



HAL
open science

Variations saisonnières des activités respiratoire aérobie et dénitrifiante dans la zone non saturée du sol: expérimentation sur une parcelle agricole du Comtat Venaissin et modélisation

Patrice Cannavo

► **To cite this version:**

Patrice Cannavo. Variations saisonnières des activités respiratoire aérobie et dénitrifiante dans la zone non saturée du sol: expérimentation sur une parcelle agricole du Comtat Venaissin et modélisation. Sciences du Vivant [q-bio]. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, 2003. Français. NNT: . tel-02829536

HAL Id: tel-02829536

<https://hal.inrae.fr/tel-02829536v1>

Submitted on 7 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

présentée à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse
pour obtenir le diplôme de DOCTORAT « SCIENCES ET AGRONOMIE »

Spécialité HYDROGEOLOGIE

présentée par

Patrice CANNAVO

**Variations saisonnières des activités respiratoire aérobie et dénitrifiante dans
la zone non saturée du sol :
Expérimentation sur une parcelle agricole du Comtat Venaissin et
modélisation**

soutenue le 10 octobre 2003

devant le jury composé de :

| | | |
|-----------------|---|-----------------------|
| M. Y. TRAVI | Professeur – Université d'Avignon | Président du jury |
| M. J.-P. GAUDET | Ingénieur de recherche – Université de Grenoble | Rapporteur |
| M. X. LEROUX | Chargé de recherche – Université Lyon I | Rapporteur |
| M. M. ARAGNO | Professeur – Université de Neuchâtel | Examineur |
| Me. S. RECOUS | Directeur de recherche – INRA, Laon | Examineur |
| M. F. LAFOLIE | Chargé de recherche – INRA, Avignon | Co-Directeur de thèse |

RESUME

La contamination des nappes par le nitrate (NO_3^-), ainsi que les émissions de gaz à effet de serre tels que le dioxyde de carbone (CO_2) et l'oxyde nitreux (N_2O) sont des problèmes environnementaux et agronomiques cruciaux pour un développement durable. L'objectif de ce travail était de caractériser durant 7 mois la dynamique des éléments carbone et azote couplée aux activités microbiennes dans la zone non saturée du sol et de souligner, entre autre, l'intérêt de ne pas négliger les processus biologiques existants dans la zone non saturée profonde. Pour cela, un profil de sol situé dans une parcelle agricole du Comtat Venaissin (Velleron, 84) a été étudié. La zone non saturée du sol (environ 2.50 m d'épaisseur) a été instrumentée pour le suivi des flux hydrique, de gaz, de chaleur et de soluté durant la période inter-culturelle, après récolte du maïs et enfouissement des résidus (fin octobre 2001) jusqu'au semis suivant (début mai 2002). Des analyses microbiologiques ont permis d'une part de suivre les activités respiratoire aérobie et dénitrifiante potentielles, et d'autre part de dénombrer les bactéries hétérotrophes et dénitrifiantes. Les résultats ont souligné la forte dépendance des activités microbiennes aux facteurs environnementaux tels que les précipitations, la température du sol, la teneur en NO_3^- , et la qualité du carbone organique dissous (COD). Dans la zone non saturée profonde, la teneur en NO_3^- a été le facteur limitant de l'activité dénitrifiante, et la qualité du COD était en partie responsable des variations saisonnières de l'activité respiratoire aérobie. La modélisation avec le modèle PASTIS des processus biogéochimiques qui se sont produits lors de l'expérimentation a permis de simuler de façon satisfaisante les différents mécanismes. L'ajout d'un module de transport des gaz basé sur la loi de gaz poussières a permis d'estimer correctement les concentrations de CO_2 et de N_2O dans le sol. La modélisation a souligné l'importance de prendre en compte les activités microbiennes non négligeables dans la zone non saturée profonde. La comparaison modèle-expérience suggère de regarder les points suivants: (1) prendre en compte l'analyse structurale du sol et travailler à l'échelle de l'agrégat, (2) étudier l'effet du gel du sol sur le devenir de la biomasse zymogène, et (3) prendre en compte l'activité enzymatique, dont celle de la N_2O réductase. Ces différents points sont primordiaux dans le but d'améliorer les prédictions des quantités de C et N pouvant atteindre la nappe.

ABSTRACT

Nitrate (NO_3^-) groundwater contamination, in addition to greenhouse gases emissions such as carbon dioxide (CO_2) and nitrous oxide (N_2O) are crucial environmental and agronomic problems. The goal of this work was to characterize during a 7-months period C and N dynamics coupled to microbial activities in the vadose zone, emphasizing notably the interest in taking into account the existing biological processes in the deep vadose zone. Thus, a soil profile situated in an arable field in the Comtat Venaissin (Velleron, 84) was studied. The vadose zone (almost 2.5 m thick) was equipped for water, heat, solute and gas fluxes measurements, during an inter-cropping period, from corn harvesting and tillage with incorporation of maize residues (end of October 2001), to the next sowing (beginning of May 2002). Microbial analysis were performed in order to follow (1) the aerobic respiratory and denitrifying potential activities, and (2) heterotrophic and denitrifying micro-organisms. Results showed the strong environmental factors influence (rainfall, soil temperature, NO_3^- content, and dissolved organic carbon (DOC) quality) on microbial activities. In the deep vadose zone, the NO_3^- content was a limiting factor for the denitrifying activity, and the DOC quality was in part responsible of the aerobic respiratory activity seasonal variations. The biogeochemical processes, which occurred during the field experiment, were satisfactorily simulated by the PASTIS model. The addition of a new module for gas transport using the dusty gas theory allowed us to estimate correctly CO_2 and N_2O concentrations in the soil. The comparison model-experiment suggests to study the following elements: (1) to take into account the soil structure and to work at the aggregate scale, (2) to study the soil freezing effect on zymogenous biomass behaviour, and (3) to take into account the enzymatic activity, notably the N_2O reductase enzymatic activity. These elements are really important in order to perform C and N amounts reaching the groundwater.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé au sein de l'unité Climat, Sol et Environnement (CSE) de l'INRA d'Avignon, en collaboration avec le laboratoire d'Hydrogéologie de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

Je remercie tout d'abord André Chanzy, directeur de l'unité, pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire durant ces trois années de thèse. Je remercie également Bernard Blavoux responsable de l'Ecole Doctorale « Science et Agronomie » et du laboratoire d'Hydrogéologie de l'université d'Avignon pour m'avoir permis de réaliser cette thèse au sein de son Ecole Doctorale.

Je remercie également Yves Travi pour avoir accepté d'être mon directeur de thèse.

Je remercie les membres de mon jury de thèse pour l'évaluation de mon travail. Je suis particulièrement reconnaissant envers Jean-Paul Gaudet et Xavier Leroux qui ont bien voulu accepter d'être les rapporteurs de ce travail malgré leurs nombreuses responsabilités. Je remercie également Sylvie Recous et Michel Aragno pour bien avoir accepté de participer au jury.

Je souhaite remercier les membres de mon comité de pilotage qui se sont réunis pour m'aider à orienter mes recherches. Je remercie tout d'abord Catherine Massiani et Marianne Domeizel de l'université de Provence. Je remercie également Christophe Emblanch de l'université d'Avignon. Ensuite, je remercie Bernard Nicolardot (INRA) et son laboratoire pour sa contribution à l'analyse des résidus de maïs. Je tiens à remercier plus particulièrement Agnès Richaume qui a fait tout son possible pour que mon accueil dans le laboratoire d'Ecologie Microbienne se passe dans les meilleures conditions et qui, au cours de discussions intéressantes, m'a apporté les idées constructives d'une partie de ma thèse.

Je suis très reconnaissant envers François Lafolie et Pierre Renault qui m'ont bien encadré et conseillé tout au long de ma thèse. Je remercie particulièrement François pour sa grande contribution à mon travail, notamment pour son aide sur le terrain, pour m'avoir patiemment initié à la modélisation, et pour m'avoir aidé dans la rédaction de ce mémoire.

Merci à Yves Dudal pour sa large contribution, son investissement dans la recherche de techniques adaptées à l'analyse du carbone organique dissous de mes échantillons. Je le remercie également pour ses idées constructives dans l'interprétation des résultats. Ces remerciements s'adressent aussi à Jean-Luc Boudenne, maître de conférence à l'Université de Provence, qui nous a aidé dans ces recherches.

Je n'oublie pas de remercier Thierry Flacher, exploitant agricole à Velleron, qui a bien accepté de nous prêter une partie de sa parcelle pour pouvoir réaliser nos expérimentations. Le travail sur le terrain, outre les conditions parfois difficiles d'échantillonnage notamment en hiver (mes mains s'en souviennent...), aura été pour moi une expérience formidable, d'une part pour connaître mes capacités à contrôler et à suivre un site expérimental et d'autre part pour les discussions intéressantes avec l'exploitant agricole et les « curieux » du voisinage. Je n'ai aucune rancune envers le chien de l'exploitant pour ses grognements aléatoires et ses arrivées discrètes dans le champ de maïs m'ayant parfois fait, je l'avoue, sursauter...

Ce travail n'aurait pu se faire sans le soutien efficace de toute une équipe technique. Je remercie donc Ghislain Sévenier pour les analyses chimiques, Nadine Salin pour avoir préparé mes milieux nutritifs et réservé une des hottes à flux laminaire tant convoitées pour la culture des micro-organismes, ainsi que pour sa participation à la lecture des micro-plaques. Je n'oublie pas Olivier Delfosse pour avoir accepté, malgré un planning sur-rempli, d'analyser les teneurs isotopiques ^{15}N de quelques échantillons. Je remercie enfin Michel Daniel et Roland Simler du laboratoire d'Hydrogéologie pour m'avoir d'une part aidé à la conception et à l'élaboration des cannes de prélèvement de gaz du sol, et d'autre part analysé les teneurs en $^{13}\text{CO}_2$.

Merci à Harriet Coleman et Cherry Dudal, traductrices, pour m'avoir corrigé les textes en anglais.

Mes remerciements s'adressent aussi à Chantal Gars et au personnel de la documentation, Pascal Aventurier, Hugues Leiser, Michèle Maximilien et Martine Tholozan que j'ai souvent mis à contribution pour la commande de nombreux articles.

Lors de mes séjours réalisés dans le cadre de ma thèse, j'ai eu l'occasion de connaître de nombreuses personnes. Je ne peux malheureusement pas citer tout le monde. Que chaque chercheur, ingénieur, technicien, thésard ou stagiaire qui ont contribué à rendre mes séjours agréables dans ces laboratoires, trouvent ici le témoignage de ma gratitude.

Je remercie tout particulièrement l'ensemble du personnel du bâtiment Sol de l'unité CSE avec qui j'ai passé plus de 90% de mon temps de travail. J'ai notamment une pensée pour l'ensemble des thésards, Karima, Kawtar, Fabrice, Marine et Manue où nous nous sommes soutenus moralement. Un merci particulier à Dalila Mohrath pour son soutien moral et les fous rires que l'on a souvent eu ensemble.

Ces années passées au bâtiment Sol de l'Unité CSE resteront pour moi un excellent souvenir. Le travail a été réalisé dans une bonne ambiance et sur une relation de confiance que

j'ai énormément appréciée. Les pauses de travail étaient le moment du défolement. Je n'oublierai jamais les discussions très « constructives et pertinentes » au restaurant mais aussi les parties de pétanque endiablées à la pause du midi, hiver comme été, et les discussions très souvent improvisées visant à apprécier la « qualité » du joueur... et de la boule !

Je vais en terminer pour remercier tous mes amis pour leur soutien moral et les grands moments de détente tout au long de ces années d'études...

Grand merci enfin à toute ma famille qui m'a permis d'arriver jusque là et qui m'a soutenu, malgré les quelques moments difficiles vécus ces dernières années, je leur dédie ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCTION GENERALE | 1 |
| CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE | 7 |
| I. Problématiques environnementales et agronomiques | 9 |
| I.1. La contamination des nappes par le nitrate | 9 |
| I.2. Gaz à effet de serre : l'oxyde nitreux (N ₂ O) | 9 |
| I.3. Stockage du carbone dans les sols | 10 |
| I.4. Les spécificités de la zone non saturée pour les activités microbiennes | 11 |
| II. La matière organique du sol | 14 |
| II.1. Généralités : les substances humiques | 14 |
| II.2. Décomposition des résidus végétaux dans le sol | 15 |
| II.3. La matière organique dissoute | 17 |
| II.4. Techniques de fractionnement et d'identification moléculaire du carbone organique dissous | 18 |
| <i>II.4.1. Fractionnement physique et chimique</i> | 18 |
| <i>II.4.2. L'identification moléculaire</i> | 19 |
| II.5. Distribution du carbone organique dissous dans un profil de sol : l'adsorption physique | 22 |
| III. L'activité microbienne dans les sols : la respiration aérobie et la dénitrification | 24 |
| III.1. La respiration microbienne aérobie | 24 |
| <i>III.1.1. Processus impliqués</i> | 24 |
| <i>III.1.2. Distribution verticale de l'activité respiratoire aérobie dans un profil de sol</i> | 25 |
| III.2. La dénitrification | 25 |
| <i>III.2.1. Définitions</i> | 25 |
| <i>III.2.2. Distribution verticale de l'activité dénitrifiante dans un profil de sol</i> | 28 |
| <i>III.2.3. Importance des émissions de N₂O par dénitrification</i> | 28 |

| | |
|---|-----------|
| III.3. Les facteurs environnementaux influençant les activités microbiennes | 29 |
| <i>III.3.1. La disponibilité en eau</i> | 29 |
| <i>III.3.2. Les échanges gazeux</i> | 31 |
| <i>III.3.3. Les substrats organiques</i> | 32 |
| <i>III.3.4. Température et variabilité saisonnière</i> | 33 |
| <i>III.3.5. Les pratiques agricoles</i> | 33 |
| IV. Modélisation du transfert et du devenir de N dans la zone non saturée | 34 |
| IV.1. Les modèles de transfert d'eau, de chaleur et de solutés | 34 |
| IV.2. Les modèles de transport de gaz | 35 |
| <i>IV.2.1. Transferts gazeux dans le sol</i> | 35 |
| <i>IV.2.2. Modélisation des transport des gaz dans la zone non saturée des sols</i> | 37 |
| <i>IV.2.3. Estimation des paramètres</i> | 39 |
| IV.3. Les modèles de transformation du carbone et de l'azote | 41 |
| <i>IV.3.1. Compartiments organiques considérés dans les modèles</i> | 41 |
| <i>IV.3.2. La biomasse microbienne dans les modèles</i> | 42 |
| <i>IV.3.3. Relations carbone-azote</i> | 43 |
| IV.4. Les modèles de dénitrification | 44 |
| <i>IV.4.1. Les modèles empiriques</i> | 44 |
| <i>IV.4.2. Les modèles mécanistes</i> | 45 |
| <i>IV.4.3. Les modèles stochastiques</i> | 45 |
| IV.5. Bilan : nécessité de la prise en compte des processus biologiques | 45 |
| V. Le modèle PASTIS | 47 |
| V.1. Transfert d'eau, de chaleur et de solutés | 47 |
| <i>V.1.1. Transport de l'eau</i> | 47 |
| <i>V.1.2. Transport de chaleur</i> | 48 |
| <i>V.1.3. Transport de soluté</i> | 48 |
| V.2. Transfert de gaz : le modèle des gaz poussières | 49 |
| V.3. Cycles C et N : le modèle CANTIS | 53 |
| <i>V.3.1. Vitesse de décomposition de HOM par AUB</i> | 53 |
| <i>V.3.2. Vitesse de décomposition de FOM ou SOL par ZYB</i> | 53 |
| <i>V.3.3. Vitesse d'assimilation de C par AUB ou ZYB</i> | 54 |
| <i>V.3.4. Vitesse de décomposition de AUB ou ZYB</i> | 54 |
| <i>V.3.5. Vitesse d'humification par AUB et ZYB</i> | 54 |

| | |
|---|-----------|
| <i>V.3.6. Vitesse de recyclage de C dans AUB ou ZYB</i> | 54 |
| <i>V.3.7. Vitesse d'assimilation de N par AUB ou ZYB</i> | 54 |
| <i>V.3.8. Vitesse d'assimilation directe par AUB ou ZYB</i> | 54 |
| <i>V.3.9. Vitesse d'immobilisation de N par AUB ou ZYB</i> | 55 |
| <i>V.3.10. Vitesse d'immobilisation de NH₄⁺</i> | 55 |
| <i>V.3.11. Vitesse d'immobilisation de NO₃⁻</i> | 55 |
| <i>V.3.12. Vitesse de nitrification</i> | 55 |
| <i>V.3.13. Facteurs de température, d'humidité et de limitation d'azote</i> | 55 |
| V.4. Dénitrification | 56 |
| VI. Conclusion | 57 |

CHAPITRE 2 : DEVENIR DU CARBONE ET DE L'AZOTE DANS LA ZONE NON SATURÉE DU SOL :

MESURES *IN SITU* ET EN LABORATOIRE DES VARIATIONS DES ACTIVITÉS DENITRIFIANTE ET RESPIRATOIRE AÉROBIE

| | |
|---|-----------|
| Abstract | 61 |
| 1. Introduction | 62 |
| 2. Material & Methods | 65 |
| 2.1. Experimental site | 65 |
| 2.2. Microbial measurements | 65 |
| 2.3. Additional measurements | 67 |
| 2.3.1 Bulk density | 68 |
| 2.3.2 Soil water suction and soil moisture | 68 |
| 2.3.3 Soil temperature | 68 |
| 2.3.4 Soil solute extraction and measurements | 69 |
| 2.3.5 Soil atmosphere measurements | 69 |
| 2.3.6 N ₂ O production origin at soil surface under aerobic conditions | 70 |
| 2.4. Statistical analyses and other treatments | 70 |
| 3. Results | 73 |
| 3.1. Environmental factors | 73 |
| 3.1.1 Weather factors and water filled pore space (WFPS) | 73 |
| 3.1.2 Soil solution | 73 |
| 3.1.3 Soil atmosphere | 75 |
| 3.2. Soil microbial activity | 79 |

| | |
|---|-----------|
| 4. Discussion | 83 |
| 4.1. Soil profile microbial activity with soil CO ₂ and N ₂ O concentration | 83 |
| 4.2. Origins of N ₂ O emissions in the top soil layer | 84 |
| 4.3. Soil CO ₂ and N ₂ O levels in relation to seasonal variations in temperature and water content | 85 |
| 4.4. Microbial activity in relation to bacterial densities and environmental conditions | 87 |
| 4.5. Particular environmental conditions | 88 |
| 5. Données complémentaires : profils de ¹³CO₂ | 91 |

| | |
|-------------------|-----------|
| TRANSITION | 93 |
|-------------------|-----------|

CHAPITRE 3 : ANALYSE PAR FLUORESCENCE DU CARBONE ORGANIQUE DISSOUS DANS LA ZONE NON SATURÉE DU SOL EN RELATION AVEC LE CLIMAT ET L'ACTIVITÉ RESPIRATOIRE AÉROBIE

| | |
|---|------------|
| Abstract | 97 |
| 1. Introduction | 98 |
| 2. Material & Methods | 100 |
| 2.1. Experimental site | 100 |
| 2.2. Water extracted organic matter measurements | 100 |
| 2.2.1 <i>Water extracted organic matter content</i> | 100 |
| 2.2.2 <i>WEOM quality characterisation</i> | 101 |
| 2.3. Microbial measurements | 101 |
| 3. Results & discussion | 103 |
| 3.1. WEOM fluorescence | 103 |
| 3.2. WEOM and microbial activity in the soil profile | 105 |
| 3.3. Influence of climate on WEOM | 109 |
| 3.4. Limitations of the fluorescence analysis of WEOM | 112 |
| 4. Conclusion | 113 |
| TRANSITION | 115 |

| | |
|--|------------|
| CHAPITRE 4: MODELISATION DES VARIATIONS SAISONNIERES DES CONCENTRATIONS EN CO₂ ET N₂O AVEC UN MODELE DE TRANSPORT DES ELEMENTS C ET N DANS LA ZONE NON SATUREE DU SOL | 117 |
| Abstract | 119 |
| 1. Introduction | 120 |
| 2. Material & Methods | 123 |
| 2.1. Experimental site | 123 |
| 2.2. <i>In situ</i> measurements | 123 |
| 2.2.1 <i>Soil bulk density</i> | 123 |
| 2.2.2 <i>Soil water suction, soil moisture and soil temperature</i> | 123 |
| 2.2.3 <i>Gas and soil solution sampling</i> | 125 |
| 2.2.4 <i>In situ soil maize residue decomposition</i> | 125 |
| 2.3. Laboratory measurements | 127 |
| 2.3.1 <i>Gas diffusion coefficient and air permeability measurements</i> | 127 |
| 2.3.2 <i>Microbial activities</i> | 127 |
| 2.4. Model description | 129 |
| 2.4.1 <i>Air flow equation and dusty gas model (DGM)</i> | 131 |
| 2.4.2 <i>Calibration procedures</i> | 135 |
| 3. Results & discussion | 137 |
| 3.1. Soil gas diffusion coefficient and air permeability | 137 |
| 3.2. Physical simulations with PASTIS model | 137 |
| 3.3. Biological simulations with PASTIS model | 141 |
| 3.3.1 <i>Simulation of CO₂ concentrations in the soil profile</i> | 141 |
| 3.3.2 <i>C mineralisation: maize residue decomposition</i> | 147 |
| 3.3.3 <i>Simulation of N₂O concentrations in the soil profile</i> | 149 |
| 3.3.4 <i>Simulation of N mineralisation and NO₃⁻ concentration in the soil profile</i> | 151 |
| 4. Conclusion | 153 |
| 5. Données complémentaires sur la modélisation | 155 |
| 5.1. Effets du quotient respiratoire sur les profils de CO ₂ et de O ₂ , et de WFPS sur la concentration en N ₂ O | 155 |
| 5.2. Effet de la profondeur d'enfouissement des résidus | 157 |
| 5.3. Effet du facteur de décomposition K _{MZ} | 159 |
| 5.4. Effet de la respiration | 163 |

| | |
|---|------------|
| 5.4.1 <i>Respiration avec CANTIS uniquement</i> | 163 |
| 5.4.2 <i>Respiration mesurée au laboratoire</i> | 163 |
| 5.4.3 <i>Ajustement des respirations</i> | 166 |
| SYNTHESE DES RESULTATS | 167 |
| I. Synthèse des principaux acquis | 169 |
| I.1. Expérimentation <i>in situ</i> | 169 |
| I.2. Modélisation des transformations de C et N | 171 |
| II. Contexte environnemental et agronomique | 173 |
| III. Perspectives de travail | 175 |
| III.1. Aspect méthodologique | 175 |
| III.2. Aspect modélisation | 177 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 179 |
| ANNEXES | 207 |
| ANNEXE 1: PUBLICATION: DENITRIFICATION DANS LES COUCHES SUPERFICIELLES DE LA ZONE NON SATURÉE DU SOL: COMPARAISON ENTRE UN FLUVIC HYPERCALCARIC CAMBISOL ET UN HAFLIC CALCISOL | 209 |
| ANNEXE 2: SCHEMA DE CONCEPTION DES CAPTEURS D'ATMOSPHERE DU SOL | 221 |

LISTE DES PARAMETRES

| Paramètre | Définition | Unité |
|--------------|---|--|
| a | Paramètre de la loi de Q_{10} | - |
| A_j^C | Vitesse d'assimilation du carbone | mg C kg ⁻¹ j ⁻¹ |
| A_j^N | Vitesse d'assimilation de l'azote | mg N kg ⁻¹ j ⁻¹ |
| α_i | Coefficient de partage entre l'assimilation directe et l'immobilisation de N | - |
| ARA | Aerobic respiratory activity | µg O ₂ g ⁻¹ dw h ⁻¹ |
| AUB | Autochthonous biomass | - |
| b | Paramètre de Klinkenberg | Pa |
| b_i | Paramètre de la loi de Q_{10} | - |
| B_A | Teneur en carbone de la biomasse autochtone | mg C kg ⁻¹ |
| B_k | Perméabilité à l'air du milieu poreux | m ² |
| B_{ke} | Perméabilité à l'air du milieu poreux effective | m ² |
| B_T | Paramètre constant pour la décomposition de la matière organique humifiée | K ⁻¹ |
| B_Z | Teneur en carbone de la biomasse zymogène | mg C kg ⁻¹ |
| β | Coefficient de partage entre NH ₄ ⁺ et NO ₃ ⁻ | - |
| C | Concentration molaire | mol m ⁻³ |
| $C(\psi)$ | Capacité capillaire | m ⁻¹ |
| C_H | Teneur en carbone dans la matière organique humifiée | mg C kg ⁻¹ |
| C_i | Consommation du gaz i | mol m ⁻³ s ⁻¹ |
| C_K | Teneur en carbone dans la matière organique fraîche ou soluble | mg C kg ⁻¹ |
| C_T | Capacité calorifique du sol | J m ⁻³ K ⁻¹ |
| C_w | Capacité calorifique de l'eau | J m ⁻³ K ⁻¹ |
| $C_{w,i}$ | Concentration molaire dans la phase aqueuse | mol m ⁻³ |
| $C_{ZYB(j)}$ | Teneur en carbone de la biomasse zymogène à la date j | g C m ⁻² |
| CEL | Cellulose | - |
| COD ou DOC | Carbone organique dissous | µg C g ⁻¹ sec |

| | | |
|-----------------------|---|---|
| $CO_2(\text{atm}, t)$ | Concentration en CO_2 dans l'atmosphère à l'instant t | mol m^{-3} |
| $CO_2(20, t)$ | Concentration en CO_2 à 20 cm de profondeur à l'instant t | mol m^{-3} |
| D | Coefficient de dispersion relié à la vitesse de l'eau des pores | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| D_i^* | Coefficient de diffusion gazeuse dans le matériau | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| D_i | Coefficient de diffusion gazeuse dans l'air | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| D_i^K | Coefficient de diffusion de Knudsen | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| D_i^{K0} | Coefficient de diffusion de Knudsen pour un taux de saturation effectif nul | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| D_{ij} | Coefficient de diffusion binaire pour les gaz i et j | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| D_{ij}^* | Coefficient de diffusion binaire effectif pour les gaz i et j | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| D_m | Coefficient de diffusion moléculaire effectif | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| D_R | Vitesse d'assimilation directe de N | $\text{mg N kg}^{-1} \text{j}^{-1}$ |
| DGM | Dusty gas model | - |
| E | Enrichissement isotopique du $^{15}\text{N}_2\text{O}$ émis | % atom en excès |
| E_0 | Enrichissement isotopique du $^{15}\text{N}_2\text{O}$ à $t=0$ | % atom en excès |
| E_1 | Enrichissement isotopique de $^{15}\text{NH}_4^+$ à $t=6\text{h}$ | % atom en excès |
| E_2 | Enrichissement isotopique de $^{15}\text{NO}_3^-$ à $t=6\text{h}$ | % atom en excès |
| E_m | Enrichissement isotopique de $^{15}\text{N}_2\text{O}$ à $t=6\text{h}$ | % atom en excès |
| ε_a | Porosité libre à l'air | - |
| ε_T | Porosité totale | - |
| ETP | Evapotranspiration | mm |
| f_T | Facteur de température | - |
| f_w | Facteur d'humidité | - |
| f_N | Facteur de limitation en azote | - |
| F | Flux dû à la pluie et à l'évaporation | mm j^{-1} |
| F_i^D | Flux moléculaire diffusif du gaz i | $\text{molécules m}^{-2} \text{s}^{-1}$ |
| FOM | Fresh organic matter | - |
| γ | Fraction de N_2O émise par la source $^{15}\text{NH}_4^+$ | - |
| h_i | Coefficient d'humification | - |
| H | Charge hydraulique | m |
| H_{bot} | Charge hydraulique en bas du profil | m |
| H_i^C | Vitesse d'humification du carbone | $\text{mg C kg}^{-1} \text{j}^{-1}$ |

| | | |
|-------------|---|--|
| HCE | Hémicellulose | - |
| HIX | Indice d'humification | - |
| HOM | Humified organic matter | - |
| I_i | Vitesse d'immobilisation de N par la biomasse autochtone ou zymogène | $\text{mg N kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$ |
| I_i^A | Vitesse d'immobilisation de NH_4^+ | $\text{mg N kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$ |
| I_i^N | Vitesse d'immobilisation de NO_3^+ | $\text{mg N kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$ |
| k | Constante de Boltzmann | $\text{kg m}^{-2} \text{ s}^{-2} \text{ K}^{-1}$ |
| k_H | Constante de vitesse de décomposition de HOM | j^{-1} |
| k_K | Constante de vitesse de décomposition de la matière organique fraîche ou soluble | j^{-1} |
| k_p | Constante de partage | - |
| k_{rg} | Perméabilité relative du gaz | m^2 |
| K | Conductivité hydraulique | m s^{-1} |
| K_d | Coefficient d'adsorption du COD | $\text{cm}^3 \text{ g}^{-1}$ |
| $K_{H,i}$ | Constante de partage | - |
| K_m | Constante de Michaelis-Menten | mg N kg^{-1} |
| K_{MA} | Facteur de décomposition relié à la taille de la biomasse autochtone | j^{-1} |
| K_{MZ} | Facteur de décomposition relié à la taille de la biomasse zymogène | j^{-1} |
| K_N | Constante d'affinité entre NH_4^+ et les bactéries nitrifiantes | mg N kg^{-1} |
| λ | Dispersivité du sol | m |
| λ_T | Conductivité thermique | $\text{W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$ |
| LIG | Lignine | - |
| μ | Viscosité | $\text{kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ |
| ν | Nombre d'espèces incluant le milieu poreux | - |
| υ | Vitesse de l'eau dans les pores | m s^{-1} |
| M_i | Poids moléculaire du gaz i | kg mol^{-1} |
| M_m | Poids moléculaire du fluide | kg mol^{-1} |
| N | Quantité de N_2O émise en 6h | ppmv |
| N_0 | Quantité de N_2O à $t=0$ | ppmv |
| N^V | Flux molaire convectif | $\text{mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ |

| | | |
|-----------------------|---|--|
| N_A | Teneur en N-NH ₄ ⁺ | mg N kg ⁻¹ |
| N_N | Teneur en N-NO ₃ ⁻ | mg N kg ⁻¹ |
| N_i^D | Flux molaire du diffusif gaz i | mol m ⁻³ s ⁻¹ |
| N_i^T | Flux molaire total du gaz i | mol m ⁻³ s ⁻¹ |
| $N_2O(\text{atm}, t)$ | Concentration en N ₂ O dans l'atmosphère à l'instant t | mol m ⁻³ |
| $N_2O(20, t)$ | Concentration en N ₂ O à 20 cm de profondeur à l'instant t | mol m ⁻³ |
| ω | Angle de contact air-eau | radian |
| P | Pression totale du gaz | Pa |
| \bar{P} | Pression moyenne de la phase gazeuse | Pa |
| P_0 | Pression initiale | Pa |
| P_c | Pression capillaire | Pa |
| P_d | Pression de déplacement d'air | Pa |
| P_i | Pression partielle du gaz i | Pa |
| P_{ri} | Production du gaz i | mol m ⁻³ s ⁻¹ |
| PDA ou ADP | Potential denitrifying activity | μg N ₂ O-N g ⁻¹ dw h ⁻¹ |
| ϕ | Paramètre de calage de la mort de la biomasse zymogène | - |
| Φ_{N_2O} | Flux d'émission de N ₂ O vers l'atmosphère | mg N-N ₂ O m ⁻² h ⁻¹ |
| ψ | Potentiel matriciel | m |
| ψ' | Potentiel matriciel où l'activité microbienne cesse | m |
| ψ_{ref} | Potentiel matriciel de référence | m |
| q | Flux de Darcy | m s ⁻¹ |
| r | Rayon de pore | m |
| R | Constante de gaz parfaits | Pa m ³ mol ⁻¹ K ⁻¹ |
| R_{CN} | Ratio N/C dans la biomasse autochtone ou zymogène | - |
| R_g | Rayonnement global | W m ⁻² |
| R_i | Coefficient de stockage | - |
| R_i^C | Vitesse de recyclage du carbone | mg C kg ⁻¹ j ⁻¹ |
| RDM | Readily decomposable material | - |
| ρ_d | Densité apparente | g cm ⁻³ |
| ρ_g | Masse volumique de la phase gazeuse | g cm ⁻³ |
| ρ_s | Densité de solide | g cm ⁻³ |
| σ | Tension à l'interface air-eau | - |
| S_i | Production ou consommation du gaz i | mol m ⁻³ s ⁻¹ |

| | | |
|-----------------------|---|--|
| SOL | Soluble organic compound | - |
| SPDA ou ADSP | Semi-potential denitrifying activity | $\mu\text{g N}_2\text{O-N g}^{-1} \text{ dw h}^{-1}$ |
| t | Temps | s |
| T | Température du sol | K |
| T_{air} | Température de l'air | K |
| T_{opt} | Température de l'air optimale | K |
| T_{ref} | Température de référence | K |
| τ | Paramètre de distribution de taille de pore | - |
| θ | Teneur en eau volumique | $\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ |
| θ_d | Teneur en eau à partir de laquelle il y a dénitrification | $\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ |
| θ_e | Taux de saturation effectif du sol | - |
| θ_{max} | Teneur en eau à saturation maximale | $\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ |
| θ_r | Teneur en eau résiduelle | $\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ |
| θ_s | Teneur en eau à saturation | $\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ |
| u | Tortuosité | - |
| V_{max} | Vitesse maximale de nitrification | $\text{mg N kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$ |
| V_N | Vitesse de nitrification | $\text{mg N kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$ |
| WFPS | Water-filled pore space | $\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ |
| X_i | Fraction molaire du gaz i | - |
| $X_{i,j}^k$ | Fraction molaire du gaz i au nœud j | - |
| Y_i | Rendement d'assimilation du carbone pour la matière organique humifiée ou soluble | - |
| z | Profondeur | m |
| Z | Profondeur du bas du profil | m |
| ZYB | Zymogenous biomass | - |

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE 1

| | |
|---|----|
| <i>Figure 1 : Devenir des éléments C et N dans la zone non saturée du sol.</i> | 12 |
| <i>Figure 2 : Schéma de formation de la matière organique dissoute (MOD) (Kalbitz, 2000).</i> | 16 |
| <i>Figure 3 : Schéma de fractionnement du COD (Leenheer et Huffman, 1976).</i> | 20 |
| <i>Figure 4 : Les étapes de la dénitrification (Hénault et Germon, 1995).</i> | 26 |
| <i>Figure 5 : Influence de WFPS sur le devenir de N (Linn et Doran, 1984).</i> | 30 |
| <i>Figure 6 : Principe des gaz poussières. Les phases solides et liquides sont des « macro » molécules qui ne bougent pas (poussières).</i> | 36 |
| <i>Figure 7 : Description du modèle PASTIS et des interactions entre modules.</i> | 46 |
| <i>Figure 8 : Organigramme et principaux paramètres du modèle CANTIS.</i> | 52 |

CHAPITRE 2

| | |
|--|----|
| <i>Figure 1 : Site expérimental (Velleron, 84).</i> | 66 |
| <i>Figure 2 : Profil pédologique (26/02/02).</i> | 66 |
| <i>Figure 3 : Paramètres climatiques (A : température moyenne quotidienne de l'air et du sol, B: pluviométrie et WFPS).</i> | 72 |
| <i>Figure 4 : Evolution des concentrations en NO_3^- avec les principales dates clés. Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les valeurs des erreurs standards. P = précipitation</i> | 74 |
| <i>Figure 5 : Evolution des concentrations en COD avec les principales dates clés. Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les valeurs des erreurs standards. P = précipitation</i> | 74 |
| <i>Figure 6 : Distribution des concentrations en CO_2 dans le profil de sol avec les principales dates clés.</i> | 76 |
| <i>Figure 7 : Distribution des concentrations en N_2O dans le profil de sol avec les principales dates clés.</i> | 76 |
| <i>Figure 8 : Variation temporelle de l'activité respiratoire aérobie dans le profil de sol. Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les valeurs des erreurs standards.</i> | 78 |

- Figure 9 :** Influence de la concentration en COD sur l'activité respiratoire aérobie (les triangles noirs représentent la progression du temps chronologique). Les valeurs de l'activité respiratoire aérobie sont la moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les valeurs des erreurs standards. 78
- Figure 10 :** Influence des densités de bactéries hétérotrophes sur l'activité respiratoire aérobie (les triangles noirs représentent la progression du temps chronologique). Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les valeurs des erreurs standards. 80
- Figure 11 :** Variation temporelle de l'activité dénitrifiante semi-potentielle dans le profil de sol. Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les valeurs des erreurs standards. 80
- Figure 12 :** Influence de la concentration en COD sur l'activité dénitrifiante semi-potentielle (les triangles noirs représentent la progression du temps chronologique). Les valeurs de l'activité dénitrifiante semi-potentielle sont la moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les valeurs des erreurs standards. 81
- Figure 13 :** Influence des densités de bactéries dénitrifiantes sur l'activité dénitrifiante semi-potentielle (les triangles noirs représentent la progression du temps chronologique). Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les valeurs des erreurs standards. 81
- Figure 14 :** Teneur en $^{13}\text{CO}_2$ dans le profil de sol avant et après la pluie (02/05/02). 90
- Figure 15 :** Concentration en CO_2 de l'atmosphère du profil de sol avant et après la pluie (02/05/02). 90

