

Quantification de la dénitrification et des émissions de protoxyde d'azote (N₂O) par les sols

C Hénault, JC Germon *

INRA, centre de microbiologie du sol et de l'environnement, 17, rue Sully, BV 1540, F21034 Dijon cedex

(Reçu le 21 novembre 1994; accepté le 1^{er} août 1995)

Résumé — Cet article de synthèse présente successivement les phénomènes microbiologiques et chimiques correspondant à la dénitrification ainsi que ceux conduisant à la production de N₂O. Après une présentation critique des méthodes utilisées pour les mesures, de nombreux résultats obtenus *in situ* sont récapitulés. Les principaux modèles prévisionnels de dénitrification et de production de N₂O à partir du sol sont ensuite considérés. Enfin, l'article se termine par la proposition de différentes pistes de recherche sur la dénitrification et la production de N₂O, incluant les aspects méthodologiques et la nécessité d'approfondir les connaissances sur la répartition géographique des zones de fortes activités dénitrifiantes et/ou productrices de N₂O et sur l'impact des pratiques agricoles sur ces activités, dans une perspective d'aménagement du territoire et de protection de l'environnement.

dénitrification / émission / protoxyde d'azote / effet de serre / sol

Summary — **Quantification of denitrification and nitrous oxide production in soils.** *This review deals with the microbiological and chemical phenomena involved in the denitrification and N₂O emission processes in soils. The different methods of measurement, the major results of in situ measurements, and predictive models of denitrification and N₂O emissions are discussed. Important areas of future research including methodological aspects, the need for knowledge concerning the spatial variability of high denitrification or N₂O production activities, and the impact of agricultural practices on these processes are described.*

denitrification / emission / nitrous oxide / greenhouse gases / soil

INTRODUCTION

Mise en évidence au siècle dernier par 2 équipes qui avaient particulièrement bien compris le rôle de l'anaérobiose et de la disponibilité en matière organique sur cette transformation (Dehérain et Maquenne, 1882) puis son origine microbiologique (Gayon et Dupetit, 1886), la dénitrification a été initialement perçue comme un mécanisme de pertes d'azote par le sol qu'il était important

de maîtriser (Dehérain, 1897, *in* Payne, 1990). Les travaux sur la quantification de ces pertes se sont peu développés, faute de méthodes de mesure adéquates, jusqu'à la mise au point de celles utilisant ¹⁵N (Wijler et Delwiche, 1954 ; Nommick, 1956 ; Woldendorp, 1963), et plus récemment la découverte des effets inhibiteurs de l'acétylène sur la réduction de N₂O (Federova *et al*, 1973 ; Yoshinari et Knowles, 1976 ; Balderston *et al*, 1976).

* Correspondance et tirés à part

Ces 15 dernières années, les travaux sur la dénitrification ont connu un regain d'intérêt important pour plusieurs raisons :

i) l'intensification de l'agriculture accompagnée du développement de l'utilisation des fertilisants azotés de synthèse conduit aujourd'hui à s'interroger sur le fonctionnement équilibré du cycle de l'azote. Depuis 1950, la quantité de ces fertilisants utilisée à l'échelle de la planète est passée de 3,5 à 70,10⁶ t N par an (Aulakh *et al*, 1992) et devrait atteindre de l'ordre de 100,10⁶ t N par an en l'an 2000 (Hauck, 1988). Au niveau du territoire français l'utilisation des fertilisants azotés demeure déterminante pour la production agricole malgré une diminution récente due au nouveau contexte agricole : (en 10⁶ t N) 2,2 en 1980 ; 2,65 en 1990 et 2,22 en 1994 (source : Syndicat national de l'industrie des engrais, Paris). Dans une évaluation globale des transformations de l'azote à l'échelle de notre territoire, on peut constater, comme l'avait fait Hénin (1980), que les fertilisants minéraux représentent de l'ordre du quart de l'azote minéral susceptible d'être mis à la disposition de la végétation chaque année. Cela donne une idée de ce que devraient être les pertes par dénitrification pour que nos écosystèmes ne s'enrichissent pas en azote fixé, organique ou minéral, et pose la question de l'existence de mécanismes de pertes, compensateurs des entrées dans ce cycle géochimique de l'azote.

ii) La mise au point de méthodes de mesure permettant des approches quantitatives de la dénitrification dans le milieu naturel a permis de souligner le caractère fugace et aléatoire de cette transformation et a, de ce fait, engendré un besoin de mesures et d'intercomparaisons pour affiner et valider les données obtenues.

iii) La dénitrification est perçue comme le moyen naturel de protéger les eaux d'une contamination croissante par les nitrates principalement due à l'intensification de l'agriculture (Hénin, 1980 ; ministère de la Santé, 1988). On est amené aujourd'hui à s'interroger sur l'existence de la dénitrification dans des écosystèmes naturels où cette transformation s'effectuerait préférentiellement (zones humides en bordure de rivières, marécages, zones de battement de nappes ; Mariotti, 1994) et sur les possibilités de gérer de tels milieux par des pratiques agricoles adaptées, de façon à favoriser la dénitrification pour éliminer les nitrates excédentaires. Ainsi s'interroge-t-on sur l'opportunité de recréer en Bretagne entre les espaces cultivés et les ruisseaux qui drainent le fond de toutes les zones dépressionnaires des zones tampons qui pourraient dénitrifier les

nitrates en solution dans les eaux susceptibles de les traverser.

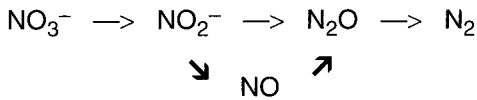
iv) La dénitrification est génératrice de dégagements de N₂O (oxyde azoteux ou nitreux, protoxyde ou hémioxyde d'azote, ou gaz hilarant) dont l'augmentation de 290 à 310 ppb dans les couches de l'atmosphère au cours des 50 dernières années et l'implication dans les mécanismes de décomposition de l'ozone ne sont plus contestées (Smith, 1990 ; Bouwman, 1990). Rappelons seulement que le coefficient d'absorption radiative de N₂O est de 150 à 200 fois celui de CO₂ : en prenant en compte la «durée de vie» de ces gaz dans l'atmosphère, la contribution d'une mole de N₂O à l'effet de serre serait de 250 à 300 fois supérieure à celle d'une mole de CO₂ (Rodhe, 1990 ; Robertson, 1993). Il s'avère aussi que la dénitrification n'est pas la seule transformation microbienne productrice de N₂O et que la nitrification assure vraisemblablement une contribution non négligeable. Or, malgré la multiplication actuelle des mesures d'émission de N₂O, on manque d'informations sur la répartition entre les différents mécanismes de production et sur les capacités du milieu naturel à réabsorber et transformer ces gaz polluants, informations nécessaires pour comprendre le fonctionnement des émissions.

Alors que les problèmes de gestion des fertilisants et de préservation, voire de restauration de la qualité de l'eau, ont été à l'origine de l'attention portée au fonctionnement de la dénitrification, la prise de conscience récente des problèmes de pollution atmosphérique a déplacé le centre d'intérêt des travaux sur la réduction des nitrates vers les émissions d'oxydes d'azote gazeux par les milieux naturels, comme l'illustrent les récentes revues de Bouwman *et al* (1993), de Granli et Bockman (1994) et de Batjes (1994). Dans ce travail de synthèse, après un bref rappel des transformations concernées par la dénitrification et la production naturelle de N₂O, nous ferons une place particulière à l'état des méthodes de mesure et aux estimations quantitatives réalisées concernant la dénitrification dans les sols ; nous examinerons de la même façon et dans les mêmes milieux la production naturelle de N₂O dont la mesure fait appel à des méthodes utilisées, elles aussi, pour l'étude de la dénitrification.

LES TRANSFORMATIONS CONCERNÉES

La dénitrification biologique est un phénomène respiratoire, considéré encore jusqu'à récemment

comme exclusivement bactérien ; la présence de structures enzymatiques indicatrices d'un métabolisme dissimilatif des nitrates a été mise en évidence chez certains champignons au cours de ces dernières années (Shoun *et al*, 1991) et l'existence d'une dénitrification de type fongique a été suggérée et fait actuellement l'objet de travaux (Shoun *et al*, 1992) ; sur la base des connaissances établies, il semble cependant que la dénitrification est essentiellement bactérienne. Les bactéries dénitrifiantes utilisent comme accepteur terminal d'électrons l'oxygène en aérobiose et le nitrate ou l'un de ses produits dérivés en anaérobiose, selon une chaîne de réactions qui conduit à N₂ (Payne, 1973 ; Pichinoty, 1973), dont la présentation actuelle est la suivante (Kroneck et Zumft, 1990) :



Selon les bactéries ou les conditions du milieu, la chaîne de réactions est réalisée totalement ou partiellement, ce qui peut conduire à des accu-

mulations variables des formes azotées intermédiaires. Le passage obligé par l'intermédiaire NO a été longtemps discuté : le schéma présenté tient compte de l'existence de 2 nitrite-réductases et du caractère facultatif de l'apparition de NO à l'état libre. Il est admis aujourd'hui que NO est bien la forme intermédiaire entre NO₂⁻ et N₂O, même s'il n'apparaît pas toujours à l'état libre et peut demeurer combiné aux systèmes enzymatiques réducteurs (Garber et Hollocher, 1981 ; Payne, 1985). Après différentes démonstrations de la production de NO à partir de cultures dénitrifiantes ou d'extraits de culture, en particulier à l'aide de ¹³N (Tiedje *et al*, 1978 ; Firestone *et al*, 1979), un ensemble d'études enzymologiques et génétiques a conduit à penser que NO est un intermédiaire obligatoire dans la dénitrification respiratoire, au moins chez la plupart des dénitrifiants (Ye *et al*, 1994). La mise en évidence de la présence de NO dans des milieux dénitrifiants est de plus en plus fréquente depuis que les techniques de dosage de ce gaz par chimioluminescence se sont fortement déve-

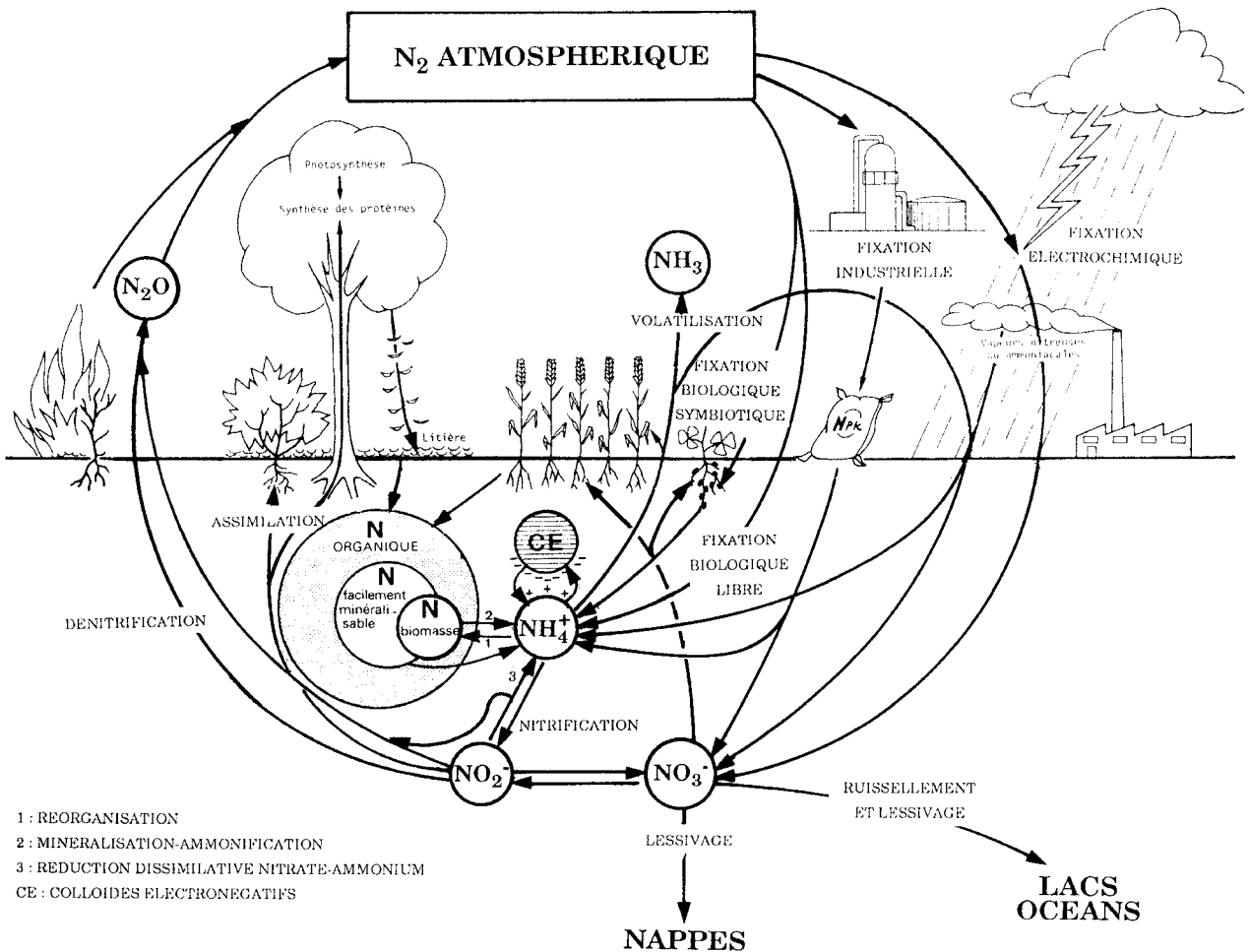


Fig 1. Les principales étapes du cycle de l'azote (d'après Mariotti, 1982).

loppées (Johansson et Galbally, 1984 ; Drury *et al*, 1992 ; Jambert *et al*, 1993).

Les bactéries dénitrifiantes sont, dans leur grande majorité, hétérotrophes et tirent leur énergie et leur pouvoir réducteur de l'oxydation de produits organiques, à l'exception de quelques espèces autotrophes capables de se développer à partir de carbone minéral et de donneurs d'électrons minéraux tels que l'hydrogène ou des dérivés soufrés réduits. La plupart des bactéries dénitrifiantes sont non fermentaires et sont capables d'oxyder complètement en CO_2 des composés non fermentescibles tels que l'éthanol ou l'acétate, propriété largement utilisée dans les systèmes de traitement d'eau pour leur donner un avantage sélectif vis-à-vis des bactéries fermentaires indésirables. Dans le sol, les espèces susceptibles de réduire le nitrate en nitrite peuvent représenter les 2 tiers de la microflore totale ; en revanche la microflore dénitrifiante *sensu stricto*, susceptible de réaliser la totalité de la chaîne de réactions n'en représente que quelques pour cent (Gamble *et al*, 1977 ; Volz, 1977 ; Germon, 1985). *Pseudomonas* semble le genre dénitrifiant prépondérant, *Pseudomonas fluorescens* étant susceptible de représenter 1 tiers des espèces isolables (Gamble *et al*, 1977). Des isollements de bactéries dénitrifiantes à partir de différents milieux terreux ou aqueux confirment cette prédominance (Dupain, 1992).

La dénitrification chimique a été l'objet d'études beaucoup moins abondantes que la dénitrification biologique : elle met en jeu des composés minéraux fortement réducteurs tels que HS^- ou FeS_2 (Haider *et al*, 1988), des cations métalliques réduits tels Fe^{++} (Chalamet et Bardin, 1977) ou des produits organiques phénoliques ou aminés (Bremner, 1977 ; Christianson *et al*, 1979) susceptibles de réduire spontanément le nitrate ou le nitrite. Les réactions impliquées dépendent fortement du pH du milieu, conduisent à la production de mélanges de gaz N_2 , N_2O , NO et NO_2 et peuvent être à l'origine de pertes d'azote importantes et rapides, notamment en sols acides (pH < 5,5) où du nitrite serait apporté, ou susceptible de se former, soit par nitrification, soit par réduction biologique du nitrate (Gerretsen et de Hoop, 1957 ; Van Cleemput et Baert, 1984 ; Lagacherie *et al*, 1993).

La production biologique de N_2O est généralement associée à la réduction du nitrite par différentes microflores :

i) au cours de la dénitrification et en fonction des conditions de milieu, la microflore dénitrifiante

produit des proportions variables de N_2O allant de 0 à 100 % des produits gazeux formés (Munch et Ottow, 1986 ; Aulakh *et al*, 1992) ;

ii) la microflore nitrifiante peut être à l'origine d'une production de N_2O qui a été mise en évidence dans des milieux écologiquement plus favorables à la nitrification qu'à la dénitrification ; la production de N_2O est alors le fait des bactéries oxydant l'ammonium en nitrite, telles *Nitrosomonas*, *Nitrosolobus*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus* et qui, en conditions de stress en oxygène, sont capables de réduire NO_2^- en N_2O (Bremner et Blackmer, 1981 ; Knowles, 1982). L'oxyde nitreux peut être aussi produit lors de la nitrification par les bactéries méthanotrophes : cette production apparaît cependant davantage liée au métabolisme aérobie de ces bactéries qu'à leur métabolisme anaérobie (Knowles et Topp, 1988).

iii) la formation de N_2O apparaît aussi lors de la réduction dissimilative du nitrate, et plus spécifiquement du nitrite, en ammonium, transformation réalisée en concurrence à la dénitrification par des bactéries fermentaires, dans des milieux riches en matières organiques (Smith, 1982 ; Fazzolari *et al*, 1990) ;

iv) enfin la littérature signale la possibilité de production de N_2O par divers microorganismes, au cours de leur métabolisme azoté, sans que la signification physiologique d'un tel dégagement soit bien définie (Yoshida et Alexander, 1970 ; Bleakley et Tiedje, 1982 ; Tiedje, 1988).

LA MESURE DE LA DÉNITRIFICATION DANS LES SOLS

Méthodes et résultats

Les défauts du bilan azoté

Les études sur la dénitrification dans le sol se sont heurtées initialement à 2 difficultés intrinsèques à cette transformation : la dénitrification est rarement le seul mécanisme en jeu susceptible de faire évoluer la teneur en nitrate (fig 1) et les quantités d'azote perdues par ce mécanisme sont d'une importance marginale par rapport au stock d'azote total du sol. Les premières études systématiques sur le fonctionnement de la dénitrification ont cependant été réalisées à partir de cinétiques de transformation du nitrate dans des conditions excluant en grande partie les autres transformations (Bremner et Shaw, 1958) tandis

que les premières estimations des pertes d'azote au champ, réalisées à grande échelle, l'ont été à partir de bilans d'azote total sur de longues périodes. Les conclusions d'Allison (1955), chiffrant ces pertes à 20% de l'azote minéral disponible au cours du cycle cultural en sols cultivés et à 12% en sols non cultivés, ont été abondamment recitées par la suite, en les assimilant à de la dénitrification, ce que l'auteur n'a pas fait dans sa synthèse, et ont conduit de nombreux agronomes à considérer qu'en sols cultivés et fertilisés des pertes d'azote par dénitrification correspondant à 15% de l'azote minéral disponible étaient vraisemblables et difficilement évitables (Broadbent et Clark, 1965 ; Hénin, 1980).

La mise au point des méthodes isotopiques utilisant ¹⁵N a permis de caractériser les cinétiques de dénitrification en dispositifs clos de laboratoire (Wijler et Delwiche, 1954 ; Nommik, 1956 ; Guiraud et Berliet, 1970). Les bilans des produits dérivant du nitrate montrent que, en sol simplement saturé en eau et en absence de plantes, la dénitrification peut être quasiment la seule transformation de ce nitrate avec une production temporaire plus ou moins marquée de N₂O et sa transformation ultérieure en N₂. L'étude cinétique peut cependant faire apparaître un défaut de bilan temporaire inexplicable dans les premiers jours et qui disparaît par la suite (fig 2), phénomène observé par d'autres auteurs (Mariotti *et al*, 1982). Le travail avec ¹⁵N réalisé par Nommik (1956) lui a permis notamment de dégager les conclusions suivantes :

i) le degré de saturation du sol en eau est déterminant, la dénitrification disparaissant dans les sols exposés à l'atmosphère ambiante lorsque le niveau d'humidité devient inférieur à 60–70 % de la capacité de rétention ;

ii) l'accumulation durable de N₂O au cours de la dénitrification est favorisée par les pH acides (< 6) et les fortes concentrations en nitrate (> 100 mg.kg⁻¹ de sol) ;

iii) au cours de la dénitrification dans le sol, la production parallèle d'ammonium à partir du nitrate est très faible, sauf en milieu strictement anaérobie et très riche en matière organique facilement oxydable.

