues de 6 musiciens à Semur en Auxois (21).

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice. This not only helps in tracking expenses but also ensures compliance with tax regulations.

In the second section, the author provides a detailed breakdown of the company's revenue streams. This includes sales from various product lines and services. The analysis shows that while one product line is currently the primary source of income, diversification into new markets is necessary for long-term growth.

The third section addresses the company's financial health and liquidity. It highlights the need for a robust cash flow management strategy to ensure that all operational needs are met. The author suggests implementing regular financial reviews to identify potential risks and opportunities early on.

Finally, the document concludes with a series of recommendations for the management team. These include strengthening internal controls, improving communication with stakeholders, and investing in research and development to stay ahead of the competition.