CHAPITRE 3

- Figure 1 :** Matrice des spectres d'excitation-émission (EEM) de la matière organique extraite à l'eau (WEOM) de l'horizon de surface le 18 février 2002 ($[\text{WEOM}] = 8.8 \text{ mg L}^{-1}$). Les axes vertical et horizontal correspondent aux longueurs d'onde d'émission et d'excitation respectivement. 102
- Figure 2 :** Spectres d'émission dans les différentes couches du profil de sol ($[\text{WEOM}] = 9.6, 5.3, 2.2 \text{ et } 0.6\text{-}1.2 \text{ mg L}^{-1}$ pour les horizons 0-30, 30-60, 60-90 et les plus profonds respectivement). 102

| | |
|---|-----|
| <i>Figure 3 : Corrélation entre l'aire du spectre d'émission et la concentration en WEOM dans les différentes couches du profil de sol.</i> | 104 |
| <i>Figure 4 : Relation entre la concentration en WEOM (A), les valeurs de HIX (B) et l'activité respiratoire aérobie (C) dans le profil de sol. Les losanges correspondent à des valeurs moyennes et les barres représentent l'échelle de valeurs mesurée durant l'expérimentation.</i> | 106 |
| <i>Figure 5 : Influence des paramètres climatiques (A) sur les variations saisonnières de HIX et de la concentration en WEOM dans l'horizon 0-30 cm (B) et l'horizon 120-150 cm (C).</i> | 108 |
| <i>Figure 6 : Devenir de la qualité de WEOM dans la zone non saturée.</i> | 110 |

CHAPITRE 4

| | |
|--|-----|
| <i>Figure 1 : Installation des colonnes de mélange sol/résidus de maïs sur le site expérimental pour le suivi de la décomposition des résidus de maïs</i> | 124 |
| <i>Figure 2 : Valeurs expérimentales de D_i^*/D_i en fonction de la porosité libre à l'air du sol. Comparaison avec les modèles de Penman (1940), Buckingham (1904), Millington & Quirk (1961), et Millington & Shearer (1971).</i> | 136 |
| <i>Figure 3 : Evènements pluvieux durant l'expérimentation.</i> | 138 |
| <i>Figure 4 : Potentiel matriciel in situ et simulé à 20 (A), 40 (B), et 100 (C) cm de profondeur.</i> | 139 |
| <i>Figure 5 : Température in situ et simulée à 20 (A), 60 (B), et 170 (C) cm de profondeur.</i> | 140 |
| <i>Figure 6 : Variations saisonnières de la concentration en CO₂ dans le profil de sol à 20 (A), 40 (B), 100 (C), et 200 (D) cm de profondeur.</i> | 142 |
| <i>Figure 7 : Variations saisonnières des concentrations en CO₂ aux profondeurs 20 (A) et 40 (B) cm. Dans cette simulation, l'adsorption du COD aux particules minérales du sol a été prise en compte.</i> | 142 |
| <i>Figure 8 : Concentration en CO₂ (A) et teneur en ZYB (B) à 20 cm de profondeur, influencés par le paramètre ϕ décrivant la mort de la ZYB durant la phase hivernale de l'expérimentation.</i> | 144 |

- Figure 9 :** Simulation des concentrations en CO_2 aux profondeurs 20 (A), 40 (B), 100 (C) et 200 (D) cm. Dans cette simulation, l'adsorption du COD et la mort de la ZYB durant l'hiver sont pris en compte. 146
- Figure 10 :** Cumul de décomposition du carbone des résidus de maïs durant l'expérimentation. 148
- Figure 11 :** Variations saisonnières de la concentration en N_2O dans le profil de sol à 20 (A), 60 (B), 100 (C), et 200 (D) cm de profondeur. 150
- Figure 12 :** Concentrations en NO_3^- durant l'expérimentation dans les couches 0-30 cm (A), 30-60 cm (B), 90-120 cm (C), et 120-150 cm (D). 152
- Figure 13 :** Sensibilité du modèle au quotient respiratoire QR pour prédire les concentrations en CO_2 (A) et O_2 (B) dans le profil de sol (11 novembre 2001, JJ 315). 154
- Figure 14 :** Sensibilité du modèle à la valeur de l'espace poral occupé par l'eau (WFPS) pour prédire les variations saisonnières de la concentration en N_2O à 20 cm de profondeur (A: 60%, B: 70%, C: 80%). 156
- Figure 15 :** Effet de la profondeur d'enfouissement des résidus sur la quantité de biomasse C zymogène (ZYB) et autochtone (AUB) dans l'horizon 0-30. 158
- Figure 16 :** Effet de la profondeur d'enfouissement des résidus sur la concentration en CO_2 à 20 cm de profondeur. 158
- Figure 17 :** Effet de la valeur de K_{mz} sur la quantité de biomasse zymogène dans l'horizon 0-30. 160
- Figure 18 :** Effet de la valeur de K_{mz} sur la concentration en CO_2 à 20 cm de profondeur. 160
- Figure 19 :** Comparaison modèle-expérience du cumul de décomposition des résidus de maïs lorsque la quantité de biomasse initiale vaut 1 et 10 $g\ C.m^{-2}$. 162
- Figure 20 :** Simulation des concentrations en CO_2 , avec le modèle CANTIS uniquement, à 20 (A), 60 (B) et 200 (C) cm de profondeur. 164
- Figure 21 :** Simulation des concentrations en CO_2 , avec prise en compte des activités respiratoire aérobie potentielle dans tout le profil de sol, à 20 (A), 60 (B) et 200 (C) cm de profondeur. 164

Figure 22 : Simulation des concentrations en CO₂, avec activation du modèle CANTIS dans l'horizon 0-30 et prise en compte de l'activité respiratoire aérobie potentielle dans l'horizon 30-60, à 20 (A), 60 (B) et 200 (C) cm de profondeur. 165

Figure 23 : Simulation des concentrations en CO₂, avec activation du modèle CANTIS dans l'horizon 0-30 et prise en compte de l'activité respiratoire aérobie potentielle dans les horizons inférieurs, à 20 (A), 60 (B) et 200 (C) cm de profondeur. 165

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 1

| | |
|---|----|
| <i>Tableau 1 : Substances trouvées dans les fractions spécifiques de la MOD (Qualls et Haines, 1991).</i> | 20 |
|---|----|

CHAPITRE 2

| | |
|--|----|
| <i>Tableau 1 : Principales caractéristiques du profil de sol.</i> | 64 |
| <i>Tableau 2 : Détermination de l'origine de N₂O dans le sol après application d'urée-¹⁵N.</i> | 77 |
| <i>Tableau 3 : Valeurs du ratio N₂O/(N₂O+N₂) dans l'horizon 0-30 cm. Ce ratio est obtenu par la mesure de la production cumulée de N₂O en conditions de mesure de l'ADP (après 6 heures d'incubation) avec (+) et sans (-) ajout de C₂H₂. Cinq répétitions ont été réalisées</i> | 85 |
| <i>Tableau 4 : Valeurs des ratios de variation des concentrations de CO₂ et N₂O (R_{CO2} et R_{N2O}, respectivement) et du ratio de flux de N₂O $\frac{\Phi_{N2O}(t_2)}{\Phi_{N2O}(t_1)}$ avant (t₁) et après (t₂) un événement pluvieux en surface du sol.</i> | 87 |

CHAPITRE 4

| | |
|---|-----|
| <i>Tableau 1 : Principales caractéristiques du profil de sol.</i> | 122 |
| <i>Tableau 2 : Densités et porosités des échantillons de sol.</i> | 126 |
| <i>Tableau 3 : Activité respiratoire aérobie dans le profil de sol (10² µg O₂ g⁻¹ dw h⁻¹).</i> | 128 |
| <i>Tableau 4 : Activités dénitrifiantes potentielles et semi-potentielles dans le profil de sol (10⁻⁵ µg N-N₂O g⁻¹ dw h⁻¹).</i> | 128 |
| <i>Tableau 5 : Valeurs des paramètres pour le calcul des flux hydrique, de chaleur et de soluté.</i> | 130 |
| <i>Tableau 6 : Valeurs des paramètres biologiques.</i> | 134 |

INTRODUCTION GENERALE

La zone non saturée du sol (ZNS) est comprise entre l'atmosphère et la nappe d'eau souterraine. Dans ce compartiment coexistent les phases solide, liquide et gazeuse du sol. Il est représenté comme un réacteur où interagissent les processus biologiques, physiques et chimiques et il constitue le passage obligé des fluides. Lorsque l'eau de pluie ou d'irrigation pénètre dans le sol, des éléments minéraux et organiques peuvent être potentiellement transportés jusqu'à la nappe. Durant leur transfert dans le sol, ces éléments vont subir l'interaction des trois processus cités. C'est alors que l'apparition et le devenir de « polluants » potentiels de l'eau et de l'air prennent toute leur importance.

Un des défis de la production agricole est de développer des techniques de culture combinant et optimisant la production des cultures tout en respectant la qualité de l'environnement. L'utilisation de fertilisants azotés, incluant les apports d'azote par irrigation, représente un risque réel de contamination d'une part des nappes en nitrate et d'autre part de l'atmosphère en gaz à effet de serre. Un moyen efficace pour remédier à ce problème est de prendre en compte des outils, tels que les modèles, pour l'usage raisonnable de l'eau et des fertilisants N en agriculture. Ces modèles donnent une représentation satisfaisante des processus physiques et biologiques se produisant dans un profil de sol et simulent notamment les transformations et le transport de N. Toutefois le nitrate n'est pas le seul polluant potentiel dans le domaine de l'agriculture. Il est important de mentionner que les métaux, issus des épandages en surface du sol, peuvent être lessivés vers la nappe en se complexant avec des éléments organiques facilement lessivables. Les « polluants » sont donc dépendants des processus biogéochimiques qui sont à leur tour fortement dépendants des conditions environnementales telles que le climat, mais aussi les pratiques agricoles. La complexité de la mise en lien des processus biogéochimiques avec les conditions environnementales nous oblige à prendre en compte de la façon la plus détaillée possible le fonctionnement de la ZNS.

Il a souvent été considéré que le nitrate dans la ZNS, une fois la zone racinaire passée, était intégralement transporté et lessivé vers la nappe. Cependant, même si le nitrate a des propriétés d'adsorption négligeables dans le sol, celui-ci peut être réduit sous forme N gazeux grâce au processus biologique de dénitrification. Dans la ZNS profonde, ce processus a longtemps été sous-estimé alors que des quantités non négligeables de nitrate peuvent potentiellement disparaître. Si les activités respiratoire aérobie et dénitrifiante ont largement été étudiées dans la couche de surface du sol, très peu de recherches se sont intéressées à ces

activités dans les couches inférieures. C'est ainsi qu'il est apparu nécessaire d'estimer ces activités microbiennes dans la ZNS profonde et de pouvoir caractériser et expliquer leurs variations saisonnières en fonction des facteurs environnementaux. Plusieurs interrogations sont alors soulevées. Tout d'abord, le carbone organique est le moteur des activités microbiennes. Son transport dans la ZNS se fait sous forme dissoute et il apparaît que sa quantité et sa qualité sont essentiels dans la compréhension des activités microbiennes. Comprendre les variations saisonnières de l'activité microbienne nécessite entre autre l'analyse qualitative du carbone organique dissous. Cependant, d'autres facteurs environnementaux tels que la pluie, la température et la concentration en nitrate sont à prendre en compte. Ainsi, deux questions sont posées, (1) comment migre le carbone organique soluble en quantité et en qualité, et (2) comment s'adaptent les micro-organismes dans la ZNS profonde. Ensuite, le transport des gaz et notamment la consommation et la production des gaz à effet de serre en fonction des saisons dans la ZNS doit être étudiée plus en détail. La modélisation des flux de transport et d'émission en relation avec les activités microbiennes est très importante pour une meilleure estimation des bilans de gaz à effet de serre. Ainsi, la question repose sur l'évolution du transport des gaz dans la ZNS. La prise en compte de ces différentes problématiques va permettre d'améliorer les modèles de prédiction du transport et du devenir de l'azote dans la ZNS dans le but de protéger l'environnement, en améliorant notamment la prédiction des quantités de nitrate arrivant à la nappe.

Pour répondre à ces questions, il a été nécessaire de choisir une parcelle agricole expérimentale visée par le problème de pollution des nappes par le nitrate. Le Comtat Venaissin (Vaucluse, 84) a été décrété « zone vulnérable » par la directive européenne CEE 91-676 en raison de la pollution importante des nappes en nitrate dans le milieu agricole. De nombreuses recherches ont au préalable permis de délimiter et de comprendre les zones contaminées par le nitrate. Notamment, le Comtat Venaissin se partage entre d'une part une zone de plateau, où les sols sont relativement bien aérés et les nappes contaminées en nitrate, et d'autre part une zone de bas fond où les nappes sont peu profondes, favorisant des périodes transitoires d'anoxie et limitant la contamination des nappes. Une étude préliminaire sur l'activité dénitrifiante avait été réalisée dans un profil de sol issu de chacune de ces deux zones (Cannavo et al., 2002) (ANNEXE 1). Dans le cadre de la thèse, nous avons choisi un profil de sol situé dans une zone de bas fond, où le processus de dénitrification peut s'opérer. Différents capteurs ont été implantés sur l'ensemble de la zone non saturée du sol pour le suivi de différents paramètres tels que le flux de solutés, de chaleur et de gaz.

Ce mémoire présente l'ensemble des résultats obtenus lors de cette étude et il est structuré en 5 parties.

Dans une première partie, une synthèse bibliographique décrit l'état des connaissances actuelles sur la matière organique, l'activité microbienne, les modèles de simulation du transport et de transformation de N, ainsi que les problématiques environnementales et agronomiques qui justifient notre travail (*Chapitre 1*).

Dans une seconde partie, nous avons présenté le suivi sur le terrain et en laboratoire des variations de l'activité respiratoire aérobie et dénitrifiante dans la zone non saturée du sol et leur relation avec les paramètres environnementaux (*Chapitre 2*).

Dans une troisième partie, une étude complémentaire de la qualité du carbone organique dissous est présentée dans le but d'essayer d'expliquer les variations saisonnières de l'activité respiratoire aérobie (*Chapitre 3*).

La quatrième partie est consacrée à la modélisation du transport des gaz CO₂ et N₂O dans la zone non saturée du sol, où un nouveau module basé sur la loi des gaz poussières est ajouté au modèle P.A.S.T.I.S. Ce modèle sera testé dans son ensemble pour simuler le devenir des éléments C et N dans la zone non saturée du sol (*Chapitre 4*).

L'ensemble de ce travail de thèse est discuté dans une cinquième partie dans laquelle nous avons positionné nos résultats dans un contexte d'étude plus large. Nous faisons quelques propositions de recherches ultérieures et d'application de ces résultats à la problématique environnementale.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Problématiques environnementales et agronomiques

Les problématiques environnementales et agronomiques présentées ici s'articulent autour de trois grands phénomènes sous-jacents à cette thèse. Ces phénomènes sont (1) le lessivage du nitrate dans les nappes d'eau souterraines, (2) les émissions de gaz à effet de serre, et (3) la séquestration du carbone dans les sols.

I.1. La contamination des nappes par le nitrate (NO_3^-)

L'azote a une influence majeure sur la production des cultures et leur qualité (Singh, 1996). Bien que la plupart des sols contiennent plusieurs milliers de kg d'azote par hectare, seulement 1 à 3 % de l'azote organique (N_{orga}) du sol se minéralise et devient disponible aux plantes chaque année (Campbell *et al.*, 1995). La contamination en NO_3^- des nappes, conséquence du lessivage de NO_3^- de la zone non saturée, est un problème environnemental global (Spalding et Exner, 1993). Le nitrate peut être rapidement transporté dans la zone non saturée car il est relativement soluble et non adsorbable (Stumm et Morgan, 1996). Sa concentration dans la nappe peut être supérieure à 50 mg/L (Mariotti, 1997), seuil de potabilité de l'eau défini par la Communauté Européenne (directive CEE 80-778). Le nitrate et le nitrite (NO_2^-) engendrent des nitrosamines cancérigènes et une possible méthémoglobinémie. Les enfants y sont sensibles, à cause de la faible acidité de leurs sucs gastriques, favorisant la réduction de NO_3^- en NO_2^- qui, éventuellement, pénètre dans le sang et se combine avec l'hémoglobine (Forman *et al.*, 1985). Il a souvent été considéré qu'en dessous de la zone racinaire, NO_3^- est transporté vers la nappe, si la pluie est supérieure à l'évapotranspiration (Dick *et al.*, 2000). Cependant, en-dessous de la zone racinaire des plantes et dans le sous-sol, la dénitrification est un mécanisme permettant de limiter les flux de NO_3^- vers les aquifères (Jarvis et Hatch, 1994 ; Clough *et al.*, 1999 ; Richards et Webster, 1999).

I.2. Gaz à effet de serre : l'oxyde nitreux (N_2O)

Les propriétés d'absorption de rayonnement infrarouge de certains gaz (Arya, 1988) rendent l'atmosphère responsable d'un effet de serre se traduisant par un réchauffement de la surface de la terre. La dénitrification, processus intervenant dans le cycle de l'azote, permet le

transfert de l'azote de la biosphère vers l'atmosphère. L'oxyde nitreux (N_2O), en partie produit par dénitrification, est un polluant de l'atmosphère intervenant dans l'effet de serre (Bouwman, 1990) et dans la chimie de l'ozone (O_3) dans la haute et la basse troposphère (Crutzen, 1981). La concentration atmosphérique de N_2O était de 312 ppbv (partie par milliard) en 1994, et son taux d'accroissement était de 0.5 ppbv.an^{-1} en 1993 (IPCC, 1996). Un changement dans l'intensité du rayonnement du soleil ou des capacités de l'atmosphère à absorber le rayonnement infrarouge constituent un forçage radiatif. Selon un rapport de l'IPCC (1996), 63% du forçage radiatif résulte de l'accroissement de la concentration atmosphérique en CO_2 . Le reste du forçage radiatif résulte de l'accroissement de la concentration d'autres gaz : méthane (18%), CFC (9%), vapeur d'eau atmosphérique (6%) et oxyde nitreux (4%). L'accumulation atmosphérique de N_2O s'élève à environ 4 Tg N an^{-1} (IPCC, 1995). Sa durée de vie est estimée entre 110 et 166 ans, avec un temps de résidence de 25 ans dans la troposphère (Jambert, 1995). Le N_2O possède un effet radiatif environ 200 fois supérieur à celui du CO_2 . Les estimations actuelles indiquent que près de 65% des émissions (soit 9.5 Tg N an^{-1}) sont issues du sol, dont 1/3 (3.5 Tg N an^{-1}) des sols cultivés. Environ 20% (3 Tg N an^{-1}) des émissions totales de N_2O proviennent des océans, 3% (0.4 Tg N an^{-1}) seraient produites par les animaux et l'élevage, 3% seraient émises au cours du brûlage de la biomasse et 9% (1.3 Tg N an^{-1}) proviendraient des rejets industriels lors de la fabrication de produits chimiques tels que l'acide nitrique ou les engrais. L'augmentation de la teneur en N_2O de l'atmosphère est à mettre en relation avec l'intensification de l'agriculture et l'utilisation de fertilisants azotés (Beauchamp, 1997).

I.3. Stockage du carbone dans les sols

La conservation de la matière organique dans les sols est primordiale pour le fonctionnement biologique, chimique et physique du sol. La séquestration du carbone (C) est dépendante de l'environnement biotique du sol (microflore, micro et macro faune), de la structure du sol (agrégation) et de leurs interactions. Trois mécanismes principaux de séquestration du C existent : (1) la séquestration biochimique (Christensen, 1996), (2) la séquestration par fixation sur les particules d'argile (Thomsen *et al.*, 1999 ; Vanlauwe *et al.*, 1999), et (3) la protection physique par les agrégats (Cambardella et Elliott, 1992 ; Wander et Yuang, 2000). La séquestration de C est influencée par les pratiques agricoles. Le non labour a des effets bénéfiques sur la fertilité du sol tels que par exemple la diminution de l'érosion du sol, l'augmentation du nombre d'agrégats, l'augmentation potentielle de la teneur en matière

organique, une biomasse microbienne et une abondance de vers de terre accrues (Parmelee *et al.*, 1990 ; Doran *et al.*, 1998 ; Six *et al.*, 2002). La séquestration de C et de N dans les sols non labourés induit cependant un accroissement des émissions de N_2O par rapport aux sols labourés (Six *et al.*, 2002), alors que la consommation du CH_4 atmosphérique est accrue (Hutsch, 2001). Au final, les sols non labourés en climat tempéré consomment dans l'atmosphère environ 200 kg d'équivalent C par hectare et par an, si on exprime les gaz à effet de serre en équivalent CO_2 (Six *et al.*, 2002). Dans le cas de la pratique du labour des sols, où la répartition de la teneur en matière organique est homogène sur toute la couche de labour, on observe une tendance à la perte de carbone et d'azote organiques, due à la rupture des agrégats (Golchin *et al.*, 1995; Wander et Yuang, 2000), ce qui stimule la minéralisation de la matière organique et qui élimine progressivement les vers de terre (Lensi *et al.*, 1995). Enfin, la technique visant à épandre des résidus végétaux en surface du sol (mulching) permet généralement d'accroître la séquestration de C dans le sol, et de diminuer les émissions de CO_2 vers l'atmosphère (Follett, 2001). Toutefois, Jacinthe *et al.* (2002) ont montré que les émissions de CO_2 pouvaient être variables en fonction des saisons, notamment en automne et au printemps où le mulch favoriserait ces émissions. On voit donc que la séquestration de C a tendance à limiter les émissions de gaz à effet de serre mais que celle-ci est dépendante des pratiques agricoles.

1.4. Les spécificités de la zone non saturée (ZNS) pour les activités microbiennes

La ZNS se situe entre la surface du sol et la nappe. Elle est constituée d'un ensemble d'horizons différenciés par leurs propriétés physiques et chimiques. Sur une parcelle agricole lors d'un cycle cultural, l'agriculteur apporte des fertilisants azotés et éventuellement de la matière organique (fertilisants, résidus de récolte) (figure 1). Les formes oxydées de l'azote (NO_3^- , NO_2^-) et les substrats organiques (carbone organique dissous, mais aussi azote et phosphore organiques dissous) vont pénétrer dans le sol grâce au travail du sol, aux précipitations et aux irrigations et vont subir dans les 30 premiers centimètres de profondeur des transformations biogéochimiques avec utilisation de ces substrats par les micro-organismes et la culture (paragraphe III). L'utilisation de ces substrats par les micro-organismes va induire la production de gaz très dépendante du pH tels que l'ammoniac (NH_3), ainsi que les gaz à effet de serre tels que le dioxyde de carbone (CO_2), mais aussi l'oxyde nitreux (N_2O) et le méthane (CH_4) (Bouwman, 1990).

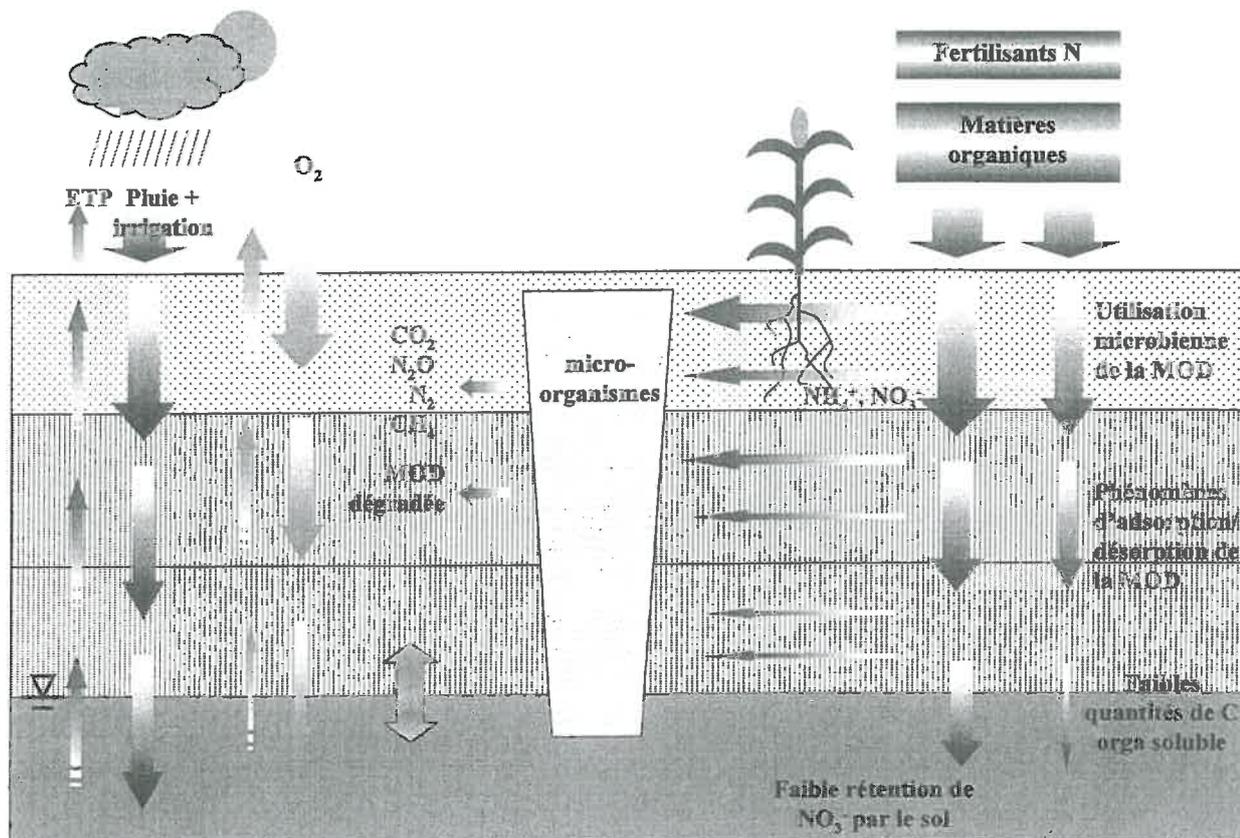


Figure 1 : Devenir des éléments C et N dans la zone non saturée du sol

Si l'apport d'eau est important, ces composés (anions minéraux, matières organiques solubles, etc...) en partie dégradés et consommés vont être lessivés plus profondément et subir des phénomènes plus physiques que biologiques (Moore, 1998). L'adsorption sur les surfaces minérales est un processus physique réduisant les concentrations de matière organique dissoute et conduisant à la formation et à la protection de la MO du sol (Michalzik *et al.*, 1998). Malgré cette diminution de concentration avec la profondeur, des quantités non négligeables de carbone organique dissous (COD) sont lessivées vers la nappe où l'on peut trouver des concentrations en COD variant de 0.6 à 12 mg C L⁻¹ selon la profondeur de la nappe (Wassenaar *et al.*, 1990 ; McCarthy *et al.*, 1993). L'ensemble des processus biologiques et chimiques est conditionné par les facteurs environnementaux, à savoir (1) les précipitations et irrigations ainsi que les fluctuations du toit de la nappe, (2) la teneur en oxygène du sol directement influencée par la teneur en eau du sol (Linn et Doran, 1984), (3) la température du sol (Grundmann *et al.*, 1995 ; Mergel *et al.*, 2001) et (4) les quantités de substrat azoté et carboné (Richards et Webster, 1999; Cannavo *et al.*, 2002).

D'autre part, la ZNS présente de nombreuses spécificités. Tout d'abord, la concentration en O₂ tend à décroître avec la profondeur (Sierra et Renault, 1998) ce qui pourrait favoriser les processus biogéochimiques en milieu anaérobie. Ensuite, la concentration en CO₂ contrôlée par les activités microbiennes et par la dissolution ou précipitation de la calcite (Suchomel *et al.*, 1990) affectent le pH du sol (Stumm et Morgan, 1996), qui à son tour influence les activités microbiennes (Knowles, 1982). De plus, le carbone organique dissous est généralement présent à faible concentration (Kalbitz *et al.*, 2000) en raison des phénomènes précédemment cités. La teneur en COD à de telles profondeurs pourrait être un facteur limitant pour les activités microbiennes. Enfin, la zone non saturée profonde est une zone où les échelles de temps des phénomènes sont plus importantes. Par exemple, les variations de température sont amorties avec la profondeur où des variations saisonnières peuvent être observées à des profondeurs supérieures à quelques dizaines de centimètres uniquement. Aussi, le temps de résidence de l'eau et des solutés est plus long (Longo et Moyengo, 1999). Ceci pourrait faciliter l'assimilation des nutriments par les micro-organismes.

II. La matière organique du sol (MO)

II.1. Généralités : les substances humiques

La MO du sol joue un rôle majeur dans l'apport de nutriments pour la croissance des cultures (Sollins *et al.*, 1999 ; Vanlauwe *et al.*, 1999). La matière organique du sol est constituée de substances plus ou moins complexes et biodégradables : une grande partie correspond à des substances humiques (Tipping, 1998) plutôt récalcitrantes à la dégradation, de moyennes molécules telles que protéines, polysaccharides, etc... ainsi qu'aux petites molécules telles que carbohydrates, acides carboxyliques, etc... de dégradabilités variables. Dans le sol, le stockage de matière organique sous forme de substances humiques s'effectue à partir de la décomposition de matières organiques exogènes entrant dans le sol : par exemple, les résidus végétaux (Ajwa et Tabatabai, 1994 ; (Zhou et Wong, 2000) retournant annuellement dans le sol, les apports d'amendements organiques tels que les effluents animaux (Sørensen et Jensen, 1995) ou les boues issues de la digestion anaérobie des eaux usées (Ajwa et Tabatabai, 1994 ; Zhou et Wong, 2000), les déjections de vers de terre (McInerney et Bolger, 2000 ; Hendriksen, 1997), ou encore l'eau de pluie où les concentrations de COD sont non négligeables, de l'ordre de 2 mg C L^{-1} (Moore, 1989) mais qui représentent tout de même des entrées de carbone relativement modestes par rapport aux autres apports. Les exsudats racinaires entrent également dans la constitution des matières organiques (Kalbitz *et al.* 2000). Ces matières humiques sont constituées par des composés ayant une large gamme de taille et de poids moléculaire, entre quelques centaines et plusieurs centaines de milliers d'unités de masse atomique (Gaffney *et al.*, 1996). Les substances humiques se divisent en trois catégories définies par rapport aux fractions obtenues à partir de méthodes de fractionnement de la matière organique du sol par solubilisation alcaline : (1) les acides humiques sont solubles dans les solutions alcalines diluées mais sont précipités par acidification de l'extrait alcalin, (2) les acides fulviques sont solubles à la fois dans les acides et les bases, et (3) les humines représentent la fraction insoluble à la fois dans les acides et les bases (Schitzer et Khan, 1972 ; Tipping, 1998 ; Baldock et Skjemstad, 2000).

Les acides humiques ont un poids moléculaire et des teneurs en éléments H, C, N et S plus élevés que les acides fulviques, et des teneurs en O plus faibles (Gaffney *et al.*, 1996 ; Wander et Traina, 1996). Par ailleurs, la structure des acides fulviques est plus aliphatique et moins aromatique que celle des acides humiques et les acides fulviques sont plus riches en

acides carboxyliques et phénoliques (Gaffney *et al.*, 1996 ; Wander et Traina, 1996 ; Nardi *et al.*, 2000). Les acides fulviques ont une meilleure solubilité que les acides humiques et ce à tout pH, en raison de leur caractère plus polaire et de leur plus grande mobilité (Wander et Traina, 1996), alors que les acides humiques deviennent insolubles dès lors que le pH est inférieur à 2 (Gaffney *et al.*, 1996). Les humines sont assez proches des acides humiques mais ont une forte liaison avec les métaux et argiles, les rendant insolubles.

II.2. Décomposition des résidus végétaux dans le sol

Les résidus de plante sont transformés par une série de procédés biologiques, physiques et chimiques. En entrant dans le sol, le carbone contenu dans les résidus est utilisé comme substrat par les micro-organismes et est éventuellement minéralisé sous forme de CO₂ ou est stabilisé par humification ou par association avec les composés minéraux (Gregorich *et al.*, 1996).

La décomposition des résidus de plante commence souvent avec une rapide perte en poids sec causée par le lessivage des matériaux C et N solubles dans l'eau, phase qui n'est pas le fait de micro-organismes (Tian, 1998 ; Baldock et Skjemstad, 2000). La quantité de carbone minéralisée durant les premiers jours de décomposition est fortement reliée au carbone soluble du résidu alors que plus tard, la minéralisation de C provient d'autres formes de C contenues dans la lignine, la cellulose et l'hémicellulose (Trinsoutrot *et al.*, 2000). La vitesse de décomposition dépend des teneurs en sucres, polysaccharides, protéines, acides aminés, acides aliphatiques et lignine des résidus de plante (Booker *et al.*, 2000). Mais la décomposition des résidus de plantes dépend également des conditions climatiques (température du sol et précipitations) influençant l'activité des micro-organismes (Swift *et al.*, 1979).

Lors de la décomposition oxydative de la MO, la structure chimique évolue (Baldock et Skjemstad, 2000). Ces auteurs rapportent que dans un premier temps la structure dominante est la structure alkyl-O, comparable aux polysaccharides. Lors de la décomposition, la structure devient plus récalcitrante (de type lignine, structure aromatique) et la teneur en groupes alkyl-O diminue. Lorsque la lignine se dégrade à son tour, la structure chimique continue d'évoluer et il y a réduction des quantités de C aromatique. La décomposition de la lignine est principalement réalisée par les champignons, même si certaines bactéries peuvent changer la nature des groupes fonctionnels rattachés à la lignine.

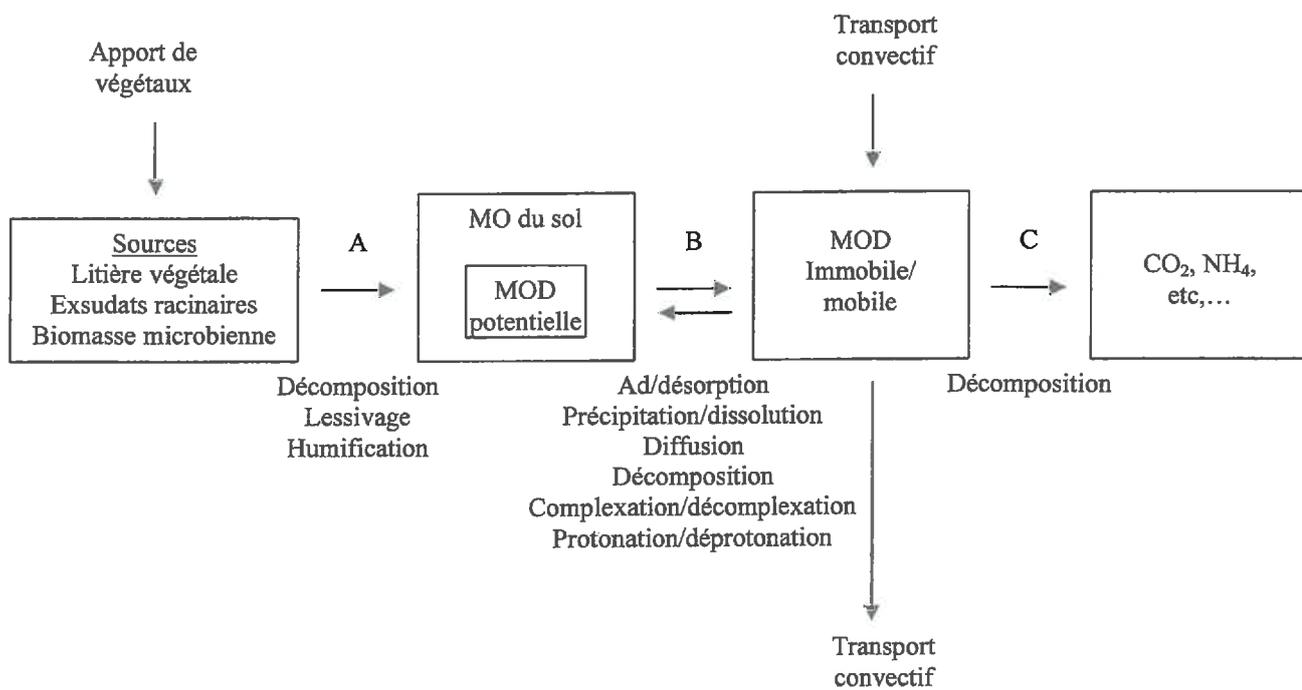


Figure 2 : Schéma de formation de la matière organique dissoute (MOD) (Kalbitz et al., 2000)

II.3. La matière organique dissoute

La matière organique dissoute (MOD) représente une faible partie (0.01 à 0.1 % en poids) de la MO totale du sol (Tipping, 1998). Elle joue un rôle important dans (1) la mobilité et la translocation de polluants organiques et inorganiques dans les sols (Herbert et Bertsch, 1995 ; Moore, 1998 ; Romkens et Dolfing, 1998 ; Zhou et Wong, 2000) notamment par les acides humiques (Johnson, 2000), (2) le contrôle de la formation du sol et la dégradation des minéraux (Kalbitz *et al.*, 2000), et (3) la production d'énergie pour les micro-organismes (Tipping, 1998). La plupart de la MOD est macromoléculaire et est souvent définie comme un continuum de molécules organiques de différentes tailles et structures qui passent à travers un filtre de 0.45 μm de taille de pore (Thurman, 1985). La solution du sol contient des quantités variables de MOD provenant de la décomposition de la litière végétale, de la matière organique endogène, de la biomasse microbienne ou des exsudats racinaires (Kalbitz *et al.*, 2000) (figure 2). Elle est un mélange complexe composé de matériaux humiques, ainsi que d'autres composés organiques tels que polysaccharides, matériaux protéiques, acides aromatiques et aliphatiques, acides organiques simples, acides aminés et sucres aminés (Herbert et Bertsch, 1995 ; Zhou et Wong, 2000).