Les bilans ¹⁵N au champ, réalisés en fin de cycle cultural, ont été largement utilisés comme moyens d'estimer les pertes par dénitrification : ils sont en règle générale déficitaires. En sols cultivés, exondés et labourés, ces défauts de bilan en azote marqué représentent couramment de 10 à 20% des apports, valeurs en bon accord avec les conclusions d'Allison (1955), et peuvent aussi aller au-delà (Broadbent et Carlson, 1978 ; Rémy, 1977 ; Dowdell et Webster, 1984 ; Recous *et al*, 1988 ; Addiscott et Powlson, 1992). Tous ces auteurs mettent en avant la dénitrification pour expliquer ce déficit de la balance azotée. Néanmoins, Hauck et Bremner (1976) ont rappelé les précautions à prendre pour faire une telle transposition, tant au niveau de l'échantillonnage et de l'analyse qu'à celui de la prise en compte des autres mécanismes possibles de pertes. Parallèlement, l'éventualité de dégagements gazeux, notamment sous forme d'ammoniac, à partir du matériel végétal est de plus en plus fréquemment avancée (Hooker *et al*, 1980 ; Farquhar *et al*, 1983 ; Goulding *et al*, 1993). Des essais directs de quantification au champ de ce dernier processus ont été réalisés par mesures micrométéorologiques : ainsi Harper *et al* (1987) avec un apport au tallage du blé de 72 kg d'azote marqué mesurent des pertes par volatilisation d'ammoniac de 11,4% au cours des 20 j suivants, et de 9,8% pendant la phase de maturation de la récolte. De tels résultats demandent cependant à être confirmés, pour éviter qu'après avoir attribué les défauts du bilan en totalité à la dénitrification on les attribue tout aussi globalement à ce type de dégagement.

Les mesures de dégagement gazeux d'azote marqué

De même que la mesure de la production de N₂ et N₂O à partir du nitrate marqué avec ¹⁵N a été le moyen de caractériser explicitement la dénitrification en système clos, la mesure d'un flux d'azote marqué à partir d'un sol enrichi en ¹⁵N peut apparaître comme un moyen de quantifier la dénitrification *in situ*. L'une des difficultés

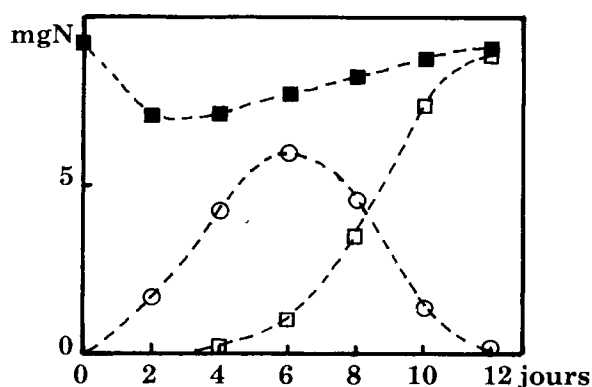


Fig 2. Production de N₂O et de N₂ dans un sol à partir de ¹⁵NO₃⁻, et évolution du bilan ¹⁵N mesurable au cours de l'incubation (mg N pour 100 g de sol) (d'après Nommik, 1956). O ¹⁵N-N₂O ; □ ¹⁵N-N₂ ; ■ Σ¹⁵N.

majeures de cette méthode concerne le fait que les gaz produits à partir du nitrate ne sont pas en équilibre isotopique avec les constituants de l'air (Hauck *et al*, 1958) ; la détermination des quantités de produits formés ne peut se faire à partir du seul rapport R – dans un système isotopiquement équilibré, le pourcentage de ^{15}N dans le produit azoté peut-être calculé à partir du seul rapport R à l'aide de la formule : $\% \text{ }^{15}\text{N} = 100/2R+1$ – des pics de masse 28 et 29, mais nécessite aussi de connaître le pic 30 : étant donnée la faible probabilité de formation de la molécule « $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ », cette détermination ne peut être effectuée que si :

- i) le marquage initial est suffisamment important,
- ii) la sensibilité du spectromètre de masse est élevée.

L'estimation des flux d'azote marqué a d'abord été tentée à partir de la caractérisation au cours du temps des gradients de concentration de produits azotés marqués dans le sol et l'application de la loi de Fick (loi de Fick : $f : F/At : D_p \text{ } dc/dx$ avec f : flux calculé ; F : quantité de gaz traversant la surface A pendant le temps t ; D_p : coefficient de diffusion apparent déterminé expérimentalement ; dc/dx : gradient de concentration du gaz dans le profil) (Starr *et al*, 1974 ; Rolston *et al*, 1976). Travaillant sur un sol enrichi en nitrate sur la base de 300 kg N.ha^{-1} marqué à 10% ces derniers calculent des flux élevés, pouvant dépasser $10 \text{ kg N.ha}^{-1}.\text{jour}^{-1}$, dont ils soulignent le caractère incertain de la valeur absolue, à cause de la difficulté d'estimer correctement le

gradient dans les 5 cm superficiels du sol. Ce type d'approche n'a pas donné lieu à un développement important.

La mesure de l'accumulation des produits marqués dans une enceinte placée à la surface du sol a conduit à une méthode de mesure des flux beaucoup plus utilisée : sur des parcelles de 1m^2 recevant 285 kg N ha^{-1} de KNO_3 marqué à près de 60%, Rolston *et al* (1982) détectent des flux de 100 à $200 \text{ g N.ha}^{-1}.\text{jour}^{-1}$. Partant de la démonstration de Hauck *et al* (1958), Siegel *et al* (1982) proposent un mode de calcul prenant en compte les 2 ratios $r = ^{29}\text{N}_2/^{28}\text{N}_2$ et $r' = ^{30}\text{N}_2/^{29}\text{N}_2$, ce qui leur permet d'estimer à la fois la composition isotopique du gaz dégagé et celle du nitrate subissant la dénitrification sans avoir à la mesurer directement. À partir d'échantillons de gaz prélevés dans une enceinte de $0,4 \text{ l}$ placée en surface d'un sol fertilisé à 100 kg N.ha^{-1} de KNO_3 marqué à 63 % et en utilisant un spectromètre de masse à double entrée et double collection ces auteurs s'estiment capables de détecter des flux de l'ordre de $2,5 \text{ g N.ha}^{-1}.\text{jour}^{-1}$. Une illustration de leurs résultats est indiquée dans le tableau I.

Cette méthode a cependant plusieurs limites d'utilisation :

- i) elle nécessite de disposer d'un spectromètre de masse à haute sensibilité ;
- ii) elle oblige à travailler avec une source d'azote exogène dont il faut évaluer la dilution dans le pool de nitrate du sol ;

Tableau I. Vitesses de dégagement de N_2 estimées au champ à l'aide des mesures des rapports isotopiques 29/28 et 30/29, à partir de microparcelles recevant $65,6 \text{ mg}$ de N de KNO_3 ($\sim 100 \text{ kg N.ha}^{-1}$) marqué à 63,3% ^{15}N . D'après Siegel et Hauck (1982).

Numéro de parcelle	Temps après l'apport de nitrate (j)	Durée de la période de collecte des gaz (h)	Vitesses de dégagement de N_2 ($\text{g.ha}^{-1}.\text{j}^{-1}$)
1	5	0,5	248 ± 19
"	6	1	75 ± 12
"	7	1	66 ± 11
"	13	23	$51 \pm 0,5$
2	13	23	9 ± 1
"	14	2,3	6 ± 6
"	14	22	7 ± 1

iii) le coût de l'azote 15 et la nécessité de travailler avec un produit fortement marqué conduisent à opérer sur des surfaces restreintes ;

iv) la nécessité de couvrir longuement le sol (une journée) pour quantifier les faibles flux limite fortement l'usage de la méthode en présence de végétation.

Par ailleurs le seuil de sensibilité indiqué par ces auteurs est certainement optimiste : un seuil de détection de 50 g N.ha⁻¹.jour⁻¹ paraît plus réaliste et plus conforme aux contraintes expérimentales (Duxbury, 1986). Cependant cette méthode est suffisamment fiable pour être considérée comme l'une des méthodes de référence reprise dans différentes comparaisons méthodologiques (Mosier *et al*, 1986 ; Mulvaney et Vanden Heuvel, 1998 ; Aulakh *et al*, 1991). Cette méthode de mesure des isotopes produits par dénitrification devrait aussi pouvoir progresser dans les années qui viennent avec le développement d'une technique permettant de randomiser les différentes formes isotopiques dans les échantillons gazeux en les soumettant à la haute tension d'un arc électrique (Craswell *et al*, 1985). Cette approche a déjà été appliquée à la caractérisation des gaz issus de la dénitrification (Strong *et al*, 1987) et la sensibilité ainsi obtenue en mesurant seulement les pics 28 et 29 est du même ordre que celle basée sur la mesure directe des pics 28, 29 et 30 (Buresh et Austin, 1993).

L'utilisation des propriétés inhibitrices de l'acétylène

Parmi les différents effets qu'il est susceptible d'exercer sur les systèmes biologiques, l'acétylène a la propriété non encore expliquée d'inhiber la réduction de N₂O en N₂ (Knowles, 1990). Cette propriété a été mise en évidence par une équipe de chercheurs soviétiques intéressée par la caractérisation de la vie extra-terrestre (Federova *et al*, 1973) et a été confirmée indépendamment par 2 équipes nord-américaines qui perçurent l'intérêt de cette découverte pour l'étude de la dénitrification (Yoshinari et Knowles, 1976 ; Balderston *et al*, 1976). Leurs travaux ont démontré sur différentes bactéries dénitrifiantes en culture pure, l'inhibition de la N₂O réductase à des pressions partielles en acétylène allant de 10 à moins de 1kPa, sans altération de vitesse des autres réactions de la chaîne de réduction de nitrate, sans réduction de l'acétylène (à la différence de ce qui est obtenu avec la nitrogénase qui peut réduire l'acétylène en éthylène) et avec une conversion stœchiométrique du nitrate en N₂O (fig 3).

L'utilisation de cette inhibition pour quantifier la dénitrification dans les sols ou les sédiments a été immédiatement développée (Yoshinari *et al*, 1977 ; Klemmedtsson *et al*, 1977 ; Sorensen, 1978 ; Smith *et al*, 1978 ; Ryden *et al*, 1979). Cependant quelques limites dans l'usage de

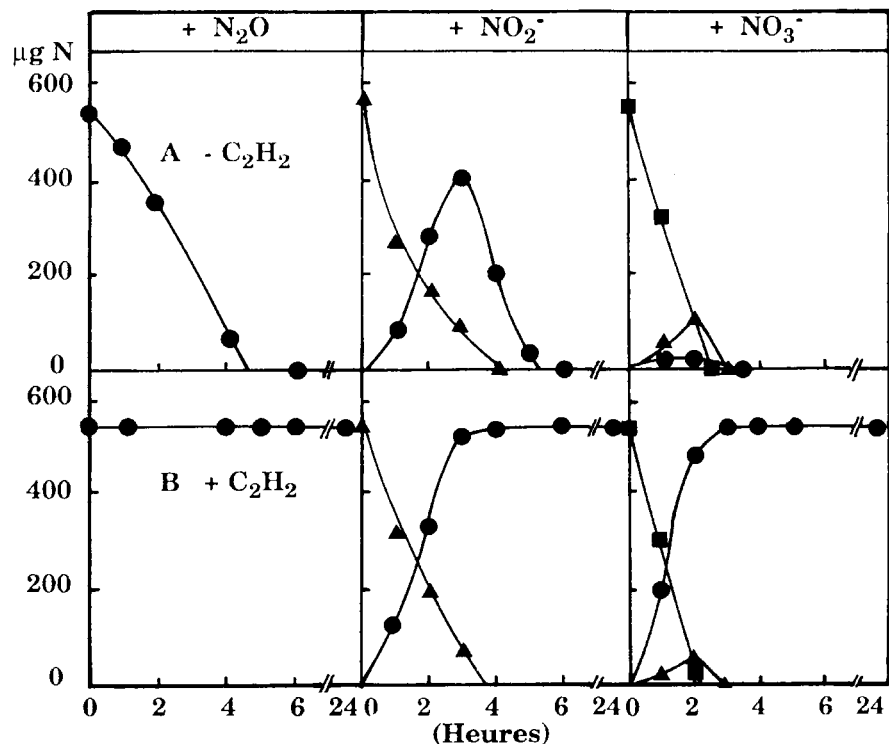


Fig 3. Cinétiques de réduction de N₂O, NO₂⁻ et NO₃⁻ (μg N / fiole) ajoutés à des suspensions denses de *Pseudomonas aeruginosa* incubées sous atmosphère d'hélium à 24°C (in Yoshinari et Knowles, 1976). ● : N₂O ; ▲ : NO₂⁻ ; ■ : NO₃⁻.

l'acétylène sont progressivement apparues. Knowles (1990) en a recensé 5 qui conduisent à différentes précautions d'emploi :

i) aux faibles concentrations en nitrate, de l'ordre de la ppm, l'inhibition par des concentrations en acétylène de l'ordre de 1 à 5 kPa peut être incomplète et nécessiter des concentrations en acétylène plus élevées (Smith *et al*, 1978 ; Yeomans et Beauchamp, 1978 ; Oremland *et al*, 1984) ;

ii) l'inhibition parallèle de la nitrification qui se manifeste à de très faibles concentrations en acétylène, de 1 à 10 Pa (Hynes et Knowles, 1978). La différence de sensibilité vis-à-vis de l'acétylène de la microflore dénitrifiante et de la microflore nitrifiante autotrophe, inhibée au niveau de l'étape ammonium \rightarrow hydroxylamine (Hynes et Knowles, 1982), a conduit Klemmedtsson *et al* (1987) ainsi que Robertson et Tiedje (1987) à proposer une méthode utilisant différentes concentrations en acétylène qui permet de distinguer la provenance de N_2O entre la nitrification et la dénitrification ;

iii) le métabolisme de l'acétylène par la microflore du sol après un temps de contact de plusieurs jours et variable selon les sols a été mis en évidence par Germon (1980) et confirmé par différents chercheurs (Haider *et al*, 1983 ; Terry et Duxbury, 1985). Ce métabolisme de l'acétylène peut entraîner une accélération de la dénitrification (Topp et Germon, 1986), ce qui a conduit à des recommandations pour éviter les traitements prolongés ou à répétition des sols par ce gaz (Rolston, 1986) ;

iv) les interactions avec les sulfures. Ces composés présentent 2 types de propriétés : d'une part celle d'inhiber la réduction de N_2O (Tam et Knowles, 1979 ; Sorensen *et al*, 1980) et d'autre part celle de lever au moins partiellement l'inhibition de la réduction de N_2O par l'acétylène : cette interaction peut poser problème dans les milieux riches en sulfures ou contenant des composés susceptibles d'en produire, tels que la farine de luzerne (Yeomans et Beauchamp, 1982) ;

v) l'acétylène peut contenir certaines impuretés, notamment des vapeurs d'acétone, qui peuvent interférer avec l'activité biologique du sol et qu'il convient d'éliminer avant usage du gaz (Hyman et Arp, 1987).

Malgré tous ces risques d'interférences, l'acétylène a été très largement utilisé pour étudier la dénitrification dans les sols car il conduit à 4 avantages majeurs :

i) la mesure de N_2O sur laquelle repose l'étude des flux de dénitrification est particulièrement sensible : les analyses en CPG (chromatographie en phase gazeuse) avec détection en capture d'électrons permettent de déceler des variations de concentration inférieures à 100 ppb et de quantifier des flux de N_2O de l'ordre $1 \text{ g N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{jour}^{-1}$ (Duxbury, 1986) ;

ii) les procédures analytiques sont simples et rapides et le coût des analyses est faible par rapport aux analyses avec ^{15}N , ce qui permet de multiplier facilement les déterminations ;

iii) on peut travailler directement à partir du nitrate du sol, sans nécessité d'ajouter le substrat de la réduction, à la différence des méthodes isotopiques, ce qui évite notamment toutes les questions sur l'homogénéité de la répartition entre un substrat apporté et un substrat endogène ;

iv) l'enrichissement de l'atmosphère du sol en acétylène peut être réalisé en respectant la structure du sol, dont le rôle, et notamment celui de la microstructure, est déterminant dans le fonctionnement de la dénitrification.

Les principales précautions à prendre lors de l'utilisation de l'acétylène consisteront à atteindre une concentration d'au moins 0,1 kPa dans l'atmosphère du sol étudié et à éviter les traitements renouvelés à l'acétylène ou prolongés au-delà de 3 à 7 j (Rolston, 1986 ; Duxbury, 1986). Trois types principaux de méthodologies ont été utilisés.

Les mesures de dénitrification sur sol en place : les enceintes de surface

La principale difficulté pour quantifier la dénitrification sur un sol en place à l'aide de l'acétylène est d'assurer une concentration suffisante de ce gaz (0,1 %) dans toute la porosité du volume de sol concerné sans perturber les transferts des autres gaz. Plusieurs méthodes, avec de nombreuses variantes, ont été testées avec des succès divers.

Des mesures ont été réalisées sur des sols dans lesquels l'acétylène pouvait diffuser depuis la surface à partir d'enceintes dont l'atmosphère était fortement enrichie avec ce gaz et dans lesquelles on a suivi l'accumulation de N_2O (Patriquin *et al*, 1978 ; Lensi et Chalamet, 1982 ; Arah *et al*, 1991). Cette méthodologie a l'avantage de la simplicité : son efficacité dépend cependant en grande partie de l'état structural et de l'humidité du sol. Arah *et al* (1991) recommandent un temps de traitement par l'acétylène d'au

moins 12 h et signalent le caractère aléatoire des mesures obtenues par cette méthode.

Plusieurs auteurs ont introduit l'acétylène dans la porosité des sols étudiés avec des techniques perturbant la dynamique des gaz, parfois faiblement, parfois plus fortement : Rolston *et al* (1982) introduisent l'acétylène dans le profil de leur microparcelle de 500 cm², sur une profondeur de 1 m à l'aide de tubes perforés sur leur longueur et alimentés en C₂H₂ pendant 1 h avec un débit de 1 l.h⁻¹. Colbourn *et al* (1984) injectent de l'acétylène avec un débit de 200 ml.mn⁻¹ pendant 1 h puis de 40 ml.mn⁻¹ pendant 2 h à 40 cm de profondeur par un tube implanté obliquement sous la surface étudiée de 700 cm². Après avoir utilisé un protocole proche de celui de Colbourn, Germon *et al* (1985) ont introduit C₂H₂ à 30 cm de profondeur à l'aide de 4 tubes implantés sur une surface de 1 250 cm² et alimentés pendant 24 h avant la mesure avec un débit de C₂H₂ de 1 l.h⁻¹. Mosier *et al* (1986) introduisent 70 ml de C₂H₂ en une seule fois une heure avant la mesure de N₂O dans chacun des 3 tubes implantés à 35 cm sous une surface de 175 cm². Ces différentes méthodes permettent d'obtenir une concentration suffisante en acétylène dans la macroporosité du sol et conduisent à des mesures de flux de N₂O importantes, avec cependant des effets non estimés de la modification des transferts du gaz.

La méthode qui semble la plus performante et la plus respectueuse de l'atmosphère du sol est celle proposée par Ryden et Dawson (1982),

dérivée de la méthode initiale de Ryden *et al* (1979) et qui a été reprise en l'état ou avec des variantes par différentes équipes (Grundmann et Rolston, 1987 ; Aulakh *et al*, 1991 ; Goulding *et al*, 1993). Le dispositif, présenté figure 4, est constitué d'une enceinte de 50 x 10 x 15 cm enfoncée de 5 cm dans le sol, autour de laquelle on a creusé 6 trous de 60 cm de profondeur et 7,5 mm de diamètre, dans lesquels l'acétylène est introduit à l'aide d'un tube d'injection avec un débit de 0,4 l.mn⁻¹ pendant 15 min et 0,2 l.mn⁻¹ pendant l'heure suivante : dans ces puits l'acétylène est à la pression atmosphérique et n'est transféré que par diffusion dans la porosité du sol située sous l'enceinte de mesure, supprimant ainsi les transferts par convection. Duxbury et McConnaughey (1986) proposent un système dérivé, avec un temps de diffusion de 24 h pour C₂H₂ avant la mesure de dégagement de N₂O, et des périodes de traitement continu par C₂H₂ et de mesure de N₂O de 7 j. Aulakh *et al* (1991) suggèrent d'utiliser du carbure de calcium introduit dans le sol et susceptible de libérer C₂H₂ au contact de l'eau du sol : la dissolution aléatoire du carbure peut faire douter de la fiabilité des résultats de cette méthode qui n'a pas eu de développement.