La MOD regroupe le carbone organique dissous (COD), l'azote organique dissous (NOD) et le phosphore organique dissous (POD), qui sont les éléments majeurs des cycles nutritifs (Kalbitz *et al.*, 2000). Le COD comprend des molécules de tailles très variées, depuis des acides simples ou les sucres jusqu'aux substances humiques complexes à haut poids moléculaire. On porte plus d'attention à l'élément C car il est prépondérant dans la constitution de la MO dissoute (Qualls et Haines, 1991 ; Currie *et al.*, 1996 ; Michalzik *et al.*, 1998 ; Kalbitz *et al.*, 2000). En effet, les concentrations en NOD sont généralement inférieures à 1 mg N. l⁻¹ et les concentrations en POD sont de l'ordre du microgramme par litre de solution du sol (Qualls et Haines, 1991 ; Currie *et al.*, 1996).

Une fois la MOD produite dans le sol, sa concentration est contrôlée par des procédés biotiques tels que la dégradation de la MOD par les micro-organismes (Bossio et Scow, 1995) et abiotiques tels que désorption et dissolution de la quantité de MOD potentielle (Guggenberger *et al.*, 1998a). La MOD se fractionne en une partie mobile et une partie immobile suivant la taille des pores de la matrice du sol (Tipping, 1998). Seule la MOD présente dans les macropores et les mésopores est susceptible d'être transportée par convection ; la MOD des micropores est immobile et interagit avec la fraction mobile par diffusion (Kalbitz *et al.*, 2000).

II.4. Techniques de fractionnement et d'identification moléculaire du carbone organique dissous

II.4.1. Fractionnement physique et chimique

Parce que la MO du sol est très hétérogène, de nombreux efforts ont été menés pour mettre au point des méthodes d'isolation des principaux pools de MO et pour, par la suite, analyser leur composition et leur disponibilité biologique (Sollins *et al.*, 1999). Il y a deux approches possibles : l'extraction chimique et la séparation physique.

Cette dernière est basée sur la taille des particules, la densité des particules, le degré de protection physique ou la combinaison des trois. Le fractionnement chimique, lui, est basé sur les propriétés acide/base des composés (Sollins *et al.*, 1999).

Le fractionnement physique par taille moléculaire est utile pour révéler les différences de structure et les propriétés de la MO de différents sols et les fractions de particules (Cambardella et Elliott, 1993). Les techniques les plus couramment utilisées pour fractionner la MO soluble selon sa taille et son poids moléculaire sont (1) l'ultrafiltration (Aiken et Leenheer, 1993) (2) la séparation par ultrasons (Aiken et Leenheer, 1993 ; Amelung *et al.*, 1999 ; Thomsen *et al.*, 1999 ; Kaiser *et al.*, 2000a) (3) la stabilité des agrégats dans l'eau (Cambardella et Elliott, 1993 ; Golchin *et al.*, 1995 ; Haynes et Beare, 1997) (4) la densimétrie (Hassink, 1995 ; Alvarez *et al.*, 1998a ; Oyedele *et al.*, 1999 ; Whalen *et al.*, 2000), et (5) la dispersion (Curtin et Guang, 1999 ; Wander et Yuang, 2000). L'inconvénient de ces techniques de fractionnement est qu'elles n'informent pas directement sur le mode de formation, la réactivité de surface, l'acidité ou la biodégradabilité de la matière organique (Qualls et Haines, 1991).

Le fractionnement chimique utilise les résines d'adsorption. L'adsorbant doit avoir une surface spécifique importante pour avoir une haute capacité d'adsorption, une stabilité structurale et chimique et de bonnes caractéristiques de flux hydraulique (Leenheer et Huffman, 1976). Ces contraintes sont respectées avec des copolymères 3D possédant une structure macroporeuse et macroréticulaire. Des résines adsorbantes macroréticulaires sont disponibles avec des surfaces non polaires (Amberlite XAD-2 et XAD-4), des surfaces polaires intermédiaires (Amberlite XAD-7 et XAD-8), des surfaces fortement polaires (Amberlite XAD-12), des surfaces d'échange de cations (Bio-Rad AG MP-50) et des surfaces d'échange d'anions (Bio-Rad AG MP-1) (Leenheer et Huffman, 1976). Ce type de fractionnement s'applique au COD et la première étape de classification distingue les classes hydrophile et hydrophobe. Une fois ce caractère défini, on détermine 3 sous-classes reposant

sur les propriétés acide/base des solutés organiques. Cette technique permet d'isoler et de fractionner 55-90 % du COD (Aiken et Leenheer, 1993). La **figure 3** schématise le protocole de fractionnement du COD :

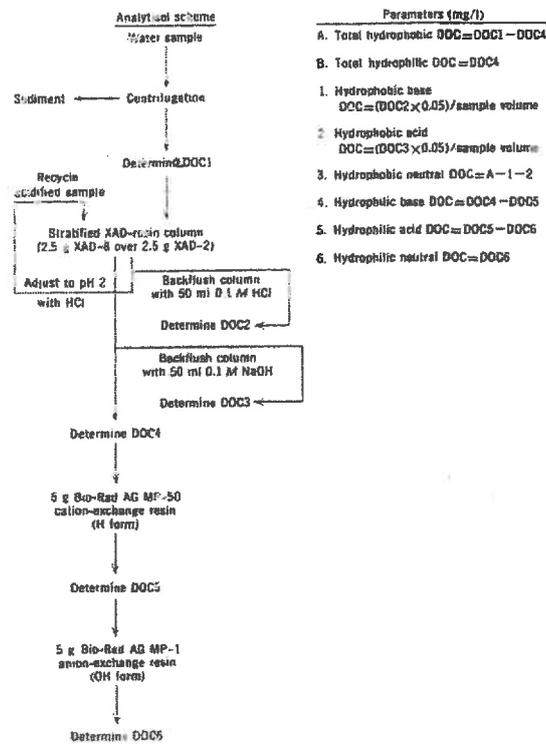
L'abondance du COD dans les fractions définies par Leenheer et Huffman (1976), est par ordre décroissant acide hydrophobe > acide hydrophile > ou < neutre hydrophile > neutre hydrophobe > phénols > bases. La fraction acide représente entre 44 et 91 % du COD, la fraction neutre entre 11 et 42 % et la fraction base au plus 2.5 % (Qualls et Haines, 1991) . Les acides hydrophobes peuvent représenter à eux seuls plus de 50 % du COD alors que la fraction base est généralement suffisamment faible pour être négligée lors des mesures (Guggenberger *et al.*, 1994). Les composés présents dans chaque fraction sont présentés dans le **tableau 1**.

Les quantités de toutes ces fractions diminuent avec la profondeur (Qualls et Haines, 1991). De nombreux auteurs ont montré que notamment la proportion d'acides hydrophobes diminue avec la profondeur, indiquant que la fraction hydrophile, et surtout la fraction acide est transportée préférentiellement dans le sol (Jardine *et al.*, 1989 ; Qualls et Haines, 1991 ; Gu *et al.*, 1995 ; Kaiser et Zech, 1997 ; Kaiser et Zech, 1998).

II.4.2. L'identification moléculaire

La quantité de composés identifiables dans l'eau du sol est faible (<10% du COD) (Aiken et Leenheer, 1993). Les récentes avancées technologiques ont permis d'améliorer considérablement la caractérisation de la structure moléculaire de la MO du sol (Sollins *et al.*, 1999). La plus ancienne de ces techniques est la pyrolyse à haute température qui décompose la molécule en fragments identifiables par spectrométrie de masse (Kögel-Knabner *et al.*, 1992). D'autres techniques permettent d'identifier la structure moléculaire de la MO.

La résonance magnétique nucléaire ^{13}C (RMN- ^{13}C) quantifie la quantité de carbone dans chaque molécule de la phase solide et dans les extraits aqueux de MO. La plupart des spectres se divisent en 4 régions (1) la région C-alkyle (0-50 ppm), (2) la région O-alkyle (50-110 ppm), (3) la région aromatique (110-160 ppm), et (4) la région carbonyl (160-210 ppm) (Baldock et Preston, 1995).



- Parameters (mg/l)
- A. Total hydrophobic DOC = DOC1 - DOC4
 - B. Total hydrophilic DOC = DOC4
 - 1. Hydrophobic base DOC = (DOC2 x 0.05) / sample volume
 - 2. Hydrophobic acid DOC = (DOC3 x 0.05) / sample volume
 - 3. Hydrophobic neutral DOC = A - 1 - 2
 - 4. Hydrophilic base DOC = DOC4 - DOC5
 - 5. Hydrophilic acid DOC = DOC5 - DOC6
 - 6. Hydrophilic neutral DOC = DOC6

Figure 3 : Schéma de fractionnement du COD (Leenheer et Huffman, 1976)

| Fraction | Composés |
|--|---|
| Neutres hydrophobes | Hydrocarbures, chlorophylle, caroténoïdes, phospholipides, substances humiques |
| Acides hydrophobes faibles (phénoliques) | Tannins, flavonoïdes, polyphénols, vanilline |
| Acides hydrophobes forts (carboxyliques) | Acide humique et fulvique, acides aminés, peptides et carbohydrates liés à l'acide humique, acides aromatiques, polyphénols oxydés, acides gras (> 5 atomes C) |
| Acides hydrophiles | Substances humiques de faible poids moléculaire avec ratio COOH/C élevé, carbohydrates oxydés avec groupe COOH, petits acides carboxyliques, inositol et autres sucres phosphatés |
| Neutres hydrophiles | Sucres neutres simples, polysaccharides non liés aux acides humiques, alcools (< 4 atomes C) |
| Bases | Protéines, acides aminés et peptides libres, amines aromatiques, polymères de sucres aminés (parois cellulaires microbiennes) |

Tableau 1 : Substances trouvées dans les fractions spécifiques de la MOD (Qualls et Haines, 1991)

La spectroscopie infrarouge présente le gros avantage d'analyser un échantillon sans qu'il ne subisse de prétraitement majeur et d'extraction, et elle fournit une information rapide sur la composition de la MO du sol (Kögel-Knabner, 2000). A partir de cette technique, il est possible d'identifier certains groupes chimiques révélés par des bandes d'adsorption caractéristiques tels que les groupes aliphatiques à 1456 cm^{-1} , les groupes aromatiques à 1600 cm^{-1} et les groupes $-\text{OH}$ tels que groupes carboxyliques et alcools à 3300 cm^{-1} (Francioso *et al.*, 2000).

La caractérisation par spectroscopie UV et visible du COD fournit en général un spectre exponentiel sans traits bien marqués. Seules des longueurs d'onde spécifiques (i.e: 254, 280, 400, 600 nm) ont été montrées utiles pour caractériser la teneur en C aromatique, le degré d'humification et la couleur relative du COD de la solution « brute » (Westerhoff *et al.*, 2001).

La spectroscopie par fluorescence du COD a été moins employée que la spectroscopie UV et visible (Westerhoff *et al.*, 2001). Cependant la spectroscopie par fluorescence à lecture synchronisée (SFLS) présente des avantages particuliers pour étudier les structures chimiques et les propriétés du COD, ainsi que des substances humiques (Patterson *et al.*, 1992). Les spectres synchrones quantifient l'intensité d'émission de fluorescence à partir d'une gamme de longueurs d'ondes d'excitation. Cette technique est également utilisée pour mettre en évidence les interactions entre MOD et ions métalliques (Xiaoqiao et Jaffe, 2000), ainsi qu'avec les pesticides (Fang *et al.*, 1998). Les substances humiques montrent une excitation maximale entre 327 et 427 nm (Larson et Rochwell, 1980) et une émission maximale entre 450 et 520 nm (Kouassi *et al.*, 1990). Plus précisément, selon Patterson *et al.* (1992), le pic d'excitation de SFLS autour de 350 nm est relié aux composés de l'acide fulvique du COD et le pic autour de 395 nm correspond aux composés de l'acide humique. Fang *et al.* (1998) utilisent à cet effet le ratio F_{395}/F_{350} comme étant le rapport entre l'intensité de fluorescence à 395 nm et à 350 nm. Ce ratio est un indice d'humification du COD ; plus il est élevé, plus la matière humique présente un caractère de polycondensation élevé (i.e: caractère hydrophobe) (Senesi *et al.*, 1989). Zsolnay (2003) calcule également un indice d'humification mais à partir d'une longueur d'onde d'excitation fixée à 254 nm. En effet, le spectre d'émission correspondant est utilisé pour calculer cet indice. Il présente de plus un autre indice, celui de la fluorescence relative, reliée au nombre d'anneaux polyaromatiques. L'existence d'un pic de fluorescence à 285 nm révèle également la présence de matériel protéique, issu probablement d'une activité biologique récente. Ce pic peut être un indicateur de COD fraîchement produit

(Lombardi et Jardim, 1999). Toutefois, d'autres auteurs ont montré que ce pic révèle également la teneur en composés aromatiques simples (Chin *et al.*, 1994 ; Kalbitz, 2001).

II.5. Distribution du carbone organique dissous dans un profil de sol: l'adsorption physique

La MO appliquée en surface atteint les horizons plus profonds par des mécanismes variés incluant : le lessivage, l'action de la faune, la croissance et l'exsudation des racines, et aussi par des mécanismes reliés à l'activité humaine tel que le labour (Rovira et Vallejo, 1997). La quantité de MO accumulée dans les horizons profonds peut être substantielle et des recherches suggèrent que ces quantités ont été sérieusement sous-estimées (Arrouays et Pelissier, 1994). La MOD est principalement un électrolyte polyfonctionnel et sa solubilité dépend indirectement du pH de la solution du sol (Kalbitz *et al.*, 2000). Une élévation de pH de 0.5 unité conduirait à une élévation d'environ 50 % de la quantité de MO mobile (Tipping et Woof, 1990). De plus, les cations monovalents Na^+ et K^+ , tout comme les cations polyvalents Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} ou Mg^{2+} , ainsi que les métaux trace tels que Cu^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} ou Cr^{3+} affectent la solubilité de la MO et réduisent le lessivage de COD, via l'augmentation de sa rétention par pont cationique et précipitation (Guggenberger, 1994a).

De nombreuses études ont montré que la quantité de MOD dans la solution du sol, et en particulier le COD, diminue avec la profondeur (Moore, 1989 ; Qualls et Haines, 1991 ; Gu *et al.*, 1995 ; Shinkarev *et al.*, 1996 ; Dosskey et Bertsch, 1997 ; Guggenberger et Kaiser, 1998 ; Moore, 1998 ; Corre *et al.*, 1999). L'adsorption physique de la MOD sur les surfaces minérales est le facteur explicatif le plus plausible vis-à-vis de la diminution de la MOD avec la profondeur (Jardine *et al.*, 1989 ; Kalbitz *et al.*, 2000) et peut être un procédé conduisant à la formation et à la protection de la MO réfractaire du sol (Michalzik *et al.*, 1998). L'échange de ligands entre les groupes fonctionnels acides et les groupes fonctionnels hydroxyl des surfaces d'oxydes métalliques est considéré comme le mécanisme majeur de l'adsorption de MOD (Kaiser et Zech, 1998). Les sols ayant une forte teneur en minéraux non cristallins conduisent à une immobilisation d'une grande quantité de carbone, mais aussi engendrent un pool de matière organique qui peut être dissous/désorbé par les flux d'eau traversant l'horizon organique (Torn *et al.*, 1997). Dans le cas où la teneur en minéraux non cristallins est plus faible, la dissolution physique et les mécanismes microbiens contribuent ensemble au flux de COD dans le sol (Neff *et al.*, 2000). On a donc une transition entre un sol non cristallin et un sol cristallin passant d'un contrôle physique à un contrôle biologique du relargage de COD

(Neff *et al.*, 2000). C'est ainsi que le degré d'adsorption est fortement influencé par (1) le pH, (2) la nature de la surface adsorbante, (3) la force ionique et (4) le poids moléculaire moyen de la MOD (Jardine *et al.*, 1989). Les populations microbiennes actives modifient les conditions physiques et chimiques d'un milieu tels que : les conditions rédox, le pH et l'alcalinité, ainsi que les mécanismes cités précédemment (Hunter *et al.*, 1998). De plus, l'aire des surfaces minérales est le facteur clé d'influence de la capacité d'adsorption (Gu *et al.*, 1995). Les sols sableux ont une capacité d'adsorption de la MOD très faible par rapport aux matériaux plus fins (Guggenberger *et al.*, 1994).

Les oxydes et hydroxydes de Fe et Al présents dans les minéraux argileux sont des sources importantes du contrôle de l'adsorption (Dosskey et Bertsch, 1997 ; Moore, 1998 ; Kalbitz *et al.*, 2000). La kaolinite est un des ces minéraux argileux favorisant l'adsorption (Jardine *et al.*, 1989 ; Dosskey et Bertsch, 1997), mais il y a aussi la goethite (Kaiser et Zech, 1997) et la gibbsite (Jardine *et al.*, 1989). Une forte adsorption de COD dans les sols calcaires, riches en CaCO_3 a déjà été montrée (Moore, 1989 ; Moore, 1998). La présence de CaCO_3 conduit à une stabilité biologique (résistance à l'attaque microbienne) de la MO particulaire et de l'humus (Baldock et Skjemstad, 2000).

L'étude de l'adsorption des fractions du COD a montré que les fractions de haut poids moléculaire et hydrophobes sont préférentiellement adsorbées et que les fractions hydrophiles, de taille moléculaire plus faible, ont moins d'affinité pour les surfaces solides et sont relarguées dans la solution du sol (Gu *et al.*, 1995 ; Kaiser et Zech, 1997) car ils sont vite dissous (Kaiser et Zech, 1998). De plus, la présence de noyaux aromatiques, d'acides carboxyliques, de groupes N et S et de résidus d'acides aminés dans la molécule organique augmente son affinité d'adsorption (McKnight *et al.*, 1992 ; Kaiser et Zech, 1997 ; Kaiser *et al.*, 2000a).

Les anions SO_4^{2-} et PO_4^{3-} en solution sont les principaux concurrents du COD pour l'adsorption. Cependant, le COD présente une plus grande affinité d'adsorption que SO_4^{2-} (Jardine *et al.*, 1989 ; Kaiser et Zech, 1997 ; Tipping, 1998), tandis qu'en présence de PO_4^{3-} la capacité d'adsorption du COD diminue (Guggenberger, 1994a ; Kaiser et Zech, 1997)

III. L'activité microbienne dans les sols: la respiration aérobie et la dénitrification

III.1. La respiration microbienne aérobie

III.1.1 Processus impliqués

La respiration microbienne aérobie dans les sols est le fait des micro-organismes hétérotrophes du sol qui jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des sols agricoles (Burns et Davies, 1986 ; Giampaolo *et al.*, 1996 ; Oyedele *et al.*, 1999), mais aussi des forêts (Ross et Tate, 1993). Ces micro-organismes vivent en communautés complexes avec 10^3 à 10^4 génomes différents par gramme de sol sec (Sandaa *et al.*, 1999) et sont responsables des principales réactions de minéralisation qui recyclent les nutriments importants et qui dégradent les polluants de l'environnement (Bossio et Scow, 1995). La communauté décomposante consiste en une large variété de bactéries, champignons et invertébrés (Swift *et al.*, 1979). La biomasse microbienne est un réservoir de C, N, P et S labiles et ses fluctuations de taille et d'activité peuvent significativement influencer la fourniture d'éléments nutritifs et par conséquent la productivité des cultures (Rosswall et Paustian, 1984).

Les processus physiques qui contrôlent l'environnement microbien sont (1) les accepteurs d'électrons (O_2 , NO_3^-), et (2) les sources d'énergie et les substrats organiques (Skopp *et al.*, 1990). La diversité métabolique de la communauté microbienne est notamment fortement influencée par le niveau de carbone apporté (Bossio et Scow, 1995). En particulier, le type et la quantité de MO disponible dans la zone non saturée des sols sont très importants pour la survie des micro-organismes (Brockman *et al.*, 1992). Si on se place à l'échelle de l'agrégat, la respiration aérobie couplée à la diffusion de l'oxygène dans l'agrégat peuvent créer des conditions locales d'anoxie (Sierra et Renault, 1996). En effet, des conditions anaérobies locales peuvent apparaître lorsque la distance entre le centre de l'agrégat et sa surface est supérieure à 3-7 mm, selon l'intensité de l'activité respiratoire aérobie. La prise en compte de cette échelle d'étude est primordiale puisque selon les conditions climatiques et notamment suite à des précipitations, des processus anaérobies plutôt qu'aérobies peuvent s'installer localement.

III.1.2. Distribution verticale de l'activité respiratoire aérobie dans un profil de sol

L'activité respiratoire aérobie dans la zone non saturée a tendance à décroître avec la profondeur (Ross et Tate, 1993 ; Dodds *et al.*, 1996 ; Cannavo *et al.*, 2002). La baisse de l'activité respiratoire aérobie s'explique par la diminution avec la profondeur de : (1) la quantité de substrat carboné (Dosskey et Bertsch, 1997 ; Richards et Webster, 1999), (2) le nombre de bactéries hétérotrophes (Dodds *et al.*, 1996 ; Vinther *et al.*, 1999 ; Cannavo *et al.*, 2002), et (3) la concentration en oxygène (Sierra et Renault, 1998). La distribution verticale des micro-organismes dans un profil de sol révèle également des changements de structure de la communauté (Fritze *et al.*, 2000) et des caractéristiques morphologiques (Brockman *et al.*, 1992).

Malgré cette baisse d'activité avec la profondeur, l'activité respiratoire aérobie est non négligeable dans les horizons profonds, ce qui montre que le phénomène d'adsorption du COD en dessous de la zone racinaire n'est pas le seul processus réduisant les concentrations en COD à de telles profondeurs. Il est donc essentiel de prendre en compte l'activité biologique pour expliquer la distribution des concentrations en COD dans un profil de sol.

III.2. La dénitrification

III.2.1. Définition

La dénitrification est un processus biologique au cours duquel les formes oxydées de l'azote (NO_3^- et NO_2^-) sont réduites en azote gazeux (N_2O et N_2) (Tiedje, 1988). Ces transformations s'effectuent grâce à des réductases synthétisées par des bactéries anaérobies facultatives. La **figure 4** présente les étapes de la dénitrification.

Les conditions favorisant la dénitrification sont :

(1) La présence de micro-organismes dénitrifiants (Bell *et al.*, 1990 ; Tiedje, 1994 ; Kornaros et Lyberatos, 1997). Parmi les micro-organismes hétérotrophes cultivables dans le sol, entre 1 et 5 % sont des dénitrifiants (Tiedje *et al.*, 1982). Les micro-agrégats sont considérés comme des sites actifs de dénitrification (Lensi *et al.*, 1995). Parmi les dénitrifiants, *Pseudomonas denitrificans* est une bactérie capable d'utiliser NO_3^- et/ou NO_2^- comme accepteur final d'électron sous conditions anoxiques (Kornaros et Lyberatos, 1997 ; Chêneby *et al.*, 1999). L'utilisation du C_{orga} (forme simplifiée CH_2O) par les dénitrifiants hétérotrophes se fait suivant la réaction (Tiedje, 1994) :

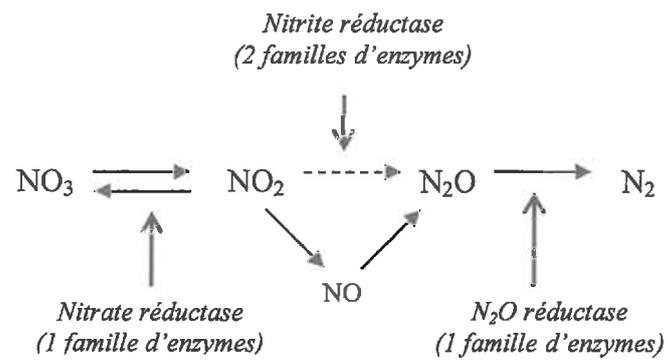
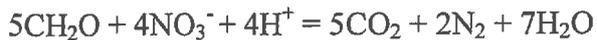
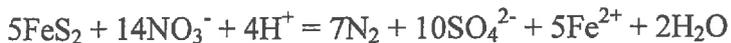


Figure 4 : Les étapes de la dénitrification (Hénault et Germon, 1995)



Les dénitrifiants chémolithotrophes peuvent utiliser S ou Fe dans des minéraux réduits, tel que la pyrite, comme donneur d'électrons (Appello et Postma, 1994) :



La dénitrification chémolithotrophe et la réduction de NO_3^- en NH_4^+ se font à des potentiels rédox plus faibles que ceux de la dénitrification hétérotrophe (Appello et Postma, 1994).

(2) Des conditions anaérobies (Linn et Doran, 1984 ; Tiedje, 1994 ; Chèneby *et al.*, 1999). La dénitrification a longtemps été considérée comme exclusivement anaérobie, en supposant que les enzymes de la dénitrification sont inhibées par les environnements aérobie. En fait, elle peut se faire en condition aérobie (Bell *et al.*, 1990), notamment par quelques champignons (Laverman *et al.*, 2000 ; Garrido *et al.*, 2002 ; Laughlin et Stevens, 2002).

(3) La présence de NO_3^- comme accepteur d'électrons (Jarvis et Hatch, 1994 ; Clough *et al.*, 1999 ; Richards et Webster, 1999). Les bactéries dénitrifiantes ont aussi la capacité d'utiliser NO_2^- et/ou N_2O comme accepteurs d'électrons en absence de O_2 . La dénitrification est généralement décrite par une cinétique de Michaelis-Menten, qui se caractérise par une dépendance de la vitesse aux faibles concentrations en NO_3^- et une indépendance aux plus fortes teneurs (Myrold et Tiedje, 1985).

(4) La présence de donneurs d'électrons tels que les substrats organiques facilement assimilables (Sørensen et Jensen, 1995 ; Clough *et al.*, 1999 ; Jarvis et Hatch, 1994). La présence de substrats C facilement assimilables, outre la présence de NO_3^- , de dénitrifiants et de conditions anaérobies, est essentielle pour que la dénitrification puisse être effective (Paramasivam *et al.*, 1998 ; Clough *et al.*, 1999 ; Richards et Webster, 1999 ; Cannavo *et al.*, 2002). La dénitrification est stimulée par une vaste échelle de composés organiques et est fortement corrélée au type de substrat (Burford et Bremner, 1975).

(5) Le pH du sol varie sous l'effet de plusieurs processus. La baisse de pH est en partie due à la production de CO_2 et d'acides gras volatils (Stumm et Morgan, 1996) alors qu'il peut augmenter sous l'effet de certains processus consommateurs de H^+ tels que la dénitrification (McInerney, 1988). Les apports d'engrais peuvent modifier le pH, les fertilisants à base de NH_4^+ acidifiant le sol. Le pH du sol peut aussi s'acidifier sous l'effet des eaux de pluie qui se chargent sur leur trajet en divers gaz de l'atmosphère (CO_2 , acide sulfurique, acide nitrique et acides organiques). Un pH neutre ou supérieur à 7 semble favorable aux activités microbiennes dénitrifiantes (Paramasivam *et al.*, 1998). Cependant, la N_2O réductase semble

particulièrement sensibles aux faibles pH car elle peut être inhibée pour un pH inférieur à 5 (Knowles, 1982).

III.2.2. Distribution verticale de l'activité dénitrifiante dans un profil de sol

L'étude de la dénitrification, se fait par la mesure de l'activité dénitrifiante proprement dite. En laboratoire, on mesure une activité dénitrifiante potentielle (ADP) (Jarvis et Hatch, 1994 ; Paramasivam *et al.*, 1998 ; Richards et Webster, 1999) ou une activité dénitrifiante semi-potentielle (ADSP) en suivant l'émission de N_2O par blocage de la transformation de N_2O en N_2 avec C_2H_2 (Jarvis et Hatch, 1994 ; Ellis *et al.*, 1997 ; Cannavo *et al.*, 2002). Dans le deuxième cas, un des facteurs favorisant la dénitrification est limitant. Il s'agit généralement de la source C (McCarty et Bremner, 1992 ; Paramasivam *et al.*, 1998).

L'activité dénitrifiante diminue avec la profondeur, et ce en raison de la baisse du nombre de dénitrifiants et de substrat C notamment (Jarvis et Hatch, 1994 ; Mühlherr et Hiscock, 1998 ; Richards et Webster, 1999; Cannavo *et al.*, 2002) ce dernier jouant un rôle très important sur la composition des communautés dénitrifiantes (Weissenhorn *et al.*, 1990). L'ADP peut être réduite d'un facteur 110 entre la surface du sol et 2 m de profondeur (Richards et Webster, 1999). Jarvis et Hatch (1994) ont détecté une ADP non négligeable à 6 m de profondeur et ont estimé un potentiel apparent de pertes de NO_3^- pouvant aller de 35 à 200 kg N/ha/j sur l'ensemble du profil.

III.2.3. Importance des émissions de N_2O par dénitrification

La balance entre production de N_2O et sa réduction en N_2 est contrôlée par les conditions de diffusion et les activités enzymatiques de la communauté dénitrifiante (Chèneby *et al.*, 1999). Cette communauté est soumise à court terme à des variations d'activité car chaque organisme dénitrifiant est capable de réguler la concentration d'enzymes dépendant des conditions telles que : O_2 , C, NO_3^- , et NO_2^- (Firestone et Tiedje, 1979). Le rapport $N_2O/(N_2O+N_2)$ des produits terminaux de la dénitrification est utilisé comme une mesure relative de la capacité de chaque communauté à réduire N_2O . Plus le ratio est faible, au mieux la communauté dénitrifiante possède à la capacité à éviter les pertes de N_2O . Cependant, il existe dans les sols des différences de composition au sein même de la communauté dénitrifiante entraînant des variations d'émission de N_2O (Holtan-Hartwig *et al.*, 2000). De plus, ce ratio est dépendant des facteurs climatiques. En effet, il diminue avec l'augmentation de la teneur en eau (Weir *et al.*, 1993) et de la source carbonée (Parkin, 1987), il tend à

augmenter lors de la diminution de la concentration en O₂ (Jambert, 1995), et du pH (Koskinen et Keeney, 1982).

III.3. Les facteurs environnementaux influençant les activités microbiennes

La régulation et les variations de l'activité microbienne sont conditionnées notamment par les processus physiques influençant l'activité des micro-organismes du sol. Il s'agit (1) de la disponibilité en eau, (2) des échanges gazeux, (3) de la température, et (4) des pratiques agricoles.

III.3.1. La disponibilité en eau

L'eau est le principal facteur contrôlant le devenir de C_{orga} (Thomsen *et al.*, 1999) et les activités microbiennes (Parr *et al.*, 1981). Le potentiel matriciel du sol permet indirectement de rendre compte de la teneur en eau du sol. Dans la zone non saturée, le potentiel matriciel varie entre 0 et -0.5 MPa (Long et Rawson, 1991) alors qu'en surface, il peut fréquemment descendre jusqu'à -10 MPa dans les environnements arides et semi-arides (Kieft *et al.*, 1987). Pour certains types de sols, quand le potentiel matriciel est inférieur à -0.1 MPa, la diffusion de soluté est inférieure de 50 % dans la ZNS par rapport à la zone saturée (Griffin, 1981). Sommers *et al.* (1981) ont montré un maximum d'activité microbienne quand le potentiel matriciel évolue entre -10 et -400 kPa. Les changements les plus rapides de potentiel matriciel se font quand un sol sec est réhumecté ; le processus de déshydratation étant plus lent et laissant du temps à l'accumulation des solutés dans la cellule microbienne (Kieft *et al.*, 1987). Dans les cas extrêmes, la réhumectation du sol provoque le relargage de tous les solutés contenus dans les cellules des micro-organismes, incluant les osmoprotecteurs organiques tels que acides aminés, ammonium quaternaire, glycérol, etc... (Kieft *et al.*, 1987). C'est la plasmolyse (i.e : lyse cellulaire due à une pression de turgescence trop forte). Sachant que les sols peuvent être limités en carbone organique, les composés organiques facilement dégradables sont rapidement utilisés par les micro-organismes survivants du sol, contribuant à un pulse de respiration du sol observé quand un sol est réhumecté (Kieft *et al.*, 1987). Mais dans la réalité, ce relargage n'est pas total.

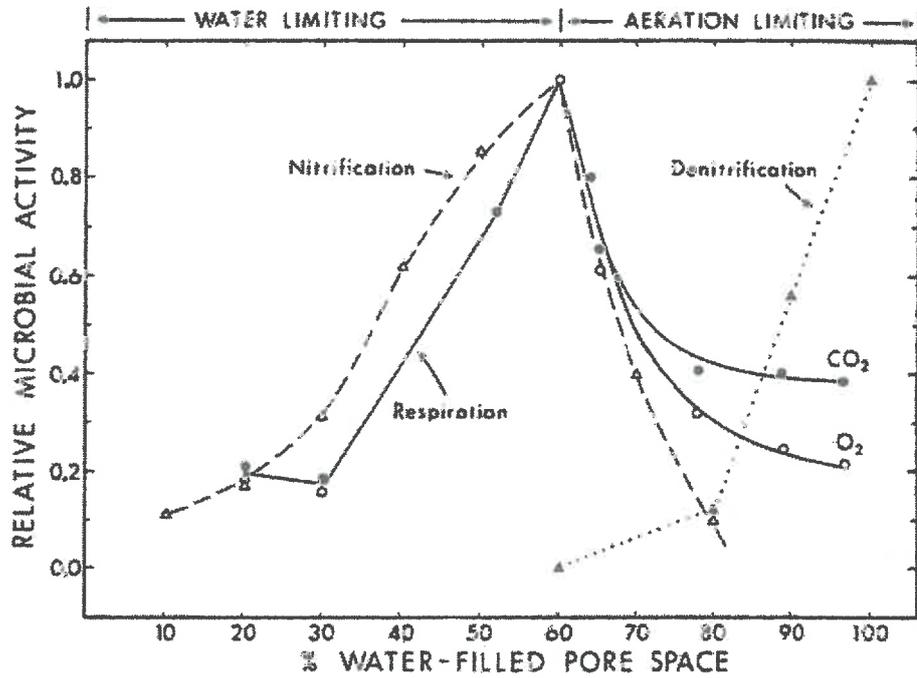


Figure 5 : Influence de WFPS sur la respiration microbienne (Linn et Doran, 1984)

Le paramètre WFPS (Water-Filled Pore Space) est un indicateur plus facile à obtenir car il prend en compte l'espace poral occupé par l'eau (Thomsen *et al.*, 1999 ; Baldock et Skjemstad, 2000) et il permet de rendre compte de l'effet de l'humidité sur l'activité microbienne des sols. Il se définit ainsi (Linn et Doran, 1984 ; Franzluebbers, 1999) :

$$\text{WFPS} = \frac{\theta}{1 - \frac{\rho_s}{\rho_d}} \quad (1)$$

avec : θ = teneur en eau gravimétrique du sol ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$)

ρ_s = densité sèche du sol (g cm^{-3})

ρ_d = densité de solide (g cm^{-3})

La **figure 5** met en évidence l'influence de WFPS sur la respiration microbienne des sols. L'activité respiratoire aérobie et nitrifiante augmentent jusqu'à ce que WFPS atteigne la valeur de 60 %, puis ces deux activités diminuent. L'activité dénitrifiante est négligeable à cette valeur, mais augmente lorsque WFPS varie entre 78 et 90 %, le métabolisme microbien devient anaérobie (Linn et Doran, 1984 ; Franzluebbers, 1999) et la dénitrification atteint un maximum à la saturation du sol (Linn et Doran, 1984).

Les seuils définis dans cette figure, ont été mesurés pour un sol à une densité, une teneur en C organique, et une activité microbienne données (Franzluebbers, 1999 ; Thomsen *et al.*, 1999). D'autres auteurs ont montré que pour un sol de surface, l'activité respiratoire aérobie maximale pouvait être atteinte lorsque WFPS était compris entre 42 et 60% (Linn et Doran, 1984 ; Neale *et al.*, 2000). Par conséquent, dans la zone non saturée profonde, caractérisée par des teneurs en C organique et une activité respiratoire aérobie plus faibles, les seuils de WFPS devront être plus élevés pour que les activités respiratoire aérobie et anaérobie soient optimales.

III.3.2 Les échanges gazeux

L'état d'oxygénation du sol, qui est relié aux transformations rédox, joue un rôle fondamental dans le fonctionnement des plantes et des micro-organismes : il influence le type de respiration et le type de population de micro-organismes (Glinski *et al.*, 2000) et joue sur la labilité du COD, plus faible en conditions anoxiques (Moore et Dalva, 2001). L'épaisseur et la perméabilité de la ZNS jouent un rôle important dans la pénétration de l'air en profondeur (Elberling *et al.*, 1998). Cependant, les flux d'air dans le sol sont fortement influencés par la géométrie des pores (i.e : porosité totale, distribution granulométrique, continuité des pores et

tortuosité) (Young et Ritz, 2000). Le transfert des gaz ne peut être interprété que pour un seul gaz. Généralement, le phénomène de convection, qui résulte d'un processus de transfert massique ou volumique global suite à un gradient de pression totale, est faible par rapport au mécanisme de diffusion (Rolston, 1986). La convection est liée à la variation de la pression totale de la phase gazeuse due notamment aux activités microbiennes et à la diffusion des gaz, mais aussi, dans une moindre mesure, aux changements de pression atmosphérique (Massmann et Farrier, 1992 ; Elberling *et al.*, 1998). La présence de CO₂ dans les sols est reliée à plusieurs sources (1) la respiration des racines des plantes, (2) la décomposition chimique et biologique de la MO, (3) la précipitation / dissolution de la calcite, (4) l'infiltration de l'eau ou eau de la nappe, (5) la respiration par les bactéries méthanotrophes et la fermentation, et (6) la biodégradation de produits chimiques organiques (Suchomel *et al.*, 1990).

La teneur en eau du sol a un impact important sur la diffusion des gaz. Xu *et al.* (1992) ont observé que pour une porosité libre à l'air inférieure à 10%, la présence d'air en poches isolées et une discontinuité des chemins pour la diffusion des gaz des sols était possible en raison de l'augmentation de la teneur en eau qui diminue la diffusion des gaz (Currie, 1983). Cependant, un tel seuil est fonction de la texture du sol et de la teneur en eau (Xu *et al.*, 1992). En effet, selon la valeur de la teneur en eau, celle-ci a une faible influence sur la diffusion de l'air dans les sols sableux ; alors que les sols argileux ont tendance à faire obstacle au transport d'O₂ (Currie, 1983 ; Neale *et al.*, 2000). En effet, tant que la phase argileuse n'est pas saturée, la taille des pores entre les feuillets d'argile approche le libre parcours moyen des molécules de gaz (i.e : entre deux chocs successifs) (Currie, 1983). Enfin, quand la compacité et la densité augmentent, la porosité diminue engendrant une résistance au mouvement du gaz de plus en plus grande (Ball *et al.*, 1981).

III.3.3. Les substrats organiques

Dans les paragraphes précédents, il a été clairement spécifié que la qualité du COD dans le profil de sol variait, puisque le sol est un filtre naturel qui retient en surface les composés de taille et poids moléculaires les plus importants, les autres composés étant préférentiellement lessivés. Les faibles quantités de carbone organique dans les horizons profonds ne sont qu'occasionnellement ré-alimentées par les horizons supérieurs en cas de précipitations importantes. Par conséquent, en l'absence de pluies, les micro-organismes doivent se contenter de ce qui existe dans leur environnement proche. Ils doivent donc

s'adapter à ces conditions et par conséquent accroître leur performance d'assimilation des composés organiques présents (Cannavo *et al.*, 2002).

III.3.4. Température et variabilité saisonnière

Généralement, l'activité microbienne est optimale lorsque la température du sol est comprise entre 15 et 35°C (Grundmann *et al.*, 1995). Toutefois, l'activité dénitrifiante est optimale pour une température de sol comprise entre 30 et 67°C (Granli et Bockman, 1994). La température régule la production microbienne de COD (Mulholland *et al.*, 1990). Elle est un facteur de sélection pour la composition de la population microbienne (Grundmann *et al.*, 1995 ; Mergel *et al.*, 2001). De plus, les changements de saison induisent une modification des enzymes notamment responsables de la transformation de NO_3^- en N_2 chez les bactéries dénitrifiantes (Mergel *et al.*, 2001).

C'est ainsi que la biomasse et les concentrations en COD dans les sols fluctuent dans le temps et notamment dans les couches superficielles (0-20 cm) que le sol soit labouré ou non (Qualls et Haines, 1991 ; Mergel *et al.*, 2001) alors que les variations de concentrations en COD restent relativement constantes plus profondément (Moore, 1998 ; Guggenberger *et al.*, 1998a). La quantité maximale de biomasse apparaît durant l'automne et le début du printemps (Mergel *et al.*, 2001). Les flux de MOD sont en effet plus importants après la fonte des neiges et à l'automne lors de la chute des feuilles ou lors de l'incorporation des résidus de récoltes (Herbert et Bertsch, 1995). En particulier, les cycles gel/dégel des sols favorisent l'augmentation de l'activité microbienne des sols (Christensen et Christensen, 1991). Cette augmentation est largement due au relargage de C_{orga} par la rupture des membranes cellulaires associées à la biomasse du sol, ce qui renforce l'activité dénitrifiante (McCarty et Bremner, 1992). En été, la biomasse diminue significativement à cause de la réduction du pool de C labile, en raison d'un sol plus sec. En hiver, il y a diminution de la biomasse. Les basses températures réduisent les substrats C simples et labiles. Le substrat C est plus complexe et plus résistant, provenant des racines mortes lignifiées et des résidus de récolte (Buchanan et King, 1992).

III.3.5. Les pratiques agricoles

Les changements de fréquence et d'intensité du labour altèrent les propriétés du sol, la distribution des nutriments et le profil de MO du sol. Ces changements se stabilisent avec le temps et peuvent affecter la disponibilité des nutriments sur la croissance des plantes, la production des cultures et la productivité du sol (Hussain *et al.*, 1999).

La rupture des agrégats lors du travail du sol stimule la minéralisation de la MO et élimine progressivement les vers de terre (Lensi *et al.*, 1995). La rupture des agrégats lors du labour intensif du sol a long terme a tendance à accroître la teneur en argile des sols (Hussain *et al.*, 1999), ce qui d'une part affecte très nettement la distribution des tailles de pore et la topographie du réseau de pores, et d'autre part régule indirectement les interactions des organismes et leur accès à O₂, au substrat et à l'eau (Young et Ritz, 2000). Les effets du travail du sol se font généralement sentir dans les premiers centimètres de sol mais se répercutent dans les couches plus profondes du sol.

L'apport de fertilisant sous forme liquide réduit le temps d'assimilation de celui-ci par les micro-organismes tandis que l'apport sous forme de granulés nécessite l'attente de l'apport d'eau, de leur dissolution et de leur incorporation dans le sol (Paramasivam *et al.*, 1998).

IV. Modélisation du devenir de l'azote N dans la zone non saturée du sol

IV.1. Les modèles de transfert d'eau, de chaleur et de solutés

Les divers modèles mécanistes de transfert d'eau, de chaleur et de solutés reposent sur les lois physiques générales qui décrivent le mouvement d'un fluide à travers un milieu poreux. Les transferts d'eau et de chaleur sont décrits dans les modèles par combinaison des équations de transfert de masse et d'énergie et de la loi de conservation des masses (ou loi de continuité).

La loi de continuité exprime la dépendance entre la variation dans le temps t de la grandeur x et le flux q de cette variable :

$$\frac{\partial x}{\partial t} = -\text{div}(q) \quad (2)$$

Les relations phénoménologiques reposent sur la proportionnalité entre le flux q et le gradient ∇x de la variable d'état lui correspondant :

$$\vec{q} = -J \cdot \nabla x \quad (3)$$

Pour le transfert d'eau dans le sol, il s'agit de la loi de Darcy relative au gradient de potentiel hydrique total ($x = H$) et combinée à la loi de conservation de la masse, généralisée aux milieux poreux non saturés (loi de Richards, 1931). Le caractère phénoménologique est la conductivité hydraulique ($J = K$). L'application de la loi de Richards suppose en outre que la phase gazeuse du milieu est à la pression atmosphérique, que le milieu est incompressible, et

que les écoulements induits par les gradients de densité, de viscosité du fluide ou de température sont négligeables.

Pour le transfert de chaleur, il s'agit de la loi de Fourier relative au gradient de température, dont le coefficient est la conductivité thermique ($J = \lambda$).

Pour le transport des solutés non interactifs, tels que l'ion chlorure, il est décrit à l'aide de l'équation classique de convection-dispersion qui découle de la combinaison de la loi de Fick et de la loi de conservation de la masse.

Il est souvent considéré dans les modèles de transfert d'eau et de solutés que : (1) les paramètres hydrodynamiques sont caractéristiques d'un sol donné et invariants dans le temps, (2) les relations courbe de rétention et conductivité hydraulique sont univoques, et (3) les écoulements sont homogènes sur tout le volume de sol considéré. De telles hypothèses peuvent limiter le domaine d'application possible de ces modèles.

IV.2. Les modèles de transport de gaz

Il existe très peu de modèles de transport des gaz, le modèle SOILCO₂ (Simunek et Suarez, 1993) prédit la production, le transport et la distribution spatiale du CO₂ avec un flux d'eau mono-dimensionnel. La diffusion des gaz étant basée sur la loi de Fick, ce modèle ne fonctionne pas dans les sols à texture fine ou proche de la saturation. Il prend en compte la respiration microbienne et racinaire dépendants de la teneur en eau, de la température, de la concentration en CO₂, du temps et de la profondeur. Suarez et Simunek (1993) soulignent l'importance d'obtenir une bonne description des flux hydriques qui influencent significativement le transport de CO₂ par diffusion.

IV.2.1. Transferts gazeux dans le sol

Les échanges gazeux dans le sol sont dus à la convection (i.e : transfert global de gaz, indépendamment de leur nature) et à la diffusion (i.e : transfert d'un gaz par rapport à d'autres gaz). Ils sont générés par des gradients de pression et de concentrations induits par les activités microbiennes, les fluctuations de pression atmosphérique et par les variations de teneur en eau. La connaissance du coefficient de diffusion des gaz et de la perméabilité à l'air dans le milieu poreux est notamment importante pour l'étude de l'échange de gaz respiratoires dans les sols. La vitesse de diffusion est un indicateur sensible des effets de compacité et de culture (Ball *et al.*, 1981).

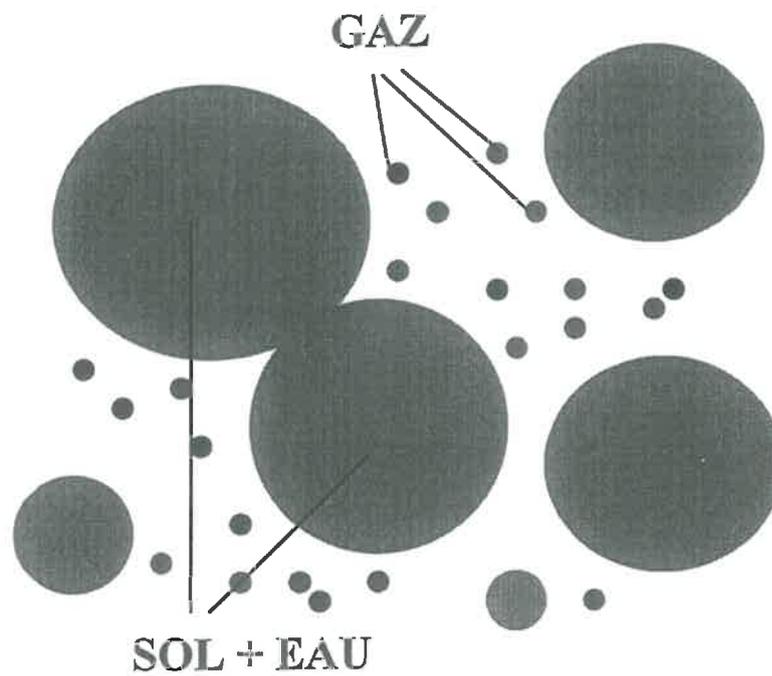


Figure 6 : Principe des gaz poussières. Les phases solides et liquides sont des « macro » molécules qui ne bougent pas (poussières).

IV.2.2. Modélisation du transport des gaz dans la zone non saturée du sol

Les modèles de convection utilisent la loi de Darcy. Elle décrit le flux convectif à travers un milieu poreux (voir équation 8).

Parmi les modèles de diffusion, la loi de Fick est une approche strictement empirique décrivant le flux d'un gaz indépendamment d'un autre. Elle s'applique aussi bien aux gaz qu'aux solutés. Cependant, pour avoir une modélisation plus proche de la réalité du transport des gaz dans la ZNS, il est nécessaire de tenir compte de la diffusion de Knudsen (i.e : le transfert de particules gazeuses ne subissant pas de collisions entre elles au cours de leur parcours, mais des collisions avec le solide), du flux diffusif moléculaire et non équimolaire des composés, et le flux convectif (Thorstenson et Pollock, 1989). La loi de Fick ne distingue pas ces phénomènes. En conditions isothermes et en l'absence d'interaction avec une phase solide, les équations de Stefan-Maxwell s'écrivent (Jaynes et Rogowski, 1983) :

$$\sum_{j=1, j \neq i}^{\nu} \frac{X_i F_j^D - X_j F_i^D}{D_{ij}} = \frac{1}{kT} \nabla P \quad (4)$$

avec X_i = fraction molaire du gaz i , ν = nombre d'espèces incluant le milieu poreux, F_i^D = flux moléculaire diffusif (molécules $m^{-2} s^{-1}$), D_{ij} = coefficient de diffusion binaire pour les gaz i et j ($m^2 s^{-1}$), T = température (K), et P_i = pression partielle du gaz i (Pa).

L'introduction d'un milieu poreux, et donc d'une phase solide, implique la prise en compte de la diffusion de Knudsen. Dans le modèle des gaz poussières, on assimile les phases solides et liquides du milieu poreux à des « macro » molécules qui ne bougent pas (poussières) (figure 6). Il s'agit du modèle de gaz poussière. En conditions isothermes, le modèle des gaz poussière s'écrit (Mason et Malinauskas, 1983) :

$$\sum_{j=1, j \neq i}^{\nu} \frac{X_i F_j^D - X_j F_i^D}{D_{ij}^*} - \frac{F_i^D}{D_i^K} = \frac{1}{kT} \nabla P \quad (5)$$

avec D_{ij}^* = coefficient de diffusion binaire effectif pour les gaz i et j ($m^2 s^{-1}$), D_i^K = coefficient de diffusion de Knudsen ($m^2 s^{-1}$), et k = constante de Boltzmann ($kg m^{-2} s^{-2} K^{-1}$).

A gauche du signe « = », le premier terme de ces équations correspond au transport dû aux chocs entre molécules de gaz, le deuxième correspond à la diffusion résultant des chocs entre les molécules et les parois (diffusion de Knudsen). A droite du signe « = », le terme représente la contribution du gradient de concentration à la diffusion des espèces.

L'équation (5) peut être écrite en termes de flux molaire N_i^D et non moléculaire F_i^D .

On a alors pour chaque espèce i :

$$RT \sum_{j=1, j \neq i}^{\nu} \frac{X_i N_j^D - X_j N_i^D}{D_{ij}^*} - RT \frac{N_i^D}{D_i^K} = \nabla P \quad (6)$$

avec N_i^D = flux molaire diffusif du gaz i ($\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$), et R = constante des gaz parfaits.

Etant donné que $\sum_{i=1}^{\nu} X_i = 1$, on a en fait $\nu-1$ équations. En sommant ces équations pour toutes les espèces i ($i = 1, \dots, \nu$), on obtient une relation entre les flux diffusifs et le gradient de pression :

$$-\sum_{i=1}^{\nu} RT \frac{N_i^D}{D_i^K} = \sum_{i=1}^{\nu} \nabla P = \sum_{i=1}^{\nu} X_i \nabla P = \nabla P \quad (7)$$

Cette relation montre que si les flux diffusifs ne sont pas équimolaires, ils engendrent des gradients de pression. La loi de Darcy s'écrit :

$$N^V = -\left(\frac{B_k P}{\mu RT} \right) \nabla P \quad (8)$$

avec N^V = flux molaire convectif ($\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$), B_k = perméabilité à l'air du milieu poreux (m^2), P = pression totale du gaz (Pa), et μ = viscosité ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$).

En combinant les équations (7) et (8), on obtient :

$$\frac{\mu RT}{B_k P} N^V = \sum_{i=1}^{\nu} RT \frac{N_i^D}{D_i^K} \quad (9)$$

qui est une relation entre les flux visqueux et les flux diffusifs des diverses espèces. Le flux total N_i^T pour une espèce i est la somme d'un flux diffusif et d'un flux visqueux (non séparatif). On a donc :

$$N_i^T = N_i^D + X_i N^V \quad (10)$$

En combinant cette relation avec l'équation (6), on obtient la relation

$$\sum_{j=1, j \neq i}^{\nu} \frac{X_i N_j^T - X_j N_i^T}{D_{ij}^*} - \frac{N_i^T}{D_i^K} = \frac{P \nabla X_i}{RT} + \left\{ 1 + \frac{B_k P}{D_i^K \mu} \right\} \frac{X_i \nabla P}{RT} \quad (11)$$

De nombreuses études ont souligné les limites de la modélisation de la diffusion des gaz par la loi de Fick. Toutefois, en modifiant cette loi, il est possible d'améliorer la modélisation. Par exemple, Freijer et Leffelaar (1996) proposent un modèle qui utilise la loi de Fick et qui calcule en plus une approximation du flux résultant de la diffusion non

équimolaire. Moyennant cette approximation, ils montrent que les profils prédits par les deux modèles sont très proches pour une gamme de variation de respirations et de coefficients respiratoires. Webb et Pruess (2002) montrent que pour un mélange binaire, et en faisant l'hypothèse qu'un des gaz est à l'état de trace, on peut modifier le coefficient de la loi de Fick, et le coefficient du terme convectif pour avoir la même expression du flux total dans les deux modèles. Ils montrent que le modèle basé sur la loi de Fick peut s'écarter dramatiquement du modèle des gaz poussières quand la perméabilité à l'air du milieu devient très faible.

IV.2.3. Estimation des paramètres

La détermination du **coefficient de diffusion des gaz** dans un échantillon de sol est basée sur la mesure de la quantité de gaz qui diffuse à travers un échantillon de sol (Bakker et Hidding, 1970). La mesure de ce coefficient de diffusion D des gaz dans le sol est difficile à réaliser et des études ont été menées en laboratoire pour trouver des relations entre le coefficient de diffusion et des propriétés du sol facilement mesurables telles que la porosité (Ball *et al.*, 1981; Sallam *et al.*, 1984 ; Xu *et al.*, 1992). Plusieurs modèles ont été proposés, pour relier le coefficient de diffusion gazeuse et les propriétés du sol facilement mesurables, telles que la porosité libre à l'air ε_a qui représente les zones accessibles et non accessibles aux gaz diffusants (Sallam *et al.*, 1984 ; Currie, 1983 ; Xu *et al.*, 1992). Ces modèles sont de la forme (Collin et Rasmuson, 1988) :

$$D_i^*/D_i = Q \quad (12)$$

avec D_i^* = coefficient de diffusion gazeuse dans le matériau ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), D_i = coefficient de diffusion gazeuse dans l'air ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), et Q = facteur dépendant de la structure de l'espace poral libre à l'air .

On supposera par ailleurs que le ratio D_{ij}^*/D_{ij} est sensiblement égal au ratio D_i^*/D_i . La plupart des modèles s'écrivent $D_i^*/D_i = \alpha \varepsilon_a^\beta$ (α et β paramètres de calage) (Buckingham, 1904 ; Penman, 1940 ; Marshall, 1959), ou encore sous la forme $D_i^*/D_i = \varepsilon_a^\alpha / \varepsilon_T^2$ (ε_T porosité totale du milieu) (Millington et Quirk, 1961 ; Sallam *et al.*, 1984). D'autres modèles expriment ce rapport de coefficients en fonction de la teneur en eau (Millington et Shearer, 1971).

Le coefficient de Knudsen D_i^K d'un gaz i dans un tube capillaire cylindrique s'écrit (Reinecke et Sleep, 2002) :

$$D_i^K = \frac{2r}{3} \sqrt{\frac{8RT}{\pi M_i}} \quad (13)$$

avec : r = rayon du capillaire (m), et M_i = poids moléculaire du gaz i (kg mol^{-1}).

Dans le cas d'un milieu complexe partiellement saturé, un coefficient de diffusion de Knudsen effectif ou moyen est nécessaire. Il faut donc connaître le rayon de pore moyen qui peut être déterminé en intégrant les rayons des pores du sol remplis d'air à une saturation en eau donnée. L'équation de Young-Laplace pour un capillaire est utilisée pour relier le rayon de pore r à la pression capillaire P_c , et la relation de Brooks-Corey est utilisée pour relier la pression capillaire à l'état de saturation en eau. On obtient ainsi la relation :

$$\bar{r} = \frac{\sigma \cos \omega}{P_d (1 - \theta_e)} \int_{\theta_e}^1 \frac{P_d}{P_c} \theta_e \quad (14)$$

avec : σ = tension à l'interface air-eau, ω = angle de contact air-eau, P_d = pression de déplacement de l'air (Pa), P_c = pression capillaire (Pa), et θ_e = taux de saturation du sol qui s'écrit :

$$\theta_e = \frac{\theta_s - \theta_r}{\theta_{\max} - \theta_r} = \left(\frac{P_d}{P_c} \right)^\tau \quad (15)$$

avec : θ_s = teneur en eau à saturation, θ_r = teneur en eau résiduelle, θ_{\max} = teneur en eau à saturation maximale, et τ = paramètre empirique appelé indice de distribution de taille de pore.

Par rapport à un tube cylindrique, la diffusion de Knudsen dans les sols est réduite un facteur $(1 - \theta_e)$ et la tortuosité est introduite. En combinant les équations (13), (14) et (15), le coefficient de diffusion de Knudsen pour des milieux poreux s'écrit :

$$D_i^K = D_i^{K0} (1 - \theta_e)^2 (1 - \theta_e^{(1+\tau)/\tau}) \quad (16)$$

avec D_i^{K0} = coefficient de diffusion de Knudsen pour un taux de saturation effectif nul ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)

La détermination de la perméabilité à l'air B_k peut être réalisée en utilisant le modèle suivant (Reinecke et Sleep, 2002) :

$$B_k = B_{ke} (1 + b/\bar{P}) \quad (17)$$

avec B_{ke} = perméabilité à l'air effective (m^2), b = paramètre de Klinkenberg (Pa), et \bar{P} = pression moyenne de la phase gazeuse (Pa)

La perméabilité à l'air effective est reliée à la perméabilité intrinsèque du milieu poreux et à la perméabilité relative du gaz k_{rg} par la relation :

$$B_{ke} = B_k \cdot k_{rg} \quad (18)$$

Le paramètre k_{rg} dépend du taux de saturation du sol.

IV.3. Les modèles de transformation du carbone et de l'azote

Les modèles de transformation du carbone et de l'azote développés au cours des 20 dernières années reposent tous sur les concepts suivants :

- les différents compartiments organiques sont caractérisés par un taux de dégradation caractéristique;
- l'azote et le carbone sont reliés par l'intermédiaire du rapport C/N de ces compartiments organiques.

Cependant, ces modèles présentent de nombreuses différences qui se traduisent par une grande diversité des compartiments organiques considérés et des lois cinétiques appliquées aux transformations de l'azote d'une part, et par différentes options choisies pour relier le cycle du carbone à celui de l'azote, d'autre part.

IV.3.1. Compartiments organiques considérés dans les modèles

La simulation de la minéralisation de la matière organique a nécessité la séparation des matières organiques du sol en plusieurs compartiments pour pouvoir rendre compte des transformations du carbone à long terme et surtout des transformations de l'azote à pas de temps court. La plupart des modèles prennent en compte les deux grands types de MO : matières organiques fraîches apportées et matières organiques stabilisées dans le sol (Hansen *et al.*, 1991 ; Garnier *et al.*, 2001).

Si on considère la MO fraîche dans sa totalité, le rendement d'assimilation Y_c (C assimilé/C décomposé) varie au cours de la décomposition de la MO (Witter et Dahlin, 1995). Il est donc plus juste de considérer la composition de la MO fraîche (fractions plus ou moins biodégradables et assimilables) plutôt que de considérer la MO fraîche comme un tout homogène dans les modèles. Les fractions biochimiques sont : (1) la fraction facilement décomposable, (2) les hémicelluloses, (3) la cellulose, et (4) la lignine. Chaque fraction a un

taux de décomposition et un rendement d'assimilation définis, leur taille étant déterminée par fractionnement chimique du type « Van Soest » (Goering et Van Soest, 1970). Paradoxalement, peu de modèles prennent en compte la fraction organique soluble à l'exception des modèles tels que ANIMO (Rijtema et Kroes, 1991) et CANTIS (Garnier *et al.*, 2001).

La caractérisation de la matière organique stabilisée est plus difficile. Les techniques de séparation physique (granulométrique, densimétrique, autoclavage) ne permettent pas de séparer des fractions ayant un taux de renouvellement spécifique, dépendant de l'échelle de temps de l'étude. De plus, les fractions séparées ne sont pas exclusivement organiques, car elles sont associées à la phase minérale, notamment les argiles. Ainsi, les modèles considèrent la fraction dite « active » (décomposable) et la fraction dite « stable » (non ou lentement décomposable). Ces modèles utilisent un pourcentage arbitraire de la fraction organique totale pour définir la taille du compartiment protégé ou stable. C'est le cas du modèle DAISY. Les pourcentages adoptés sont variables (14 à 56%) et généralement non justifiés par les modélisateurs. Le taux de décomposition de ces compartiments est ajusté ou fixé par les modélisateurs.

IV.3.2. La biomasse microbienne dans les modèles

Tous les modèles de transformation de l'azote et du carbone dans le sol considèrent la biomasse microbienne, soit de façon implicite soit de façon explicite en distinguant alors au moins un compartiment de biomasse parmi les compartiments organiques du sol. Lorsque la biomasse hétérotrophe n'est pas explicitement considérée (modèles SWATNIT, SOILN par exemple), la cinétique de minéralisation est alors décrite par une cinétique d'ordre 1 aussi bien pour le carbone que pour l'azote. La biomasse microbienne est alors considérée comme étant à l'état stationnaire. Cependant, ceci fonctionne sur des pas de temps relativement longs et ces modèles ne peuvent pas simuler le stockage temporaire de C et N dans la biomasse, ni les transformations rapides de C et N liées à l'addition de substrats organiques facilement décomposables ou à un apport d'engrais (par exemple organisation/minéralisation).

Une description explicite est donc nécessaire pour simuler la dynamique de C et N à des pas de temps courts. La biomasse microbienne est caractérisée au moins par son taux de croissance et son taux de mortalité, et parfois son taux de maintenance. Cependant, la biomasse n'est pas homogène (Whitmore, 1995) et il est apparu nécessaire de considérer deux compartiments de biomasse microbienne pour rendre compte de la dynamique de l'azote à la fois à long terme et à court terme. Il s'agit de la biomasse autochtone, à taux de

renouvellement lent et utilisant les ressources organiques fournies par le sol (matière organique endogène du sol), et la biomasse zymogène, à taux de croissance rapide et se développant après les apports de MO fraîche rapidement décomposables (i.e: exsudats racinaires, résidus végétaux,...). Les modèles NCSOIL (Molina *et al.*, 1983), DAISY et CANTIS prennent en compte ces deux compartiments de biomasse.

Les modèles de simulation des biotransformations de l'azote et du carbone présentent cependant des limites. En effet, l'introduction de plusieurs compartiments de MO (Whitmore *et al.*, 1991, 2 compartiments) ne permet pas forcément de mieux décrire la minéralisation de N par rapport à l'introduction d'un seul compartiment organique (Addiscott *et al.*, 1991). La multiplication des compartiments organiques rend donc l'estimation des paramètres et *a fortiori* la validation de ces modèles difficiles. En revanche, la prise en compte des biomasses « zymogène » et « autochtone » évite une vision relativement statique de la répartition des MO morte et vivante lorsqu'on prend en compte une seule biomasse active (Néel, 1996).

IV.3.3. Relations carbone-azote

La dynamique de l'azote est strictement pilotée par celle du carbone. La stoechiométrie entre les flux d'azote et de carbone est déterminée par trois paramètres : le rapport C/N de la biomasse, le rapport C/N et le rendement d'assimilation du substrat (Néel, 1996). Les modèles les plus anciens ou les plus simples reposent entièrement sur la valeur C/N. Par ailleurs, si la dynamique de l'azote est effectivement contrôlée par celle du carbone, il existe un rétro-contrôle de la dynamique du carbone par l'azote en condition d'azote limitant (Swift *et al.*, 1979 ; Robin, 1994 ; Bremner *et al.*, 1991). Les relations carbone et azote dépendent du mode d'assimilation de l'azote par les micro-organismes.

On considère l'assimilation indirecte via l'azote minéral (NH_4^+ , NO_3^-) (Rice et Smith, 1984) et l'assimilation directe où les micro-organismes absorbent des composés azotés organiques de faibles poids moléculaire (Mary *et al.*, 1993). L'ammonium est préférentiellement organisé par rapport à NO_3^- lors de l'assimilation indirecte car (1) la proportion d'organismes capables d'assimiler NO_3^- est plus faible, (2) NH_4^+ a un caractère inhibiteur pour l'assimilation de NO_3^- , et (3) la réduction de NO_3^- nécessite une dépense d'énergie pour les micro-organismes (Recous *et al.*, 1992). La biomasse zymogène assimile des quantités significatives d'azote par voie directe alors que la biomasse autochtone organise plutôt l'azote minéral présent dans le sol (Hadas *et al.*, 1992). Bien qu'il soit reconnu nécessaire de prendre en compte ces deux voies d'assimilation de l'azote, les modèles ne considèrent que l'une ou l'autre des voies. Ils supposent généralement que N est assimilé par

voie indirecte (ANIMO, SOILN par exemple). Le modèle DAISY et celui de Whitmore (1995) utilisent la voie directe.

Très peu de modèles prennent en compte l'effet de la limitation de la décomposition par manque d'azote minéral. Le modèle NCSOIL définit une fonction de réduction du rendement d'assimilation du résidu. Le modèle de Van Veen *et al.* (1985) introduit un rapport C/N variable selon la teneur en azote minéral du sol.

Malgré les efforts de prise en compte des processus biologiques, le couplage des processus physiques et biologiques pour la prévision des profils d'azote minéral du sol sont peu ou pas validés. Il est alors utile de faire des efforts à la fois sur la simplification des modèles pour limiter le nombre de paramètres et sur le mode d'acquisition des paramètres (Néel, 1996).

IV.4. Les modèles de dénitrification

Dans la littérature, différents modèles de simulation de la dénitrification ont été proposés. Ils se classent en différents groupes.

IV.4.1. Les modèles empiriques

Les modèles empiriques sont en général obtenus par l'établissement de relations de régression entre différentes variables d'un sol et son activité dénitrifiante. Ils utilisent des fonctions empiriques pouvant être établies à de grandes échelles d'espace et de temps (parcelle agricole, année culturale). Ces modèles ne cherchent pas à décrire les processus élémentaires de la dénitrification mais à rendre compte de cette dernière en considérant les principaux facteurs (directs ou indirects) qui l'affectent. Même s'ils sont appliqués à de grandes échelles d'espace et de temps, ils risquent de ne pas être généralisables à d'autres situations que celles sur lesquelles ils ont été calibrés. Le modèle de Rolston *et al.* (1984) décrit le taux de dénitrification comme étant une multiplication d'une fonction de la teneur en eau, d'une fonction de la température et d'une fonction de la concentration en NO_3^- (Myrold, 1988 ; Jarvis *et al.*, 1991). Il a été amélioré par Hénault et Germon (2000) où une fonction liée à la vitesse de dénitrification, décrite par une cinétique de Michaelis-Menten, et prenant en compte la disponibilité du carbone, a été ajoutée.

IV.4.2. Les modèles mécanistes

Les modèles mécanistes décrivent l'activité de dénitrification à partir de lois physiques, chimiques ou biologiques connues. Ils reposent sur une description plus fine dans l'espace et le temps de tous les phénomènes impliqués directement ou indirectement. Ils donnent des résultats pertinents sur des échantillons de sol de faible taille mais nécessitent un travail très important d'acquisition des paramètres. Les modèles ont évolué selon la caractéristique physique du milieu. En effet, les premiers modèles supposaient le sol comme un milieu homogène pour les transferts, puis ils considéraient le sol comme agrégé et hétérogène pour les transferts de O₂ (Currie, 1961 ; Renault et Sierra, 1994). D'autres modèles distinguent la forme des agrégats, de type parallélépipède (McConnaughey et Bouldin, 1985) ou cylindrique (Leffelaar et Wessel, 1988). Les modèles DNDC et ECOSYS (Grant, 1991b ; Grant, 1993) décrivent finement les processus microbiens associées à la dénitrification. Chaque transformation dépend (1) des disponibilités en accepteurs et donneurs d'électrons, (2) de la taille des communautés microbiennes réalisant les différentes transformations, (3) des conditions du milieu (température, pH, ...).

IV.4.3. Les modèles stochastiques

Les modèles stochastiques tiennent compte de la variabilité spatiale des processus étudiés et définissent la fonction de densité de probabilité de la dénitrification. Le modèle de Parkin (1987) suppose une loi de distribution log-normale pour l'activité dénitrifiante. Parry *et al.* (2000) ont simulé la variabilité de la contribution des matières organiques particulières au taux de dénitrification.

IV.5. Bilan : nécessité de la prise en compte des processus biologiques

de Willigen (1991) a comparé 14 modèles de simulation du devenir de l'azote dans la zone non saturée du sol. Certains de ces modèles sont mécanistes et calculent le flux hydrique à partir de l'équation de Richards. C'est le cas des modèles LEACHM (Ramos et Carbonell, 1991), PASTIS (Lafolie, 1991), SWATNIT (Vereecken *et al.*, 1991) ; DAISY (Hansen *et al.*, 1991), SOIL (Eckersten et Jansson, 1991), et du modèle de Grant (1991a). D'autres sont fonctionnels et utilisent des traitements simplifiés. Enfin, certains modèles, tels que SOILN (Bergström *et al.*, 1991) et ANIMO (Rijtema et Kroes, 1991) ne calculent pas les flux hydriques et la teneur en eau. Ils utilisent un modèle hydrologique qui fournit les informations nécessaires.

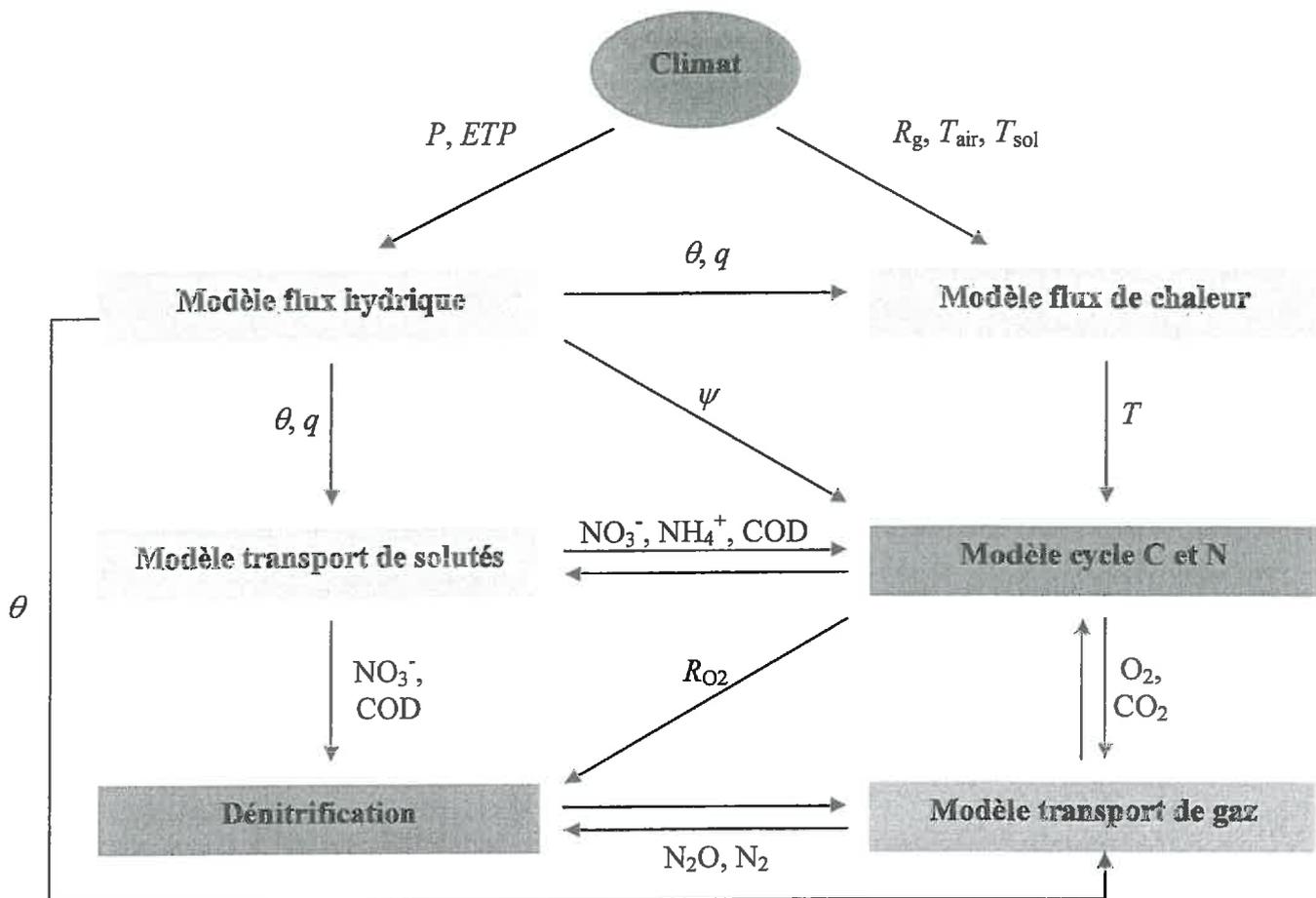


Figure 7 : Description du modèle PASTIS et des interactions entre modules

avec P = précipitation, ETP = évapotranspiration potentielle, R_g = rayonnement global, T_{air} et T = température de l'air et du sol respectivement, θ = teneur en eau volumique, q = flux hydrique, ψ = potentiel matriciel du sol, R_{O_2} = respiration aérobie, NO_3^- , NH_4^+ et COD = concentration en nitrate, ammonium et carbone organique dissous dans la solution du sol respectivement, et O_2 , CO_2 , N_2O et N_2 = concentration en oxygène, dioxyde de carbone, oxyde nitreux et azote dans l'atmosphère du sol.