Au niveau de la mesure des flux de N₂O à partir des sols ainsi traités 2 types de méthodologie ont été développés :

i) le balayage des enceintes par un flux d'air contrôlé (enceintes dynamiques), avec un piègeage de N₂O en sortie des enceintes sur tamis

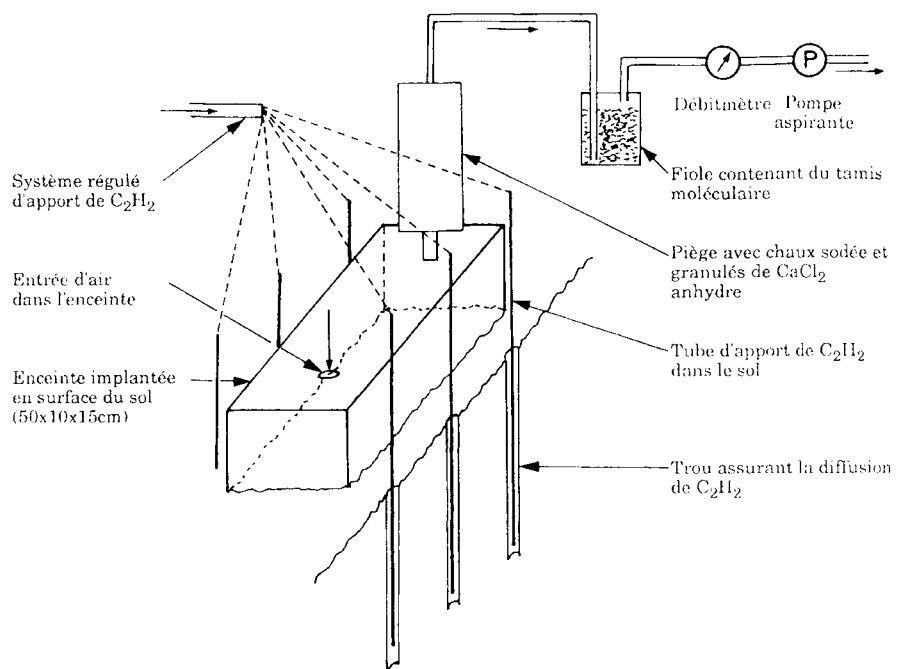


Fig 4. Schéma du dispositif utilisé par Ryden et Dawson (1982) pour les mesures au champ de la dénitrification à l'aide de la méthode de blocage par C₂H₂.

moléculaire et dosage ultérieur après dégazage du piège. Cette méthode, utilisée initialement par Ryden *et al* (1979), a l'avantage de concentrer le gaz produit et de permettre un dosage avec des appareils de sensibilité moyenne ;

ii) le suivi de la concentration en N_2O sur des prélèvements de gaz étalés sur quelques dizaines de minutes à partir d'enceintes closes (enceintes statiques) (Colbourn *et al*, 1984 ; Germon *et al*, 1985 ; Mc Connaughey et Duxbury, 1986 ; Grundmann et Rolston, 1987), ces enceintes pouvant être, pour plus de rigueur, en équilibre de pression avec l'atmosphère extérieure (Hutchinson et Mosier, 1981) ; cela nécessite cependant de disposer d'un chromatographe à haute sensibilité.

Les figures 5 et 6 tirées de Germon *et al* (1985) illustrent les résultats obtenus avec cette méthodologie et sont représentatives de ce que

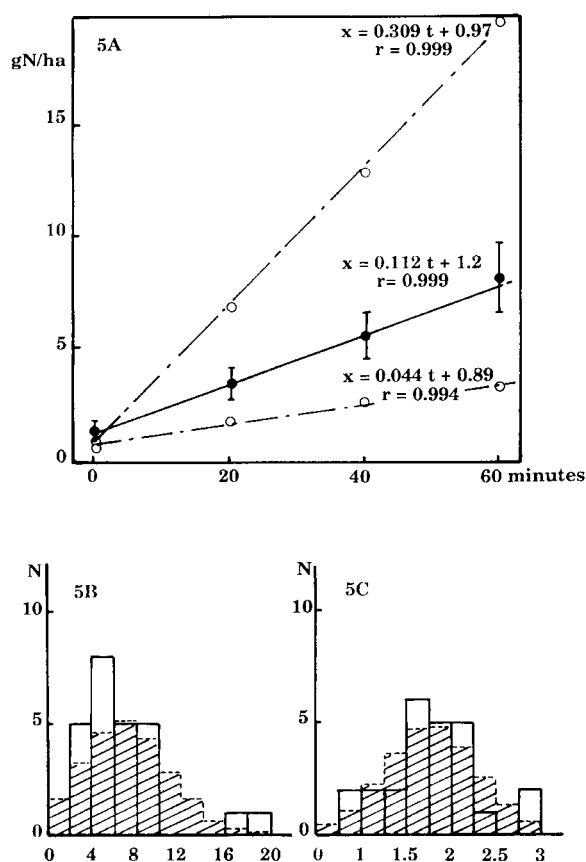


Fig 5. Étude du dégagement de N_2O *in situ* sur un essai comprenant 25 répétitions, après traitement du sol par C_2H_2 (in Germon *et al*, 1985). **A.** Cinétique moyenne avec les intervalles de confiance à 5% et cinétiques extrêmes. **B.** Distribution des vitesses de dégagement ($g N \cdot ha^{-1} \cdot j^{-1}$). **C.** Distribution des valeurs log-transformées des vitesses de dégagement. ●—● Cinétique moyenne avec les intervalles de confiance ; ○—○ cinétiques extrêmes ; □ distributions observées ; ▨ distributions théoriques normales correspondant aux distributions observées ; N nombre d'échantillons ($\Sigma N = 25$).

l'on trouve dans la littérature : on observe à partir du sol en place traité par l'acétylène des cinétiques de dégagement de N_2O généralement linéaires avec le temps, et qui, dans la majorité des cas, ne nécessitent pas d'utiliser le mode de calcul proposé par Hutchinson et Mosier (1981) pour prendre en compte un ralentissement du transfert lié à l'accumulation du N_2O dans l'enceinte ; les mesures sur une surface restreinte présentent une grande variabilité spatiale et la distribution des mesures est en général, mais pas toujours, de type log-normal. Cela conduit à l'usage de modes de calculs adaptés prenant en compte la distorsion des distributions (Parkin *et al*, 1988 ; 1990). Ce type d'observation est partagé par pratiquement tous les auteurs ; la variabilité est souvent bien supérieure à celle observée ici, avec des coefficients de variation qui peuvent atteindre de 100 à 500% (Folorunso et Rolston, 1984, 1985 ; Parkin *et al*, 1987 ; Myrold, 1988 ; Aulakh *et al*, 1992). Cette variabilité apparaît de façon prépondérante à très petite échelle (Parkin, 1990) et peut être expliquée au moins en partie par l'hétérogénéité de la distribution de la matière organique (Parkin, 1987 ; Christensen *et al*, 1990) ; la répétition des mesures au cours de l'année ou d'un cycle cultural permet de caractériser le déroulement de la dénitrification qui se manifeste souvent par succession de pulses fortement liés à l'humidité ou à des événements dépendant de la gestion du sol (épandage de fertilisants, travail du sol) ; les extrapolations quantitatives, tirées de ce type de cinétiques, doivent être faites avec prudence dans la mesure où l'on passe de flux observés à un moment de la journée sur quelques dm^2 , à des flux moyens rapportés à la journée (voire à la semaine) et à l'hectare. Il importe notamment d'avoir à l'esprit que les flux mesurés correspondent aux caractéristiques de transfert du sol au moment de la mesure et ne reflètent pas forcément les quantités de N_2O produites dans le sol au même moment ; le décalage entre la production et le dégagement peut aller au-delà de plusieurs jours dans les sols où les conditions de diffusion sont difficiles : la seule façon de quantifier correctement le phénomène serait d'effectuer un suivi de mesures pendant toute la période où N_2O est dégagé (Jury *et al*, 1982).

Les mesures de dénitrification sur cylindres de sol non remanié, incubés avec homogénéisation et recirculation des gaz

Les mesures sur sol en place se prêtent mal à l'étude analytique de la dénitrification et la variabilité des résultats conduit à multiplier les répéti-

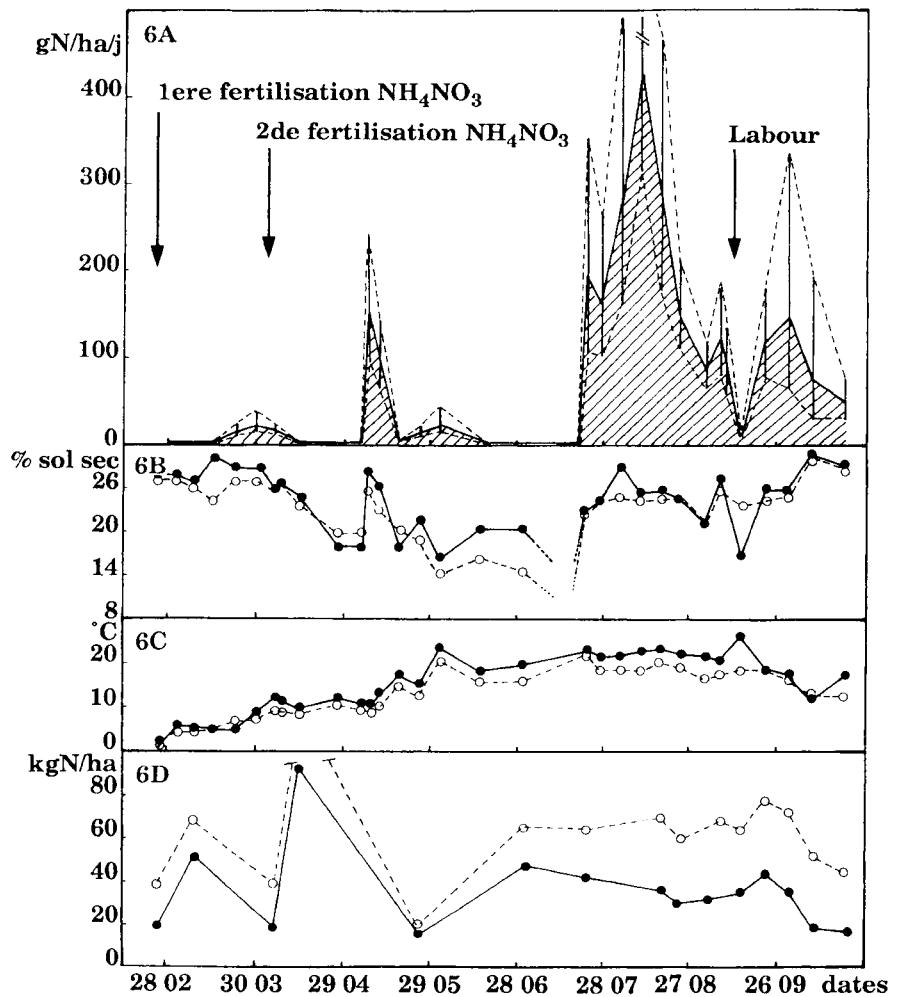


Fig 6. Suivi en parallèle de l'activité dénitrifiante et de ses paramètres de régulation dans un sol de la plaine de Dijon, cultivé en céréales (*in Germon et al, 1985*). **A.** Activité dénitrifiante ($\text{g N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$). **B.** Humidité du sol (% eau / sol sec). **C.** Température du sol ($^{\circ}\text{C}$). **D.** Teneur en nitrates ($\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$). 6B : ●—● 0–10 cm ; ○---○ 10–30 cm ; 6C : ●—● 5 cm ; ○---○ 20 cm ; 6D : ●—● 0–30 cm ; ○---○ 30–60 cm.

tions, ce qui est difficilement réalisable au champ. Cela a conduit à la mise au point de méthodologies de laboratoire permettant des mesures sur des échantillons de sol non remaniés : les *soil cores* de nos collègues américains. Pour assurer l'homogénéité de la répartition dans la porosité des sols étudiés de l'acétylène d'une part et des gaz produits d'autre part, certains auteurs ont adopté des systèmes à circulation de gaz à travers les échantillons prélevés.

Parkin *et al* (1984) ont décrit une méthode dans laquelle des éprouvettes de sol de 4,7 cm x 20 cm sont prélevées à l'aide d'un carottier qui permet de garder les échantillons dans leur état structural avec un compactage sinon nul du moins réduit. Ces échantillons sont alors placés dans un système d'incubation à atmosphère recyclée dont la composition des gaz et le rythme de fonctionnement peuvent être réglés.

En opérant sur 2 sols différents et en les soumettant à un recyclage d'air enrichi à 20% de C₂H₂ et contenant 18% d'O₂ ces auteurs montrent que :

- i) après une courte phase de latence correspondant à la répartition de l'acétylène, la vitesse de production de N₂O apparaît constante pendant plusieurs heures ;
- ii) la vitesse de dégagement mesurée avec la recirculation des gaz est plus élevée que celle observée sur des échantillons sans recirculation, la différence de vitesse pouvant être expliquée par une accélération des transferts de gaz et une meilleure correspondance entre les quantités de N₂O produites et mesurées ;
- iii) le passage d'un rythme de circulation des gaz intermittent (2 min durant chaque prélèvement) à une circulation continue ne modifie pas la vitesse de dégagement du N₂O ;
- iv) la vitesse de dénitrification des échantillons de sol n'est pas altérée par une conservation des sols plusieurs jours à 4°C, ce qui peut permettre d'étaler les mesures dans le temps.

Ce type de dispositif a été utilisé pour étudier l'effet du niveau d'oxygénation sur la vitesse de dénitrification (Parkin et Tiedje, 1984). Celle-ci apparaît assez peu sensible aux variations de

concentration en O_2 situées entre 20 et 5%, corroborant ainsi les observations précédentes sur l'effet de la circulation des gaz : en revanche elle est très fortement accélérée lorsque la concentration descend en dessous de 2%.

Nous avons nous-mêmes développé une méthodologie semblable (Germon *et al.*, 1985 ; Germon et Jacques, 1990 ; Hénault, 1993 ; fig 7) qui nous a permis de caractériser sur une même série d'échantillons les vitesses de production naturelle de N_2O et les vitesses de dénitrification (fig 8), de réaliser des comparaisons de vitesse sur des sols placés en conditions semblables, ou de caractériser l'aptitude à dénitrifier de différents horizons d'un sol (fig 9). Cette méthodologie a servi de support expérimental à la mise au point d'un modèle de prévision de la dénitrification dans les sols (Hénault, 1993).

Cette approche, qui peut sembler assez lourde à gérer, apparaît cependant comme un outil de choix pour conduire des études expérimentales complétant les mesures faites au champ (Tiedje *et al.*, 1989).

Les mesures de dénitrification sur cylindres de sol non remanié incubés statiquement

Plutôt que de réaliser des mesures de dénitrification sur sols en place traités par l'acétylène, différents auteurs ont préféré quantifier cette transformation en suivant l'accumulation de N_2O à partir d'échantillons de sol aussi peu perturbés que possible structuralement et placés dans des

enceintes fermées dont l'atmosphère est enrichie en acétylène. Aulakh *et al.* (1982) ont décrit les premiers une méthodologie de ce type, en faisant incubé pendant 24 h à la température du terrain des carottes de sol de 6 x 15 cm prélevées dans des cylindres d'aluminium percés latéralement pour améliorer les transferts de gaz, et placés dans des bocaux fermés, dont l'atmosphère a été enrichie à 5% en C_2H_2 .

Cette méthode a été largement développée avec des variantes pour réaliser des mesures quantitatives dans différentes situations et notamment par Burton et Beauchamp (1984), par l'équipe de Tiedje qui l'utilise parallèlement à la méthode avec recirculation des gaz (Robertson *et al.*, 1987 ; Groffman et Tiedje, 1989), par des équipes qui font des comparaisons de méthodes (Ryden *et al.*, 1987 ; Aulakh *et al.*, 1991 ; Arah *et al.*, 1991) ou des études statistiques nécessitant un grand nombre de mesures (Pennock *et al.*, 1992). Les principales variantes de la méthodes portent sur le diamètre des échantillons traités (1,7 à 6 cm), sur la concentration en acétylène (5 ou 10 kPa la plupart du temps) et le temps d'incubation (0 à 6 h, 2 à 6 h ou souvent 0 à 24 h) ; les incubations sont réalisées tantôt dans le sol, tantôt à température contrôlée au laboratoire.

La méthode a l'avantage de la simplicité : sa principale limite tient à la capacité des gaz à diffuser dans la porosité, ce qui a conduit à différents aménagements pour faciliter cette diffusion

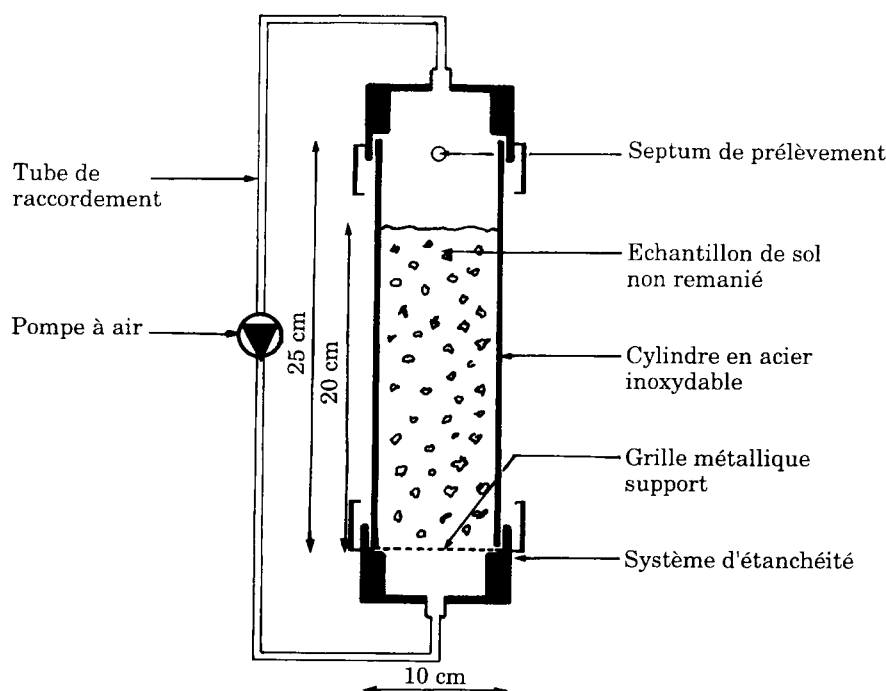


Fig 7. Schéma du dispositif d'incubation utilisé pour les mesures de dénitrification sur des échantillons de sol non remanié (*in* Hénault, 1993).

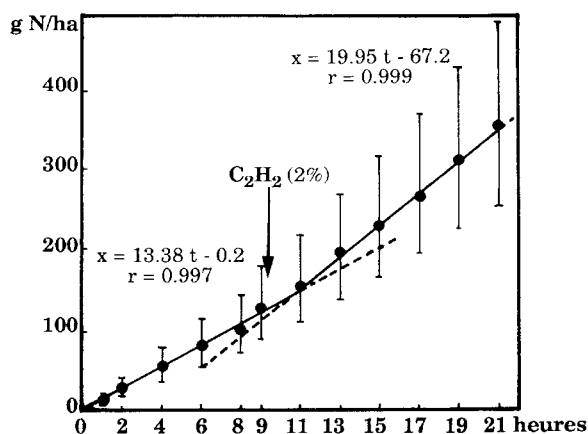


Fig 8. Cinétique de production de N₂O à partir de 33 cylindres d'un même sol non remaniés incubant d'abord en absence puis en présence de 2% de C₂H₂ ; valeurs moyennes et intervalles de confiance à 5% calculés selon une distribution log-normale (in Germon et Jacques, 1990).

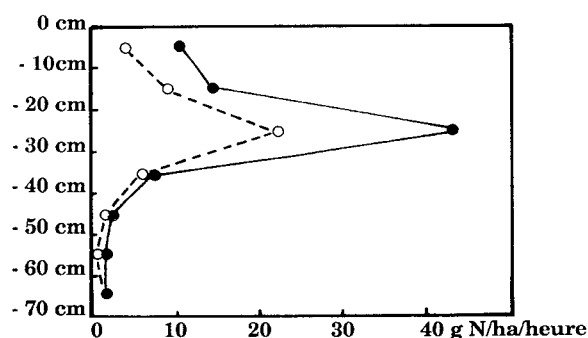


Fig 9. Variation des vitesses de production de N₂O dans des cylindres d'un sol non remanié prélevés à différentes profondeurs, enrichis en nitrate et incubés en présence d'air recirculé périodiquement (in Germon et Jacques, 1990). ●—● avec acétylène (2 %) ; ○—○ sans acétylène.

à travers les surfaces latérales des échantillons de sol, voire à des homogénéisations par des pompages successifs, ou d'autres moyens de faire varier la pression, lors de l'introduction de l'acétylène puis lors des prélèvements d'échantillons, la méthode n'étant plus complètement statique (Robertson *et al*, 1987 ; Myrold, 1988 ; Groffman et Tiedje, 1989 ; Pennock *et al*, 1992).

Comparaison des différentes méthodes de mesures utilisées : validité des résultats obtenus

Il a été relativement aisé de démontrer la fiabilité des méthodes d'étude de la dénitrification en dispositifs clos de laboratoire et de vérifier que l'usage de l'acétylène donnait des résultats beaucoup plus faciles à obtenir et au moins aussi précis que ceux obtenus avec d'autres méthodes

(Yoshinari *et al*, 1977 ; Smith *et al*, 1978 ; Ryden *et al*, 1979).