Si ces modèles simulent convenablement les transferts d'eau et de chaleur, la prédiction du devenir de l'azote est plus ou moins acceptable pour certains d'entre eux. En effet, chaque modèle intègre ou non des processus biologiques et physico-chimiques intervenant dans le cycle de N. Du coup, ces modèles restent généralement trop simples, suffisants pour simuler certaines variables ; ils sont beaucoup plus limités dans la description des processus biologiques (de Willigen, 1991), ne serait-ce par exemple que pour simuler les changements de régime respiratoire. De plus, ces modèles ont besoin d'être améliorés et davantage testés à l'échelle parcellaire. En effet, la difficulté majeure pour la modélisation biologique est due à la forte interaction entre les facteurs physiques, le prélèvement par les plantes et le cycle de l'azote (Ma *et al.*, 1998). Depuis les travaux de recherche présentés par de Willigen, (1991), on recense seulement quelques versions de modèles mécanistes qui couplent les processus physiques et biologiques. Il s'agit entre autres des modèles PASTIS (Garnier *et al.*, 2001), DAISY (Neergaard *et al.*, 2002), NLEAP (Ersahin et Karaman, 2001) et SWATINIT (Vereecken *et al.*, 1991).

V. Le modèle PASTIS

Le schéma général du modèle PASTIS (Predicting Agricultural Solute Transport In Soil) est présenté à la **figure 7**. Il se découpe en plusieurs sous-modèles interagissant entre eux. Il inclut le module de croissance des plantes qui ne sera pas présenté ici car il ne sera pas utilisé dans le cadre de la thèse.

V. 1. Transfert d'eau, de chaleur et de solutés

V.1.1. Transport de l'eau

L'écoulement isotherme et mono-dimensionnel de l'eau dans un sol homogène non saturé (infiltration, évaporation ou drainage) est décrit par l'équation aux dérivées partielles de Richards :

$$C(\psi) \cdot \frac{\partial H}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left[K(\psi) \left(\frac{\partial H}{\partial z} \right) \right] \quad (19)$$

avec $C(\psi)$ = capacité capillaire (m^{-1}), ψ = potentiel matriciel de l'eau dans le sol (m), z = côte comptée positivement vers le bas (m), H = charge hydraulique = $\psi - z$, t = temps (s), et K conductivité hydraulique ($m \ s^{-1}$)

Les paramètres C et K dépendent de la profondeur et donc prennent en compte la stratification. Les conditions aux limites sont :

$$\text{En surface :} \quad -K \cdot \frac{\partial H}{\partial z} \Big|_{z=0} = F(t) \quad (20)$$

avec F = flux dû à la pluie et à l'évaporation (mm j^{-1})

$$\text{A la base du profil :} \quad H \Big|_{z=Z} = H_{\text{bot}}(t) \quad (21)$$

avec Z = profondeur du bas du profil, et H_{bot} = charge hydraulique en bas du profil

Les conditions initiales sont $H \Big|_{t=0} = H_{\text{ini}}$ ou θ_{ini} , avec H_{ini} et θ_{ini} la charge hydraulique et la teneur en eau volumique ($\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$) initiales respectivement. Quand le potentiel matriciel atteint une valeur limite, ψ_{lim} , celui-ci est défini comme une condition de Dirichlet en surface du sol, égal à -100 m. Le modèle permet de calculer le flux vers l'atmosphère et vers la nappe, en plus des variables d'état utiles pour les autres flux.

V.1.2. Transfert de chaleur

Le modèle prend en compte le transport de chaleur par diffusion et par convection. Les propriétés thermiques du sol dépendent de la minéralogie et de la teneur en eau. L'équation s'écrit :

$$C_T \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(\lambda_T \cdot \frac{\partial T}{\partial z} - q C_w T \right) \quad (22)$$

avec C_T = capacité calorifique du sol ($\text{J m}^{-3} \text{ K}^{-1}$), C_w = capacité calorifique de l'eau ($4.18 \cdot 10^6 \text{ J m}^{-3} \text{ K}^{-1}$), T = température du sol (K), λ_T = conductivité thermique ($\text{W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$), et q = flux de Darcy (m s^{-1}).

Les conditions aux limites en surface sont la température provenant d'un bilan d'énergie simplifié et, au bas du profil la température est libre.

V.1.3. Transport de soluté

La modélisation du déplacement de solutés tels que NO_3^- et NH_4^+ dans le sol est basée sur l'équation de convection-dispersion et s'écrit ainsi :

$$\frac{\partial(\theta + \rho_s \cdot k_p) \cdot C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left[\theta \cdot D(\theta, \nu) \frac{\partial C}{\partial z} - \nu \cdot \theta \cdot C \right] + \Gamma_1 - \Gamma_2 \quad (23)$$

avec ρ_s = densité apparente (kg m^{-3}), t = temps (s), ν = vitesse de l'eau dans les pores = q/θ (m s^{-1}), Γ_1 , Γ_2 = termes de source et de perte de soluté respectivement, k_p = constante de

partage (i.e : $k_p = 0$ pour NO_3^- et $k_p \neq 0$ pour NH_4^+), et D = coefficient de dispersion relié à la vitesse de l'eau des pores ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$).

$$D(\theta, v) = D_m(\theta) + \lambda|v| \quad (24)$$

avec $D_m(\theta)$ = coefficient de diffusion moléculaire effectif ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), et λ = dispersivité du sol (m).

Une condition de type Neuman est appliquée en surface du sol :

$$-D \cdot \frac{\partial C}{\partial z} + q \cdot C = F(t) \quad (25)$$

Une condition de drainage libre est appliquée en bas du profil. Les termes puits ou source sont reliés au cycle de C et N

V.2. Transport des gaz : le modèle des gaz poussières

Suite à la comparaison des modèles de diffusion discutée dans la partie IV.2, nous avons choisi d'utiliser le modèle des gaz poussières pour la modélisation du transport des gaz dans la ZNS. L'équation pour le calcul de la pression de la phase gazeuse et de son écoulement dans le milieu poreux est obtenue de la façon suivante. Soit P (Pa) la pression de la phase gazeuse, nous supposons que celle-ci se comporte comme un gaz parfait et que nous avons donc l'équation d'état :

$$P = CRT \quad (26)$$

avec C = la concentration molaire (mol m^{-3}).

Si on note M_m le poids moléculaire du fluide (kg mole^{-1}), la masse volumique de la phase gazeuse s'écrit :

$$\rho_g = C \cdot M_m \quad (27)$$

L'équation d'état peut alors s'écrire : $\rho_g = P \cdot M_m / RT$.

L'équation reliant le flux au gradient de pression est la loi de Darcy. Elle s'écrit :

$$q_g = - \frac{B_k}{\mu} \nabla P \quad (28)$$

L'équation de continuité s'écrit :

$$\frac{\partial \varepsilon_a \rho_g}{\partial t} = -\text{div}(\rho_g q_g) \quad (29)$$

En développant la dérivée du membre de gauche, en utilisant la relation $\rho_g = P.M_m/RT$ et en supposant que la dérivée de la température par rapport au temps peut être négligée, il vient :

$$\frac{M_m}{RT} \varepsilon_a \frac{\partial P}{\partial t} + \frac{M_m P}{RT} \frac{\partial \varepsilon_a}{\partial t} = \nabla \left(\rho_g \frac{B_k}{\mu} \nabla P \right) \quad (30)$$

Ce qui donne :

$$\frac{M_m}{RT} \frac{\partial \varepsilon_a P}{\partial t} = \nabla \left(\frac{P M_m}{RT} \frac{B_k}{\mu} \nabla P \right) \quad (31)$$

puis en simplifiant dans chaque membre :

$$\frac{\partial \varepsilon_a P}{\partial t} = \nabla \left(P \frac{B_k}{\mu} \nabla P \right) \quad (32)$$

L'équation linéarisée suivante peut être utilisée sans perte de précision tant que la pression à la surface n'est pas très différente de la pression initiale P_0 dans le profil (Massman 1989).

$$\frac{\partial \varepsilon_a P}{\partial t} = \nabla \left(P_0 \frac{B_k}{\mu} \nabla P \right) \quad (33)$$

Dans notre cas, il faut tenir compte des termes puits et sources de gaz dans l'équation de bilan. Si on considère n espèces gazeuses, avec des productions notées P_{r_i} et des consommations notées C_i , l'équation devient :

$$\frac{\partial \varepsilon_a P}{\partial t} = \nabla \left(P_0 \frac{B_k}{\mu} \nabla P \right) + \sum_{i=1}^n RT(P_{r_i} - C_i) \quad (34)$$

De plus, dans le cadre où on simule le comportement de plusieurs gaz ayant des masses molaires différentes, les équations de Stefan-Maxwell et plus généralement les équation du modèle des gaz poussières développées dans ce chapitre indiquent que les flux résultants de gradients de concentrations induisent des gradients de pression et donc un flux visqueux. Ce flux est donné par :

$$N^v = \frac{\sum_{i=1}^v \frac{N_i^T}{D_i^k}}{\left\{ \frac{\mu}{B_k P} + \sum_{i=1}^v \frac{X_i}{D_i^k} \right\}} \quad (35)$$

où N_i^T désigne le flux total de l'espèce gazeuse i calculé à partir des équations du modèle des gaz poussières. En tenant compte de l'existence de ce flux, et dans le cadre de transferts unidirectionnels, l'équation pour le déplacement de la phase gazeuse est alors :

$$\frac{\partial \varepsilon_a P}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(P_0 \frac{B_k}{\mu} \frac{\partial P}{\partial z} \right) + \sum_{i=1}^{\nu} RT(P_{ri} - C_i) - RT \frac{\partial N_v}{\partial z} \quad (36)$$

Le modèle des gaz poussières permet de calculer le flux molaire total d'une espèce i (i.e : N_i^T). Pour chaque espèce, une équation de conservation de la masse est utilisée pour obtenir les concentrations de gaz ou les fractions molaires. Pour toute espèce i donnée avec une fraction molaire X_i , l'équation de conservation de la masse s'écrit :

$$\frac{\partial(\varepsilon_a X_i C)}{\partial t} + \frac{\partial(\theta C_{w,i})}{\partial t} = - \frac{\partial N_i^T}{\partial z} + S_i \quad (37)$$

avec $C_{w,i}$ = concentration molaire dans la phase aqueuse (mol m^{-3}), et S_i = terme prenant en compte la production ou consommation du gaz i ($\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$).

Le deuxième terme dans le membre de gauche correspond au stockage dans la phase aqueuse du sol. On supposera que les équilibres liquide-gaz sont instantanés et qu'ils peuvent être modélisé par la loi de Henry. On pourra donc écrire :

$$\frac{C_{w,i}}{P_i} = K_{H,i} \quad (38)$$

avec P_i = pression partielle de l'espèce i dans la phase gazeuse (Pa), et $K_{H,i}$ = constante de partage.

On aura alors :

$$P_i = C_i RT \quad \text{soit} \quad \frac{C_{w,i}}{C_i} = K_{H,i} RT \quad \text{soit} \quad C_{w,i} = X_i C \cdot K_{H,i} \cdot RT \quad (39)$$

Donc l'équation de bilan devient :

$$\frac{\partial}{\partial t} (\varepsilon_a + \theta \cdot K_{H,i} RT) X_i C = - \frac{\partial N_i^T}{\partial z} + S_i \quad (40)$$

On peut alors définir un coefficient de stockage R_i pour l'espèce i :

$$R_i = \varepsilon_a + \theta \cdot K_{H,i} \cdot RT \quad (41)$$

Les équations (40) sont résolues avec une approximation de différence finie. Sachant que les fractions molaires doivent satisfaire la relation :

$$\sum_{j=1}^{\nu} X_j = 1 \quad (42)$$

nous avons à résoudre seulement $(\nu - 1)$ équations de transport.

Un algorithme itératif est utilisé pour résoudre les $\nu - 1$ équations de transport couplées aux équations résultant du modèle des gaz poussières et à l'équation pour la pression. L'algorithme consiste à calculer d'abord un champ de pression puis les flux de gaz aux nœuds du maillage à partir des équations du modèle des gaz poussières.

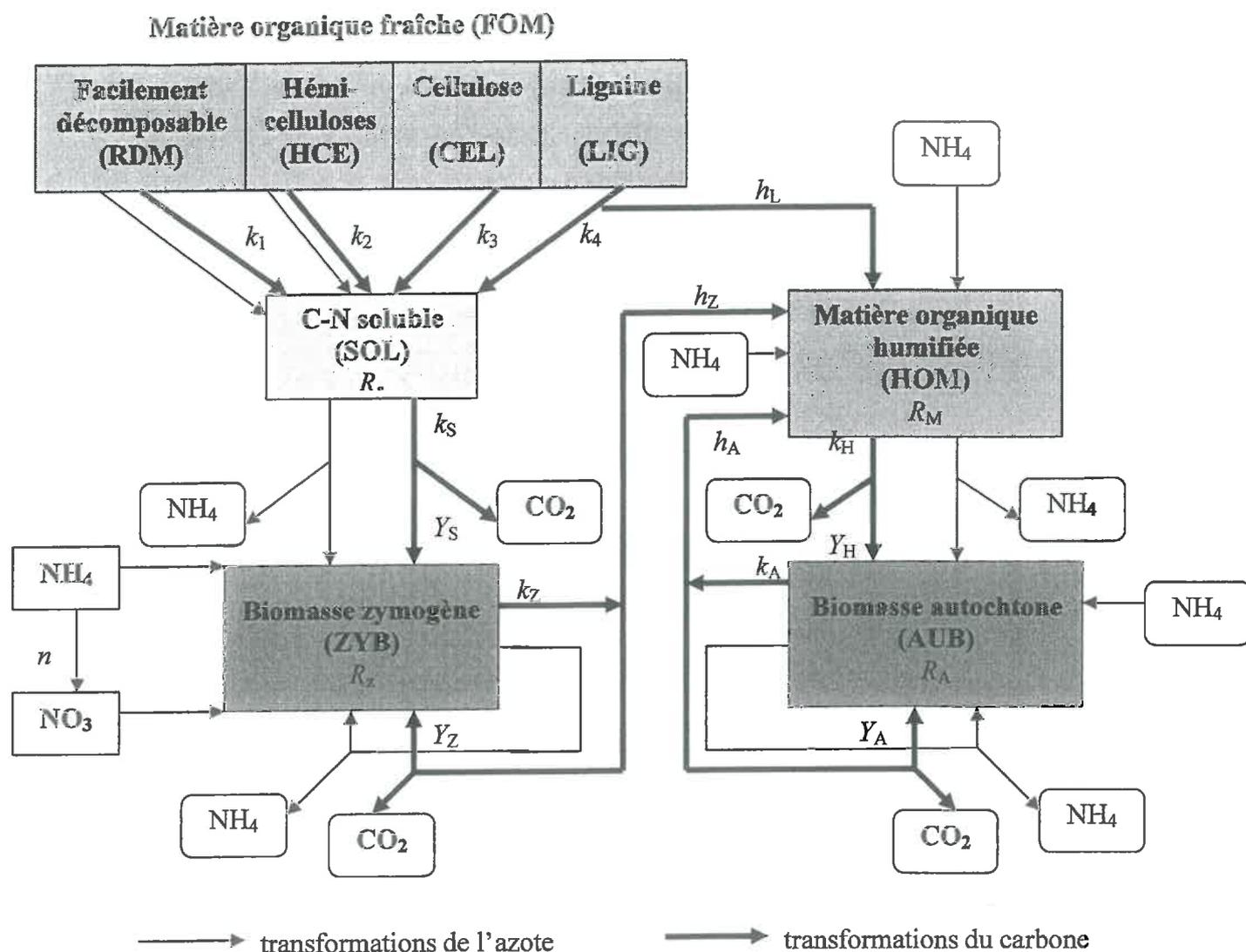


Figure 8 : Organigramme et principaux paramètres du modèle CANTIS

Avec : R = rapport C/N des compartiments organiques, k = coefficient cinétique d'ordre 1 de décomposition des compartiments organiques, Y = rendements d'assimilation du carbone par les biomasses, h = coefficient de la cinétique d'ordre 1 d'humification du carbone, n = coefficients de la cinétique de Michaelis-Menten de nitrification.

Cette estimation est ensuite utilisée pour résoudre les équations de conservation de la masse (40). Les fractions molaires estimées sont réutilisées dans le modèle des gaz poussières pour une nouvelle estimation du flux. Cette procédure itérative est répétée jusqu'à atteindre un critère de convergence.

V.3. Cycles C et N : le modèle CANTIS

Le schéma de fonctionnement du modèle CANTIS (Carbon And Nitrogen Transformations In Soil) est présenté à la **figure 8**. Le modèle simule les cycles de C et N, en prenant en compte la décomposition de la matière organique, la minéralisation, l'immobilisation, la nitrification et l'humification (Garnier *et al.*, 2001). La matière organique est séparée en 5 compartiments (1) la matière organique fraîche (FOM), (2) la matière organique humifiée (HOM), (3) les composés organiques solubles (SOL), (4) la biomasse microbienne autochtone (AUB), (5) la biomasse microbienne zymogène (ZYB). La matière organique fraîche est elle composée de 4 fractions biochimiques (1) les composés rapidement décomposables (RDM), (2) les hémicelluloses (HCE), (3) la cellulose (CEL), et (4) la lignine (LIG). Les équations du modèle sont les suivantes :

V.3.1. Vitesse de décomposition de HOM par AUB

$$\frac{dC_H}{dt} = -k_H \cdot C_H \cdot \frac{B_A}{K_{MA} + B_A} \cdot f_T \cdot f_W \quad (43)$$

avec C_H = teneur en carbone dans HOM, k_H = constante de vitesse de décomposition de HOM, B_A = teneur en carbone de AUB, K_{MA} = facteur de décomposition relié à la taille de AUB, f_T = facteur de température, et f_W = facteur d'humidité.

V.3.2. Vitesse de décomposition de FOM ou SOL par ZYB

$$\frac{dC_K}{dt} = -k_K \cdot C_K \cdot \frac{B_Z}{K_{MZ} + B_Z} \cdot f_T \cdot f_W \cdot f_N \quad (44)$$

avec C_K = teneur en carbone dans FOM ou SOL, k_K = constante de vitesse de décomposition de FOM ou SOL, B_Z = teneur en carbone de ZYB, K_{MZ} = facteur de décomposition relié à la taille de ZYB, et f_N = facteur de limitation en azote.

V.3.3. Vitesse d'assimilation de C par AUB ou ZYB

$$A_j^C = -Y_i \frac{dC_i}{dt} \quad (45)$$

avec $j = \text{AUB ou ZYB}$, $i = \text{SOL ou HOM}$, $A_j^C =$ vitesse d'assimilation de C, et $Y_i =$ rendement d'assimilation de C pour SOL ou HOM

V.3.4. Vitesse de décomposition de AUB ou ZYB

$$\frac{dB_i}{dt} = -k_i \cdot B_i \cdot f_N \quad (46)$$

avec $i = \text{AUB ou ZYB}$, $B_i =$ quantité de carbone dans AUB ou ZYB, et $k_i =$ constante de vitesse de décomposition de AUB ou ZYB

V.3.5. Vitesse d'humification par AUB et ZYB

$$H_i^C = h_i \cdot \frac{dB_i}{dt} \quad (47)$$

avec $i = \text{AUB ou ZYB}$, $H_i^C =$ vitesse d'humification de C, et $h_i =$ coefficient d'humification

V.3.6. Vitesse de recyclage de C dans AUB ou ZYB

$$R_i^C = -(1-h_i) \cdot Y_i \cdot \frac{dB_i}{dt} \quad (48)$$

avec $i = \text{AUB ou ZYB}$, $R_i^C =$ vitesse de recyclage de C, et $Y_i =$ rendement d'assimilation de C dans AUB et ZYB

V.3.7. Vitesse d'assimilation de N par AUB ou ZYB

$$A_i^N = -R_{CN} \cdot A_j^C \cdot f_N \quad (49)$$

avec $i = \text{AUB ou ZYB}$, $A_j^N =$ vitesse d'assimilation de N, et $R_{CN} =$ ratio N/C dans AUB ou ZYB

V.3.8. Vitesse d'assimilation directe par AUB ou ZYB

$$D_R = \alpha_i A_i^N \quad (50)$$

avec $D_R =$ assimilation directe de N, et $\alpha_i =$ coefficient de partage entre l'assimilation directe et l'immobilisation de N.

V.3.9. Vitesse d'immobilisation de N par AUB ou ZYB

$$I_i = (1 - \alpha_i) \cdot A_i^N \quad (51)$$

avec I_i = vitesse d'immobilisation de N

V.3.10. Vitesse d'immobilisation de NH_4^+

$$I_i^A = I_i \frac{N_A}{\beta N_N + (1 - \beta) N_A} \quad (52)$$

avec I_i^A = vitesse d'immobilisation de NH_4^+ , N_A = teneur en N- NH_4^+ , N_N = teneur en N- NO_3^- , et β = coefficient de partage entre NH_4^+ et NO_3^- .

V.3.11. Vitesse d'immobilisation de NO_3^-

$$I_i^N = I_i - I_i^A \quad (53)$$

avec I_i^N = vitesse d'immobilisation de NO_3^- .

V.3.12. Vitesse de nitrification

$$V_N = \frac{V_{\max} \cdot N_A}{K_N + N_A} \cdot f_T \cdot f_w \quad (54)$$

avec V_{\max} = vitesse maximale de nitrification, V_N = vitesse de nitrification, et K_N = constante d'affinité entre NH_4^+ et les bactéries nitrifiantes

V.3.13. Facteurs de température, d'humidité et de limitation d'azote

- Le facteur de température f_T pour la décomposition de FOM, SOL, HOM et pour la nitrification s'écrit (Rodrigo *et al.*, 1997) :

$$f_T = \exp[B_T(T - T_{\text{ref}})] \quad (55)$$

avec B_T = paramètre constant pour la décomposition des HOM (0.115 K^{-1}) et variable selon la température pour FOM (Recous, 1995), T = température, et $T_{\text{ref}} = 20^\circ\text{C}$

- Le facteur d'humidité f_w s'écrit (Andrén *et al.*, 1992) :

$$\begin{aligned} f_w &= 1 && \text{pour } \psi \geq \psi_{\text{ref}}, \\ f_w &= 0 && \text{pour } \psi \leq \psi', \\ f_w &= \frac{\ln(\psi/\psi')}{\ln(\psi_{\text{ref}}/\psi')} && \text{pour } \psi' \leq \psi \leq \psi_{\text{ref}} \end{aligned} \quad (56)$$

avec ψ = potentiel matriciel du sol (m), ψ' = potentiel où l'activité microbienne cesse (-758 m), et $\psi_{\text{ref}} = -1 \text{ m}$.

• Le facteur de limitation de l'azote f_N vaut 1 quand l'azote minéral disponible est suffisant pour les besoins des micro-organismes, et il vaut moins de 1 si il limite la décomposition de C (Recous *et al.*, 1995).

V.4. Dénitrification

Le modèle de dénitrification utilisé dans PASTIS est le modèle NEMIS (Hénault et Germon, 2000). Il a été choisi car il utilise la notion d'espace poral occupé par l'eau, que l'on a suivi au cours de l'expérimentation. Un modèle basé sur la distribution des agrégats était moins adapté car cette distribution n'a pas été étudiée. La forme générale du modèle de dénitrification s'écrit :

$$D_A = D_P \cdot F_N \cdot F_W \cdot F_T \quad (57)$$

avec D_A = vitesse de dénitrification réelle ($\text{kg N ha}^{-1} \text{j}^{-1}$), D_P = vitesse de dénitrification potentielle ($\text{kg N ha}^{-1} \text{j}^{-1}$), et F_N , F_W et F_T sont les effets de la teneur en nitrate, de l'espace poral occupé par l'eau (WFPS), et de la température sur la dénitrification respectivement.

- La fonction nitrate F_N s'écrit :

$$F_N = \frac{[\text{NO}_3^-]}{K_m + [\text{NO}_3^-]} \quad (58)$$

avec $[\text{NO}_3^-]$ = teneur en nitrate (mg N kg^{-1}), et K_m = constante de Michaelis-Menten (mg N kg^{-1}).

- La fonction WFPS F_W est issue des résultats de Grundmann et Rolston (1987):

$$F_W = \left(\frac{\theta - \theta_d}{\theta_s - \theta_d} \right)^\alpha \quad (59)$$

avec θ_d = seuil à partir duquel il y a dénitrification ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$), θ_s = teneur en eau volumique à saturation, et $\alpha = 2$.

- La fonction température F_T est basée sur la loi du Q_{10} avec un paramètre b_i :

$$F_T = a^{|T - T_{\text{opt}}|} \quad (60)$$

avec T = température ($^{\circ}\text{C}$), T_{opt} = température optimale du phénomène ($^{\circ}\text{C}$), et $a = b_i^{0.1}$

VI. Conclusion

La connaissance du devenir des éléments carbone et azote dans la zone non saturée du sol est essentielle pour mieux comprendre les mécanismes microbiens régulant les éléments chimiques du sol, et notamment le devenir de NO_3^- dans cette zone. Au cours de la synthèse bibliographique, il a été clairement souligné que les activités microbiennes dans la zone non saturée profonde ont été souvent sous-estimées alors qu'il existe un potentiel d'activité non négligeable. Ainsi, peu de travaux se sont intéressés à cette zone et il est nécessaire d'étudier de façon la plus détaillée possible les évolutions saisonnières des activités respiratoire aérobie et dénitrifiante, et de les mettre en relation avec les facteurs environnementaux.

Les objectifs scientifiques de cette thèse sont de (1) établir au cours du temps les relations entre l'expression des fonctions microbiennes et les facteurs environnementaux dans un profil de sol, (2) caractériser la qualité du COD et de la relier aux variations saisonnières de l'activité microbienne, (3) obtenir une meilleure estimation du transport et des émissions des gaz à effet de serre, et (4) coupler le transport des gaz à un modèle de transport de l'azote pour mieux prédire les quantités de NO_3^- arrivant à la nappe.

Pour cela, les travaux de recherche de cette thèse ont été menés sur une parcelle agricole caractérisée par des risques transitoires d'anoxie et située dans le Comtat Venaissin (Vaucluse, 84) classée « zone vulnérable » par la directive européenne CEE 91-676 en raison de la contamination importante des nappes en NO_3^- en milieu agricole. L'expérimentation s'est déroulée pendant 7 mois, à partir de l'enfouissement des résidus de récolte d'une culture de maïs (octobre 2001), jusqu'au début du cycle cultural suivant (mai 2002). La zone non saturée du sol était épaisse d'environ 2.50 m. Elle a été instrumentée avec différents capteurs électroniques et manuels pour un suivi 24h/24.

DEVENIR DU CARBONE ET DE L'AZOTE DANS LA ZONE NON SATURÉE DU SOL : MESURES *IN SITU* ET EN LABORATOIRE DES VARIATIONS DES ACTIVITÉS DENITRIFIANTE ET RESPIRATOIRE AÉROBIE

Ce chapitre 2 correspond à un article accepté pour publication dans la revue *Soil Biology and Biochemistry* : P. Cannavo, A. Richaume, F. Lafolie (2003) Fate of Carbon and Nitrogen in the Vadose Zone: *In situ* and Laboratory Measurements of Seasonal Variations in Denitrifying and Aerobic Respiratory Activities. *Impression en cours*.

ABSTRACT

In situ and laboratory measurements of aerobic respiratory and denitrifying activities were studied in the vadose zone (almost 2.5 m thick) of a fluvic hypercalcaric cambisol characterized by transitory anaerobic conditions. A field experiment was conducted in a bare soil, over a seven-month period starting just after maize harvest and incorporation of maize crop residues. Weather variables (air and soil temperature, rainfall), soil water content, soil solutes (NO_3^- and dissolved organic carbon) and soil gases (CO_2 and N_2O), were recorded throughout the experiment. Four soil layers were defined. Bacterial counts were performed in each layer using the Most Probable Number (MPN) method. Aerobic respiratory and denitrifying activities were estimated from laboratory measurements. *In situ* microbial activity, as revealed by CO_2 and N_2O measurements in the soil atmosphere, was strongly influenced by weather. Laboratory measurements showed that potential aerobic respiratory activity occurred throughout the soil profile, whereas semi-potential denitrifying activities SPDA (i.e: measured under organic-C limiting condition) occurred mainly in the top 30 cm soil layer. In the soil profile, the CO_2 concentration gradient was stronger than the N_2O concentration gradient. Seasonal variations in microbial activities increased with depth, whereas DOC concentrations, and variations in those concentrations, decreased with depth, suggesting that DOC quality investigations are necessary in the deep vadose zone to understand microbial activities seasonal variations. Laboratory measurements of potential activities agreed well with *in situ* microbial activity in natural environmental conditions. NO_3^- was a stronger limiting factor for SPDA than was denitrifier density in the soil profile. These results will be integrated in a model predicting NO_3^- leaching.

Key words: denitrifying bacteria, heterotrophic micro-organisms, vadose zone, denitrification, respiration, NO_3^- , dissolved organic carbon, soil gas CO_2 and N_2O

1. Introduction

Nitrate (NO_3^-) contamination of groundwater has increased in recent decades (Zahn and Grimm, 1993; Spalding and Exner, 1993), and NO_3^- concentration is often more than 11.3 mg N L^{-1} solution (Richards and Webster, 1999), the threshold of water potability as defined by the European Community (EEC 80-778 directive). Nitrate pollution depends on movement of NO_3^- through the soil profile, which can be substantial (Katupitiya et al., 1997), and on NO_3^- biotransformations, including N mineralization and denitrification.

Microbial denitrification in the vadose zone fulfils an important role, lowering NO_3^- concentrations and limiting NO_3^- leaching into the groundwater (Jarvis and Hatch, 1994; Clough et al., 1999; Richards and Webster, 1999). It generally requires anoxic conditions (Chèneby et al., 1999) and depends on the density of denitrifying bacteria present (Kornaros and Lyberatos, 1997), the presence of easily assimilable organic substrates (Sørensen and Jensen, 1995; Clough et al., 1999; Jarvis and Hatch, 1994) and NO_3^- as electron acceptor (Clough et al., 1999; Richards and Webster, 1999). These conditions depend on soil structure and soil water content, which control gas and solute transport (Michalzik et al., 1998; Parry et al., 1999; Thomsen et al., 1999; Glinski et al., 2000). Maximal denitrifying activity is a combination of microbial density and specific activity. Denitrifiers are facultative anaerobes, able to grow under anoxic conditions, and environmental conditions affect the synthesis and activation of denitrifying enzymes (Tiedje, 1988; Firestone and Davidson, 1989).

The deep vadose zone also presents some specific features. Firstly, O_2 concentration tends to decrease with depth (Sierra and Renault, 1998), which can favour denitrification. Secondly, the CO_2 concentration, controlled by microbial activities and by calcite precipitation or dissolution (Suchomel et al., 1990) affects soil pH (Stumm and Morgan, 1996) which in turn regulates denitrification, as N_2O is more readily reduced to N_2 under basic conditions (Knowles, 1982). Thirdly, dissolved organic carbon is generally present at low concentrations (Kalbitz et al., 2000), because of to physical adsorption on mineral particles (Kaiser and Zech, 1997) and only small quantities coming from the top layers. Thus, microbial activity is reduced (Giampaolo et al., 1996; Dam et al., 1997; Richards and Webster, 1999). Fourthly, some variable change only slowly in the deep vadose zone. For example, temperature variations decrease with depth, and below some tens of centimeters only seasonal variations can be observed. Finally, residence times of water and solutes are long (Dosskey and Bertsch, 1997; Garnier et al., 2001).

As denitrification limits the amount of NO_3^- leaching into the groundwater, biological processes must be taken into account in models predicting NO_3^- leaching. There have been a few models designed to couple physical and biological processes (de Willigen, 1991), but they have not been extensively validated. To improve the modeling, microbial activity in the vadose zone needs to be studied in relation to environmental conditions, taking frequent measurements to provide a better understanding of seasonal variations.

The goal of the present study was to characterize the vertical distribution of denitrifying and aerobic respiratory activities *in situ* and in the laboratory, and their seasonal variations over a period of seven months. Aeration conditions (i.e.: water-filled pore space (WFPS)), NO_3^- and DOC concentration, and soil gas CO_2 and N_2O concentration variations were also measured.

Table 1 : Main characteristics of soil profile

| Layer (cm) | Clay* (g kg ⁻¹) | Loam* (g kg ⁻¹) | Sand* (g kg ⁻¹) | Total carbonate (g kg ⁻¹) | Density (g cm ⁻³) | pH H ₂ O | pH KCl (1 mol L ⁻¹) | Organic-C (g kg ⁻¹) | Organic-N (g kg ⁻¹) |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|----------------------------------|---------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 0-30 | 54 | 27 | 23 | 896 | 0.884 | 8.8 | 8.4 | 20.04 | 1.72 |
| 30-60 | 35 | 26 | 15 | 924 | 1.156 | 8.5 | 8.5 | 12.1 | 0.88 |
| 100-160 | 30 | 12 | 8 | 950 | 0.883 | 8.6 | 8.8 | 7.7 | 0.47 |
| organic layer (120-140) | 29 | 23 | 14 | 934 | - | 8.8 | 8.7 | 9.95 | 0.66 |
| Gley zone (120-130) | 97 | 38 | 1 | 864 | 1.07 | 8.5 | 8.2 | 4.61 | 0.50 |
| Clay zone (140-150) | 206 | 71 | 3 | 720 | 1.07 | 8.8 | 8.5 | 6.22 | 0.35 |

* values obtained after decarbonation

2. Materials and methods

2.1. Experimental site

The experimental site (43°91' N, 5°06' E) was near Avignon (France), in a small region, the Comtat Venaissin, labelled "zone vulnérable" for major NO₃⁻ pollution of groundwater due to agricultural practices (EEC 91-676 directive). The soil was a fluvic hypercalcaric cambisol (FAO classification) (see soil characteristics, Table I). Numerous clay and gley pockets were present, mostly at a depth of around 80 cm and between 100 and 130 cm. Organic layers were present between 100 and 140 cm depth. Ferro-calceric concretions measuring several centimeters in diameter and reduction-oxidation stains – indicating temporary occurrences of anaerobiosis – were present in the lower half of the profile. In March 2001, four soil layers were defined in a preliminary soil profile study: 0-30, 30-60, 60-100, and 100-160 cm, as the water table was at a depth of 160 cm.

The land was cultivated with maize in 2000 and 2001. The experimental site has a Mediterranean climate with hot and dry summers with most rain falling in spring and autumn. Mean cumulative rainfall per year is 640 mm (Météo-France, Carpentras Serres station). Mean annual temperature is 13.6°C, and monthly means vary between 5 and 23°C. For a 46-day period in summer, temperature can rise above 30°C. A seven-month experiment was conducted, from 25 October 2001, after maize harvesting and tillage with incorporation of maize residues (ploughing to 20 cm depth), to 6 May 2002. The soil was bare throughout the experiment.