Il a été plus difficile de tester la validité des méthodes de mesure au champ en l'absence de méthode de référence réellement incontestée. Quelques auteurs ont pris comme éléments de base les défauts de bilan ¹⁵N auxquels ils ont comparé les résultats obtenus avec les autres méthodes de mesure disponibles (tableau II). Les résultats de ces comparaisons permettent rarement de confirmer ou d'infirmer clairement les hypothèses sous-jacentes :

i) ainsi Aulakh *et al* (1983, 1984) trouvent-ils un bon accord entre les dégagements de N₂O en présence de C₂H₂ et les défauts de bilan ¹⁵N ; cependant ils ne prennent pas en compte l'azote minéral fourni par le sol ;

ii) Parkin *et al* (1985) comparent la production de N₂O en présence d'acétylène à l'évolution du stock d'azote nitrique marqué au ¹⁵N. Si la réorganisation du nitrate peut être considérée comme négligeable, les 2 quantités peuvent être comparées : cependant seule la large dispersion des données permet de dire que les 2 méthodes de mesure donnent des résultats non significativement différents alors que, dans les 3 situations, le dégagement gazeux donne des valeurs moyennes de 1,5 à 3 fois inférieures à celles des défauts de bilan ;

iii) dans la comparaison que nous avons faite sur une série de minilysimètres, la valeur moyenne du défaut de bilan est 2,7 fois celle mesurée par les pertes gazeuses, différence significative mais proche du seuil de signification (Germon *et al*, 1985). En revanche, dans un essai réalisé directement au champ (Germon et Couton, 1989), le niveau du défaut du bilan est tout à fait classique (16,4 ± 8,4 % de l'azote apporté), soit une perte de 24,4 kg d'azote marqué alors que sur la même période les flux gazeux mesurés et cumulés n'atteignent que 2,1 kg.ha⁻¹ : la différence est encore plus accentuée si l'on prend en compte l'azote minéral fourni par le sol ;

iv) Goulding *et al* (1993) arrivent à des conclusions semblables dans la comparaison faite sur un sol de prairie retourné, avec des pertes gazeuses mesurées de 8 kg.ha⁻¹ et des pertes calculées à partir du bilan de 32 kg.ha⁻¹. En revanche dans une autre parcelle arable les 2 valeurs sont du même ordre de grandeur.

Les comparaisons de résultats obtenus à partir des différentes méthodes de mesure directe des flux gazeux donnent dans l'ensemble des informations plus convergentes entre elles : il est ainsi des mesures de dégagement des pro-

Tableau II. Comparaisons des estimations de pertes d'azote par défaut de bilan azoté et de la dénitrification par différentes méthodes de mesure des gaz émis.

Type de sol Site expérimental Conditions de culture	Sources et quantité ^a ¹⁵ N apportée (kg.ha ⁻¹) sauf autre indication	Durée de la mesure et unités de mesure utilisées	Déficit de bilan ¹⁵ N	Dégagement ¹⁵ N gazeux	Méthodes de mesure des gaz émis ¹⁵ N ₂ O inhibition C ₂ H ₂ Enceintes terrains Cylindres de sol	Références
Limon fin Simas, Californie, États-Unis Labouré, céleri, irrigué	KNO ₃ 6,3	170 h µg ¹⁵ N		336	392	Ryden <i>et al.</i> , 1979
Chernozems Prairie canadienne Labouré, blé, 2 parcelles	(NH ₄) ₂ SO ₄ 50	Période de végétation kg N.ha ⁻¹	1,2-2,3 A		1,2-1,8 A	Aulakh <i>et al.</i> , 1983b
Chernozem Prairie canadienne Labouré, blé	(NH ₄) ₂ SO ₄ 100	Période de végétation kg N.ha ⁻¹	4,6-6,6 A		4,3-7,2 A	Aulakh <i>et al.</i> , 1984b
Chernozem Prairie canadienne Sol non labouré, blé	(NH ₄) ₂ SO ₄ 100	Période de végétation kg N.ha ⁻¹	11,2-20,9 A		11,9-22,5 A	Aulakh <i>et al.</i> , 1984b
Limon sableux Michigan, États-Unis Jachère après culture	NH ₄ NO ₃ 14,2	30 j mg N.kg sol ⁻¹ c	1,8 (0-3,7) A		1,1 (0,6-2,1)	A Parkin <i>et al.</i> , 1985
Argilo-limoneux Michigan, États-Unis Jachère après culture	KNO ₃ 4,4	30 j mg N.kg sol ⁻¹ c	6,7 (4,4-9) A		2,2 (0,9-5,2)	A Parkin <i>et al.</i> , 1985
Argilo-limoneux Michigan, États-Unis Colonne de sol remanié ^b	KNO ₃ 6 mg.kg ⁻¹	30 j mg N.kg sol ⁻¹ c	6,0 (0,8-11,9) A		2,1 (0,9-5)	A Parkin <i>et al.</i> , 1985

Tableau II (cont).

Argilo-limoneux Dijon Lysimètres, Ray grass ^b	KNO ₃ 800	5 mois mg ¹⁵ N.lysimètre ⁻¹	77,3 (63,6-91)A	29,7 (16,4-81,7)B	Germon <i>et al.</i> , 1985
Argilo-limoneux Fort Collins, États-Unis Labouré, orge irriguée	(NH ₄) ₂ SO ₄ 800	Période de végétation % fertilisant apporté	4 ^A	1,5 ^A	Mosier <i>et al.</i> , 1986a
Argilo-limoneux, Fort Collins, États-Unis Jachère nue	(NH ₄) ₂ SO ₄ 200	16 j kg N.ha ⁻¹	9 ^A	12 ^A	Mosier <i>et al.</i> , 1986b
Limons argileux mal drainés North Wyke, Royaume-Uni Prairie permanente	Ca (NO ₃) ₂ 100	3 j/2 sem kg N.ha ⁻¹ .jour ⁻¹	0,013-0,020	0,30-1,77	Ryden <i>et al.</i> , 1987 ^d
Argilo-limoneux, Dijon Labouré, blé	NH ₄ NO ₃ 149	Période de végétation kg N.ha ⁻¹	24,4 (12-36,8)	2,1	Germon et Couton, 1989
Limons argileux Nebraska, États-Unis Non labouré, jachère	KNO ₃ 50	4 j g N.ha ⁻¹	190 ^B	173 ^B	Aulakh <i>et al.</i> , 1991
Limoneux Rothamsted, Royaume-Uni Sol arable labouré, blé	KNO ₃ 222,3	Période de végétation % fertilisant apporté	1,5 (±7)	5,3 (±2)	Goulding <i>et al.</i> , 1993
Limoneux Rothamsted, Royaume-Uni Sol de prairie retourné, blé	KNO ₃ 222,3	Période de végétation % fertilisant apporté	11,5 (±7)	3,6 (±2)	Goulding <i>et al.</i> , 1993

Les valeurs sont des estimations moyennes accompagnées des intervalles de confiance donnés par les auteurs et des indications des comparaisons statistiques réalisées. ^A Valeurs non significativement différentes au seuil de 5% ; ^B valeurs significativement différentes au seuil de 5%. ^a Toutes les expérimentations comportent un traitement ¹⁵N sauf cell de Ryden *et al.* (1987). ^b Toutes les mesures sont faites à partir d'essais au champ à l'exclusion d'un essai sur colonne de laboratoire (Parkin *et al.*, 1985) et d'un essai en lysimètres (Germon *et al.*, 1985). ^c Les bilans donnés par Parkin *et al.* (1985) ne sont pas des bilans sur l'azote total mais un bilan d'évolution des nitrates marqués. ^d Cette expérimentation de Ryden *et al.* (1987) est accompagnée de 3 autres expérimentations indiquant une très bonne corrélation entre les 2 méthodes de mesures testées.

duits azotés marqués et des mesures de N_2O après traitement par l'acétylène (Ryden *et al*, 1979 ; Mosier *et al*, 1986 ; Aulakh *et al*, 1991). La comparaison des résultats avec les enceintes en place et les carottes de sol non remanié peuvent conduire à des résultats tout à fait cohérents sur une large gamme de vitesses de dénitrification (fig 10 : Ryden *et al*, 1987) : ce type de comparaison peut aussi mettre en évidence des divergences susceptibles d'être expliquées par les propriétés défectueuses du sol ou un protocole inapproprié et conduire à adapter les méthodes de mesure. Ainsi des mesures sur plusieurs jours sur des cylindres de sol non remanié ne permettent pas de prendre en compte les variations d'humidité du terrain et peuvent conduire à des résultats erronés (Aulakh *et al*, 1991) ; de la même façon, sur un sol très engorgé, des mesures sur des petits cylindres de sol non remanié permettent de mieux rendre compte de la dénitrification que les mesures *in situ* à l'aide d'enceintes (Ryden *et al*, 1987).

Ces comparaisons conduisent à souligner plusieurs points :

i) nous disposons actuellement d'un ensemble de méthodes qui permettent de quantifier correctement la dénitrification sous réserve d'être utilisées à bon escient, et qui sont susceptibles d'être encore améliorées (homogénéisation isotopique des composés gazeux par arc électrique). Le choix de ces méthodes, souvent complémentaires, dépend des contraintes expé-

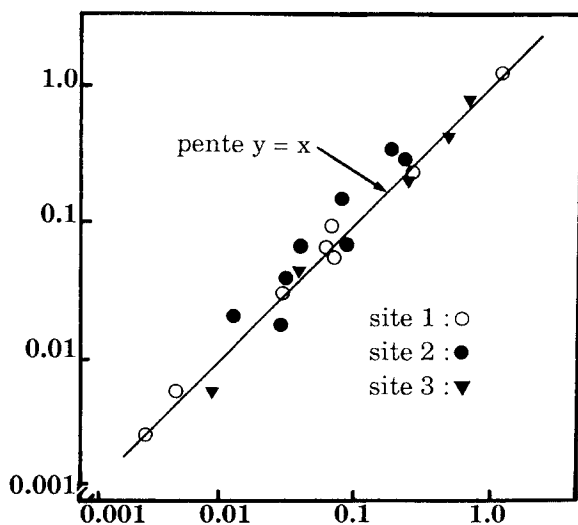


Fig 10. Comparaison des vitesses de dénitrification ($kg\ N.ha^{-1}.j^{-1}$) mesurées à l'aide de la méthode d'inhibition par l'acétylène, d'une part par mesure de l'accumulation de N_2O sous enceintes implantées à la surface du sol (x), d'autre part par accumulation de N_2O à partir de cylindres de sol non remanié placés dans des vases clos à la température du champ (y) dans 3 sites différents (in Ryden *et al*, 1987). ○ site 1 ; ● site 2 ; ▼ site 3.

mentales et des objectifs poursuivis : ainsi la diffusion de C_2H_2 sur sol en place avec enceintes en surface doit plutôt être utilisée dans le cas de sols bien structurés tandis que dans le cas de sols plus compacts le système à recirculation est préférable avec un système de contrôle éventuel de la composition du gaz recyclé ;

ii) quelle que soit la méthode retenue, il importe d'avoir des éléments de comparaison avec une ou plusieurs autres méthodes pour éviter des erreurs systématiques ;

iii) les défauts de bilan restent la méthode de base pour évaluer les pertes d'azote dans un système, mais il est abusif de les identifier aux seules pertes par dénitrification qui souvent n'en représentent qu'entre un tiers et la moitié (Nieder *et al*, 1989).

Les estimations disponibles sur la dénitrification dans les sols

Les données rassemblées dans le tableau III sont issues de la littérature ou des résultats de notre laboratoire et proviennent d'expérimentations au champ conduites sur des durées de quelques mois à un an. Elles nous amènent à plusieurs conclusions :

i) la plupart des mesures de dénitrification en sols cultivés de régions tempérées ont été réalisées sur culture de céréales. Dans ces conditions, avec des sols en général correctement drainés et des fertilisations azotées non excessives, les pertes azotées mesurées se situent entre quelques kg et moins de $30\ kg.ha^{-1}$. Ceci nous conduit à penser avec plusieurs autres auteurs (Mosier *et al*, 1986 ; Duxbury et Mc Connaughey, 1986 ; Nieder *et al*, 1989) que l'importance attribuée à la dénitrification dans de tels milieux a vraisemblablement été surestimée. Ceci n'exclut pas que, dans des situations particulières (en présence d'amendements importants en matière organique ou en parcelles surfertilisées et contenant de forts excédents d'azote nitrique) ou dans des milieux sensiblement différents au niveau du fonctionnement hydrique, les pertes par dénitrification puissent être différentes. Ainsi les quelques données sur les sols de Californie en culture de légumes abondamment irrigués et fertilisés (Ryden et Lund, 1980) ou dans le système expérimental de Rolston *et al* (1982) donnent des valeurs beaucoup plus élevées, pouvant dépasser $200\ kg\ N.ha^{-1}.an^{-1}$;

ii) les mesures obtenues sur sols de prairie et présentées dans ce tableau n'apparaissent pas beaucoup plus importantes que celles sur sols

cultivés ; cependant à partir des données disponibles et des comparaisons possibles au niveau régional, la dénitrification semble avoir un fonctionnement plus soutenu en sol de prairie qu'en sol cultivé (Ryden, 1983 ; Germon et Couton, 1989 ; Jarvis *et al*, 1991). Nous manquons cependant de données pour tenter d'apprécier l'effet spécifique de l'enrichissement en matière organique dans ce type de sol, celui des épandages d'effluents ou celui du retournement de la prairie sur la dénitrification au cours du cycle cultural suivant ;

iii) les données de ce tableau sur les sols forestiers sont peu abondantes mais soulignent que la dénitrification ne doit pas être négligée dans ce type d'écosystème (Groffman et Tiedje, 1989 ; Struwe et Kjoller, 1991).

Estimation de la dénitrification à l'échelle de la parcelle à l'aide de modèles prévisionnels

L'examen de la littérature et nos propres expérimentations nous ont montré l'extrême variabilité des mesures de dénitrification et la difficulté d'évaluer les quantités d'azote mises en jeu par cette transformation à l'échelle d'une parcelle au cours d'un cycle cultural, surface et durée opérationnelles au plan agronomique. On peut observer cependant une grande cohérence de la littérature sur les facteurs de régulation à cette échelle : humidité ou état d'aération, disponibilité en carbone organique ou activité respiratoire, disponibilité en nitrates, température, éventuellement pH (Rolston, 1990). Il apparaît donc intéressant de tenter une approche d'évaluation des flux à partir des mesures des facteurs de régulation sur le sol en place, mesures assez facilement accessibles, plutôt qu'une quantification directe, généralement lourde à mettre en œuvre. La méthode de prévision sera d'autant plus opérationnelle qu'elle sera extrapolable d'un site à un autre. Rolston (1990) a passé en revue les différents types de modèles de prédiction qui ont été proposés :

i) les modèles stochastiques définissent des fonctions de densité de probabilité d'une transformation étudiée à partir de distributions observées. Ainsi, Parkin et Robinson (1989) essaient de prévoir l'activité dénitrifiante d'un sol à partir de 2 variables principales, l'activité dénitrifiante enzymatique potentielle et la vitesse de production de CO₂, dont ils ont étudié les distributions. Les fonctions de densité de probabilité établies sont utilisées comme paramètres d'entrée dans leur modèle de simulation qui rend compte de

façon satisfaisante des distributions de fréquence, des valeurs moyennes et des variances, mais qui ne permet qu'une médiocre prédiction point par point ($r^2 = 0,34$). Cette approche prédictive est jusqu'à maintenant peu utilisée ;

ii) les modèles déterministes ont pour objectif de calculer les flux ou les quantités d'azote mises en jeu à partir de lois ou de relations préétablies et peuvent être séparés en modèles mécanistes, empiriques, ou mixtes.

Les modèles mécanistes essaient de décrire la dénitrification à partir de lois physiques et biologiques connues, prenant principalement en compte les phénomènes de transfert, les cinétiques enzymatiques et la croissance microbienne. De tels modèles ont été proposés pour décrire le fonctionnement dénitrifiant d'agrégats de sol, basé sur l'estimation de leur fraction en état d'anoxie à partir de la description de l'activité respiratoire et des transferts d'oxygène (Leffelaar, 1979, 1986 ; Smith, 1980 ; McConnaughey et Bouldin, 1985 ; Myrold et Tiedje, 1985 ; Arah, 1989 ; Renault et Stengel, 1994 ; Renault et Sierra, 1994). La description du fonctionnement de cylindres de sol non remanié laisse penser que de tels modèles devraient pouvoir être transposés à cette échelle moyennant des adaptations (Parkin et Tiedje, 1984).

De nombreux modèles empiriques reposant sur l'élaboration de relations statistiques ont été fréquemment proposés pour décrire la dénitrification à différentes échelles, de l'échantillon de sol (Standford *et al*, 1975 ; Germon *et al*, 1983 ; Reddy *et al*, 1982), à la parcelle cultivée (Lalisse-Grundmann *et al*, 1983 ; Burton et Beauchamp, 1985 ; Myrold, 1988 ; Jarvis *et al*, 1991), ou à celle d'entités plus larges (Groffman et Tiedje, 1989). Alors que, au niveau de l'échantillon de sol, beaucoup de travaux ont caractérisé les relations entre la dénitrification et la disponibilité en carbone, les paramètres généralement retenus pour les modèles au champ sont l'humidité du sol, la température, la concentration en nitrate, la respiration ou la production de CO₂. Ces derniers modèles sont établis dans des situations déterminées et leur généralisation à d'autres situations est difficilement envisageable.

Plusieurs auteurs ont combiné les 2 approches précédentes pour mettre au point des modèles mixtes, mécanistes-empiriques, intégrant des lois de fonctionnement à caractère universel et des relations définies statistiquement. Appartiennent à ce type de modèle ceux proposés par Hagin *et al* (1976), Rolston *et al* (1984), Mosier et Parton (1985), Johnsson *et al* (1987),

Tableau III. Mesures de dénitrification sur des longues périodes sur sols cultivés, sols de prairie et sols forestiers.

Type de sol Localisation	Usage du sol Type de culture	Source et quantité N apportée (kg ha ⁻¹)	Période mesures	Méthode utilisée a	Quantité N dénitrifié (kg ha ⁻¹)	Auteurs
Limon fin Simas, CA, États-Unis	Culture de céleris irrigués	(NH ₄) ₂ SO ₄ , Urée Ammoniac ; 335	Juin/octobre 123 j	Enceintes	51,2	Ryden <i>et al.</i> , 1979b
Limon fin Vallée Santa Maria, CA, États-Unis	Culture de légumes irrigués	N organique et minéral des fertilisants et eaux ; 430 à 680	1 an	Enceintes	95 à 233	Ryden et Lund, 1980
Chemozem Prairie canadienne	Labouré blé ; 2 parcelles	(NH ₄) ₂ SO ₄ ; 50	26 mai/31 août	Cylindres non remaniés (0-15 cm) statiques	1,2 et 1,8	Aulakh <i>et al.</i> , 1984a
Chemozem Prairie canadienne	Labouré ; blé ; 2 essais Non labouré ; blé ; 3 essais Jachère ; 3 essais	Urée ; 45-75 Urée ; 45-75 0	1 an 1 an 1 an	Cylindres non remaniés (0-15 cm) statiques	3,3 et 6,9 11,7 à 15,8 12,2 à 33,6	Aulakh <i>et al.</i> , 1984a
Argileux, hydromorphe Hanovre, Allemagne	Jachère	Ca(NO ₃) ₂ , NH ₄ NO ₃ ; 160-320	Début mai à fin octobre	Enceintes	10	Rheinbaben et Trolldenier, 1984
Argilo-limoneux, brun calcaire Dijon-Tart, France	Labouré ; blé	NH ₄ NO ₃ ; 155	1 février/20 octobre 1982	Enceintes	15,9 (9,9-26,5)	Germon <i>et al.</i> , 1985
Limoneux, brun calcaire Dijon-Cîteaux, France	Labouré ; blé	NH ₄ NO ₃ ; 153	1 mars/18 octobre 1983	Enceintes	10,4 (5,6-19,9)	Germon <i>et al.</i> , 1985
Argilo-limoneux, brun calcaire Dijon-Flagey, France	Labouré ; blé	NH ₄ NO ₃ ; 150	1 mars/13 octobre 1983	Enceintes	3,0 (1,9-4,9)	Germon <i>et al.</i> , 1985
Limon sableux Caldwell, Cornell, États-Unis	Labouré ; maïs	Ca (NO ₃) ₂ ; 120 Urée ; 120	5 juillet au 28 septembre 1981	Enceintes Enceintes	2,3 4,9	Duxburry et McConnaughey, 1986
Limon sableux Branschwieg, Allemagne	Labouré ; Betteraves sucrières	? ; 180	Début avril à fin octobre	Enceintes	12	Benckiser <i>et al.</i> , 1986
Argilo-limoneux Fort Collins, États-Unis	Labouré et irrigué ; maïs Labouré et irrigué ; orge	(NH ₄) ₂ SO ₄ ; 200 (NH ₄) ₂ SO ₄ ; 200	1 ^{er} mai/31 août 82 1 ^{er} mai/31 juillet 83	Enceintes ¹⁵ N gazeux	4,5 1,5	Mosier <i>et al.</i> , 1986a
Sol hydromorphe As, Norvège	Labouré, non compacté, céréales Labouré, compacté, céréales	Engrais divers ; environ 100	Fin mai à début août	Cylindre non remaniés	3 à 5 15 à 20	Bakken <i>et al.</i> , 1987
Argileux Denchworth, Royaume-Uni	Non labouré, drainé, blé Non labouré, non drainé, blé	NH ₄ NO ₃ ; 150 NH ₄ NO ₃ + Ca (NO ₃) ₂ ; 150	Début novembre à début juin	Enceintes Enceintes	9 14	Colbourn et Harper, 1987

Tableau III (cont).

Limons sableux Orégon, États-Unis	Labouré, ray grass annuel Labouré, blé d'hiver	? ; 107 ? ; 203	1 an	Cylindres non remaniés statiques	0,7 1,7	Myrold, 1988
Argilo-limoneux, brun calcaire Dijon-Tart, France	Labouré, blé	NH ₄ NO ₃ ; 150	1 ^{er} mars/ 15 septembre 85	Enceintes	2,1 (0,8-5,5)	Germon et Couton, 1989
Limoneux, Rothamsted, Royaume-Uni	Labouré après culture, blé Labouré après prairie, blé	KNO ₃ ; 222 KNO ₃ ; 222	25 mai/10 juin 25 mai/10 juin	Enceintes Enceintes	11,8 8,0	Goulding <i>et al.</i> , 1993
Argilo-limoneux Berkshire, Royaume-Uni	Prairie permanente	NH ₄ NO ₃ ; 0 NH ₄ NO ₃ ; 250 NH ₄ NO ₃ ; 500	1 an 1 an 1 an	Enceintes Enceintes Enceintes	1,6 11,1 29,1	Ryden, 1983
Argileux, Hanovre, Allemagne	Prairie	Ca NO ₃ /2, NH ₄ NO ₃ ; 160-320	1 ^{er} mai au 30 octobre	Enceintes	1-2	Rheinbaben et Troldenier, 1984
Hydromorphe, Édimbourg, Royaume-Uni	Prairie	Ca (NO ₃) ₂ ; 500 Lisier ; 500	1 an	Enceintes Enceintes	35,4 6,4	Eggington et Smith, 1986
Argilo-limoneux, Dijon-Tart, France	Prairie permanente	NH ₄ NO ₃ ; 120	1 ^{er} mars 15 septembre 85	Enceintes	17,6	Germon et Couton, 1989
Limoneux, Dijon-Cîteaux, France	Prairie temporaire	NH ₄ NO ₃ ; 100 + Lisier ; 393	15 mars au 15 septembre 85	Enceintes	19,1	Germon et Couton, 1989
Dijon-Cîteaux, France	Prairie temporaire	Lisier ; 393		Enceintes	15,2	Germon et Couton, 1989
Limon, Hurley, Royaume-Uni	Prairie pâturée	? ; 450	1 an	Cylindres non remaniés statiques	19,2	Jarvis <i>et al.</i> , 1991
Limon fin, Jealotts Hill, Royaume-Uni	Prairie pâturée	? ; 450	1 an	Cylindres non remaniés statiques	47,5	Jarvis <i>et al.</i> , 1991
Limoneux, Michigan, États-Unis	Sols forestiers	0	1 an	Cylindres non remaniés statiques	10 à 24	Groffman et Tiedje, 1989a
Argilo-limoneux ; Michigan, États-Unis	Sols forestiers	0	1 an	Cylindres non remaniés statiques	17 à 40	Groffman et Tiedje, 1989a
Sableux ; Michigan, États-Unis	Sols forestiers	0	1 an	Cylindres non remaniés statiques	0,5 à 0,8	Groffman et Tiedje, 1989a
Sol humique, humide Danemark	Sols forestiers	0	1 an	Sol en l'état en foies	1,3	Struwe et Kjoller, 1991

a Méthode utilisée : sauf indication contraire, toutes ces mesures ont utilisé l'acétylène. «Enceintes» signifie qu'il s'agit de mesures au champ avec collecte de N₂O sous enceintes.

Elliot et de Jong (1993). Ces modèles considèrent généralement l'activité dénitrifiante comme le produit de plusieurs fonctions (Rolston, 1990). Ainsi celui proposé par Rolston *et al* (1984), est de la forme :

$$F = k_1 \cdot q \cdot f_w \cdot f_t \cdot c_w \cdot N$$

dans laquelle F est l'activité dénitrifiante ; k_1 , la constante de vitesse du sol ; q , la teneur en eau ; c_w , la teneur en carbone assimilable ; N , la teneur en nitrates ; f_w et f_t , des fonctions empiriques sans dimension traduisant les effets spécifiques de l'humidité, et de la température. La fonction humidité, tirée initialement des observations de ces auteurs et du travail de Nommick (1956), a été définie avec plus de précision par Grundmann et Rolston (1987), qui confirment que la dénitrification ne se manifeste qu'à un niveau d'humidité supérieur à 60% de la saturation et croît ensuite de façon exponentielle avec ce paramètre. L'application de ce modèle à 64 sites de mesure sur un même transect d'une parcelle expérimentale montre qu'il permet de décrire de façon satisfaisante le comportement d'ensemble de la dénitrification dans l'espace, mais ne permet pas de faire une estimation précise à chaque endroit (Grundmann *et al*, 1988 ; Rolston, 1990).

Cette approche a été complétée par Hénault (1993) pour décrire et quantifier la dénitrification au cours d'un cycle cultural. La formulation retenue intègre la disponibilité en carbone dans la mesure d'activité potentielle K , et montre l'intérêt de définir une fonction expérimentale «nitrate», F_N , de type michaélien :

$$F = K \cdot F_w \cdot F_t \cdot F_N$$

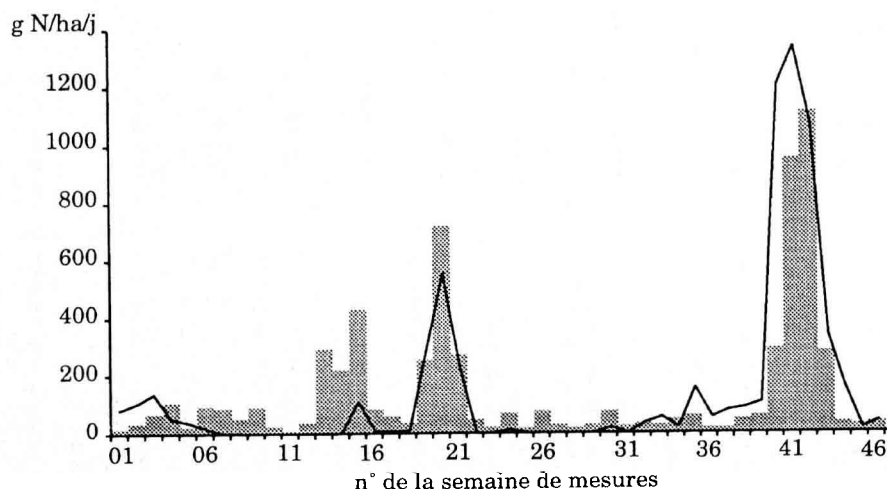


Fig 11. Comparaison entre des valeurs mesurées *in situ* et des valeurs simulées de dénitrification dans un sol de prairie (*In* : Hénault, 1993). ■ Mesures de dénitrification réalisées par Ryden, 1983. — Simulation de l'activité dénitrifiante réalisée à partir du modèle proposé par Hénault (1993) et du suivi des paramètres de régulation du sol effectué par Ryden (1983).

L'application de ce modèle à différents jeux de données expérimentales conduit à des ordres de grandeur de quantités d'azote dénitrifié en accord avec les estimations directes et montrent que le comportement dénitrifiant du sol dans son ensemble est correctement décrit au cours de l'année, mettant en évidence le caractère fugace de cette transformation. Cependant des divergences apparaissent au niveau des valeurs ponctuelles qui pourraient être expliquées par un décalage chronologique entre le flux réel et l'estimation qui en est faite (fig 11 ; Hénault, 1993).

Les estimations obtenues avec ce type d'outil prévisionnel confirment globalement les conclusions précédentes sur la faiblesse des pertes d'azote par dénitrification dans les sols cultivés normalement aérés, malgré des niveaux d'activité potentielle parfois très élevés ; ceci traduit les forts effets limitants sous nos climats de l'aération pendant la période de végétation et de la température pendant les périodes hivernales.

LA PRODUCTION DE N₂O À PARTIR DU SOL : MÉTHODES DE MESURE ET RÉSULTATS

Dès leurs premiers travaux sur la dénitrification dans la terre arable, Dehérain et Maquenne (1882) ont mis en évidence la production de protoxyde d'azote. L'origine de ce gaz a été longtemps associée à la dénitrification, ce qui a conduit à considérer la production de N₂O comme un indice de cette transformation susceptible de permettre sa quantification (Burford et Stefanson, 1973 ; Galsworthy et Burford, 1978 ; Lensi et Chalamet, 1979). Depuis une quinzaine d'années, la prise de conscience des problèmes posés par ce gaz au niveau de sa contribution à l'effet de serre et à la destruction de la couche

d'ozone (Pratt *et al*, 1977) et la mise en évidence de voies de production autres que la dénitrification ont conduit à de nombreux travaux portant sur les conditions de sa formation et de son dégagement, et sur les moyens de les contrôler. L'acuité de ces questions a été renforcée ces dernières années par les difficultés rencontrées dans l'établissement du bilan productions-transformations au niveau de la planète : les quantités de N₂O décomposées annuellement dans la stratosphère additionnées de la variation annuelle de stock de l'atmosphère sont supérieures à la somme des différentes sources de N₂O que l'on est actuellement capable d'évaluer. Jusqu'à un passé récent ce bilan entrée-sortie était équilibré par les estimations de N₂O produit lors de la combustion des carburants fossiles. Il a été montré que l'importance attribuée à cette source était la conséquence d'un artefact méthodologique (Muzio et Kramlich, 1988). Ceci conduit actuellement à la présentation de bilans déséquilibrés (tableau IV) et à des interrogations accrues sur le rôle du sol (Robertson, 1993) et des aquifères (Rice et Rogers, 1993), voire de tous les milieux aquatiques.

La possibilité de mesurer la production naturelle de N₂O à partir du sol dépend à la fois de la précision des méthodes de dosage et de l'adéquation des méthodes d'échantillonnage aux quantités mesurées. Étant données les quantités mises en jeu, sensiblement plus faibles que lors de la mesure de la dénitrification, les exigences méthodologiques sont encore plus drastiques.

Méthodes de dosage de N₂O

Quatre principales méthodes de dosage sont actuellement utilisées ou sur le point de l'être pour quantifier la production de N₂O :

- i) la spectrométrie infra-rouge a été initialement utilisée pour mesurer la production de N₂O en surface du sol par Arnold (1954) : cette méthode supplantée par la CPG demeure cependant encore utilisable, notamment pour des travaux en flux continu. Denmead (1979) décrit un dispositif reposant sur cette méthode, avec un seuil de sensibilité annoncé de 6 ppb qui lui permet de détecter des flux de N₂O aussi faibles que 36 mg N.ha⁻¹.jour⁻¹. Ryden et Rolston (1983) ont précisé les conditions d'utilisation de cette méthode ;
- ii) la CPG est actuellement la méthode de référence grâce à sa fiabilité, sa grande sensibilité, sa souplesse d'utilisation et son faible coût. Différents détecteurs sont utilisables : les catharomètres très fiables ne sont pas assez sensibles pour mesurer des variations de flux naturels, à moins de concentrer les échantillons de gaz ; les détecteurs ultra-soniques, plus sensibles que les catharomètres, ont été principalement utilisés à cette fin par Blackmer et Bremner (1977) ; les détecteurs à capture d'électrons sont actuellement les plus sensibles et les plus utilisés pour les mesures de flux en conditions naturelles. Les seuils de sensibilité atteints permettent de mesurer correctement des variations de concentration de l'ordre de 20 ppb ; cette sensibilité est améliorée par rapport à celle obtenue lors des mesures

Tableau IV. Estimations des fonctions sources et puits de N₂O au niveau de la planète. Quantités en 10⁶ t/an. D'après Watson *et al* (1990) cité par Smith (1990).

<i>Fonctions sources</i>	
Océans	1,4-2,6
Sols	
Forêts tropicales	2,2-3,7
Forêts tempérées	0,7-1,5
Combustion (carburants fossiles)	0,1-0,3
Combustion de biomasse (incendies de forêts...)	0,02-0,2
Biotransformations des fertilisants	0,01-2,2
Total des sources d'émissions	4,4-10,5
<i>Fonctions puits</i>	
Absorption par le sol	?
Photolyse dans la stratosphère	7-13
<i>Augmentation atmosphérique</i>	3-4,5

de dénitrification avec l'acétylène, par l'absence de ce gaz ;

iii) la spectrométrie de masse permet de différencier et de doser les produits formés à partir de nitrate marqué : Rolston *et al* (1976, 1978) l'ont utilisée pour établir les gradients de concentration de N_2O marqué au ^{15}N dans le sol et mesurer directement les flux en surface du sol avec une sensibilité médiocre ($1 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{jour}^{-1}$). Même en utilisant des spectromètres de masse à plus haute sensibilité (Siegel *et al*, 1982), le seuil de détection n'atteint pas celui obtenu en CPG ;

iv) des détecteurs à diode laser accordable (tunable diode laser) sont depuis peu commercialisés et devraient permettre le développement des méthodes micrométéorologiques, quasi impossibles jusqu'alors faute de détecteurs suffisamment sensibles ; les caractéristiques de ces détecteurs permettent des mesures à haute fréquence et donc des suivis de variations très rapides des concentrations et des flux des gaz analysés. Ces détecteurs ont donné des résultats sur le méthane (Kagawa *et al*, 1993) et ont été testés pour N_2O . Le seuil de sensibilité annoncé pour des dosages en continu est inférieur à la ppb (Cellier, communication personnelle).

Les méthodes de suivi des gaz dégagés

Mis à part la micrométéorologie, les autres méthodes sont identiques ou très voisines de celles utilisées pour la mesure de la dénitrification, avec une plus grande exigence de sensibilité et de précision sur le résultat final à cause des plus faibles niveaux de flux mis en jeu.

L'accumulation passive du gaz dégagé sous des enceintes placées en surface du sol est la méthode la plus fréquemment utilisée. La surface couverte est variable, de $0,01 \text{ m}^2$ (Hutchinson et Mosier, 1981) à $0,6 \text{ m}^2$ (Matthias *et al*, 1980). Il existe différentes variantes :

i) Matthias *et al* (1980) posent leur enceinte sur la surface du sol, sans pénétration dans le sol, pour ne pas modifier les flux par une perturbation de l'état de surface, et avec un système de protection pour éviter les échanges gazeux périphériques ;

ii) Hutchinson et Mosier (1981) insistent sur la nécessité de garder l'enceinte en équilibre de pression avec l'atmosphère et proposent une méthode de calcul déjà mentionnée prenant en compte l'éventuelle modification du flux imposée

par l'accumulation du gaz dans l'enceinte (Hutchinson et Livingston, 1993) ;

iii) les gaz dégagés dans l'enceinte peuvent être balayés par un courant d'air contrôlé qui permet de piéger et de concentrer N_2O sur un tamis moléculaire (Ryden *et al*, 1978), ou peuvent être directement échantillonnés dans l'enceinte pour être analysés en CPG, directement ou après concentration cryogénique (Blackmer et Bremner, 1977).

Le seuil de détection des flux mesurés dépend de la sensibilité des détecteurs : sous des enceintes enfermant un volume d'air de $0,5 \text{ l} \cdot \text{dm}^{-2}$ au dessus du sol, une détection d'augmentation de concentration de $20 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ en 30 min correspond à un flux de $0,5 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{jour}^{-1}$.

La production de N_2O peut être aussi mesurée à partir de cylindres de sol non remanié placés dans des systèmes d'incubation statique ou à recirculation de gaz. Bien que pratiquement non utilisée pour caractériser les flux en milieu naturel, cette méthodologie permet de quantifier la production de N_2O par le sol en laboratoire et d'analyser le rôle des paramètres qui la conditionnent (Germon et Jacques, 1990). La recirculation des gaz permet d'abaisser le seuil de détection; Tiedje et son groupe (1989) soulignent ainsi leur aptitude à détecter des flux de $24 \text{ mg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{jour}^{-1}$.

Les flux de N_2O pourraient être estimés aussi à partir de la détermination du gradient de concentration dans le sol et par l'application de la loi de Fick (Rolston *et al*, 1976) ; cette méthode n'a été que très peu utilisée.

Les méthodes micrométéorologiques devraient se développer après la mise au point des capteurs mentionnés précédemment : leur avantage est d'intégrer les variations de flux sur une surface assez vaste ($0,5$ à 1 ha), ce qui devrait permettre de régler au moins en partie les problèmes d'hétérogénéité rencontrés dans les mesures au niveau des parcelles. Plusieurs approches sont proposées par les bioclimatologistes (Denmead et Raupach, 1993) : celles n'exigeant des mesures qu'en un seul point géographique (méthode de corrélation eddy), mais nécessitant une zone non perturbée relativement importante autour du point de mesure et faisant appel à des hypothèses, pas toujours vérifiées, sur l'homogénéité du milieu gazeux ambiant, et celles nécessitant plusieurs points de mesure, sur des surfaces plus restreintes (méthode des bilans de masse) : cette dernière méthode a l'avantage de reposer sur des bases théoriques plus simples que la précédente et de nécessiter

moins d'hypothèses sous jacentes sur le fonctionnement du milieu (Cellier, communication personnelle).

Ces méthodes devraient connaître un développement important : cependant les appareillages actuellement disponibles permettent de mesurer des flux de N₂O de l'ordre de 10 g N.ha⁻¹.jour⁻¹, soit une sensibilité 10 fois moindre que celle obtenue par les méthodes avec enceintes et CPG ; la méthode de corrélation eddy est en voie d'utilisation pour l'étude du dégagement des NO_x qui peuvent être dosés à très faibles concentrations par chimiluminescence (Mosier, 1990).

L'état des connaissances sur les quantités de N₂O dégagées

La mesure des flux de N₂O apparaît relativement aisée au niveau d'une parcelle si l'on dispose d'un détecteur suffisamment sensible. Comme pour la dénitrification les mesures présentent une très grande variabilité spatiale avec des coefficients de variation souvent situés entre 100 et 200% et parfois au-delà (Matthias *et al*, 1980 ; Duxbury *et al*, 1982 ; Denmead et Raupach, 1993), des distributions de type log normal plutôt que normal (Germon *et al*, 1985) et une importante fluctuation journalière en relation avec les variations de température de la couche de surface du sol (fig 12 ; Blackmer *et al*, 1982 ; Denmead *et al*, 1979), et l'avancement de la réaction (Letey *et al*, 1980).

Les quantités cumulées au cours de l'année présentent aussi une grande variation en fonction des situations. Dans son travail de synthèse le

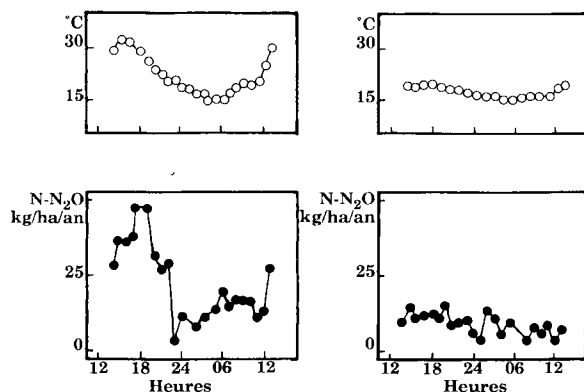


Fig 12. Variations de la température du sol à 2 cm et de la vitesse d'émission de N-N₂O au cours d'une journée de juin à partir d'un sol de jachère fertilisé, sous un site non ombragé (partie gauche) et sous un site ombragé (partie droite) (d'après Blackmer *et al*, 1982).

groupe du CAST (Pratt *et al*, 1977) avait accepté comme base de dégagement moyen de N₂O en sols cultivés un flux de 1 kg N.ha⁻¹.an⁻¹. Cette estimation semble devoir être réévaluée au vu des données plus récentes : ainsi, dans un article qui a fait référence, Duxbury *et al* (1982) indiquent des flux annuels de 0,9 à 4,2 kg N dans les sols limoneux de grande culture au nord-est des États-Unis. ; en revanche, sur des sols organiques de Floride cultivés ou en jachère, soumis à des températures et une pluviométrie plus élevées, les flux mesurés peuvent dépasser 150 kg N.ha⁻¹.an⁻¹ ; l'importance de ces flux en climat chaud et humide confirme les résultats de Ryden et Lund (1980) en Californie qui enregistraient des flux annuels de 25 à 40 kg en sols de culture légumière.

Le travail de synthèse d'Eichner (1990) rassemble un ensemble de valeurs collectées dans la littérature entre 1979 et 1987 sur une centaine d'essais différents et qui, pour la plupart, s'étaient sur une période de 3 mois à 1 an. Les flux cumulés sur ces durées sont inférieurs à 1 kg N.ha⁻¹ dans 32% des cas, compris entre 1 et 10 kg N.ha⁻¹ dans 51% des cas et supérieurs à 10 kg N.ha⁻¹ dans 17% des cas, les valeurs les plus élevées étant celles citées précédemment, issues de régions à climat chaud et humide. Le tableau V, tiré de ces données, rassemble les valeurs des augmentations de flux de N₂O induits par l'apport des fertilisants dans différents systèmes d'exploitation du sol : globalement ces augmentations de flux apparaissent plus régulières dans les sols de prairie que dans les autres systèmes et sont particulièrement accentuées dans le cadre d'épandage d'ammoniac anhydre qui est le fertilisant le plus fréquemment utilisé en Amérique du Nord.