2.2 Microbial measurements

Microbial activities were measured and microbial counts performed in the four soil layers defined above. Soil samples were collected from each soil layer with an auger. For each layer, three replicates were obtained by coring three holes one meter apart. Samples were collected on an approximately monthly basis for the 0-30 cm layer and every three months for the other layers. Sampling frequency was increased if rainfall was heavy enough to allow water to reach deeper layers (see next paragraph). Samples were air dried for 24h at room temperature in order to obtain approximately 0.1 g g⁻¹ soil moisture. It was then sieved at 2 mm. Soil samples were stored in sealed plastic bags at 4°C in the dark, until use (i.e.: less than 15 days).

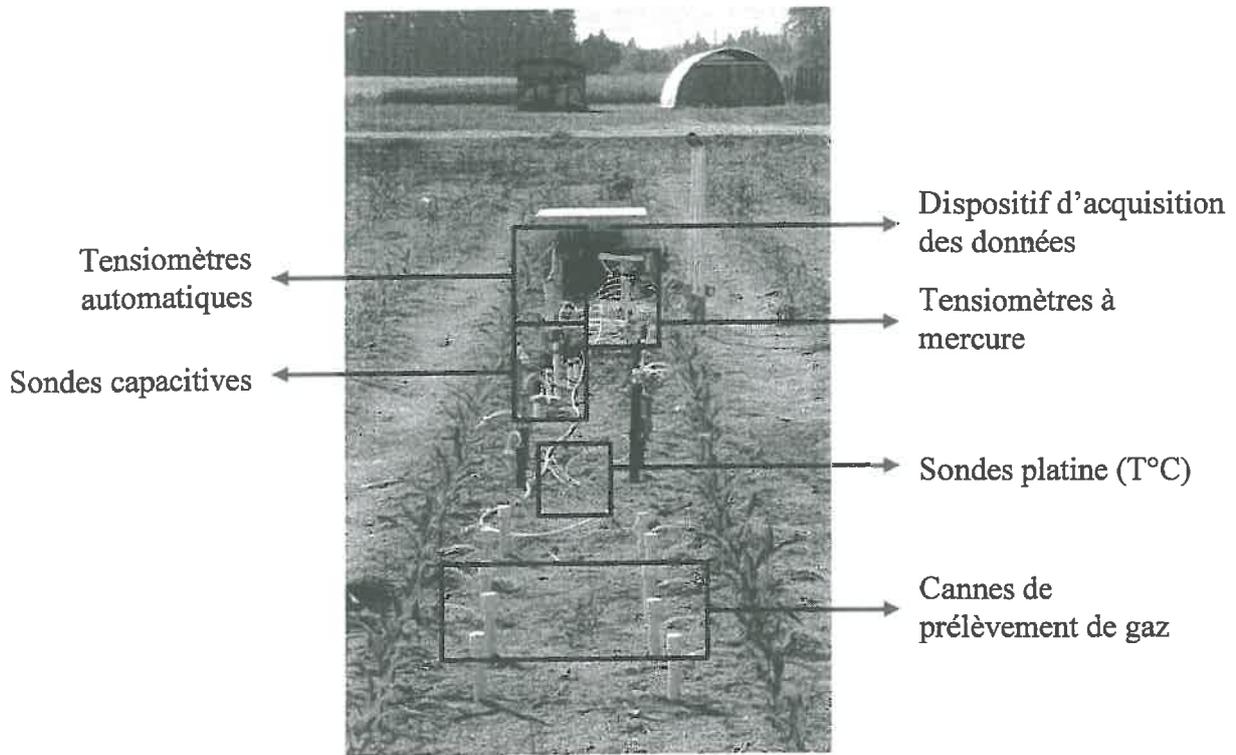


Figure 1: Site expérimental (Velleron, 84)

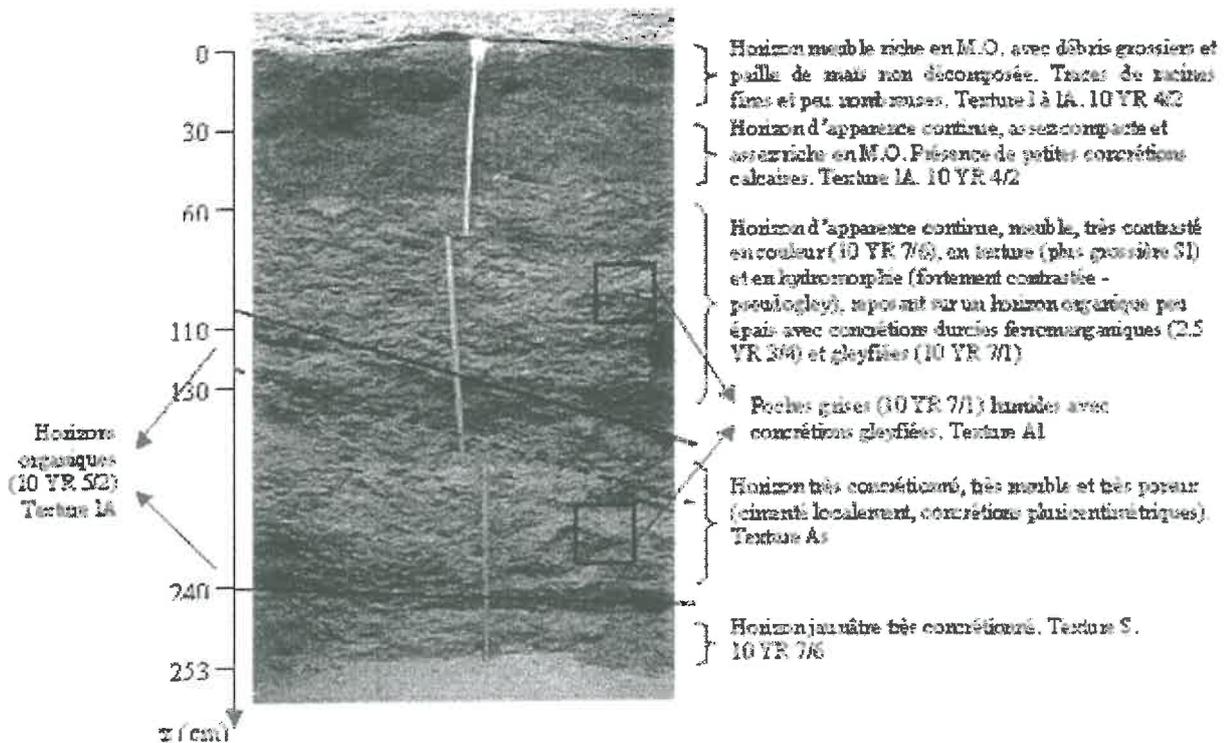


Figure 2 : Profil pédologique (26/02/02)

Bacterial counts, aerobic respiration and semi-potential denitrifying activities have already been detailed in Cannavo *et al.* (2002). Triplicate microbial counts were performed with soil amounts equivalent to 10 g dw, homogenized in 50 mL of NaCl (8 mg L⁻¹ solution) for 1.5 min, with a Waring blender. The soil suspension was serially diluted 5-fold. One hundred microliters of the dilutions were aliquoted in 8 × 12 wells of the microtiter plates containing 100 µL of Nutrient Broth (NB, Difco, Detroit, USA) concentrated twice. For denitrifying bacteria, the medium was amended with KNO₃ (5 mM). The plates were incubated at 28°C for 7 and 12 days for heterotrophic and denitrifier counts, respectively. For denitrifier counts, anaerobic conditions were obtained using the BBL GasPack Pouch System (Becton Dickinson, Sparks, NV, USA). The most probable number of heterotrophic or denitrifying micro-organisms was estimated by Cochran's method (Cochran, 1950). Potential denitrifying activity (PDA) and semi-potential denitrifying activity (SPDA) were measured. PDA corresponds to the activity measured in anoxia under non-limiting NO₃⁻ and organic-C conditions, whereas SPDA corresponds to the activity solely in non-limiting NO₃⁻ conditions. Triplicates were performed for each layer. For each measurement, 25 g of air dried soil were placed into a 150 mL plasma flask, and 25 mL of a solution containing either 40 mM KNO₃ and 10 mM succinic acid were added for PDA measurement, or 40 mM KNO₃ only for SPDA measurement. Anoxic conditions were obtained by 3 cycles of alternating vacuum (3 min) and N₂ filling (3 min). The plasma flasks were then incubated at 20°C at 250 rpm. C₂H₂ was injected to inhibit N₂O reduction. 0.25 mL gas sample were withdrawn with a pressure-lock syringe (SGE II, SGE, France) 3, 4, 5 and 6 h after introducing C₂H₂, and N₂O concentration was measured using ECD gas chromatography (HP 5890 Series II). We did not present PDA results as PDA variation with depth and seasonal variations were very similar to the SPDA ones. Moreover, we preferred only to present SPDA values as this activity took into account the original organic matter present in the soil profile. A simple linear regression was used to estimate the denitrifying activity expressed in µg N₂O-N g⁻¹ dw soil h⁻¹. Aerobic respiratory activity measurements were taken on soil samples re-wetted and equilibrated at a 0.001 MPa water suction for 48 h at 20°C. One hundred grams of fresh soil were placed into a 150 mL plasma flask, with Kr injection to detect possible gas leakage. Gas samples of 0.25 mL were withdrawn 0, 24, 48 and 72 h after sealing flasks, and immediately analysed for O₂, CO₂, N₂ and Kr using TCD gas chromatography. A simple linear regression to estimate O₂ consumption, aerobic respiratory activity (ARA, expressed in µg O₂ g⁻¹ dw soil h⁻¹). Three replicates were analysed for each layer.

2.3 Additional measurements

2.3.1 Bulk density

Soil cores were collected *in situ* in metal cylinders (15 cm in dia. by 7 cm high), from each layer studied. Soil water content was determined after oven-drying the soil sample at 105°C for 24h. The bulk density (g cm^{-3}) of the soil core was calculated from the mass of the dry soil and the metal cylinder volume.

2.3.2 Soil water suction and soil moisture

Soil water suction was monitored using automatic tensiometers (SKT 850, SDEC), first calibrated using a pressure calibrator (Druck DPI 602) at 4 temperatures (5, 15, 25 and 35°C) and 5 suctions (0, -2, -4, -6, and -7.5 H₂O m), in a climatic chamber. They were installed every 20 cm depth from 20 to 200 cm depth and connected to datalogger (Campbell Scientific, CR10). Values were recorded every 20 minutes. Relationships between soil water suction and soil volumetric water content were obtained by collecting soil samples at different dates and in different weather conditions (rainy and dry periods). At sampling time, soil water suction was obtained from automatic tensiometer values. The Van Genuchten relationship was fitted to experimental data (Van Genuchten, 1980). The water filled pore space (WFPS) was calculated as follow:

$$\text{WFPS} = \frac{\theta_w}{1 - \frac{\rho_d}{\rho_s}} \quad (1)$$

where: θ_w = soil volumetric water content ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$), ρ_d = bulk density (g cm^{-3}), and ρ_s = solid density = 2.7 g cm^{-3} (Fiès and Stengel, 1981)

2.3.3 Soil temperature

Soil temperature probes were inserted at depths of 5, 20, 60, 100 and 170 cm, and connected to a datalogger (Campbell Scientific, CR10). Values were recorded every 20 minutes. In the laboratory, calibration coefficients were obtained to convert the temperature probe signals (mV) to temperature (°C). We used a thermostated bath at 5, 10, 15, 20 and,

25°C. Calibration parameters were estimated by fitting a linear regression to the experimental data. A piezometer and a rain gauge were also installed near the experimental site.

2.3.4 Soil solute extraction and measurements

Once a week, soil samples were collected in order to measure solute concentrations (NO_3^- and DOC). Seven 30-cm-thick layers were defined from 0 to 210 cm depth. The soil sample for a given layer was obtained by mixing samples taken from three holes spaced 1 meter apart. For each layer, 200 g of soil were vigorously shaken with 400 mL ultrapure water in a 500 mL plastic flask, for 15 minutes. The slurry was then allowed to settle for 15 minutes. The supernatant was filtered through 0.45- μm membrane filters (durapore®, Millipore, France).

To measure DOC concentration, we added Na azide solution (300 μL of 30 g L^{-1} Na azide solution for 30 mL soil solution) to the extracted soil solution to conserve the sample. Brown glass 60-mL flasks were used to store DOC solution at 4°C until analysis. To analyse nitrogen mineral forms, soil solutions were stored in 40-mL plastic flasks at 4°C.

Mineral N was measured by capillary electrophoresis (CIA method, Millipore) and DOC was measured with a total organic carbon analyser (TOC 5050A, Shimadzu).

2.3.5 Soil atmosphere measurements

Soil atmosphere probes were inserted at 20-cm intervals from 20 cm depth to 200 cm, to monitor O_2 , CO_2 and N_2O partial pressures. These gases were collected in each soil atmosphere probe once a week (and more frequently after rain). The PVC probes measured 25 mm in diameter and consisted of two parts, the gas cell and the extension piece. The gas cell was 120 mm high with a 3 mm dia hole and was placed with its centre at the sampling depth. The gas cell was linked to the soil surface by a 5 mm dia tube placed in the extension piece. To avoid atmospheric contamination, the tube was sealed at the soil surface by a shut-off.

To install the probes, the soil was dug with a 45 mm dia auger and probes were placed at predetermined depths. Firstly, we packed around the gas cell with coarse sand to favor gas diffusion, secondly with bentonite to avoid gas atmosphere penetration along the tube and lastly with the soil. Before collecting soil atmosphere, the tube was purged of air. The air volume purged was calculated as a function of tube length. Soil atmosphere samples were collected in 3 mL Venojects under vacuum. A double needle served to connect the Venoject

with the tube. One needle was put through a septum connected to the shut off; then the other needle was driven through the Venoject septum. Soil atmosphere passed into the Venoject for almost 10 seconds, until equilibrium. The soil atmosphere samples were analysed in the laboratory immediately. Two 0.25-mL gas samples were withdrawn with a pressure-lock syringe (SGE II, SGE, France) and immediately analysed for N₂O by ECD gas chromatography and for O₂ and CO₂ by TCD gas chromatography.

2.3.6 N₂O production origin at soil surface under aerobic conditions

In order to check whether N₂O was produced through nitrification or denitrification under aerobic conditions, an experiment was carried out using ¹⁵N isotope tracing technique on the 0-30 and 30-60 cm layers. Twenty grams of air dried soil sieved at 2 mm were placed in a 150 mL plasma flask. ¹⁵N-urea (50% atom excess) was applied, instead of NH₄⁺, owing to its higher diffusion rate in soil and its rapid hydrolysis into NH₄⁺ (Recous et al., 1988). Two treatments were applied (3 replicates): 1 and 200 mg N kg⁻¹ as ¹⁵N-urea. Measurements were taken twice, at t=0 and t=6h. Incubation was carried out at 20°C, after a 3 days pre-incubation at 5°C for urea hydrolysis (the aerobic hydrolysis half life of urea). ¹⁵N₂O was analyzed after automatic pre-concentration, using a trace gas mass spectrometer (Micromass, Manchester, England). Isotopic enrichment of emitted N₂O (*E*) and the fraction of N₂O emitted by the ¹⁵NH₄⁺ source (*γ*) were calculated as follows:

$$E = E_m + \frac{N_0}{N} \cdot (E_m - E_0) \quad \text{and} \quad \gamma = \left(\frac{E - E_2}{E_1 - E_2} \right) * 100 \quad (2)$$

where: *N* (ppmv) = N₂O emitted during the 6-hour experiment, *E_m* (atom % excess) = N₂O isotopic enrichment at t=6 hours, *N₀* = initial N₂O content at t=0 with an isotopic enrichment *E₀*, and *E₁* and *E₂* = final values of ¹⁵NH₄⁺ and ¹⁵NO₃⁻ isotopic excess respectively.

A *γ* value close to 0 would suggest that N₂O is mainly produced by NO₃⁻ reduction. When the origin of the N₂O is established, a constant N₂O sink source value in the soil surface layer is incorporated in the model.

2.4 Statistical analyses and other treatments

Three statistical treatments were performed :

- (i) Standard deviation was calculated for DOC and NO₃⁻ concentration measurements, mean microbial densities, and soil microbial activities;

- (ii) A statistical test of the existence of statistical differences in microbial activities and bacteria densities between the soil profile layers, using the ANOVA method;
- (iii) A Student test of the existence of correlation between microbial activities and densities.

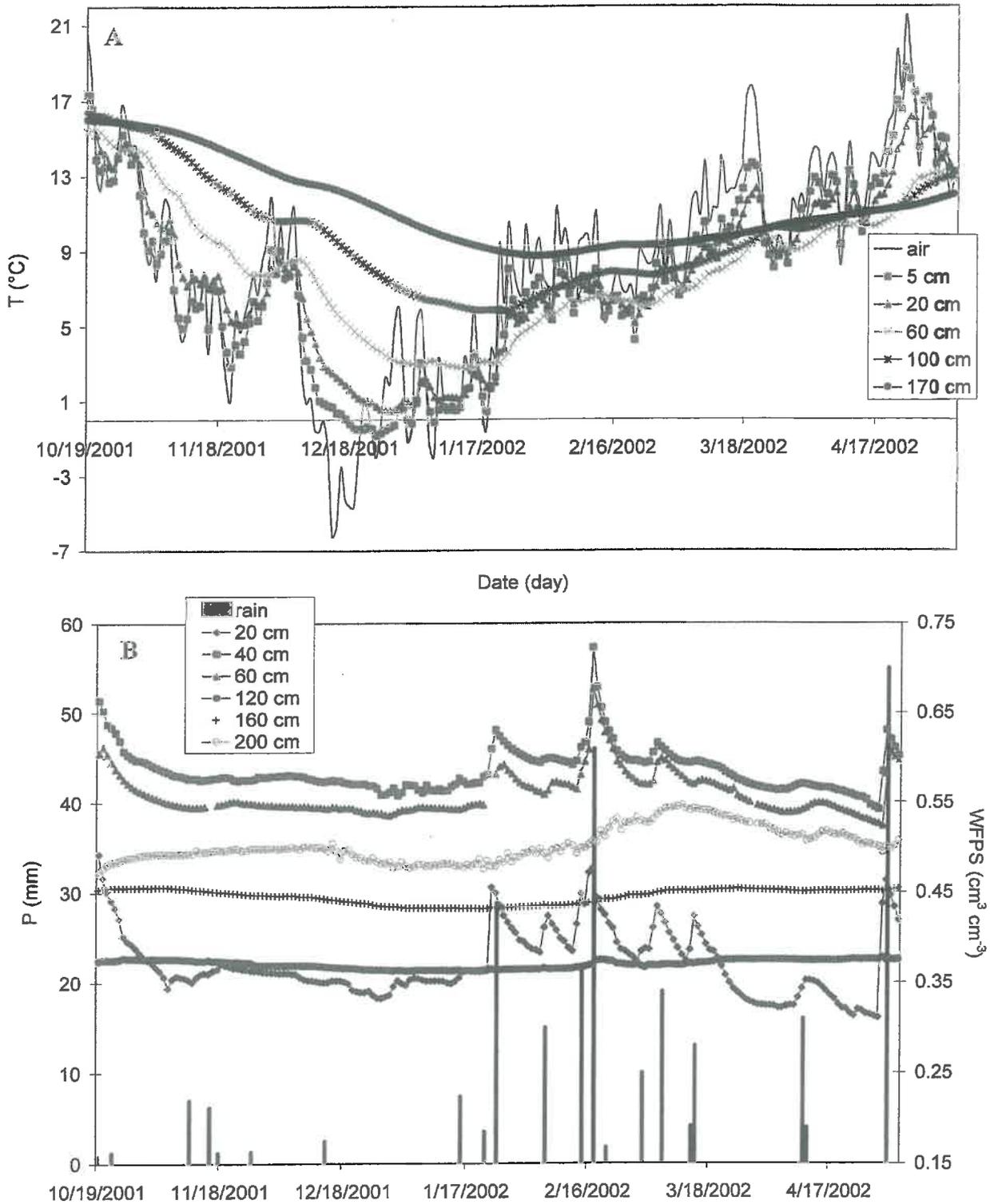


Figure 3: Climatic characteristics (A: air and soil mean daily temperature, B: rainfall and water filled pore space WFPS).

3. Results

3.1. Environmental factors

3.1.1 Weather factors and water filled pore space (WFPS)

Air temperature mean fell sharply between October and December 2001, and minimal air temperature reached -10°C on several days (Fig. 3 A). After December air temperature increased. Minimal air temperature was recorded on December 2001 and minimal soil temperatures were reached 10, 14, 31, 41 and 46 days later at 5, 20, 60, 100 and 170 cm depths, respectively. In mid-December it snowed, and the snow stayed for 15 days; the soil surface layer (top 15 cm) was frozen at -0.5°C throughout this period and soil temperature dropped to 0.7°C at 20 cm depth. For three days before the snowfall, and from 8 to 21 January 2002, there was a daily freeze/thaw cycle in the top 5 cm of soil. The weather was dry from the time of maize residue incorporation until December 2001. The heaviest rains were in February-March and May 2002 (Fig 3 B). The water table rose from 264 cm depth on February 15th to 234 cm depth on March 14th. The heaviest rainfall event (55 mm) occurred on 1 May 2002, after a 20-day dry period. The water filled pore space (WFPS) increased during important rainfall events notably on 18 February 2002, where WFPS was 72% at 40 cm depth and where water leached until 160 cm depth (Fig. 3 B). In the deep vadose zone, no WFPS peaks were noticed. WFPS at 200 cm depth increased slowly after the 18 February rainfall event, as the water table increased.

3.1.2 Soil solution

NO_3^- concentrations in the soil solution were generally high (Fig. 4). An NO_3^- concentration gradient with depth was observed. Mean NO_3^- concentration values were 0.44, 0.38, 0.19, 0.07 and $0.03 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ dw}$ in the 0-30, 30-60, 60-90, 90-120 and 150-180 cm layers respectively. In the groundwater, mean NO_3^- concentration was $33.5 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$. Wide NO_3^- concentration variations were recorded in the 0-30 cm soil layer. Major decreases in NO_3^- concentration were observed ten days after crop residue incorporation and during heavy rainfall events between the end of January and the beginning of March. Three weeks after 6 March rainfall event, NO_3^- concentration increased.

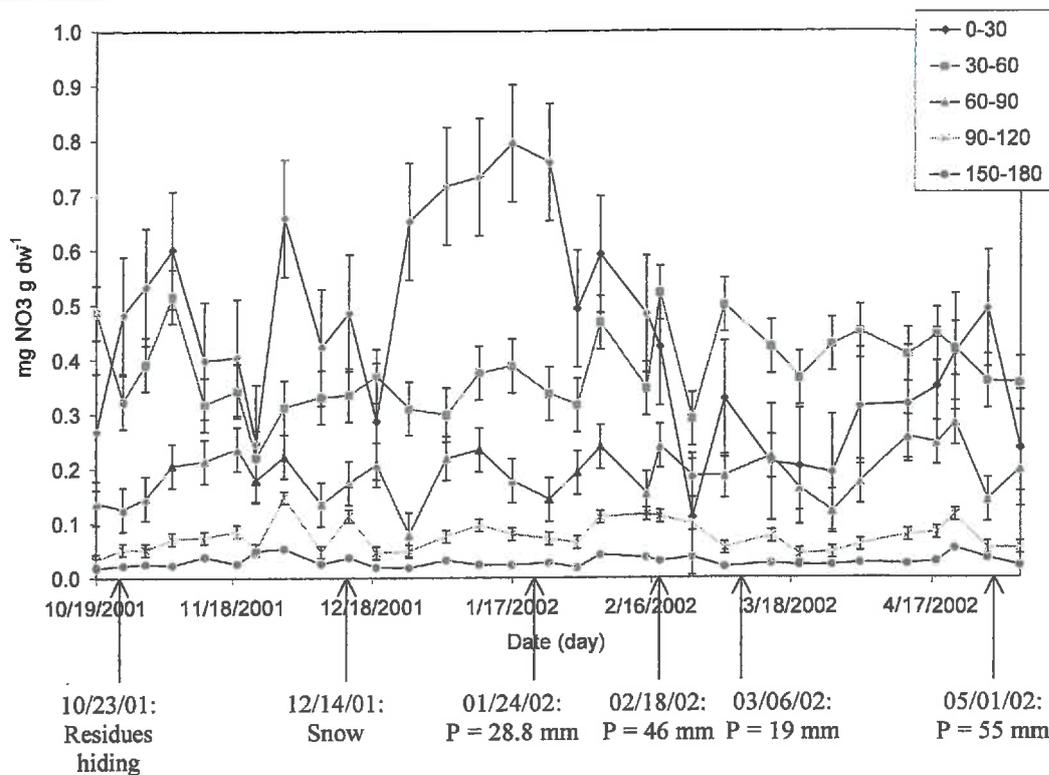


Figure 4: Soil NO_3^- concentration trends with key dates. Values are means of three replicates. Bars represent standard deviation values. P = precipitation

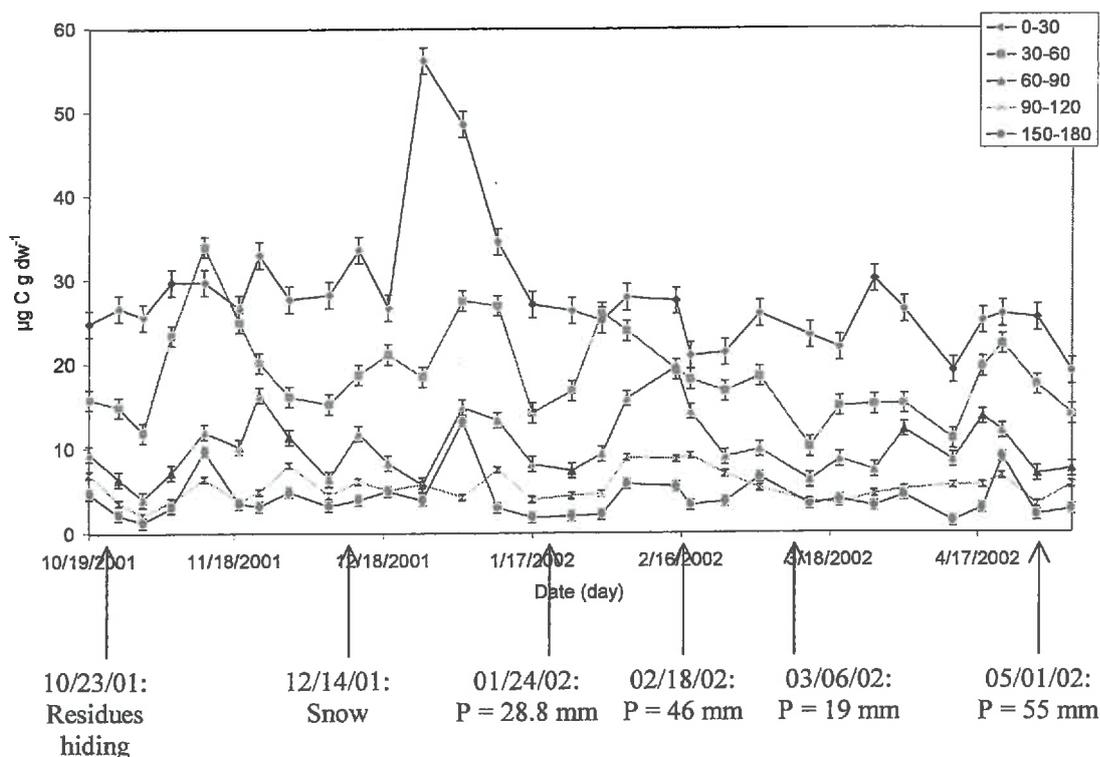


Figure 5: Soil DOC concentration trends with key dates. Values are means of three replicates. Bars represent standard deviation values. P = precipitation

There was no clear association between decreases in NO_3^- concentration in the 0-30 cm layer and concentration increases in the lower layers, particularly the 30-60 cm layer. NO_3^- concentrations in the 30-60 cm layer only decreased during 18 February rainfall event. The 60-90 cm layer showed less variations and NO_3^- concentrations seemed to increase slightly after major rainfall events (February 5th and 18th, May 6th). At greater depths, NO_3^- concentration variations were small. NO_2^- was under the detection threshold during the whole experiment.

DOC concentration decreased with depth (Fig. 5). Mean values were 28.1, 18.8, 10.1, 5.4, 5.0, 4.1 and 3.8 $\mu\text{g C g dw}^{-1}$ in the 0-30, 30-60, 60-90, 90-120, 120-150, 150-180 and 180-210 cm layers respectively. In the groundwater, DOC concentration was around 2 mg C L^{-1} . There was less temporal variation in DOC concentration than in NO_3^- concentration in the soil surface layer. After maize residue incorporation, DOC concentration increased slightly from 25.6 to 29.7 $\mu\text{g C g dw}^{-1}$ on 30 October and 5 November respectively. Thereafter DOC concentration increased significantly from 19 December to 17 January – i.e: during the snow period and daily freeze/thaw cycles – reaching a maximum value of 56.2 $\mu\text{g C g dw}^{-1}$. DOC concentration also decreased after major rainfall events, particularly between January and March, and also varied in the 30-60 cm layer, increasing during root decomposition from 30 October to 12 November, and decreasing during dry periods. There was no clear DOC concentration variation during rainfall events, though sometimes there was a slight decrease.

3.1.3 Soil atmosphere

At all depths, soil CO_2 concentration decreased from October 2001 to January 2002, remained steady from January 2002 to February 2002 and increased thereafter (Fig. 6). Soil CO_2 concentration increased with depth on all dates measured. The soil atmosphere CO_2 gradients decreased from the beginning of the experiment to December. At this time (December) a CO_2 gradient was still present, indicating that CO_2 was still being produced at depth. There was an increase in CO_2 concentration throughout the soil profile on 30 October, after maize residue incorporation. On 24 January, 18 February, 14 March, 11 April and 1 May, heavy rain induced CO_2 concentration peaks throughout the soil profile, including the deep layers, even if this was not a completely consistent trend.

Soil atmosphere N_2O concentration time trends and distribution in the soil profile followed a different pattern (Fig. 7).

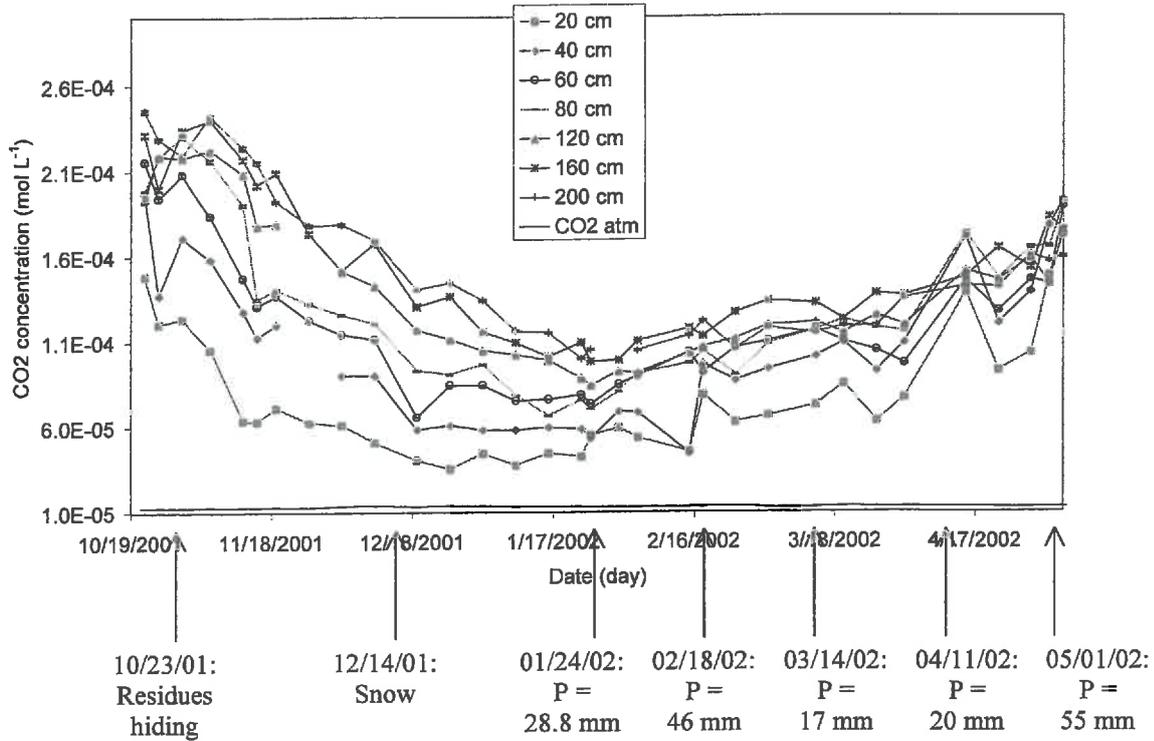


Figure 6: CO₂ concentration distribution in the soil profile with key dates. P = precipitation.

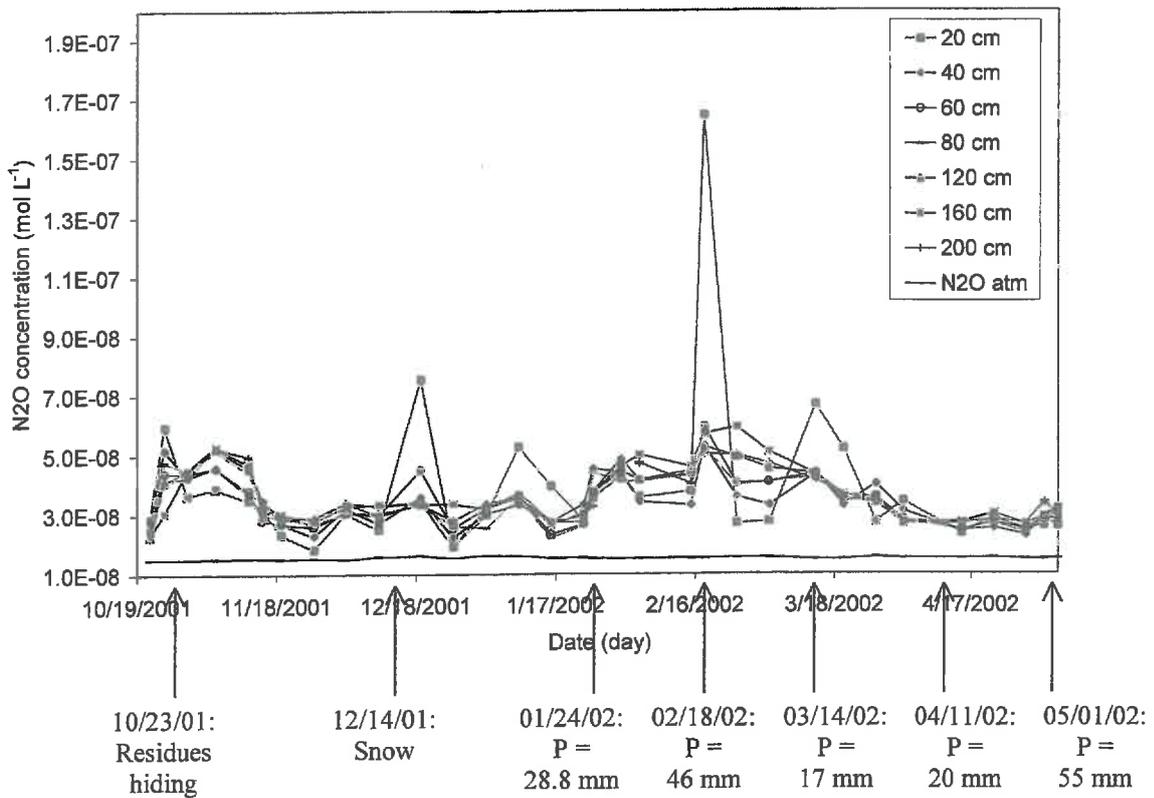


Figure 7: N₂O concentration distribution in the soil profile with key dates. P = precipitation.

The concentration gradient with depth was generally slight. N₂O concentrations did not vary as much as temporally, as did CO₂ concentrations, except for particular peaks. Several N₂O concentration peaks appeared at 20 cm depth on particular dates. The first occurred immediately after maize residue incorporation: an increase in N₂O concentration was observed throughout the soil profile. This was also the case with soil CO₂ concentration. Two other N₂O peaks were observed during the daily freeze/thaw cycles before and after the snow period of mid-December. No CO₂ peaks were observed at these times. Finally, major rainfall events induced N₂O concentration peaks on 24 January, 18 February and 14 March. No N₂O concentration peak was observed during the rainfall event of 1 May. The highest N₂O concentration peak was observed in February, after a considerable accumulation of rain. One week later, N₂O concentrations were higher below the 40 cm depth than at the 20 cm depth. Without taking N₂O concentration peaks into account, a continuous N₂O production was observed under aerobic conditions. The ¹⁵N technique gave a γ value near 0% for the 0-30 cm layer and for both treatments, whereas γ values were 15.48 and 44.86% in the 30-60 cm layer for the 1 and 200 mg urea-¹⁵N kg⁻¹ treatments, respectively (Table II).