Bouwman (1990) a fait une typologie plus détaillée des sources de N₂O, analysant séparément la production à partir des zones naturelles et celle issue des zones cultivées. Dans les premières, il souligne l'importante capacité contributive des forêts tropicales liée à l'intensité des transformations microbiennes en milieu chaud et humide (plus de 2% de l'azote des litières forestières retourneraient à l'atmosphère sous forme de N₂O ; Keller *et al*, 1988) et à l'étendue des surfaces couvertes (10% des terres émergées). En zones tempérées, il mentionne les potentialités importantes de production des sols de prairies humides (Denmead *et al*, 1979) et des sols marécageux drainés (Goodroad et Keeney, 1984). Concernant les sols cultivés, il souligne que l'intensification et le développement de la fertilisation azotée sont générateurs d'émission

Tableau V. Augmentations d'émission de N-N₂O induites par la fertilisation dans différents systèmes d'exploitation du sol et avec différents fertilisants azotés. D'après Eichner (1990).

Mode d'exploitation du sol	Forme de fertilisant appliqué ^a et nombre de sites		Suppléments moyens d'émission de N-N ₂ O		
			Extrêmes	Médianes (g N-N ₂ O.ha ⁻¹ .j ⁻¹)	Moyennes
Prairie	A	10	0,4-14,3	2,5/7,0	5,7
	AN	2	0,3-17,4	–	8,9
	N	7	0,03-10,2	1,2	2,4
	U	1	2,0	–	–
Sol nu	AA	9	10,5-123,0	23,4	43,7
	A	5	0,5-2,9	1,5	1,6
	N	4	0,3-0,5	0,3/0,4	0,4
	U	5	0,9-3,0	1,4	1,6
Plante autre que céréale	A	2	1,3-12,5	–	6,9
	AN	1	0,6	–	–
	N	2	0,1-1,4	–	0,7
Maïs	AA	4	0,0-25,9	8,9/13,3	12,0
Autre céréale	AN	5	1,6-5,7	3,2	3,6

^a A : fertilisant à base d'ammonium ; AN : nitrate d'ammonium ; N : fertilisants à base de nitrate ; U : urée ; AA : ammoniac anhydre.

de N₂O. La figure 13 regroupe l'ensemble des données recueillies à partir des sols cultivés et de prairies : cette représentation ne permet pas de conclure à une corrélation entre les quantités de N₂O émises et les niveaux de fertilisation pratiqués. Cependant une analyse plus fine, après élimination de données particulières (parcelles surfertilisées et zones humides), a permis de dégager des relations significatives entre les émissions et les apports de fertilisants :

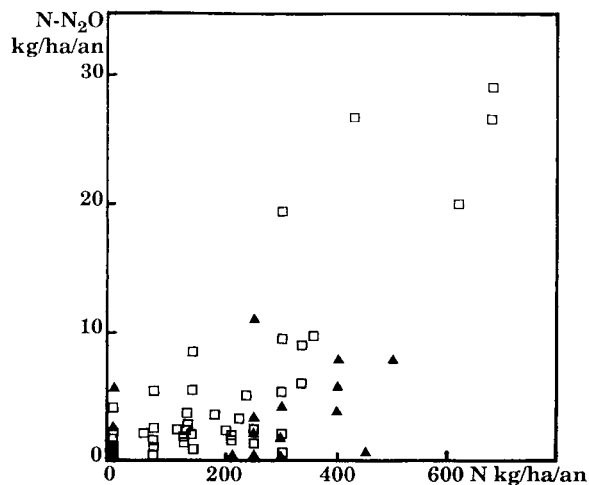


Fig 13. Variation des flux de N₂O en fonction du niveau appliqué de fertilisation azotée (*ln* : Bouwman, 1990). □ Parcelles cultivées ; ▲ parcelles enherbées.

– dans les seuls sols cultivés :

$$N-N_2O = 1,88 + 0,0042 N \text{ (fertilisants)}$$

– en regroupant les sols cultivés et les prairies :

$$N-N_2O = 1,45 + 0,0075 N \text{ (fertilisants)}$$

Cela revient implicitement à admettre qu'en absence de fertilisation l'émission de N₂O est de l'ordre de 1,5 à 1,9 kg N.ha⁻¹.an⁻¹ et que 0,4 à 0,7% des fertilisants utilisés sont transformés en N₂O : ces chiffres sont à rapprocher de ceux de Bolle *et al* (1986) qui estiment que les pertes moyennes en N₂O en sols cultivés représentent de 0,5 à 2% des fertilisants azotés utilisés.

L'analyse faite par Bouwman ne lui permet pas de conclure à un effet marqué de la forme des fertilisants azotés sur l'intensité des pertes de N₂O : il rappelle cependant les conclusions de Bolle *et al* (1986) selon lesquelles les pertes moyennes sous forme de N₂O correspondent à 0,04% des apports de nitrates, 0,15 à 0,19% des apports d'urée ou de produits ammoniacaux, et à 5% des épandages d'ammoniac anhydre. Cette propension de NH₃ anhydre à induire de plus forts dégagements de N₂O a été notamment mise en évidence dans des travaux américains

(Smith et Chalk, 1980 ; Bremner et Blackmer, 1981) et est reprise par différents auteurs (Smith, 1990 ; Granli et Bockman, 1994).

L'importance des différents mécanismes d'émission pourrait aussi être dépendante des facteurs climatiques. En zone de climat chaud et humide, les liens démontrés ou fortement pressentis avec les apports de produits ammoniacaux d'une part, ou les relations observées avec l'intensité des phénomènes de minéralisation d'autre part (Matson *et al*, 1989 ; Smith, 1990) peuvent être considérés comme les indices d'une production fortement dépendante de la nitrification. En région tempérée la production de N₂O semble plutôt liée aux variations d'humidité des sols et être essentiellement issue de la dénitrifi-

cation (Smith et Arah, 1990). Cependant le pourcentage de production de N₂O au cours de cette transformation est encore l'objet de très nombreuses spéculations : alors que le groupe du CAST (Pratt *et al*, 1977) a admis que 5 à 10% de l'azote dénitrifié était émis sous forme de N₂O, d'autres auteurs soulignent le caractère excessivement variable de ce taux (Arah et Smith, 1990 ; fig 14), allant jusqu'à conclure de façon (trop) prudente qu'il peut varier de 0 à 100% (Aulakh *et al*, 1992).

Très peu de données sont actuellement disponibles concernant les émissions de protoxyde d'azote à partir des sols français. Le tableau VI rapporte quelques résultats obtenus par notre laboratoire dans 2 types de sol situés près de Dijon, au cours de 1985. Ces flux mesurés, qui sous-estiment quelque peu les flux réels dans la mesure où les données journalières inférieures au seuil de détection (1g N.ha⁻¹.jour⁻¹) ont été assimilées à 0, montrent cependant que les flux de N₂O dans ces situations de climat tempéré sont probablement faibles, mais avec des valeurs globalement plus élevées en sols de prairie qu'en sols cultivés. Le faible niveau de ces émissions dans ce type de situation a été confirmé par une première série de mesures réalisée dans la même région pour estimer les émissions de N₂O sous culture de colza destinée à la production de biocarburant et sous jachères (Hénault *et al*, 1995). Ce tableau permet par ailleurs de situer le taux de N₂O entre 3 et 15% de l'azote total dénitrifié avec une valeur moyenne proche de 10%, correspondant à l'ordre de grandeur retenu par le CAST (Pratt *et al*, 1977). En climat plus contrasté et sur les sols des Landes dont le pH acide est réputé favorable à la production de N₂O, Jambert

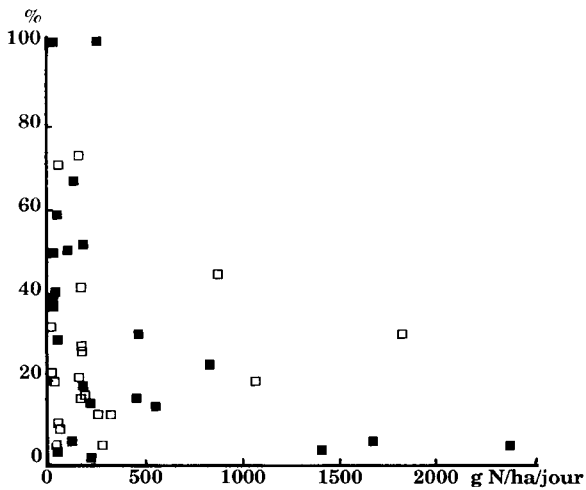


Fig 14. Variation du pourcentage d'oxyde nitreux dans les produits de dénitrification en fonction des flux de dénitrification mesurés dans 2 sites de prairies (*in* : Smith, 1990). ■ d'après Eggington et Smith (1986) ; □ d'après Arah et Smith (1990).

Tableau VI. Productions mesurées de N-N₂O entre le début mars et le 15 septembre 1985 dans 5 situations agricoles différentes de la région de Dijon (F). *In* Germon et Couton (1989).

Type de sol	Exploitation du sol	Nature du fertilisant et quantité d'azote (kg N.ha ⁻¹ .an ⁻¹)	Dégagement de N ₂ O (kg N.ha ⁻¹)	Dénitrification (N ₂ O après traitement par C ₂ H ₂) (kg N.ha ⁻¹)
Brun calcaire argilo-limoneux ^a	Blé	NH ₄ NO ₃ 150	0,07	2,1
	Prairie permanente	NH ₄ NO ₃ 120	2,6	17,6
Brun calcique limoneux ^b	Blé	NH ₄ NO ₃ 160	0,09	0,8
	Prairie temporaire	Lisier 393	1,1	15,2
	Prairie temporaire	Lisier 393 NH ₄ NO ₃ 100	1,6	19,1

^a Sol du domaine du lycée agricole de Quétigny, à Tart-le-Bas (21) ; ^b sol du domaine de l'abbaye de Cîteaux (21).

et al (1993) observent des flux dépassant 10 kg N.ha⁻¹ au cours d'un cycle cultural de maïs irrigué, soulignant ainsi la nécessité d'évaluer les risques d'émission en relation avec les caractéristiques du milieu.

Prévision des dégagements de N₂O à l'aide de modèles

À la différence de la dénitrification, la production naturelle de N₂O à partir du sol a donné lieu à beaucoup moins de travaux de modélisation. La nécessité de connaître et de prévoir ces flux a cependant renforcé l'intérêt pour de tels outils.

Quelques modèles expérimentaux ont été proposés ; ainsi Mosier *et al* (1983) rendent compte de 50% de la variabilité des flux de N₂O à partir des variations de teneurs du sol en eau, en ammonium et en nitrate. En distinguant les 2 sources potentielles de N₂O, Mosier et Parton (1985) puis Parton *et al* (1988) parviennent à expliquer 80% de cette variabilité. Benckiser *et al* (1987) obtiennent des résultats similaires à l'aide de coefficients de régression multiple entre les flux de N₂O d'une part et la teneur en eau, la température du sol, et les teneurs en carbone organique, en ammonium et en nitrates d'autre part.

Afin de disposer d'outils plus généralisables, des travaux portent actuellement sur l'élaboration de modèles plus mécanistes ; 2 approches peuvent être développées, suivant que l'on considère que N₂O est à la fois le produit de la nitrification et de la dénitrification ou qu'il est issu préférentiellement de la dénitrification. Le premier cas de figure est l'objet de travaux en cours et actuellement nous ne disposons que d'exemples relatifs à la seconde situation. Arah et Smith (1990) partent du modèle de McConnaughey et Bouldin (1985) qui considère qu'au cours de la dénitrification, responsable de la production de N₂O, les cinétiques enzymatiques sont de type michaélien, la réduction du nitrate est inhibée par l'oxygène et celle de N₂O par l'oxygène et le nitrate. Ils décrivent la production de N₂O dans un microsite comme la résultante des phénomènes de diffusion et de réduction de l'oxygène, du nitrate et de N₂O et montrent que la variation des paramètres utilisés peut faire fluctuer la fraction de ce gaz de 0 à 100%. Smith et Arah (1992) envisagent l'extension de ce modèle de production à des échantillons de sols plus importants, voire à l'échelle du champ, mais ces spéculations demandent à être validées. Le modèle proposé

par Grant *et al* (1993), pour décrire les émissions de N₂O lors du dégel des sols de la prairie canadienne, présente des analogies avec le précédent : la réduction des composés azotés est la conséquence de la capacité globale de réduction du milieu selon un ordre préférentiel oxygène/nitrate/protoxyde d'azote et des caractéristiques des cinétiques de réaction selon un modèle michaélien ; la libération de N₂O est la résultante de sa production et de sa consommation sans qu'interviennent de phénomènes d'inhibition par le nitrate. À ce modèle de production les auteurs couplent un modèle de transfert et comparent les cinétiques observées de dégagement de N₂O aux valeurs calculées. Ils montrent que malgré des différences, le modèle rend compte des ordres de grandeur des flux, de l'effet accentué de la fertilisation, et de la variabilité avec le temps, la production de N₂O étant la plus importante au début du ressuyage du sol après le dégel lorsque s'effectue sa réoxygénation.

Afin de modéliser les émissions par le sol à l'échelle de la planète Bouwman *et al* (1993) sont amenés à des estimations plus globales reposant sur des indices cartographiables à cette échelle ; comme d'autres auteurs, ils considèrent les émissions de N₂O comme des pertes en ligne du cycle général de l'azote (Davidson, 1991) dont l'intensité dépend principalement de la vitesse du turnover dans la biosphère. Ils prennent en compte 5 indices considérés comme majeurs pour la production de N₂O : les entrées de matière organique, la fertilité du sol, le niveau d'humidité du sol, sa température et son état d'aération. La combinaison de ces paramètres leur permet d'élaborer un index de production de N₂O dont la comparaison avec les valeurs de flux disponibles est jugée satisfaisante. La carte qui en résulte conforte l'idée que les principales zones d'émission naturelle de N₂O correspondent aux zones tropicales et équatoriales. Une telle modélisation demande cependant à être confirmée et ne doit pas dans l'immédiat conduire à considérer que les émissions à partir des zones tempérées sont de ce fait négligeables.

CONCLUSIONS : LES CHAMPS DE RECHERCHE À DÉVELOPPER

À l'issue de cette synthèse qui a concerné essentiellement les problèmes de mesure et l'estimation des flux de dénitrification et de production microbologique de N₂O, nous pouvons dégager les points suivants :

Au niveau méthodologique

i) il n'existe pas une méthode de mesure universelle permettant de quantifier, de façon simple et fiable, la dénitrification en milieu naturel. Il en existe en revanche plusieurs, susceptibles d'être utilisées de façon complémentaire, et dont le choix peut dépendre des caractéristiques des sols étudiés. La mesure des émissions naturelles de N₂O est plus facile à mettre en œuvre mais se heurte aux problèmes de sensibilité des analystes.

Les méthodologies de mesure peuvent continuer à évoluer ; la «démocratisation» de la spectrométrie de masse et la mise au point d'outils de randomisation des isotopes en phase gazeuse peuvent contribuer au développement des méthodes de mesures isotopiques. La mise au point de détecteurs de N₂O à très haute sensibilité peut aussi faire évoluer les technologies de mesure de ce gaz. La veille technologique doit être poursuivie ;

ii) la principale difficulté dans l'estimation des flux, après les problèmes analytiques, est la prise en compte de l'hétérogénéité de la distribution des valeurs obtenues, caractéristique à la fois de la dénitrification et de la production de N₂O. S'il est nécessaire d'obtenir des ordres de grandeur fiables et interprétables en terme de bilan d'azote, il apparaît indispensable de poursuivre les travaux de modélisation permettant d'éviter la multiplicité des mesures. La validation de modèles prédictifs de terrain tels que celui que nous proposons doit être poursuivie de façon à vérifier leur capacité à fournir des données quantitatives dans des situations diversifiées. L'utilisation de modèles stochastiques devrait être testée en association avec des biométriciens pour en vérifier la pertinence.

Au niveau de l'étude de la dénitrification

iii) Les pertes d'azote par dénitrification dans les sols de nos régions tempérées, cultivés selon les pratiques agronomiques habituellement recommandées, sont vraisemblablement faibles, plus faibles que ce que laissaient penser les bilans d'azote marqué. Il doit être noté que des pratiques agronomiques devenues traditionnelles dans les sols humides ont eu certainement pour effet de réduire la dénitrification sans qu'on l'ait intentionnellement recherché (labour en planches, drainage de surface...). Il importe cependant d'approfondir l'étude des liens entre

l'activité dénitrifiante et la concentration en nitrate de façon à mieux apprécier ce qui se passe dans les situations nettement surfertilisées. Des travaux sur les bilans azotés doivent être poursuivis tant que l'on n'aura pas identifié de façon satisfaisante les causes des défauts de bilan ; les travaux sur les émissions d'ammoniac ou d'autres formes azotées en cours de végétation doivent être conduits notamment avec l'appui de bioclimatologistes capables de quantifier de faibles flux de NH₃ ;

iv) les quelques travaux conduits sur les ripisylves et les zones de bas-fonds montrent qu'il existe des situations topographiques où la dénitrification peut être importante naturellement pour peu que l'eau chargée en nitrate puisse les traverser. Il apparaît judicieux de conduire des travaux sur les capacités dénitrifiantes des sols en liaison avec les caractéristiques topographiques ; ainsi le fonctionnement de ces zones tampons doit être quantifié et analysé de façon à évaluer leur impact sur le milieu naturel et à en tirer d'éventuelles règles d'aménagement ;

v) la plupart des travaux sur la dénitrification dans les sols a porté sur le fonctionnement des horizons de surface et a négligé les horizons plus profonds. Si l'on veut quantifier correctement cette transformation, il semble indispensable de prendre en considération tout l'horizon labouré, et les horizons immédiatement inférieurs encore enrichis en matières organiques. Au-delà on peut aussi s'interroger sur la dynamique de fonctionnement des horizons du sous-sol, et plus particulièrement de ceux concernés par les battements de nappes, zones caractérisées par des variations de potentiel d'oxydo-réduction favorables à la dénitrification. Dans ces horizons profonds on peut s'interroger sur la constitution et le mode de fonctionnement de la microflore dénitrifiante présente et être amené à distinguer le fonctionnement dénitrifiant hétérotrophe du fonctionnement autotrophe lié aux bactéries sulfoxydantes.

Au niveau de l'étude des émissions de N₂O

vi) Relativement peu de travaux ont été réalisés en France sur les émissions de ce gaz, plutôt moins que chez nos voisins anglo-saxons. Il importe en premier lieu de développer des approches quantitatives et surtout de caractériser la typologie des zones d'émission de façon à élaborer une cartographie à usage quantitatif. Il est vraisemblable en effet que l'intensité des émis-

sions et les mécanismes en jeu ne sont pas les mêmes selon que l'on se situe en zones de climat tempéré humide, de climat semi-continentale ou de climat méditerranéen. Cette typologie pourrait être réalisée en même temps que celle de la dénitrification ;

vii) il importe en second lieu de se faire une opinion plus tranchée sur l'impact du type de cultures et des pratiques agricoles sur ces émissions. Un questionnement émerge actuellement en terme de bilan écologique (écobilan) des principales productions agricoles à destination non alimentaire. Par ailleurs nous avons mentionné les effets possibles des formes de fertilisants azotés utilisés. Il importe donc de réaliser des travaux tels que ceux conduits actuellement sur les cultures énergétiques, de façon à relier les risques et les types de culture, et de vérifier l'éventuel effet des fertilisants ammoniacaux ou uréiques. Ces travaux devraient conduire à des informations exploitables en matière d'utilisation de fertilisants azotés ;

viii) au niveau des mécanismes de production de N_2O , il importe de se faire une idée plus précise des contributions respectives de la nitrification et de la dénitrification à ces émissions de façon à en mieux connaître la régulation et à permettre l'élaboration d'outils de prévision. Il serait aussi opportun de définir parallèlement la variabilité de la fraction de N_2O dans les produits de dénitrification, afin d'une part de relier les valeurs de cette fraction à certaines caractéristiques du milieu, et d'autre part de définir une fourchette des valeurs les plus probables ;

ix) au niveau de l'intensité de la dénitrification dans les sols, la constitution de la microflore dénitrifiante semble une variable de peu de poids. En revanche l'aptitude à produire N_2O est un caractère peu stable et qui varie entre bactéries : on peut s'interroger quant au rôle de la constitution de la microflore sur l'aptitude du sol à produire plus ou moins de N_2O au cours de la dénitrification.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu financièrement par le ministère de l'Environnement (convention n° 90 315) et par l'Union européenne (contrat STEP CT 0029).

Les auteurs remercient R Knowles, professeur de microbiologie au Macdonald College de l'université McGill qui a apporté son soutien à la rédaction de cette synthèse, et E Topp, chercheur à Agriculture Agri-Food Canada, qui a bien voulu relire et commenter ce document.

RÉFÉRENCES

- Addiscott TM, Powlson DS (1992) Partitioning losses of nitrogen fertilizer between leaching and denitrification. *J Agric Sci* 118, 101-107
- Allison FE (1955) The enigma of soil nitrogen balance sheets. *Adv Agron* 7, 213-250
- Arah JRM (1989) Diffusion-reaction models of denitrification in soil microsites. In : *Denitrification in soil and sediment* (J Sorensen, NP Revsbech, eds), Plenum Press, New York, 3245-3258
- Arah JRM, Smith KA (1990) Factors influencing the fraction of the gaseous products of soil denitrification evolved to the atmosphere as nitrous oxide. In : *Soils and the greenhouse effect* (AF Bouwman, ed), John Wiley and Sons, Chichester, Royaume-Uni, 475-480
- Arah JRM, Smith KA, Crichton IJ, Li HS (1991) Nitrous oxide production and denitrification in Scottish arable soils. *J Soil Sci* 42, 351-367
- Arnold PW (1954) Loss of nitrous oxide from soil. *J Soil Sci* 5, 116-128
- Aulakh MS, Rennie DA, Paul EA (1982) Gaseous nitrogen from cropped and summer-fallowed soils. *Can J Soil Sci* 62, 187-196
- Aulakh MS, Rennie DA, Paul EA (1983a) The effect of various clover management practices on gaseous N losses and mineral accumulation. *Can J Soil Sci* 63, 593-605
- Aulakh MS, Rennie DA, Paul EA (1983b) Field studies on gaseous nitrogen losses from soils under continuous wheat *versus* a wheat-fallow rotation. *Plant Soil* 75, 15-27
- Aulakh MS, Rennie DA, Paul EA (1984a) Gaseous nitrogen losses from soils under zero-till as compared with conventional-till management systems. *J Environ Qual* 13, 130-136
- Aulakh MS, Rennie DA, Paul EA (1984b) The influence of plant residues on denitrification rates in conventional and zero tilled soils. *Soil Sci Soc Am J* 48, 790-794
- Aulakh MS, Doran JW, Mosier AR (1991) Field evaluation of 4 methods for measuring denitrification. *Soil Sci Soc Am J* 55, 1332-1338
- Aulakh MS, Doran JW, Mosier AR (1992) Soil denitrification: significance, measurement, and effects of management. *Adv Soil Sci* 18, 1-57
- Bakken LR, Borresen T, Njosa A (1987) Effect of soil compaction by tractor traffic on soil structure, denitrification and yield of wheat. *J Soil Sci* 38, 541-552
- Balderston WL, Sherr B, Payne WJ (1976) Blockage by acetylene of nitrous oxide reduction in *Pseudomonas perfectomarinus*. *Appl Environ Microb* 31, 504-508
- Batjes NH (1994) Nitrous oxide. In : *A review of soil factors and processes that control fluxes of heat, moisture and greenhouse gases* (NH Batjes, EM Bridges, eds), WISE Report N° 3, ISRIC, Wageningen, Pays-Bas, 67-96

- Benckiser G, Haider K, Sauerbeck D (1986) Field measurements of gaseous nitrogen losses from an alfisol planted with sugarbeets. *Z Pflanzenernaehr Bodenkd* 149, 249-261
- Benckiser G, Gaus G, Syring KM, Haider K, Sauerbeck D (1987) Denitrification losses from an inceptisol field treated with mineral fertilizer or sewage sludge. *Z Pflanzenernaehr Bodenkd* 150, 241-248
- Blackmer AM, Bremner JM (1977) Gas chromatographic analysis of soil atmospheres. *Soil Sci Soc Am J* 41, 908-912
- Blackmer AM, Robbins SG, Bremner JM (1982) Diurnal variability in rate of emission of nitrous oxide from soils. *Soil Sci Soc Am J* 46, 937-942
- Bleakley BH, Tiedje JM (1982) Nitrous oxide production by organisms other than nitrifiers and denitrifiers. *Appl Environ Microbiol* 44, 1342-1348
- Bolle HJ, Seiler W, Bolin B (1986) Other greenhouse gases and aerosols. Assessing their role in atmospheric radiative transfer. In: *The greenhouse effect, climatic change and ecosystems* (B Bolin, BR Doos, J Jager, RA Warrick, eds), SCOPE, John Wiley and Sons, New York, 29, 157-203
- Bouwman AF (1990a) Analysis of global nitrous oxide emissions from terrestrial natural and agro-ecosystems. *Trans 14th Congress of Soil Science* 2, 261-266
- Bouwman AF (1990b) Exchange of greenhouse gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. In: *Soils and the greenhouse effect* (AF Bouwman, ed), John Wiley and Sons, Chichester, Royaume-Uni, 61-127
- Bouwman AF, Fung I, Matthews E, John J (1993) Global analysis of the potential for N₂O production in natural soils. *Global Biogeochem Cycles* 7, 557-597
- Bremner JM (1977) Role of organic matter in volatilization of sulfur and nitrogen from soils. In: *Soil organic matter studies*, International Atomic Energy Agency, Vienne, 2, 229-240
- Bremner JM, Shaw K (1958a) Denitrification in soils. I. Methods of investigation. *J Agric Sci* 51, 22-39
- Bremner JM, Shaw K (1958b) Denitrification in soils. II. Factors affecting denitrification. *J Agric Sci* 51, 40-52
- Bremner JM, Blackmer AM (1981) Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide. In: *Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide* (CC Delwiche, ed), John Wiley and Sons, New York, 151-170
- Broadbent FE, Clark FE (1965) Denitrification. In: *Soil nitrogen* (WV Bartholomew, FE Clark, eds), American Society of Agronomy, Madison, WI, États-Unis, 344-359
- Broadbent FE, Carlson AB (1978) Field trials with isotopically labelled nitrogen fertilizer. In: *Nitrogen in the environment* (DR Nielsen, JG MacDonald, eds), Academic Press, New York, 1-41
- Buresh RJ, Austin ER (1993) Measuring nitrogen-15 content of gases: comparison of direct and arc-redistribution method. *Soil Sci Soc Am J* 27, 93-95
- Burford JR, Stefanson RC (1973) Measurement of gaseous losses of nitrogen from soils. *Soil Biol Biochem* 5, 133-141
- Burton DL, Beauchamps EC (1984) Field techniques using the acetylene blockage of nitrous oxide reduction to measure denitrification. *Can J Soil Sci* 64, 555-562
- Burton DL, Beauchamps EC (1985) Denitrification rate relationships with soil parameters in the field. *Commun Soil Sci Plant Anal* 16, 539-549
- Chalamet A, Bardin R (1977) Action des ions ferreux sur la réduction de l'acide nitreux dans les sols hydromorphes. *Soil Biol Biochem* 9, 281-285
- Christensen S, Simkins S, Tiedje JM (1990a) Spatial variation in denitrification: dependency of activity centers on the soil environment. *Soil Sci Soc Am J* 54, 1608-1613
- Christensen S, Simkins S, Tiedje JM (1990b) Temporal patterns of soil denitrification: their stability and causes. *Soil Sci Soc Am J* 54, 1614-1618
- Christianson CB, Hedlin RA, Cho CM (1979) Loss of nitrogen from soil during nitrification of urea. *Can J Soil Sci* 59, 147-154
- Colbourn P, Harper JW (1987) Denitrification in drained and undrained arable clay soil. *J Soil Sci* 38, 531-539
- Colbourn P, Iqbal MM, Harper IW (1984a) Estimation of the total gaseous nitrogen losses from clay soils under laboratory and field conditions. *J Soil Sci* 35, 11-22
- Colbourn P, Iqbal MM, Harper IW (1984b) Denitrification losses from ¹⁵N-labelled calcium nitrate fertilizer in a clay soil in the field. *J Soil Sci* 35, 539-547
- Craswell ET, Byrnes BH, Holt LS, Austin ER, Fillery IRP, Strong WM (1985) A method for determining the ¹⁵N content of air samples with not random dinitrogen isotope distributions. *Soil Sci Soc Am J* 49, 664-668
- Davidson EA (1991) Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. In: *Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides and halomethanes* (JE Rogers, WB Withman, eds), American Society for Microbiology, Washington, DC, États-Unis, 219-235
- Deherain PP (1897) La réduction des nitrates dans la terre arable. *CR Acad Sci Paris*, 124, 269-273
- Deherain PP, Maquennel L (1882) Sur la réduction des nitrates dans la terre arable. *CR Acad Sci Paris*, 95, 691-693
- Denmead OT (1979) Chamber systems for measuring nitrous oxide emission from soils in the field. *Soil Sci Soc Am J* 43, 89-95
- Denmead OT, Raupach MR (1993) Methods for measuring atmospheric gas transport in agricultural and forest systems, In: *Agricultural ecosystem effects on trace gases and global climate change* (LA Harper, AR Mosier, JM Duxbury, DE Rolston, eds), Am Soc Agron Inc, Madison, WI, États-Unis, 19-43

- Denmead OT, Freney JR, Simpson JR (1979) Nitrous oxide emission from a grass sward. *Soil Sci Soc Am J* 43, 726-728
- Dowdell RJ, Webster CP (1984) A lysimeter study of the fate of fertilizer nitrogen in spring barley crops grown on a shallow soil overlying chalk: denitrification losses and the nitrogen balance. *J Soil Sci* 35, 183-190
- Drury CF, McKenney DJ, Findlay WI (1992) Nitric oxide and nitrous oxide production from soil: water and oxygen effects. *Soil Sci Soc Am J* 56, 766-770
- Dupain S (1992) Dénitrification biologique hétérotrophe appliquée au traitement des eaux d'alimentation : conditions de fonctionnement et mise au point d'un procédé. Thèse doctorat, université Claude-Bernard Lyon-I, 281 p
- Duxburry JM (1986) Advantages of the acetylene method of measuring denitrification. In : *Field measurement of dinitrogen fixation and denitrification* (RD Hauck, RW Weaver, eds), Soil Sci Soc Am Special Pub n°18, Madison, WI, États-Unis, 73-91
- Duxburry JM, McConnaughey PK (1986) Effect of fertilizer source on denitrification and nitrous oxide emissions in a maize-field. *Soil Sci Soc Am J* 50, 644-648
- Duxburry JM, Bouldin DR, Terry RE, Tate RL (1982) Emissions of nitrous oxide from soils. *Nature* 298, 462-464
- Eggington GM, Smith KA (1986) Losses of nitrogen by denitrification from a grassland soil fertilized with cattle slurry and calcium nitrate. *J Soil Sci* 37, 69-80
- Eichner MJ (1990) Nitrous oxide emissions from fertilized soils: summary of available data. *J Environ Qual* 19, 272-280
- Elliott JA, de Jong E (1992) Quantifying denitrification on a field scale in hummocky terrain. *Can J Soil Sci* 72, 21-29
- Elliott JA, de Jong E (1993) Prediction of field denitrification rates: a boundary-line approach. *Soil Sci Soc Am J* 57, 82-87
- Elliott PW, Knight D, Anderson JM (1990) Denitrification in earthworm casts and soil from pastures under different fertilizer and drainage regimes. *Soil Biol Biochem* 22, 601-605
- Ellis JR, Mielke LN, Schuman GE (1975) The nitrogen status beneath beef cattle feedlots in eastern Nebraska. *Soil Sci Soc Am Proc* 39, 107-111
- Farquhar GD, Wetselaar R, Weir B (1983) Gaseous nitrogen losses from plants. In : *Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems* (JR Freney, JR Simpson, eds), Martinus Nijhoff, La Haye, Pays-Bas, 159-180
- Fazzolari E, Mariotti A, Germon JC (1990a) Nitrate reduction to ammonia: a dissimilatory process in *Enterobacter amnigenus*. *Can J Microbiol* 36, 779-785
- Fazzolari E, Mariotti A, Germon JC (1990b) Dissimilatory ammonia production vs denitrification *in vitro* and in inoculated agricultural soil samples. *Can J Microbiol* 36, 786-793
- Federova RI, Milekhina EI, Il'Yukhina NI (1973) Evaluation of the method of gas metabolism for detecting extraterrestrial life. Identification of nitrogen fixing microorganisms. *Izv Akad Nauk SSSR Ser Biol* 6, 797-806
- Firestone MK, Firestone RB, Tiedje JM (1979) Nitric oxide as an intermediate in denitrification: evidence from nitrogen-13 isotope exchange. *Biochem Biophys Res Commun* 91, 10-16
- Folorunso OA, Rolston DE (1984) Spatial variability of field-measured denitrification gas fluxes. *Soil Sci Soc Am J* 48, 1214-1219
- Folorunso OA, Rolston DE (1985) Spatial and spectral relationships between field-measured denitrification gas fluxes and soil properties. *Soil Sci Soc Am J* 49, 1087-1093
- Galsworthy AM, Burford JR (1978) A system for measuring rates of evolution of nitrous oxide and nitrogen from incubated soils during denitrification. *J Soil Sci* 29, 537-550
- Gamble TN, Betlach MR, Tiedje JM (1977) Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl Environ Microbiol* 33, 926-939
- Garber EAE, Hollocher TC (1981) ¹⁵N tracer studies on the role of NO in denitrification. *J Biol Chem* 10, 5459-5465
- Gayon U, Dupetit G (1882) Sur la fermentation des nitrates. *CR Acad Sci Paris*, 95, 644-646
- Germon JC (1980a) Étude quantitative de la dénitrification biologique dans le sol à l'aide de l'acétylène. I. Application à différents sols. *Ann Microbiol Inst Pasteur* 131B, 69-80
- Germon JC (1980b) Étude quantitative de la dénitrification biologique dans le sol à l'aide de l'acétylène. II. Évolution de l'effet inhibiteur de l'acétylène sur la N₂O-réductase; incidence de l'acétylène sur la vitesse de dénitrification et sur la réorganisation de l'azote nitrique. *Ann Microbiol Inst Pasteur*, 131B, 81-90
- Germon JC (1985a) Microbiology of denitrification and other processes involving the reduction of oxygenated nitrogenous compounds. In : *Denitrification in the nitrogen cycle* (HL Golterman, ed), Plenum Press, New York, 31-46
- Germon JC (1985b) Denitrification in cropped soils. *Fertilizers Agric* 89, 3-13
- Germon JC, Couton Y (1989) Nitrogen balance and gaseous nitrogen losses in soils In : *Management systems to reduce impact of nitrates* (JC Germon, ed), Elsevier Applied Sciences, Londres et New York, 16-31
- Germon JC, Jacques D (1990) Denitrifying activity measurement by soil core method. Effect of depth and characterisation of N₂O/N₂ ratio in different soils. *Mitt dtsh Bodenkundl Geselsch* 60, 51-58
- Germon JC, Pinochet X, Catroux G (1983) Relations between the parameters characterizing the kinetics of potential denitrifying activity and the various forms of soil carbon. In : *Proc 3d Microbial Ecology Symposium*, East Lansing, États-Unis

- Germon JC, Couton Y, Jacques D, Guiraud G, Catroux G (1985) Étude de la dénitrification dans différents sols cultivés. Effet des facteurs pédologiques, climatiques et culturaux. In : *CR Congrès «Nitrates dans les eaux»*, 22-24 octobre, Paris
- Gerretsen FC, De Hoop H (1957) Nitrogen losses during nitrification in solutions and in acid sandy soils. *Can J Microbiol* 3, 359-381
- Goodroad LL, Keeney DR (1984) Nitrous oxide emission from forest, marsh and prairie ecosystems. *J Environ Qual* 13, 448-452
- Goulding KWT, Webster CP, Powlson DS, Poulton PR (1993) Denitrification losses of nitrogen fertilizer applied to winter wheat following ley and arable rotations as estimated by acetylene inhibition and ¹⁵N balance. *J Soil Sci* 44, 63-72
- Granli T, Bockman OC (1994) Nitrous oxide from agriculture. *Norv J Agri Sci* 12 (supplement), 1-125
- Grant RF, Nyborg M, Laidlaw JW (1993a) Evolution of nitrous oxide from soil. I. Model development. *Soil Sci* 156, 259-265
- Grant RF, Nyborg M, Laidlaw JW (1993b) Evolution of nitrous oxide from soil. II. Experimental results and model testing. *Soil Sci* 156, 266-277
- Groffman PM, Tiedje JM (1989 a). Denitrification in north temperate forest soils: spatial and temporal patterns at the landscape and seasonal scales. *Soil Biol Biochem* 21, 613-620
- Groffman PM, Tiedje JM (1989 b). Denitrification in north temperate forest soils: relationships between denitrification and environmental factors at the landscape scale. *Soil Biol Biochem* 21, 621-626
- Grunfmann GL, Rolston DE (1987) A water function approximation to degree of anaerobiosis associated with denitrification. *Soil Sci* 144, 437-441
- Grundmann GL, Rolston DE, Kachanoski RG (1988) Field soil properties influencing the variability of denitrification gas fluxes. *Soil Sci Soc Am J* 52, 1351-1355
- Guiraud G, Berlier Y (1970) Détermination quantitative et isotopique par spectrométrie de masse de composés gazeux produits dans la dénitrification. *Chim anal* 52, 53-56
- Hagin J, Amberger A, Kruh G, Segall E (1976) Outlines of a computer simulation model on residual and added nitrogen changes and transport in soils. *Z Pflanzenernaehr Bodenkd Heft* 4, 443-445
- Haider K, Mosier AR, Heinemeyer O (1983) Side effects of acetylene on the conversion of nitrate in soil. *Z Pflanzenernaehr Bodenkd* 146, 623-633
- Haider N, Morvan J, Martin G (1988a) Dénitrification en sous-sol. Rôle des sulfures et des sels ferreux. *Wat Supp* 6, 71-75
- Haider N, Morvan J, Le Cloirec P, Martin G (1988b) Dénitrification en réacteur garni de pyrite de fer : étude de laboratoire. *Environ Technol Lett* 9, 411-420
- Harper LA, Sharpe RR, Langdale GW, Giddens JE (1987) Nitrogen cycling in a wheat crop: soil, plant, and aerial nitrogen transport. *Agron J* 79, 965-973
- Hauck RD (1988) A human ecosphere perspective of agricultural nitrogen cycling. In : *Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems* (JR Wilson, ed), CAB International, Oxon, Royaume-Uni, 3-19
- Hauck RD, Bremner JM (1976) Use of tracers for soil and fertilizer nitrogen research. *Adv Agron* 28, 219-266
- Hauck RD, Melsted SW, Yankwich PE (1958) Use of N-isotope distribution in nitrogen gas in the study of denitrification. *Soil Sci* 86, 287-291
- Hénault C (1993) Quantification de la dénitrification dans les sols à l'échelle de la parcelle cultivée, à l'aide d'un modèle prévisionnel. Thèse doctorat sciences agronomiques, ENSA Montpellier, 108 p
- Hénault C, Germon JC, Reau R (1995). N₂O emission from soils under fallow or cropped to rapeseed for producing biofuel. In : *Proc. 8th Nitrogen Workshop* (O van Cleemput, ed), Kluwer, Amsterdam (sous presse).
- Hénin S (1980) Rapport du groupe de travail Activités agricoles et qualité des eaux, ministère de l'Agriculture, ministère de l'Environnement et du Cadre de vie, Paris, 58 p
- Hooker ML, Sander DH, Peterson GA, Daigger LA (1980) Gaseous nitrogen losses from winter wheat. *Agron J* 72, 789-792
- Hutchinson GL, Mosier AR (1981) Improved soil cover method for field measurement of nitrous oxide flux. *Soil Sci Soc Am J* 45, 311-316
- Hutchinson GL, Livingston GP (1993) Use of chamber systems to measure trace gas fluxes. In : *Agricultural ecosystem effects on trace gases and global climate change* (LA Harper, AR Mosier, JM Duxbury, DE Rolston, eds), Am Soc Agron, Inc, Madison, WI, États-Unis, 63-78
- Hyman MR, Arp DJ (1987) Quantification and removal of some contaminating gases from acetylene used to study gaz-utilising enzymes and microorganisms *Appl Environ Microbiol* 53, 298-303
- Hynes R, Knowles R (1978) Inhibition by acetylene of ammonia oxidation in *Nitrosomonas europaea*. *FEMS Microbiol Lett* 4, 319-321
- Hynes R, Knowles R (1982) Effect of acetylene on autotrophic and heterotrophic nitrification. *Can J Microbiol* 28, 334-340
- Jambert C, Delmas R, Labroue L, Chassin P, Plenet D (1993) Effet de la fertilisation sur l'émission de composés azotés gazeux dans le système maïsiculture-pinède des Landes de Gascogne. *CR Acad Sci Paris*, 316, 623-627
- Jarvis SC, Barraclough D, Williams J, Rook AJ (1991) Patterns of denitrification loss from grazed grassland: effects of fertilizer inputs at different sites. *Plant Soil* 131, 77-88
- Johansson C, Galbally IE (1984) Production of nitrite oxide in loam under aerobic and anaerobic conditions. *Appl Environ Microbiol* 47, 1284-1289
- Johansson H, Bergstrom L, Jansson PE, Paustian K (1987) Simulated nitrogen dynamics and losses in a