Table II : N₂O origin in soil determined after ¹⁵N-urea application

| Soil layer (cm) | ¹⁵ N-urea input (mg N kg ⁻¹) | N ₀ (ppmv) | E ₀ (atom% in excess) | N _m (ppmv) | E _m (atom% in excess) | E ₁ (atom% in excess) | E ₂ (atom% in excess) | N (ppmv) | E (atom% in excess) | γ (%) |
|-----------------|---|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------|---------------------|--------------|
| 0-30 | 1 | 0.35 | 0.01 | 0.52 (0.04)* | 1.30 (0.22) | 50.0 (0.78) | 0.69 (0.02) | 0.17 (0.04) | 4.15 (0.75) | 7.0 (0.02) |
| 0-30 | 200 | 0.35 | 0.01 | 1.65 (0.13) | 20.26 (2.0) | 44.0 (0.7) | 27.35 (0.7) | 1.30 (0.13) | 25.86 (2.84) | -8.57 (0.14) |
| 30-60 | 1 | 0.35 | 0.01 | 0.40 (0.01) | 0.98 (0.22) | 50.0 (0.78) | 0.31 (0.02) | 0.05 (0.01) | 8.0 (2.17) | 15.48 (0.04) |
| 30-60 | 200 | 0.35 | 0.01 | 0.39 (0.6) | 1.91 (0.6) | 45.0 (0.4) | 1.02 (0.12) | 0.04 (0.12) | 20.64 (4.81) | 44.86 (0.11) |

* Numbers in parenthesis are standard errors

N = N₂O emitted during the 6 hours experiment (ppmv), E_m = N₂O isotopic enrichment at t=6 hours (atom % in excess), N₀ = initial N₂O content at t=0 with an isotopic enrichment E₀, E₁ and E₂ = final ¹⁵NH₄⁺ and ¹⁵NO₃⁻ isotopic excess values respectively, E = emitted N₂O isotopic enrichment, γ = N₂O fraction emitted by the ¹⁵NH₄⁺ source.

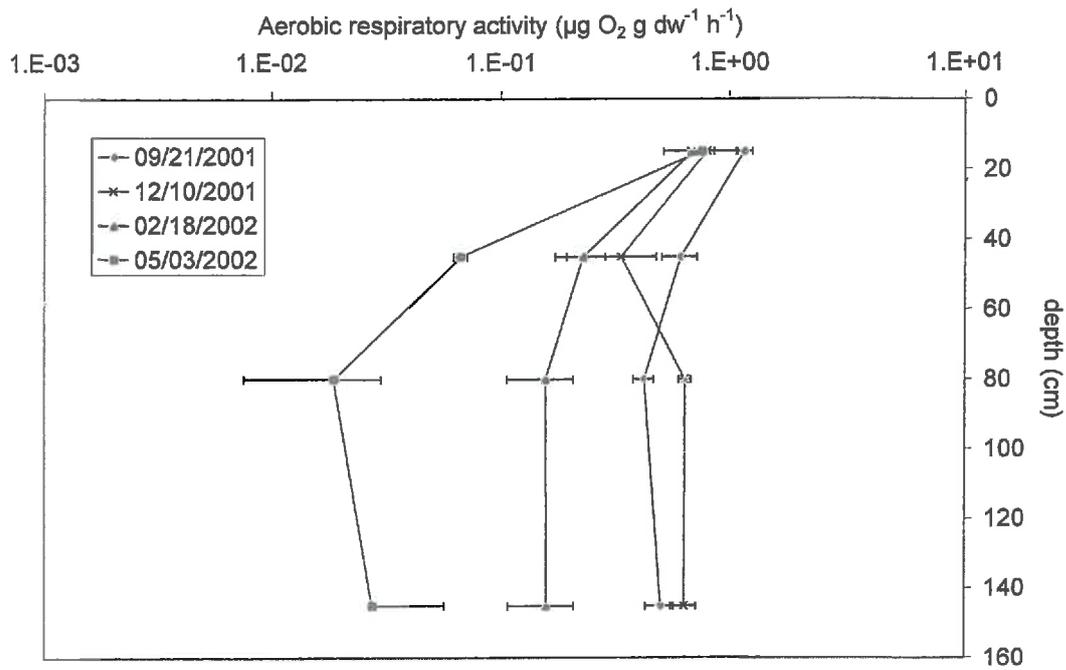


Figure 8: Temporal variation in aerobic respiratory activity in the soil profile. Values are means of three replicates. Bars represent standard deviation values.

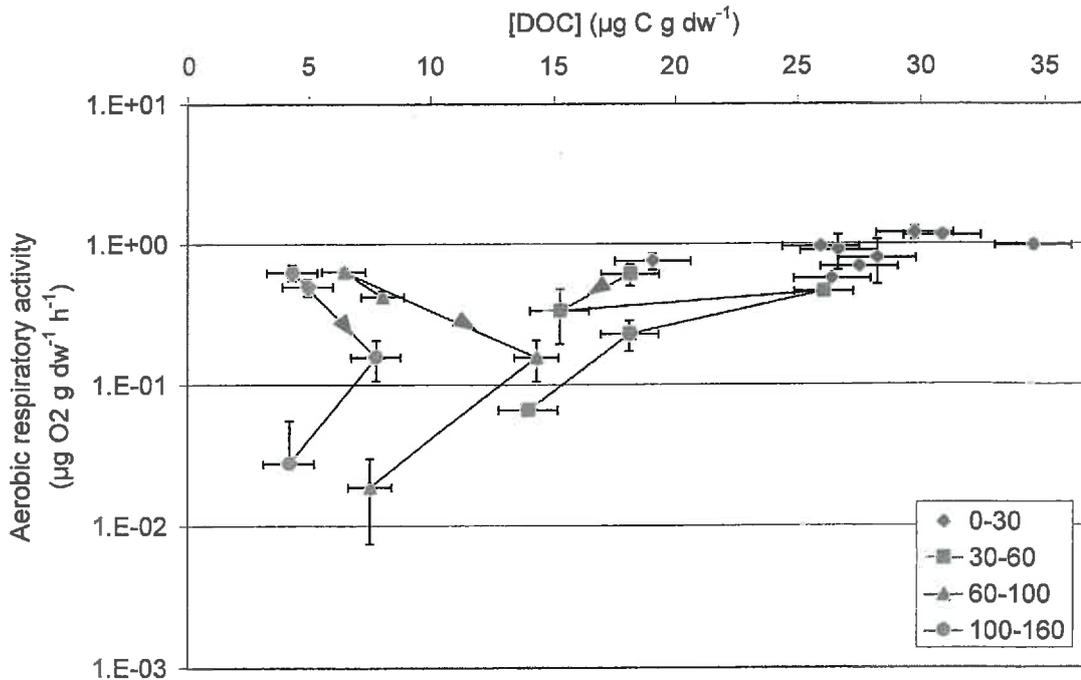


Figure 9: Aerobic respiratory activity as influenced by DOC concentration (arrows indicate sampling chronology). ARA values are means of three replicates. Bars represent standard deviation values.

3.2. Soil microbial activity

Aerobic respiratory activity (ARA) tended to decrease with depth (Fig. 8). Mean ARA values were 8.94×10^{-1} , 3.42×10^{-1} , 3.09×10^{-1} and 3.28×10^{-1} $\mu\text{g O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ dw h}^{-1}$ for the 0-30, 30-60, 60-100 and 100-160 cm layers respectively. Seasonal ARA variations were greater at increasing depth. Across all measurement dates, the variation coefficients were 23.5, 61.6, 89.3 and 86.1% for the 0-30, 30-60, 60-100 and 100-160 cm layers, respectively. In the surface layer, ANOVA tests confirmed that there were no statistically significant differences over time ($P < 0.95$). Measured values did not denote a significant ARA increase after maize residue incorporation (i.e. between 21 September 2002 and 25 October 2002). In all parts of the soil profile, ARA was lowest at the end of the experiment 3 May 2002 and was generally highest on 21 September 2002 for the 0-30 and 30-60 cm layers, before crop residue incorporation.

Figure 9 presents the correlation between ARA and DOC concentrations for each layer ($r = 0.71$, $P < 0.99$). Different observations reflected seasonal variations. The general trend was a slight decrease in ARA when DOC concentrations decreased. ANOVA tests suggested that some ARA values in the deepest layers were of the same order as those in the top soil layer ($P < 0.95$). While DOC concentrations and variations decreased with depth, ARA showed wider variations. In the 0-30 cm layer DOC concentration ranged between 19.1 and 34.6 $\mu\text{g C g}^{-1} \text{ dw}$, while ARA showed slight variations that seemed to be independent of the variations in DOC concentration. At greater depths, DOC concentrations and variations decreased, varying from 14.0 to 26.1, 6.4 to 14.3 and 4.2 to 7.7 $\mu\text{g C g}^{-1} \text{ dw}$ in the 30-60, 60-100 and 100-160 cm layers respectively, whereas the ARA variation coefficient increased with depth.

There was a positive correlation between ARA and heterotrophic bacteria density ($r = 0.80$, $P < 0.99$, Fig. 10). As with ARA, heterotrophic bacteria density decreased with depth. It was not always possible to distinguish among densities statistically, partly because of the uncertainty of the MPN method. Nevertheless, ANOVA tests confirmed that the 0-30 cm layer had higher ARA and higher heterotrophic bacteria density than in the deepest layers ($P < 0.95$). Mean heterotrophic bacteria density was 8.7×10^7 cells $\text{g}^{-1} \text{ dw}$ in the surface layer, with 2.0×10^7 , 4.3×10^6 and 7.4×10^6 cells $\text{g}^{-1} \text{ dw}$ for the 30-60, 60-100 and 100-160 cm layers, respectively.

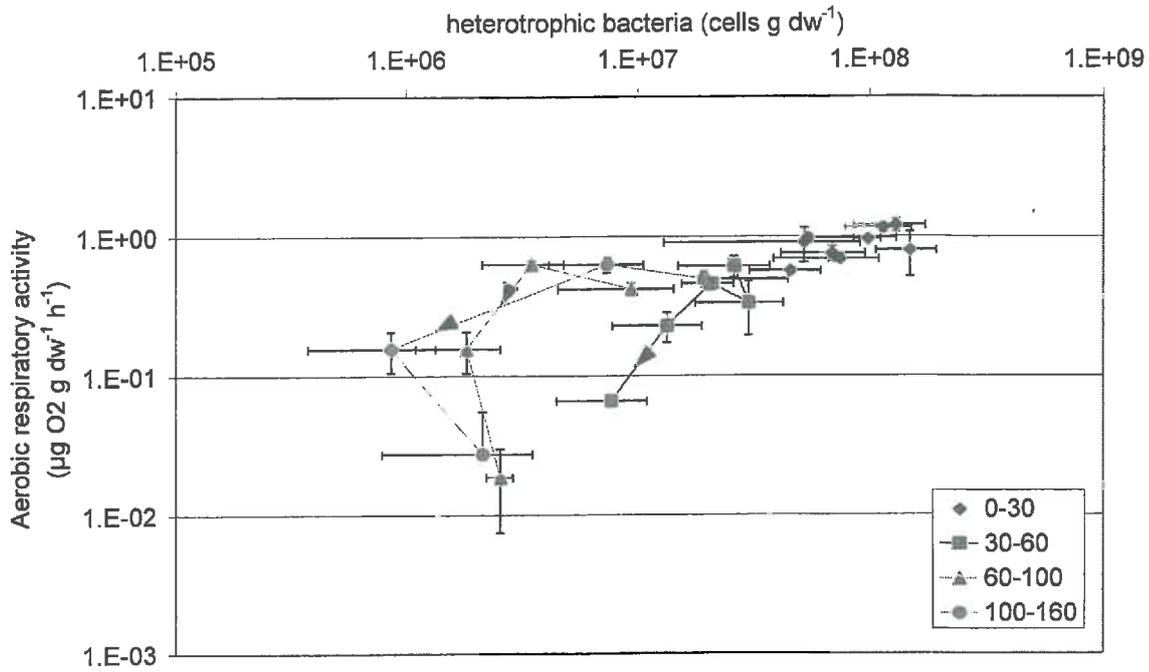


Figure 10: Aerobic respiratory activity as influenced by heterotrophic bacteria densities (arrows indicate sampling chronology). Values are means of three replicates. Bars represent standard deviation values.

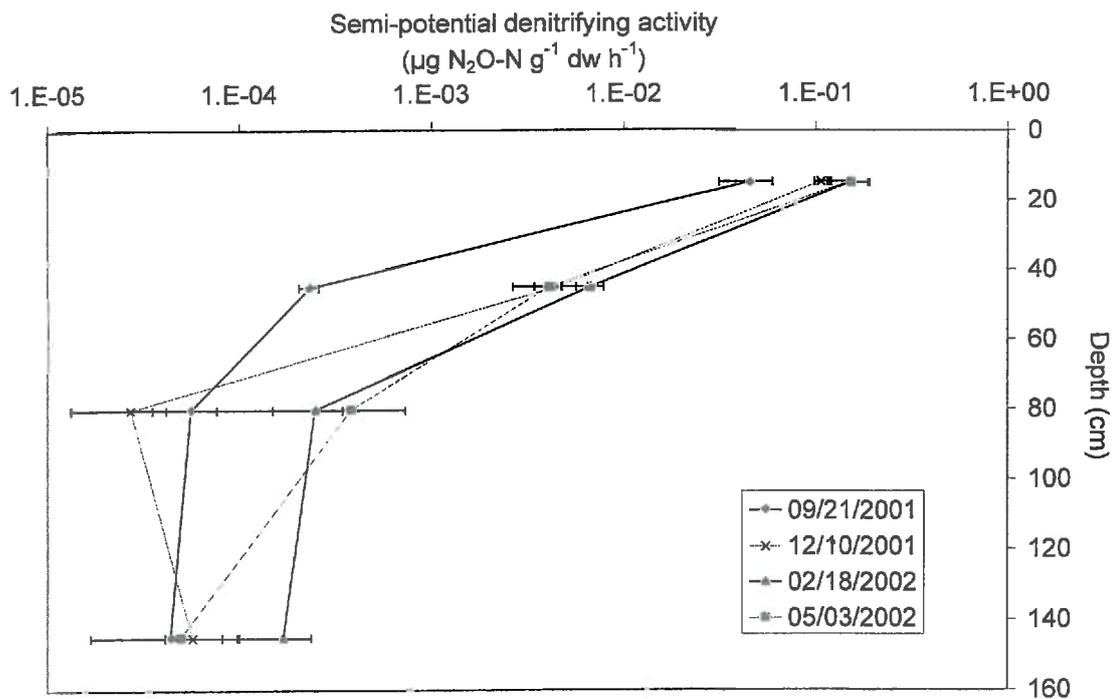


Figure 11: Temporal variations in semi-potential denitrifying activity in the soil profile. Values are means of three replicates. Bars represent standard deviation values.

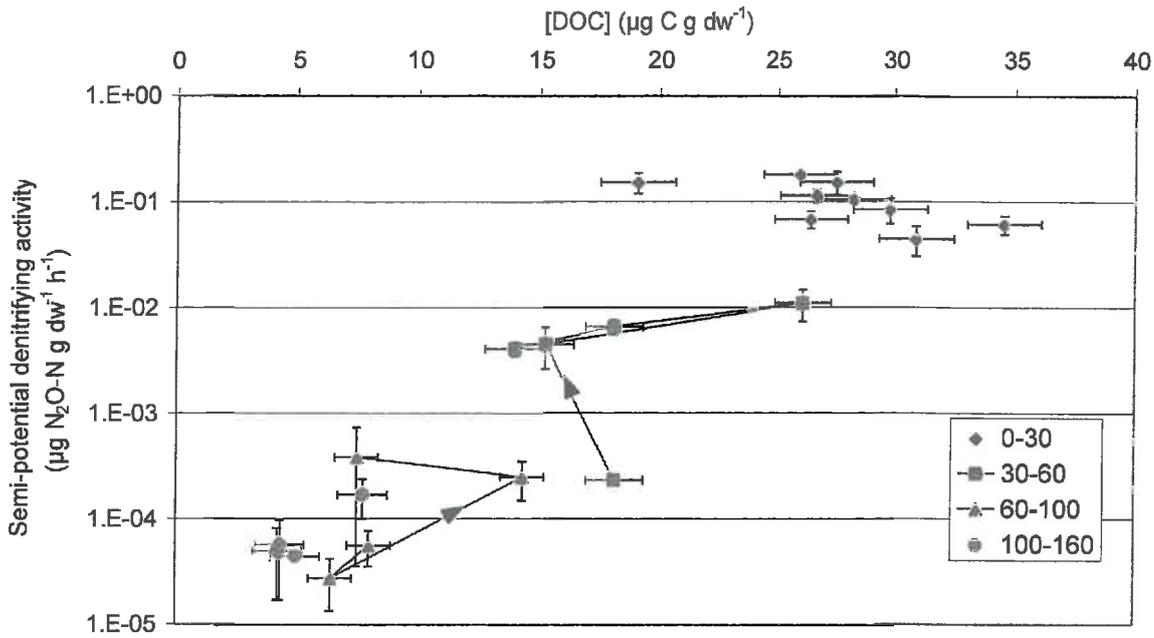


Figure 12: Semi-potential denitrifying activity as influenced by DOC concentration (arrows indicate sampling chronology). PDSA values are means of three replicates. Bars represent standard deviation values.

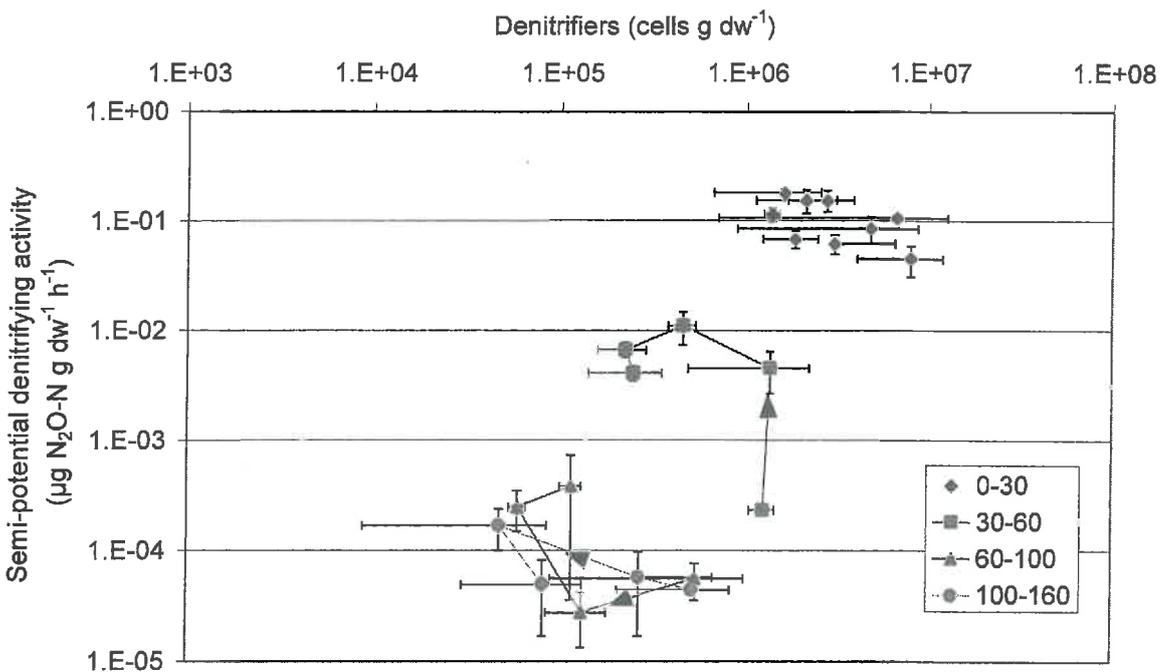


Figure 13: Semi-potential denitrifying activity as influenced by denitrifiers densities (black triangles indicate sampling chronology). Values are means of three replicates. Bars represent standard deviation values.

There were no statistical differences in heterotrophic bacteria densities among observations in the 0-30 cm layer, and ARA showed very small variations ($P<0.95$). ARA variations were greater in the other layers, even though the variations in heterotrophic bacteria density were slight.

Seasonal variations in the semi-potential denitrifying activity (SPDA) are presented in **figure 11**. At all sampling dates, SPDA decreased more sharply with depth than did ARA. In addition, seasonal SPDA variations also increased with increasing depth. In the top soil layer, the lowest SPDA value was obtained on 21 September, before crop residue incorporation. In contrast to ARA, maize residue incorporation multiplied the SPDA measurement in the top soil layer by 2.5 between 21 September and 25 October 2001. Taking all measurement dates, the variation coefficient increased with depth and was 43.7, 74.5, 94 and 74.6% for the 0-30, 30-60, 60-100 and 100-160 cm layers, respectively. SPDA values were significantly higher in the 0-30 cm layer than in the 30-60 cm layer. Except at one date, ANOVA tests confirmed that SPDA values in the 30-60 cm layer were significantly higher than in the 60-100 and 100-160 cm layers ($P<0.95$). However, there was no differences in SPDA values between the 60-100 and the 100-160 cm layers ($P<0.95$). Mean SPDA values were 1.07×10^{-1} , 5.36×10^{-3} , 1.80×10^{-4} and 8.04×10^{-5} $\mu\text{g N}_2\text{O-N g}^{-1}$ dw h^{-1} for the 0-30, 30-60, 60-100 and 100-160 cm layers respectively.

By contrast with ARA, there was a significant decrease in both DOC concentration and SPDA with depth (**fig. 12**). As with ARA, the SPDA results did not seem to be explained by changes in DOC concentrations in the 0-30 cm layer. In contrast to the ARA data, SPDA within each of the two deepest layers did not vary significantly and did not seem to be influenced by DOC concentrations and variations ($P<0.95$).

As shown in **figure 13**, there was also a positive correlation between denitrifier density and SPDA ($r=0.47$, $P<0.95$). Although the measurement error margin was wide, average densities decreased with depth. Mean densities were 2.35×10^6 , 2.64×10^5 , 1.28×10^5 and 2.48×10^5 cells g^{-1} dw for the 0-30, 30-60, 60-100 and 100-160 cm respectively. Neither lines nor arrows connecting the 0-30 cm layer data were presented from **figures 9** to **13** as there was no apparent pattern among them.

4. Discussion

The aim of this work was to characterize and understand variation with depth and seasonal variations in denitrifying activity in the vadose zone of a field during decomposition of maize residue in the soil. Because denitrifying activity depends on the density of denitrifiers and their specific denitrifying activity – which increases under anaerobic conditions –, we tried to relate these two variables with NO_3^- concentration, DOC concentration, soil temperature, soil water content, soil atmosphere, and aerobic respiratory activity. Aerobic respiratory activity was measured because denitrifying bacteria belong to the heterotrophic community and necessitate organic substrate as electron donor for denitrification. It was also very useful to study this activity because it can generate local anoxic conditions that can favor denitrification.

4.1 Soil CO_2 and N_2O concentration

CO_2 concentrations in the soil atmosphere were higher than the mean atmospheric CO_2 concentration ($1.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). CO_2 concentrations at 20 and 40 cm depth were comparable to those measured by Bouten et al. (1984), and outside the range found by others (King et al., 1986; Russo and Abney, 1993). Deeper CO_2 concentrations were on average 4-5 times smaller than those found by these authors. A soil CO_2 gradient was observed throughout the profile, suggesting that CO_2 was being produced throughout the profile, although soil microbial activity was greatest in the top soil layer (Fig. 8).

N_2O concentrations in the soil atmosphere were also higher than the mean atmospheric N_2O concentration ($1.5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$). N_2O concentrations at 20 cm were in the same range as found by Jambert et al. (1994), and twice as high as for Nobre et al. (2001). Without taking into account N_2O peaks in the top soil layer, the soil N_2O concentration gradient was slight, suggesting that the microbial activity producing this gas occurred mainly in the 0-30 cm layer.

Assuming that (1) CO_2 and N_2O emissions in the soil only occurred by diffusion, (2) the measured gradient between 0 and 20 cm depth was linear, and (3) the gas diffusion coefficient was measured and was calculated with soil water content, CO_2 and N_2O fluxes to atmosphere ranged from 3.9 to 40.5 $\text{mg CO}_2\text{-C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ and from 0.8 to 36.5 $\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, respectively. CO_2 fluxes were lower than found by Osozawa and Hasegawa (1995) and Bowden et al. (2000). N_2O fluxes were 2-5 times higher than in Bowden et al. (2000) and

Nobre et al. (2001). This could be explained by greater SPDA values found in the top soil layer than other authors (DeCantazaro and Beauchamp, 1985; Cannavo et al., 2002), and a greater denitrifier density at soil surface than in Cannavo et al. (2002).

4.2 Origins of N₂O emissions in the top soil layer

There are two main sources of N₂O emissions: denitrification and nitrification. In our study there were many conditions that favored denitrification. Firstly, levels of NO₃⁻ concentration in the top soil layer were comparable to those measured by Charpin (1999) and higher than Cannavo et al. (2002), who both worked in the same area as the present study. The Michaelis constant estimate for denitrification is 27.9 mg L⁻¹ (i.e: 8.3×10⁻³ mg NO₃⁻ g⁻¹ dw) for a loamy clay soil (Myrold and Tiedje, 1985), suggested that NO₃⁻ concentration did not limit denitrification for the 0-30 cm layer. Secondly, in our experiment ARA surface values were greater than other authors (Chander et al., 1997; Cannavo et al., 2002), and were suggestive of potential O₂ depletion zones. Such high values could be attributed to the mean quantity of heterotrophic bacteria in the top soil layer (10⁸ cells g dw⁻¹), greater than in Dodds et al., (1996) and Cannavo et al. (2002). According to Linn and Doran (1984), anaerobic conditions are considered to be established at a water filled pore space (WFPS) of 78-90%. Such WFPS thresholds are not applicable at greater depths, as anoxic conditions become established in soils with larger aggregates than were found in our experiment (Currie, 1961). Thus, although WFPS reached 55% (Fig. 3 B), anoxic conditions were probably never established in the deepest layers. Regardless of WFPS, the high ARA and SPDA values observed may occasionally create local anoxic conditions in the top soil layer, favoring denitrification hotspots. Finally, denitrification can be assessed by its capacity to reduce N₂O to N₂. Indeed, the N₂O/(N₂O+N₂) ratio increases where NO₃⁻ or NO₂⁻ concentration levels are high (Weier et al., 1993; Luo et al., 1996). The N₂O/(N₂O+N₂) ratio was estimated for the 0-30 cm layer by measuring PDA with and without C₂H₂ addition and was greater (i.e: 0.54 mean value) than in Weier et al. (1993) (Table III). Thus, although *in situ* denitrification was sometimes low, N₂O emission could be detected.

Table III: $N_2O/(N_2O+N_2)$ ratio in the 0-30 cm layer. This ratio was obtained by measuring cumulative N_2O gas produced under PDA measurement conditions (after 6 hours incubation) with (+) and without (-) C_2H_2 addition. Five repetitions were performed

| Cumulative N_2O gas + C_2H_2 (ppmv) | Cumulative N_2O gas - C_2H_2 (ppmv) | $N_2O/(N_2O+N_2)$ |
|---|---|-------------------|
| 158.65 (14.49) [*] | 85.00 (6.40) | 0.54 (0.03) |

^{*}Numbers in parenthesis are standard errors

Nitrification requires several conditions. At first, low NH_4^+ was detected in the top soil layer (i.e: 1.2 mg NH_4^+ kg⁻¹ dw, measured with 1 M KCl extraction solution in summer 2002). Organic N amendment due to maize residue incorporation may have increased NH_4^+ concentration. We observed an increase in N_2O and CO_2 concentrations in the top soil layer after maize residue incorporation (Fig. 6 and 7). The ¹⁵N isotope technique suggested that N_2O mainly originated from NO_3^- reduction in the 0-30 cm layer (Table II), as γ was near 0%. In the 30-60 cm layer, hydrolysis time was not sufficient to mineralize all urea. The 1 mg N kg⁻¹ treatment was too low for interpretation, as it was equivalent to the soil's original NH_4^+ level. Thus, both treatments suggested that denitrification was the main process for N_2O production and was the main source of N_2O in our experiment. Soil microbial activity was stimulated after maize residue incorporation, locally reducing O_2 concentration in soil aggregates and so, in combination with high NO_3^- amounts, favoring denitrification.

4.3 Soil CO_2 and N_2O levels in relation to seasonal variations in temperature and water content

Similar soil gas CO_2 concentration trends during our experiment were described by Bouten et al. (1984) (Fig. 7). Soil temperature played an important role in regulating microbial activity. Soil gas N_2O seemed not to be affected by soil temperature variations. Holtan-Hartwig et al. (2002) have measured N_2O emissions by denitrification at temperatures near 0°C. In our experiment, a peak in N_2O emissions during freeze/thaw cycles was accompanied by a decrease in NO_3^- concentration over the same period (Fig. 4). Freeze-thaw cycles increase C availability for microbial biomass (Christensen and Christensen, 1991), as observed in our experiment in December 2001 (Fig. 5). Such cycles temporarily and locally

create anaerobic conditions in the first centimeters where denitrification could become established (McCarty and Bremner, 1992; Lemke et al., 1998). Continuous aerobic N₂O production was observed throughout the experiment (Fig. 8). The ¹⁵N isotope technique suggested that the continuous production of N₂O was mainly due to weak but continuous denitrification, as also observed by Garrido *et al.* (2002). Fungi are capable of aerobic denitrification (Laverman *et al.*, 2000), and may be responsible for most N₂O production under aerobic conditions in temperate grassland soils (Laughlin and Stevens (2002). Moreover, fungi populations were probably not limited by low temperatures (Landhausser et al., 2002), explaining why, unlike CO₂, N₂O concentration levels were independent of soil temperature, showing no seasonal variations. Chemical denitrification should not explain this production, as it occurs at lower pH values than were found in our soil (Appello and Postma, 1994).

CO₂ concentration peaks during major rainfall events could be attributed to the increasing soil moisture and soil temperature, favoring microbial activity (Linn and Doran, 1984; Grundmann et al., 1995), and the decreasing soil gas coefficient, restricting soil CO₂ diffusion (Currie, 1983; Moldrup et al., 2000). Three simultaneous CO₂ and N₂O concentration peaks occurred on the days when rain was heaviest – 24 January, 18 February and 14 March. In order to test whether the N₂O peaks were due to microbial activity combined with reduced gas diffusion, we calculated the flux ratio between two dates, before and after a rainfall event (at t₁ and t₂, respectively). Soil CO₂ production was not affected by volumetric water content and temperature variations over periods of less than a week at each of these 3 rainfall events. Thus, we obtained the relation:

$$\frac{\Phi_{N_2O}(t_2)}{\Phi_{N_2O}(t_1)} = \frac{[CO_2(atm,t_1)]-[CO_2(20,t_1)]}{[CO_2(atm,t_2)]-[CO_2(20,t_2)]} \times \frac{[N_2O(atm,t_2)]-[N_2O(20,t_2)]}{[N_2O(atm,t_1)]-[N_2O(20,t_1)]} \quad (3)$$

where $\Phi_{N_2O}(t)$ is N₂O flux emission to atmosphere, $CO_2(atm,t)$ and $N_2O(atm,t)$ are atmosphere CO₂ and N₂O concentrations respectively, and $CO_2(20,t)$ and $N_2O(20,t)$ are soil gas CO₂ and N₂O at 20 cm depth, respectively. Thus:

$$1/R_{CO_2} = \frac{[CO_2(atm,t_1)]-[CO_2(20,t_1)]}{[CO_2(atm,t_2)]-[CO_2(20,t_2)]} \quad \text{and} \quad R_{N_2O} = \frac{[N_2O(atm,t_2)]-[N_2O(20,t_2)]}{[N_2O(atm,t_1)]-[N_2O(20,t_1)]}$$

As CO₂ production was assumed to not vary, a R_{CO_2} increase (i.e: $R_{CO_2} > 1$) would correspond to reduced CO₂ diffusion. Thus, if R_{N_2O} is higher than R_{CO_2} , it means that N₂O production, in addition to reduced N₂O diffusion, occurred. Table IV presents R_{CO_2} , R_{N_2O} and $\frac{\Phi_{N_2O}(t_2)}{\Phi_{N_2O}(t_1)}$ values for the three rainfall events. R_{N_2O} was always higher than R_{CO_2} , and was

highest on 18 February, suggesting that microbial N₂O production by denitrification occurred in combination with reduced gas diffusion.

Table IV : CO₂ and N₂O concentration variation ratios (R_{CO_2} and R_{N_2O} , respectively) and N₂O flux ratio $\frac{\Phi_{N_2O}(t_2)}{\Phi_{N_2O}(t_1)}$ values before (t_1) and after (t_2) a rainfall event at soil surface.

| Rainfall date | R_{CO_2} | R_{N_2O} | $\frac{\Phi_{N_2O}(t_2)}{\Phi_{N_2O}(t_1)}$ |
|---------------|------------|------------|---|
| 01/24/02 | 1.57 | 2.22 | 1.41 |
| 02/18/02 | 2.03 | 6.63 | 3.27 |
| 03/14/03 | 1.35 | 2.97 | 2.2 |

4.4 Microbial activity in relation to bacterial densities and environmental conditions

As commonly observed, we found that microbial activities and micro-organism densities tended to decrease with depth. Below the 0-30 cm layer, ARA values were higher than in Cannavo et al. (2002) and lower than in Dodds et al. (1996); SPDA values were lower than in (Cannavo et al., 2002). Mean heterotrophic bacteria amounts below the surface layer were higher than in Dodds et al. (1996) and in Cannavo et al. (2002), although the MPN method does generally give a wide uncertainty range between replicates, due to the wide confidence interval for each bacterial count.

In situ and laboratory microbial activities were in good agreement. The soil gas CO₂ concentration gradient and the fairly homogeneous ARA values obtained for the whole soil profile were consistent. The CO₂ gradient decreased during the experiment, as ARA values in February and May decreased more strongly with depth. This decreasing activity during the experiment (an 18-fold decrease in the deepest layer between 21 September 2001 and 3 May 2002) can be attributed to decomposition of the roots and root exudates initially present after the crop harvest, becoming less and less assimilable, so reducing microbial activity. Below the 0-30 cm layer, the decrease in SPDA with depth was very marked and was consistent with the weak soil gas N₂O concentration gradient. In February, after heavy rain, SPDA increased in the soil profile, as NO₃⁻ and probably DOC leached during this period down to 160 cm depth. This would induce favorable conditions for denitrification and the synthesis of denitrifying enzymes.

ARA did not appear to be heavily dependent on heterotrophic bacteria density in the soil profile (Fig. 10). It seemed that SPDA value was more dependent of the denitrifier density (Fig. 13). Denitrifier density varied by a factor of 100 between the 0-30 and 100-160 cm layers, but SPDA varied by a factor of more than 1000. This suggested that there was another additional factor causing the decrease in SPDA. ARA did not seem to be affected by DOC concentration in the profile (Fig. 9). The larger variations in ARA in the deepest layers suggest that DOC quality probably varied, which might be the cause of observed ARA variations. This necessitates to study DOC quality evolution in the deep vadose zone. The non-limiting DOC concentration would suggest that the heterotrophic community assimilates DOC better in the deep vadose zone. Cannavo et al. (2002) have observed an increasing specific aerobic respiratory activity (i.e : the ARA to heterotroph cell number ratio) with increasing depth, where the heterotrophic community should have modified its biodiversity to adapt to environments poorly supplied with organic matter (Brockman et al., 1992; Fritze et al., 2000). Thus, DOC was probably not a limiting factor for SPDA in the soil profile as denitrifiers belong to the heterotrophic bacteria community. Some other environmental factor should explain the decrease in SPDA. According to the Michaelis constant estimate for denitrification, NO_3^- concentration was a limiting factor below a depth of 90 cm (Fig. 4). Thus, in the deep vadose zone, the *in situ* denitrifying community is less likely to have synthesized denitrifying enzymes since NO_3^- concentration was limiting (Körner and Zumft, 1989). This environmental factor had a stronger limiting effect than the decrease in denitrifier density with depth.

4.5 Particular environmental conditions

Our experiment took place during a particularly dry year. Cumulative rainfall over the year was 504 mm, compared with the average of 640 mm (Météo-France Carpentras station data) in the study area. The water table fell to almost 250 cm depth during the experiment, compared with 160 cm in March 2000, after a wetter autumn. Moreover, there was little rain after incorporation of the maize residue (25 October 2001), only 17 mm between then and December 2001, whereas rain is usually abundant in the area during this period. Thus, the unsaturated zone was larger than expected, little C and N flux reached the groundwater and little variation was observed in C and N concentrations in the lower part of the soil profile. Had there been more major rainfall events such as those that occurred in February, we could expect not only a higher water table but also more variation in DOC concentration, greater

risk of anoxic conditions, and higher and more variable denitrifying activity values in the deepest layer.