- layered agricultural soil. *Agric Ecosys Environ* 18, 333-356
- Jury WA, Letey J, Collins T (1982) Analysis of chamber methods used for measuring nitrous oxide production in the field. *Soil Sci Soc Am J* 46, 250-256
- Kagawa N, Wada O, Hai X, Koga R, Sano H, Inubishi K (1993) *In situ* and real time measurement of methane concentration in rice paddy soil at Okayama University using tunable diode laser absorption spectrometry. *Jpn J Appl Phys* 32, 244-245
- Keller M, Kaplan WA, Wofsy SC, Da Costa JM (1988) Emission of N₂O from tropical soils. *J Geophys Res* 91, 11791-11802
- Klemedtsson L, Svensson BH, Lindberg T, Rosswall T (1977) The use of acetylene inhibition of nitrous oxide reductase in quantifying denitrification in soils. *Swed J Agric Res* 7, 179-185
- Klemedtsson L, Svensson BH, Rosswall T (1987) Dinitrogen and nitrous oxide produced by denitrification and nitrification in soil with and without barley plants. *Plant Soil* 99, 303-319
- Knowles R (1982) Denitrification. *Microbiol Rev* 46, 43-70
- Knowles R (1990) Acetylene inhibition technique: development, advantages and potential problems. *In: Denitrification in soil and sediment* (NP Revsbech, J Sorensen, eds), Plenum Press, New York, 151-166
- Knowles R, Topp E (1988) Some factors affecting nitrification and the production of nitrous oxide by the methanotrophic bacterium *Methylosinus trichosporium* OB3b. *In: Current perspectives in Environmental Biogeochemistry* (G Giovanni-Sermanni, P Nannipieri, eds), CNR-IPRA, Rome, 383-393
- Kroneck PMH, Zumft W (1990) Bio-inorganic aspects of denitrification: structures and reactions of N_xO_y compounds and their interactions with iron and copper. *In: Denitrification in soil and sediment* (NP Revsbech, J Sorensen, eds), Plenum Press, New York, 1-20
- Lagacherie B, Couton Y, Germon JC (1993) Essai de valorisation agricole de déchets industriels contenant de l'azote nitreux et nitrique. *agronomie* 13, 165-178
- Lalisse-Grundmann G, Corman A, Chalamet A (1983) Étude quantitative de l'effet simultané de la température et de l'humidité du sol sur la dénitrification. *Rev Ecol Biol Sol* 20, 1-15
- Leffelaar PA (1979) Simulation of a partial anaerobiosis in a model soil in respect to denitrification. *Soil Sci* 128, 110-120
- Leffelaar PA (1986) Dynamics of partial anaerobiosis, denitrification and water in a soil aggregate: experimental. *Soil Sci* 142, 352-366
- Lensi R, Chalamet A (1979) Relations nitrate oxyde nitreux lors de la dénitrification dans un sol hydro-morphe. *Rev Ecol Biol Sol* 16, 315-323
- Lensi R, Chalamet A (1982) Denitrification in water-logged soils: *in situ* temperature-dependent variations. *Soil Biol Biochem* 14, 51-55
- Letey J, Valoras N, Hadas A, Focht DD (1980) Effect of air-filled porosity, nitrate concentration, and time on the ratio of N₂O/N₂ evolution during denitrification. *J Environ Qual* 9, 227-231
- Mariotti A (1982) Apports de la géochimie isotopique à la connaissance du cycle de l'azote. Thèse, Paris 6, 476 p
- Mariotti A (1994) La dénitrification *in situ* dans les eaux souterraines, processus naturels ou provoqués : une revue. *Hydrogéologie* 3, 43-68.
- Mariotti A, Germon JC, Leclerc A (1982) Nitrogen isotope fractionation associated with the NO₂⁻ N₂O step of denitrification in soils. *Can J Soil Sci* 62, 227-241
- Matson PA, Vitousek PM, Schimel DS (1989) Regional extrapolation of trace gas flux based on soils and ecosystems. *In: Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere* (MO Andreae, DS Schimel, eds), John Wiley and Sons, Chichester, Royaume-Uni, 97-108
- Matthias AD, Blackmer AM, Bremner JM (1980) A simple chamber technique for field measurement of emissions of nitrous oxide from soils. *J Environ Qual* 9, 251-256
- McConnaughey PK, Bouldin DR (1985) Transient microsite models of denitrification. I. Model development. *Soil Sci Soc Am J* 49, 886-891
- McConnaughey PK, Duxbury JM (1986) Introduction of acetylene into soil for measurement of denitrification. *Soil Sci Soc Am J* 50, 260-263
- Ministere de la Santé (1988) Teneurs en nitrates des eaux destinées à la consommation humaine en 1985-1986-1987, Paris, 35 p
- Mosier AR (1990) Gas flux measurement techniques with special reference to techniques suitable for measurements over large ecologically uniform areas. *In: Soils and the greenhouse effect* (AF Bouwman, ed), John Wiley and Sons, Chichester, Royaume-Uni, 289-302
- Mosier AR, Parton WJ (1985) Denitrification in a short-grass prairie: a modeling approach. *In: Planetary Ecology* (DE Caldwell, JA Brierely, CA Brierely, eds), Van Nostrand Reinhold Co, New York, 441-452
- Mosier AR, Parton WJ, Hutchinson GL (1983) Modeling nitrous oxide evolution from cropped and native soils. *Environ Biogeochem Ecol Bull* 35, 229-241
- Mosier AR, Guenzi WD, Schweizer EE (1986a) Soil losses of dinitrogen and nitrous oxide from irrigated crops in northeastern Colorado. *Soil Sci Soc Am J* 50, 344-348
- Mosier AR, Guenzi WD, Schweizer EE (1986b) Field denitrification estimation by nitrogen-15 and acetylene inhibition techniques. *Soil Sci Soc Am J* 50, 831-833

- Mulvaney RL, Vanden Heuvel RM (1988) Evaluation of nitrogen-15 tracer techniques for direct measurement of denitrification in soil. IV. Field studies. *Soil Sci Soc Am J* 52, 1332-1337
- Munch JC, Ottow JCG (1986) Nature des produits gazeux formés dans les sols à partir de différentes microflores dénitrifiantes. *Sci Sol* 4, 337-350
- Muzio LJ, Kramlich JC (1988) An artifact in the measurement of nitrous oxide from combustion sources. *Geophys Res Lett* 15, 1369-1372
- Myrold DD (1988) Denitrification in ryegrass and winter wheat cropping systems of Western Oregon. *Soil Sci Soc Am J* 52, 412-416
- Myrold DD, Tiedje JM (1985) Diffusional constraints on denitrification in soil. *Soil Sci Soc Am J* 49, 651-657
- Nieder R, Schollmayer G, Richter J (1989) Denitrification in the rooting zone of cropped soils with regard to methodology and climate: a review. *Biol Fertil Soils* 8, 219-226
- Nömmik H (1956) Investigations on denitrification in soil. *Acta Agric Scand* 6, 195-228
- Oremland RS, Umberger C, Culbertson CW, Smith RL (1984) Denitrification in San Francisco Bay intertidal sediments. *Appl Environ Microbiol* 47, 1106-1112
- Parkin TB (1987) Soil microsites as a source of denitrification variability. *Soil Sci Soc Am J* 51, 1194-1199
- Parkin TB (1990) Characterizing the variability of soil denitrification. In : *Denitrification in soil and sediment* (NP Revsbech, J Sorensen, eds), Plenum press, New York, 213-228
- Parkin TB, Tiedje JM (1984) Application of a soil core method to investigate the effect of oxygen concentration on denitrification. *Soil Biol Biochem* 16, 331-334
- Parkin TB, Robinson JA (1989) Stochastic models of soil denitrification. *Appl Environ Microbiol* 55, 72-77
- Parkin TB, Kaspar HF, Sexstone AJ, Tiedje JM (1984) A gas-flow soil core method to measure field denitrification rates. *Soil Biol Biochem* 16, 23-330
- Parkin TB, Sexstone AJ, Tiedje JM (1985) Comparison of field denitrification rates determined by acetylene-based soil core and nitrogen-15 methods. *Soil Sci Soc Am J* 49, 94-99
- Parkin TB, Starr JL, Meisinger JJ (1987) Influence of sample size on measurement of soil denitrification. *Soil Sci Soc Am J* 51, 1492-1501
- Parkin TB, Meisinger JJ, Chester ST, Starr JL, Robinson JA (1988) Evaluation of statistical estimation methods for log-normally distributed variables. *Soil Sci Soc Am J* 52, 323-329
- Parkin TB, Chester ST, Robinson JA (1990) Calculating confidence intervals for the mean of a log-normally distributed variable. *Soil Sci Soc Am J* 54, 321-326
- Parton WJ, Mosier AR, Schimmel DS (1988) Rates and pathways of nitrous oxide production in a short-grass steppe. *Biogeochemistry* 6, 45-58
- Patriquin DG, Mckinnon JC, Wilkie KI (1978) Seasonal patterns of denitrification and leaf nitrate reductase activity in a corn field. *Can J Soil Sci* 58, 283-285
- Payne WJ (1973) Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms. *Bacteriol Rev* 37, 409-452
- Payne WJ (1985) Diversity of denitrifiers and their enzymes. In : *Denitrification in the nitrogen cycle* (HL Golterman, ed), Plenum Press, New York, 47-65
- Payne WJ (1990) Pasteur, Gayon, Dupetit et le cycle de Reiset. *Ann Inst Pasteur/Act* 1, 31-44
- Pennock DJ, Van Kessel C, Farrell RE, Sutherland RA (1992) Landscape scale variations in denitrification. *Soil Sci Soc Am J* 56, 770-776
- Pichinoty F (1973) La réduction bactérienne des composés oxygénés minéraux de l'azote. *Bull Institut Pasteur* 71, 317-395
- Pratt PF, Barber JC, Corrin ML, Goering J, Hauck RD, Johnston HS, Klute A, Knowles R, Nelson DW, Pickett RC, Stephens ER (1977) Effect of increased nitrogen fixation on stratospheric ozone. *Climatic Change* 1, 109-135
- Recous S, Fresneau C, Faurie G, Mary B (1988) The fate of ¹⁵N-labelled urea and ammonium nitrate applied to a winter wheat crop. II. Plant uptake and N efficiency. *Plant Soil* 112, 215-224
- Reddy KR, Rao PSC, Jessup RE (1982) The effect of carbon mineralisation on denitrification kinetics in mineral and organic soils. *Soil Sci Soc Am J* 46, 62-68
- Rémy JC (1977) Contribution de la fertilisation à la pollution des nappes par les nitrates: étude de la migration d'un nitrate marqué à l'azote 15. In : *Protection des eaux souterraines*, BRGM, Orléans, 271-287
- Renault P, Stengel P (1994) Modelling oxygen diffusion in aggregated soils. I. Anaerobiosis inside the aggregates. *Soil Sci Soc Am J* 58, 1017-1023
- Renault P, Sierra J (1994) Modelling oxygen diffusion in aggregated soils. II. Anaerobiosis in topsoil layers. *Soil Sci Soc Am J* 58, 1023 - 1030
- Rheinbaden WV, Trolldenier G (1984) Denitrifikation im Freilandversuch mit Weidelgras. *Landwirtschaft Forsch* 37, 175-180
- Rice CW, Rogers KL (1993) Denitrification in subsurface environments: potential source for atmospheric nitrous oxide. In : *Agricultural ecosystem effects on trace gases and global climate change* (LA Harper, AR Mosier, JM Duxbury, DE Rolston, eds), Am Soc Agron, Inc, Madison, WI, États-Unis, 121-132
- Robertson GP (1993) Fluxes of nitrous oxide and other nitrogen trace gases from intensively managed landscapes: a global perspective. In : *Agricultural ecosystem effects on trace gases and global climate change* (LA Harper, AR Mosier, JM Duxbury, DE Rolston, eds), Am Soc Agron, Inc, Madison, WI, États-Unis, 95-108
- Robertson GP, Tiedje JM (1987) Nitrous oxide sources in aerobic soils: nitrification, denitrification and other biological processes. *Soil Biol Biochem* 19, 187-193

- Robertson GP, Vitousek P, Matson PA, Tiedje JM (1987) Denitrification in a clearcut loblolly pine (*Pinus taeda*) plantation in a southeastern US. *Plant Soil* 97, 119-129
- Rodhe H (1990) A comparison of the contribution of various gases to the greenhouse effect. *Science* 248, 1217-1219
- Rolston De (1986) Limitations of the acetylene blockage technique for field measurement of denitrification. In: *Field measurement of dinitrogen fixation and denitrification* (RD Hauck, RW Weaver, eds), Soil Sci Soc Am, Inc, Madison, WI, États-Unis, 93-101
- Rolston De (1990) Modeling of denitrification: approaches, successes and problems. *Mitt Dtsch Bodenkundl Geselsch* 60, 397-402
- Rolston De, Fried M, Goldhamer DA (1976) Denitrification measured directly from nitrogen and nitrous oxide gas fluxes. *Soil Sci Soc Am J* 40, 259-266
- Rolston De, Hoffman DL, Toy DW (1978) Field measurement of denitrification. I. Flux of N₂ and N₂O. *Soil Sci Soc Am J* 40, 259-266
- Rolston DE, Sharpley AN, Toy DW, Broadbent FE (1982) Field measurement of denitrification. III Rates during irrigation cycles. *Soil Sci Soc Am J* 44, 289-296
- Rolston DE, Rao PSC, Davidson JM, Jessup RE (1984) Simulation of denitrification losses of nitrate fertilizer applied to uncropped, cropped and manure-amended field plots. *Soil Sci* 137, 270-279
- Ryden JC (1983) Denitrification loss from a grassland soil in the field-receiving different rates of nitrogen as ammonium-nitrate. *J Soil Sci* 34, 355-365
- Ryden JC, Lund LJ (1980) Nature and extent of directly measured denitrification losses from some irrigated vegetable crop production units. *Soil Sci Soc Am J* 44, 505-511
- Ryden JC, Dawson KP (1982) Evaluation of the acetylene-inhibition technique for the measurement of denitrification in grassland soils. *J Sci Food Agric* 33, 1197-1206
- Ryden JC, Rolston DE (1983) The measurement of denitrification. In: *Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems* (JR Freney, JR Simpson, eds), Martinus Nijhoff, La Haye, Pays-Bas, 91-132
- Ryden JC, Lund LJ, Focht DD (1978) Direct in-field measurement of nitrous oxide flux from soils. *Soil Sci Soc Am J* 42, 731-737
- Ryden JC, Lund LJ, Focht DD (1979a) Direct measurement of denitrification loss from soils. I. Laboratory evaluation of acetylene inhibition of nitrous oxide reduction. *Soil Sci Soc Am J* 43, 104-110
- Ryden JC, Lund LJ, Letey J, Focht DD (1979b) Direct measurement of denitrification loss from soils. II. Development and application of field methods. *Soil Sci Soc Am J* 43, 110-118
- Ryden JC, Skinner JH, Nixon DJ (1987) Soil core incubation system for the field measurement of denitrification using acetylene-inhibition. *Soil Biol Biochem* 19, 753-757
- Shoun H, Suyama W, Kim DH (1991) Unique nitrate/nitrite-inducible cytochrome P-450 in *Fusarium oxysporum* and related fungal species. *Agric Biol Chem* 55, 593-596
- Shoun H, Kim DH, Uchiyama H, Sugiyama J (1992) Denitrification by fungi. *FEMS Microbiol Lett* 94, 277-282
- Siegel RS, Hauck RD, Kurtz LT (1982) Determination of ³⁰N₂ and application to measurement of N₂ evolution during denitrification. *Soil Sci Soc Am J* 46, 68-74
- Smith CJ, Chalk PM (1980) Gaseous nitrogen evolution during nitrification of ammonia fertilizer and nitrite transformations in soils. *Soil Sci Soc Am J* 44, 277-282
- Smith KA (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 KA (1990) Greenhouse gas fluxes between land surfaces and the atmosphere. *Prog Physic Geography* 14, 349-372
- Smith KA, Arah JRM (1990a) Losses of nitrogen by denitrification and emissions of nitrogen oxides from soils. *Fert Soc Proc* 299, 1-34
- Smith KA, Arah JRM (1990b) Measurement and modelling of nitrous oxide from soils. In: *Trace gas exchange in a global perspective* (BH Svensson, D Ojima, eds), Ecological Bulletins 42, n° spécial, 116-123
- Smith KA, Arah JRM (1992) Measurement and modelling of nitrous oxide emissions from soils. *Ecol Bull Stockolm* 42, 116-123
- Smith MS (1982) Dissimilatory reduction of nitrite to ammonium and nitrous oxide by a soil *Citrobacter* sp. *Appl Environ Microbiol* 43, 854-860
- Smith MS, Firestone MK, Tiedje JM (1978) The acetylene inhibition method for short-term measurement of soil denitrification and its evaluation using nitrogen-13. *Soil Sci Soc Am J* 42, 611-615
- Sorensen J (1978) Denitrification rates in a marine sediment as measured by the acetylene inhibition technique. *Appl Environ Microbiol* 36, 139-143
- Sorensen J, Tiedje JM, Firestone RB (1980) Inhibition by sulfide of nitric and nitrous oxide reduction by denitrifying *Pseudomonas fluorescens*. *Appl Environ Microbiol* 39, 105-108
- Standford G, Vander Pol RA, Dzienia S (1975) Denitrification rates in relation to total and extractable soil carbon. *Soil Sci Soc Am J* 39, 284-289
- Starr JL, Broadbent FE, Nielsen DR (1974) Nitrogen transformations during continuous leaching. *Soil Sci Soc Amer Proc* 38, 283-289
- Strong WM, Austin ER, Holt LS, Buresh RJ (1987) Determination of the combined nitrogen-15 content of dinitrogen and nitrous oxide in air. *Soil Sci Soc Am J* 51, 1344-1350

- Struwe S, Kjoller A (1990) Seasonality of denitrification in water-logged alder stands. *Plant Soil* 128, 109-113
- Struwe S, Kjoller A (1991) Denitrification in wet forest soil systems *in situ* and in slurry experiments. *For Ecol Manage* 44, 41-52
- Tam TY, Knowles R (1979) Effects of sulfide and acetylene on nitrous oxide reduction by soil and by *Pseudomonas aeruginosa*. *Can J Microbiol* 25, 1133-1138
- Terry RE, Duxbury JM (1985) Acetylene decomposition in soils. *Soil Sci Soc Am J* 49, 90-94
- Tiedje JM, Firestone MK, Smith MS, Betlach MR, Firestone RB (1978) Short term measurement of denitrification rates in soils using ¹³N and acetylene inhibition method. In : *Proc Life Sciences Microbial Ecology* (MW Loutit, JAR Miles, eds), Springer-Verlag, 132-137
- Tiedje JM (1988) Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In : *Biology of anaerobic microorganisms* (AJB Zehnder, ed), Wiley and Sons, New York, 179-244
- Tiedje JM, Simkins S, Groffman PM (1989) Perspectives on measurement of denitrification in the field including recommended protocols for acetylene-based methods. *Plant Soil* 115, 261-284
- Topp E, Germon JC (1986) Acetylene metabolism and stimulation of denitrification in an agricultural soil. *Appl Environ Microbiol* 52, 802-806
- Van Cleemput O, Baert L (1984) Nitrite: a key compound in N loss processes under acid conditions? *Plant Soil* 76, 233-241
- Volz MG (1977) Assessing 2 diagnostic methods for enumeration of nitrate reducing and denitrifying bacteria in soil-plant root associations. *Soil Sci Soc Am Proc* 41, 337-340
- Watson RT, Rodhe H, Oeschger H, Siegenthaler U (1990) Greenhouse gases and aerosols. In : *Climate change: the IPCC scientific assessment* (JT Houghton, GJ Jenkins, JJ Ephraums, eds), Cambridge University Press, Cambridge, 140
- Wijler J, Delwiche CC (1954) Investigations on the denitrifying process in soil. *Plant Soil* 5, 155-169
- Woldendorp JW (1963) The influence of living plant on denitrification. *Meded Landbouwhogeschool Wageningen* 63, 1-100
- Yen RW, Averill BA, Tiedje JM (1994) Denitrification: production and consumption of nitric oxide. *Appl Environ Microbiol* 60, 1053-1058
- Yeomans JC, Beauchamp EG (1978) Limited inhibition of nitrous oxide reduction in soil in the presence of acetylene. *Soil Biol Biochem* 10, 517-519
- Yeomans JC, Beauchamp EG (1982) Acetylene as a possible substrate in the denitrification process. *Can J Soil Sci* 62, 139-144
- Yoshida T, Alexander M (1970) Nitrous oxide formation by *Nitrosomonas europaea* and heterotrophic microorganisms. *Soil Sci Soc Am Proc* 34, 880-882
- Yoshinari T, Knowles R (1976) Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria. *Biochem Biophys Res Commun* 69, 705-710
- Yoshinari T, Hynes R, Knowles R (1977) Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction and measurement of denitrification and nitrogen fixation in soil. *Soil Biol Biochem* 9, 177-183