The micro-organism activity revealed by potential activities was consistent with *in situ* bacteria subjected to environmental different conditions. Strong microbial activities seasonal variations were observed in the deep vadose zone, and DOC quality seems to be an important factor to explain such variations. Thus, it is necessary to study DOC quality in the deep vadose zone despite low DOC and high NO_3^- contents. As suggested by Cannavo et al. (2002), seasonal variations of aerobic respiratory and denitrifying activities in relation with environmental conditions will be integrated in a model predicting NO_3^- leaching (Garnier et al., 2001; Garnier et al. 2003).

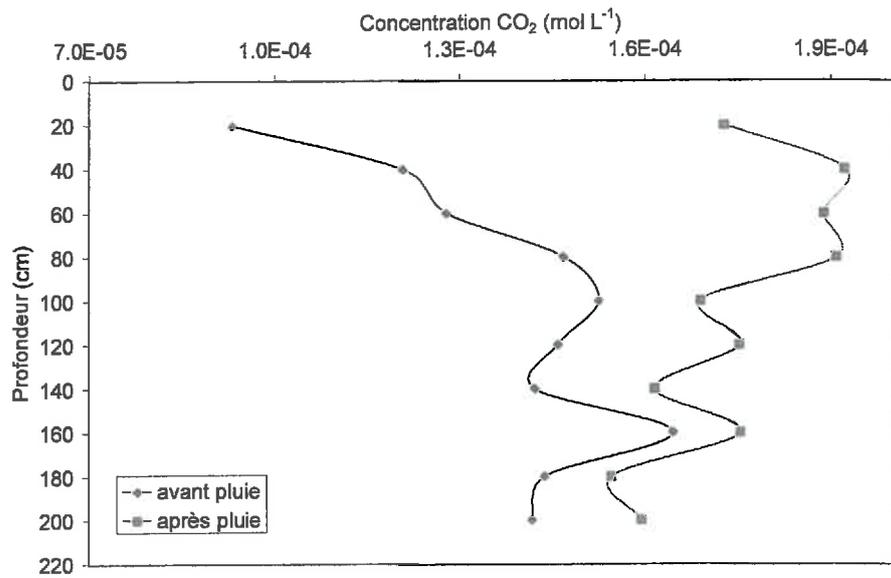


Figure 14 : Teneur en ¹³CO₂ dans le profil de sol avant et après la pluie (02/05/02)

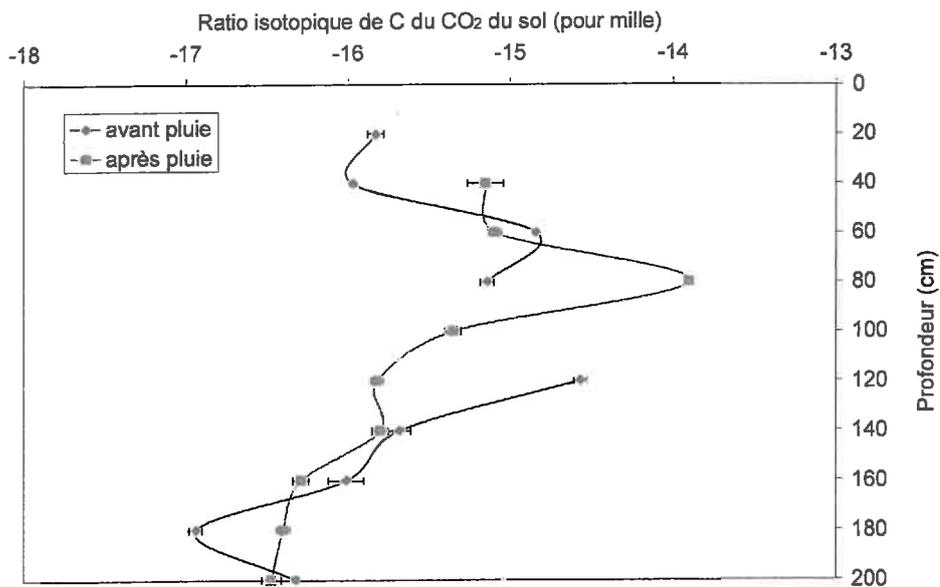


Figure 15 : Concentration en CO₂ de l'atmosphère du profil de sol avant et après la pluie (02/05/02)

5. Données complémentaires : profils de $^{13}\text{CO}_2$

Des analyses isotopiques du CO_2 marqué ^{13}C ont été réalisées dans le profil avant et après l'événement pluvieux du 2 mai 2002 (i.e : 25/04/02 et 06/05/02) afin d'étudier l'impact de la pluie sur les profils de $^{13}\text{CO}_2$ (Figures 14 et 15). Les teneurs isotopiques variaient entre -16.94 ‰ et -13.90 ‰ avec une moyenne de -15.70 ‰ pour les deux profils (avant et après pluie). Cette échelle de valeur est en adéquation avec le type de culture pratiqué, à savoir que le maïs est une plante de type C_4 , c'est-à-dire une plante adaptée à des stress hydriques élevés et à des rayonnements solaires importants (Cerling et Quade, 1993). Ces auteurs donnent une échelle caractéristique de -10 et -14 ‰ . Nos valeurs semblent être appauvries par rapport à cette fourchette sans pour autant être caractéristiques des plantes de type C_3 (i.e : entre -25 et -32 ‰). En fait, l'évolution du cycle cultural du maïs influence le marquage isotopique (Rochette et Flanagan, 1997). Le marquage isotopique lors d'un cycle cultural et notamment celui de la densité racinaire varie (Rochette *et al.*, 1999). Nos prélèvements ayant eu lieu après le cycle cultural (avril-mai 2002), cet appauvrissement peut s'expliquer ainsi. Les profils de $^{13}\text{CO}_2$ montrent un appauvrissement avec la profondeur. Il est probable qu'à ces profondeurs les teneurs en $^{13}\text{CO}_2$ résultent d'un mélange entre le signal local du $^{13}\text{CO}_2$ (végétation type C_4) et le signal régional du $^{13}\text{CO}_2$ (végétation type C_3). De plus, entre 40 et 120 cm de profondeur, la densité du sol est plus importante qu'en surface en raison à la fois de la couche 30-60 plus dense et de l'existence de poches argileuses au-delà. Ceci a contribué à la diminution de la diffusion des gaz, induisant un enrichissement isotopique dans cette zone après la pluie.

L'analyse du $^{13}\text{CO}_2$ nous a permis de confirmer la validation des prélèvements de gaz dans nos capteurs puisque le CO_2 prélevé est bien celui du sol. Le marquage isotopique du $^{13}\text{CO}_2$ dans l'atmosphère est de -8 ‰ (Cerling et Quade, 1993). De plus, elle confirme les blocages à la diffusion lors d'événements pluvieux, comme il l'a été observé dans les chapitres précédents. Cependant, certains points de mesure manquant ne permettent pas une analyse approfondie, notamment à 20 cm de profondeur où la teneur en $^{13}\text{CO}_2$ n'a pu être mesurée après la pluie. Le suivi du isotopique du CO_2 mais aussi du COD pendant toute la période expérimentale aurait pu être très utile pour étudier leurs évolutions à une profondeur donnée et notamment dans la ZNS profonde afin d'affiner l'étude qualitative du COD.

TRANSITION

Le volet microbiologique de l'expérimentation présenté dans le chapitre précédent a permis de caractériser les processus biogéochimiques qui ont eu lieu dans un profil de sol. Cette étude a montré notamment que les variations d'activité respiratoire aérobie dans la zone non saturée profonde n'étaient pas dues aux faibles quantités de carbone organique dissous – puisque les valeurs d'activités à ces profondeurs pouvaient être aussi élevées que dans l'horizon de surface – mais très probablement à la qualité du carbone organique dissous qui a dû varier au cours du temps. Cette hypothèse nous a donc conduit à étudier la qualité du carbone organique dissous. Le chapitre 3 présente l'étude des variations saisonnières de la qualité du COD dans le profil de sol grâce à l'utilisation de la spectrofluorimétrie. Nous avons essayé à partir de cette caractérisation de trouver certaines corrélations avec les variations saisonnières de l'activité respiratoire aérobie.

ANALYSE PAR FLUORESCENCE DU CARBONE ORGANIQUE DISSOUS DANS LA ZONE NON SATURÉE DU SOL EN RELATION AVEC LE CLIMAT ET L'ACTIVITÉ RESPIRATOIRE AÉROBIE

Ce chapitre 3 correspond à un article soumis pour la revue *Geoderma* : P. Cannavo, Y. Dudal, J.-L. Boudenne, F. Lafolie (2003) Fluorescence Analysis of the Water-extracted Organic Matter in the Vadose Zone in Relation with the Climate and the Aerobic Respiration Activity

ABSTRACT

The objective of our study was to evaluate the potential of the fluorescence spectroscopy technique to characterise the nature of water-extracted organic matter (WEOM) in relation with climate factors and soil microbial activity. The study was carried out in the vadose zone of a soil profile (2.50 m thick) during a 7-month experiment. The experiment began just before corn harvesting and maize residue incorporation to the soil (October 19, 2001) and finished before the new crop cycle (May 6, 2002). WEOM concentration was measured in every 30 cm thick soil layers from soil surface to 210 cm depth during the experiment. Complementary measurements were undertaken in order to monitor environmental factors (soil temperature and precipitations), and the potential aerobic respiratory activity measured in the laboratory. Based on some recent literature data, the humification index HIX was calculated after excitation of the aqueous samples at 254 nm. We constituted a database of 98 HIX values corresponding to the 7 soil layers sampled at 14 regular dates. The 98 samples analysed provided a good correlation between the emission spectra area and the WEOM concentration suggesting an homogeneous fluorescence contribution from the different fluorescent compounds constituting the WEOM. This correlation was necessary for further data interpretation. The nature of the WEOM varied in the soil profile, with a higher proportion of low molecular weight and size compounds in the deeper layers. The aerobic respiratory activity also decreased with increasing depth suggesting that the small fluorescent WEOM compounds were recalcitrant to biodegradation. High HIX values were correlated with high microbial activities, indicating that the HIX could be an indicator of a great diversity of compounds, or seen as a quality nutrient source indicator for microbial activity. Climate parameters such as rainfall events influenced the distribution of molecular sizes of WEOM in the soil profile by mean of microbial activity and transport. Furthermore, the leaching of small fluorescent residues in the deeper layers were observed using fluorescence spectroscopy whereas they were almost non-detectable by simple C quantification. However, the use of this technique has shown some limitations, mainly due to the fact that it still is too integrative, and not able to clearly discriminate between all the families of molecules present in the solution.

Keywords: water-extracted organic matter, fluorescence spectroscopy, aerobic respiratory activity, rainfall, soil temperature, vadose zone, humification index

1. Introduction

Dissolved organic matter (DOM) represents from 0.01 to 0.1% of the total soil organic matter weight (Tipping, 1998). However, numerous investigations have underlined the importance of the dissolved fraction of the soil organic matter. First, DOM may be the most important C source for micro-organisms (Skopp et al., 1990; Marschner and Bredow, 2002). DOM can also enhance the solubility and mobility of metals and organic compounds, contributing to pollutant transport or to micronutrient availability (Blaser, 1994; Zhou and Wong, 2000). Moreover, DOM adsorption to mineral particles is the main factor resulting in the observed DOM concentration decrease with increasing depth (Jardine et al., 1989; Kalbitz et al., 2000), and can lead to soil refractory organic matter formation and carbon protection (Michalzik et al., 1998). Thus, the hydrophilic and low molecular weight DOM compounds are easily leachable in the soil profile as they are more quickly dissolved than their high molecular weight counterparts (Gu et al., 1995; Kaiser and Zech, 1998).

Several investigations studying the seasonal evolution of DOM concentration at the soil surface are available (Currie et al., 1996; Dosskey and Bertsch, 1997; Kawahigashi et al., 2003). However, there are only few results regarding the whole vadose zone (Qualls and Haines, 1991). Marschner and Kalbitz (2003) reviewed the different controls of bioavailability and biodegradability of DOM in soils and mentioned that biodegradability depended on three groups of factors (1) intrinsic DOM characteristics (molecular structure and functional group content), (2) soil properties, and (3) external factors such as the climate and the vegetation cycles, that clearly induce a variability in the soil microbial activity. Zsolnay (2003) underlined the need for further research to characterize DOM nature or quality, and to deal with the variations of the nature and functions of DOM over space and time .

Recent works have been published in *Geoderma* and offered a new approach for investigating the nature of water extractible organic matter (WEOM). Studies have been performed on DOM quality (Glatzel et al., 2003; Kawahigashi et al., 2003), DOM sorption and complexation with metals (Guggenberger and Kaiser, 2003; Jansen et al., 2003), and on DOM biodegradation (Kalbitz et al., 2003b). Several techniques were used in order to characterise DOM quality and the fluorescence spectroscopy technique offers potential advantages for characterizing the DOM without preliminary treatment of aqueous extracts (Westerhoff et al., 2001).

A previous study (Cannavo et al. 2003) consisted in characterizing and analyzing the distributions in a soil profile and the seasonal variations of the aerobic respiratory and denitrifying activities. Both *in situ* and laboratory measurements were carried out. Complementary measurements consisted in measuring climate factors (soil water content and temperature, and rainfall events) and soil solution characteristics (NO_3^- and water extractable organic matter (WEOM) concentrations). Correlations between aerobic respiratory activity and WEOM concentration suggested that WEOM quality more than quantity was a limiting factor for the aerobic respiratory activity in the deepest layers. This has stimulated some interest in the characterisation of the nature of WEOM. Recent developments in the study of DOM using fluorescence spectroscopy (Glatzel et al., 2003; Kalbitz et al., 2003b; Zsolnay, 2003) led us to consider this technique, particularly well suited to the low-concentrated samples obtained throughout the vadose zone.

Therefore, the objective of the present study was to evaluate the potential of the fluorescence spectroscopy technique for characterising DOM quality, as influenced by both the climate (rainfall events, soil temperature and water content) and the soil microbial activities.

2. Materials and methods

2.1 Experimental site

The experimental site (43°58'16" N, 5°0'25" E) was located in a vulnerable zone according to EEC 91-676 Directive (France). The surface waters drained in this zone are intended for human consumption and show a high nitrate content compared to the standards established in the Council Directive 75/440/EEC. This is the result of the spreading or discharge of livestock effluents and the excessive use of fertilizers. The site was already presented in a previous work (Cannavo et al., 2003). The soil was a fluvic hypercalcaric cambisol (FAO classification). It contained pluricentimetric ferro-calceric concretions and reduction-oxidation stains in the lower half of the profile, indicating the existence of temporary anaerobiosis. The soil was cultivated with maize in the years 2000 and 2001. The experimental site is under a Mediterranean climate characterised by hot and dry summers and maximum rainfalls in spring and autumn. A 7-month experiment was conducted, from October 25, 2001, after corn harvesting and soil tillage with maize residues incorporation (20 cm plowing), to May 6, 2002. The soil was bare during the whole experiment.

2.2 Water extracted organic matter measurements

2.2.1 Water extracted organic matter content

Once a week, soil samples were collected in order to measure water extracted organic matter (WEOM) content. Seven 30-cm thick layers were defined from 0 to 210 cm depth. The soil sample for a given layer was obtained by mixing samples taken in three different holes. For each layer, 200 g of soil were vigorously shaken with 400 ml ultrapure water (meeting a resistivity of $18.0 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ at 25°C and a total organic carbon content under $20 \mu\text{g L}^{-1}$) in 500 mL plastic bottles, during 15 minutes. Then, the slurry was allowed to clarify during 15 minutes. The supernatant was subsequently filtered through $0.45\text{-}\mu\text{m}$ membrane filters (durapore®, Millipore, France). A sodium azide solution ($300 \mu\text{l}$ of 30 g L^{-1} Na azide solution for 30 ml soil solution) was added for sample conservation. Sixty-mL amber glass flasks were used to store WEOM solution at 4°C until analysis. WEOM carbon content was measured with a total organic carbon analyzer (TOC 5050A, Shimadzu). Another part of the solution,

without sodium azide solution addition, was also stored in a 60-mL amber glass flask at 15°C for further fluorimetric analysis.

2.2.2 WEOM quality characterisation

WEOM quality was characterized every 2 to 3 weeks on aqueous soil extracts. This represented 98 soil solution samples to be analysed (i.e: 14 dates \times 7 soil layers). Fluorescence data acquisition was performed using a Perkin-Elmer LS-55 Luminescence Spectrometer equipped with the FL Winlab Software (4.00.02 version). A scan speed of 300 nm.min⁻¹ was used with a slit width of 5 nm for both excitation and emission. Readings took place in a 1 cm quartz cuvette of 4 mL volume.

Two types of fluorescence analysis were conducted: (1) an excitation-emission matrix (EEM) profile, and (2) emission spectra. The EEM profile was performed over a range of excitation (λ_{ex}) from 250 to 480 nm. Emission spectra were obtained for each sample at a fixed 254 nm excitation wavelength, as referred to Zsolnay (2003). Slit widths were 5 nm for both excitation and emission. The humification index (HIX) was calculated from the emission spectra according to Zsolnay *et al.* (1999). These authors defined the index as the ratio between the area in the upper quarter (H) of the usable emission peak and the area in the lower usable quarter (L) : $HIX = H/L$.

2.3 Microbial measurements

Microbial activity was measured in 4 soil layers: 0-30, 30-60, 60-100 and 100-160 cm according to soil profile observations. Soil samples were collected with an auger in each soil layer. For each layer, three replicates were obtained by coring three holes one meter apart. Samples were collected approximately on a monthly basis for the 0-30 cm layer and every three months for the other layers. Samples were air dried for 24h at room temperature in order to obtain approximately 0.1 g g⁻¹ soil moisture and sieved thereafter at 2 mm. Soil samples were stored in sealed plastic bags at 4°C in the dark, until use (i.e: less than 15 days).

Aerobic respiratory activity measurements were presented in a recent publication (Cannavo *et al.*, 2002). They were carried out on soil samples re-wetted and equilibrated at a 0.001 MPa water suction for 48 h at 20°C.

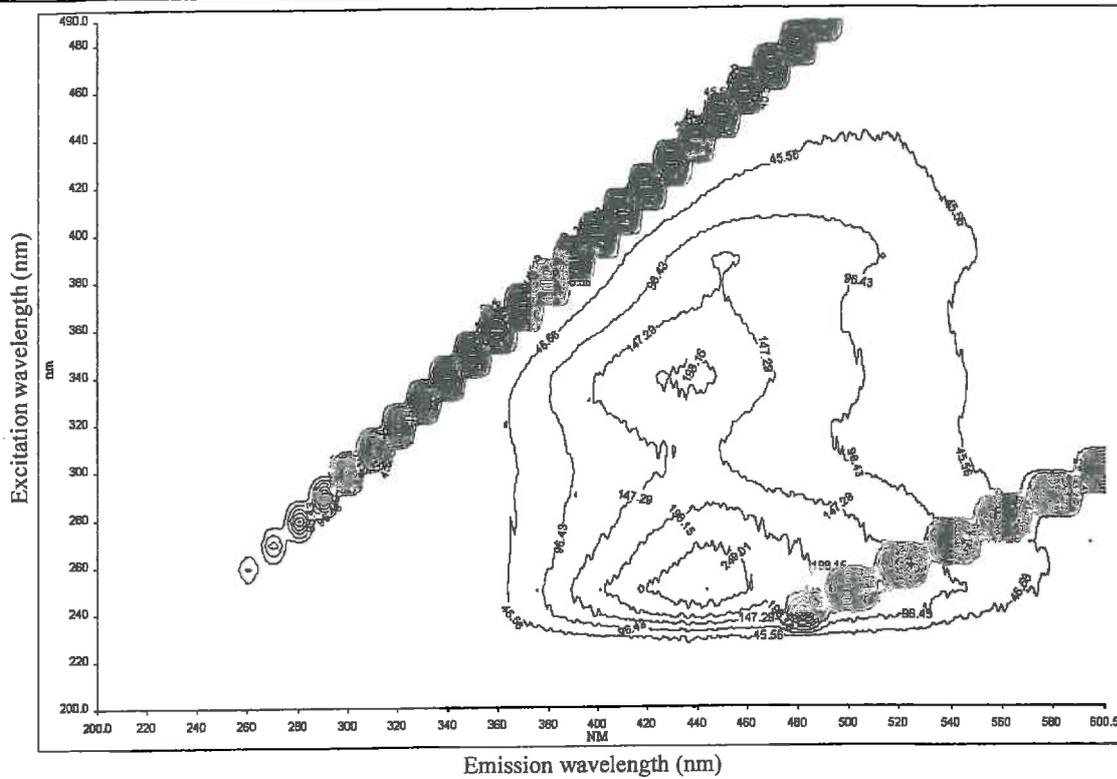


Figure 1 : excitation-emission matrix (EEM) profile of the water-extracted organic matter (WEOM) at the soil surface on February 18, 2002 ([WEOM] = 8.8 mg L⁻¹). Horizontal and vertical axis are emission and excitation wavelengths, respectively

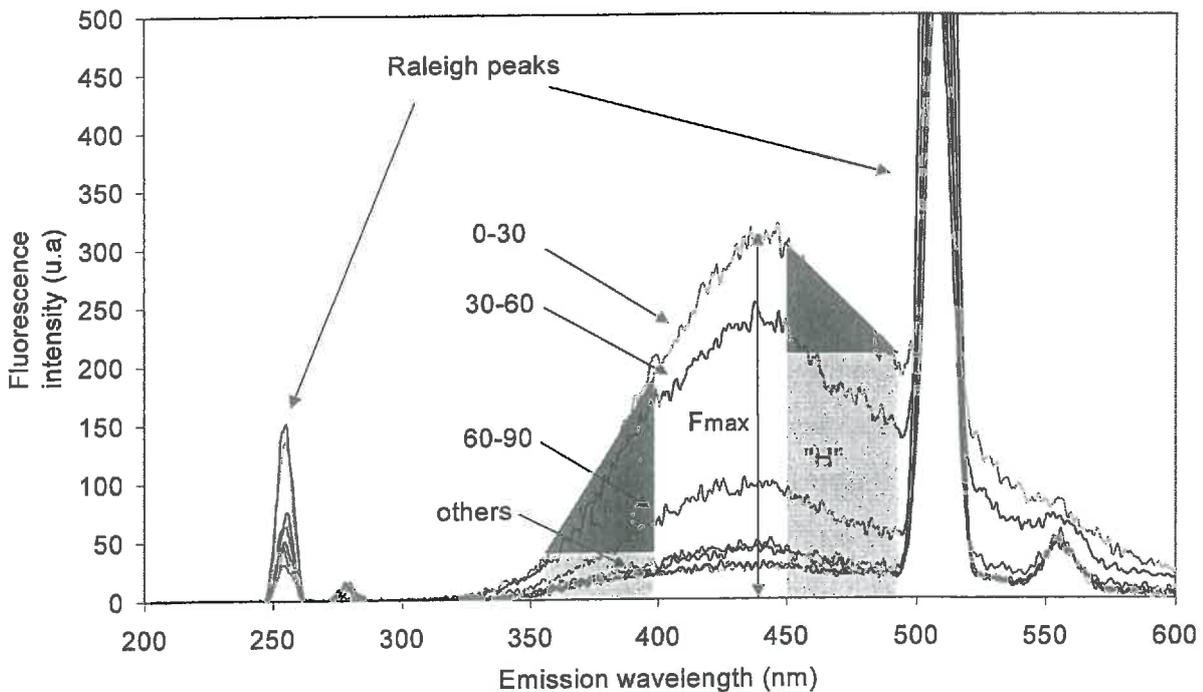


Figure 2 : emission spectra in the different soil layers ([WEOM] = 9.6, 5.3, 2.2 and 0.6-1.2 mg L⁻¹ for 0-30, 30-60, 60-90 and deeper layers, respectively)

TCD gas chromatography and a simple linear regression were used to estimate the O₂ consumption and the aerobic respiratory activity (ARA, expressed in mol O₂ kg⁻¹ dw soil s⁻¹). Three replicates were analysed for each layer and a standard deviation was calculated.

3. Results and discussion

3.1 WEOM fluorescence

The EEM profile (Fig. 1) was obtained with inner-filter correction on a surface soil sample (total carbon: 8.8 mg L⁻¹) in order to define the precise excitation wavelength that will be later used for the emission spectra measurements. The 45° and the 22.5° ridge lines of high fluorescence intensities in the upper left corner and on the right side, respectively, resulted from the first- and second-order Raleigh scattering of the incident light from the excitation grating, respectively (Westerhoff et al., 2001). These lines cannot be used to characterize the sample. The influence of WEOM on fluorescence intensity corresponds to the region between these two ridges of scattered light. Contour lines represent the distribution of fluorescence intensity at different excitation-emission wavelength pairs. Two peaks were observed on the EEM: $\lambda_{\text{ex}} 254 \text{ nm}; \lambda_{\text{em}} 444 \text{ nm}$ and $\lambda_{\text{ex}} 340 \text{ nm}; \lambda_{\text{em}} 440 \text{ nm}$. This suggests the presence of two major families of fluorophores in the WEOM sample (Goldberg and Weiner, 1989). The EEM peak near 340 nm:440 nm can be related to humic substances as observed by Larson and Rochwell (1980) at a maximum excitation between 327 and 427 nm. The second EEM peak had a higher fluorescence intensity (i.e: 249.01 against 198.16). It was recorded in the range of $\lambda_{\text{ex}} 240$ to 270 nm and has been assigned to non humic substances, more specifically to protein-like materials (Lu et al., 2003). This EEM peak, confirmed our choice to study fluorescence emission spectra of WEOM samples with a 254 nm excitation wavelength as was proposed by Zsolnay (2003).

Once the accurate excitation wavelength specified ($\lambda_{\text{ex}} 254 \text{ nm}$), the corresponding emission spectra were obtained for all 98 samples. They all exhibited a classic pattern (Zsolnay et al., 1999), including a broad peak with a maximum fluorescence intensity at $\lambda_{\text{em}} 440 \text{ nm}$ (Fig. 2) as expected from the EEM profile. Other authors observed the same pattern with a 313 nm (Belin et al., 1993) and a 350 nm excitation wavelength (Seritti et al., 1994; Hautala et al., 2000).

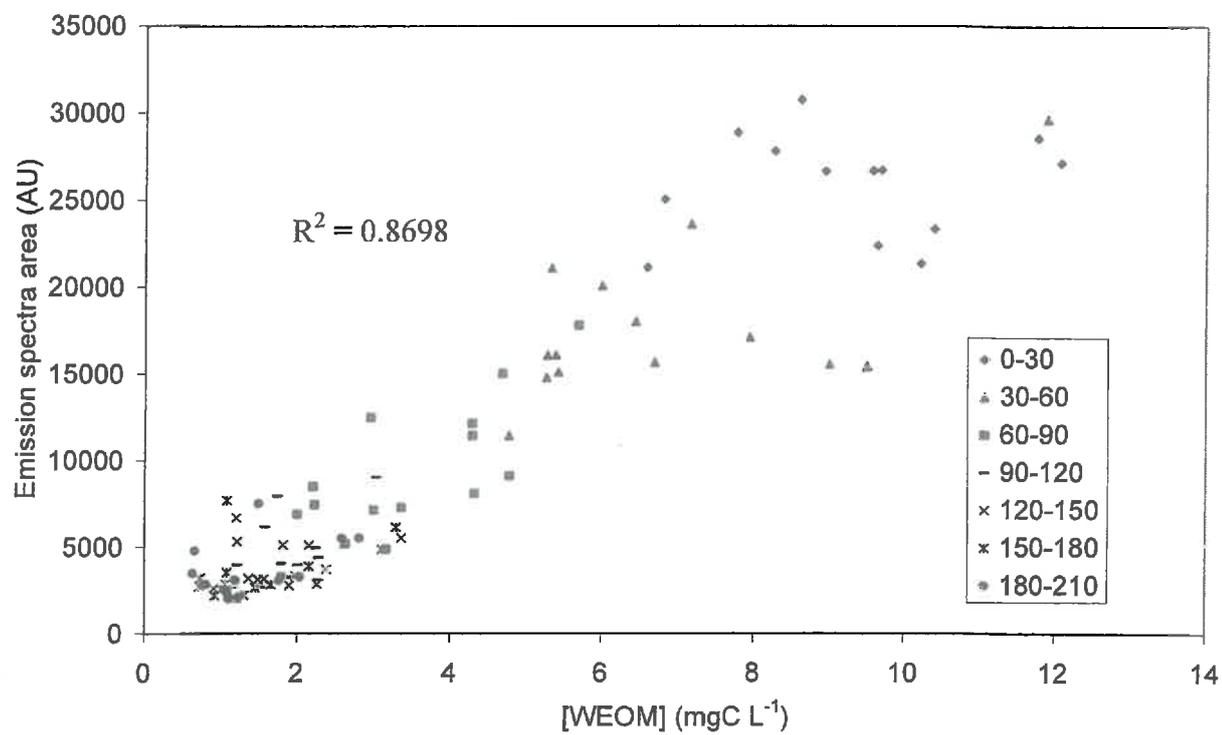


Figure 3: Correlation of emission spectra area with WEOM concentration in the different soil layers

The area under this peak (from 350 to 480 nm) was calculated for all samples using the trapeze method and plotted against the WEOM concentration of each sample (Fig. 3). The area under the peak and the corresponding concentration were satisfactorily correlated ($R^2 = 0.8698$), showing that the more the sample is concentrated, the stronger is the fluorescence signal. This correlation also suggests that there is an homogeneous contribution from the different fluorescent compounds constituting WEOM to the overall signal. In other words, each compound fairly participates to the global fluorescence. However, the diversity was more pronounced in the surface horizons (from the surface to 60 cm deep) where the more concentrated samples (between 6 and 12 mg L⁻¹) probably consisted of more diverse organic compounds including plant residues, microbial products, and organic matter at various stages of decomposition. These products presented a more variable contribution to the fluorescence signal.

Based on these results, the humification index (HIX) was calculated from the emission spectra for each sample. According to Zsolnay *et al.* (1999), the H zone (higher usable quarter of the peak) was defined as the area between 447 and 480 nm, and the L zone (lower usable quarter) as the area between 350 and 383 nm (Fig. 2). HIX was computed as the ratio of H over L, and interpreted as the ratio of high to low molecular weight compounds within the λ_{ex} 254 nm; λ_{em} 444 nm peak.

3.2 WEOM and microbial activity in the soil profile

Throughout the soil profile, a sharp decrease in the concentration of water-extracted organic matter was observed. WEOM concentration decreased from about 10 mg L⁻¹ at the surface to 2 mg L⁻¹ at 1-m depth (Fig. 4A). WEOM concentration did not vary from 1 to 2-m depth. However, the variability in WEOM concentration for each soil layer was strong in the first meter of the soil profile. The HIX profile (Fig. 4B) had a very similar shape, with a decrease of HIX from around 4 at the surface to 2 at 1-m depth, which value was constant from 1 to 2-m depth. Thus, a positive correlation between HIX and WEOM concentration was observed. This suggested that the nature of WEOM changed along the soil profile. The relative proportion of small size compared to large size molecules increased with increasing depth.

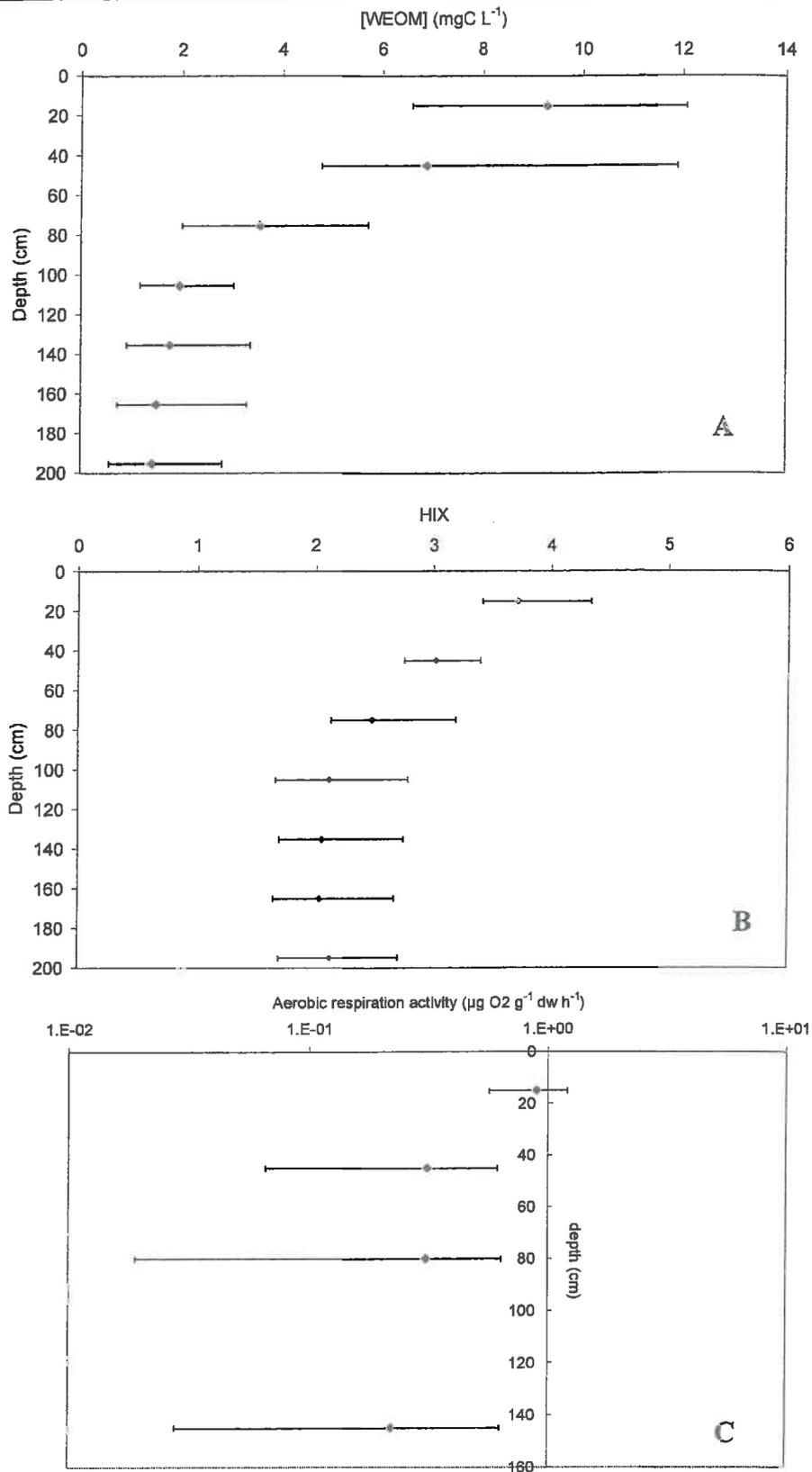


Figure 4 : relation between WEOM concentration (A), HIX value (B) and aerobic respiratory activity (C) in the soil profile. Diamonds are mean values and bars represent the measured value ranges during the experiment

Numerous authors observed that high molecular weight and size compounds, usually hydrophobic compounds, were generally concentrated at the soil surface and the low molecular weight and size compounds were preferentially leached in deeper layers (Guggenberger, 1994; Gu et al., 1995; Kaiser and Zech, 1998). Such a distribution results from (1) the soil microbial activity which breaks down molecular bonds (Gregorich et al., 1996), and (2) preferential physical adsorption to the soil surfaces of the larger compounds (Gu et al., 1995 ; Kaiser and Zech, 1997). The decrease in HIX values with increasing depth was also observed during the summer period by Glatzel et al. (2003) who calculated HIX from synchronous fluorescence spectra. They also suggested that high HIX values corresponded to high organic substrate decomposition. HIX values at the soil surface were lower than the ones observed by Kalbitz et al. (2003a), that ranged from 5 to 15 in an arable soil with maize residue amendment. But, these values corresponded to WEOM concentrations ranging from 10 to 600 mg L⁻¹. As stated earlier, WEOM concentrated samples show a more diversified contribution to fluorescence (Fig. 3), suggesting that concentrated samples consist of a blend of diverse compounds, fluorophores, and functional groups. In parallel, it was shown that WEOM concentration and HIX values follow a similar pattern throughout the soil profile (Fig. 4A and B), showing that high molecular weight compounds found in the more concentrated samples present such a diversity in fluorophores. Humic substances in general can be regarded as supramolecular associations of relatively small molecules (Piccolo, 2001). For example, results presented in the case of humin clearly showed that small organic molecules, such as sugars and amino-acids, were included within the large structure of the humin molecules (Derenne and Largeau, 2001). Therefore, the samples studied by Kalbitz et al. (2003a) probably presented a much higher diversity in organic functional groups linked with various organic compounds, resulting in high HIX values. For all soil layers, the HIX variability was stable compared to the variability in WEOM concentration. This was especially observable in the first 50 cm, where the aerobic respiratory activity (Fig. 4C) showed a rather small variability. It suggested that at the soil surface, the microbial activity was not limited by the concentration of available compounds, but was related to the nature of those compounds. Therefore, a strong HIX can be interpreted as an abundance of diverse substrates, as stated earlier, and represents a rich source of nutrients.

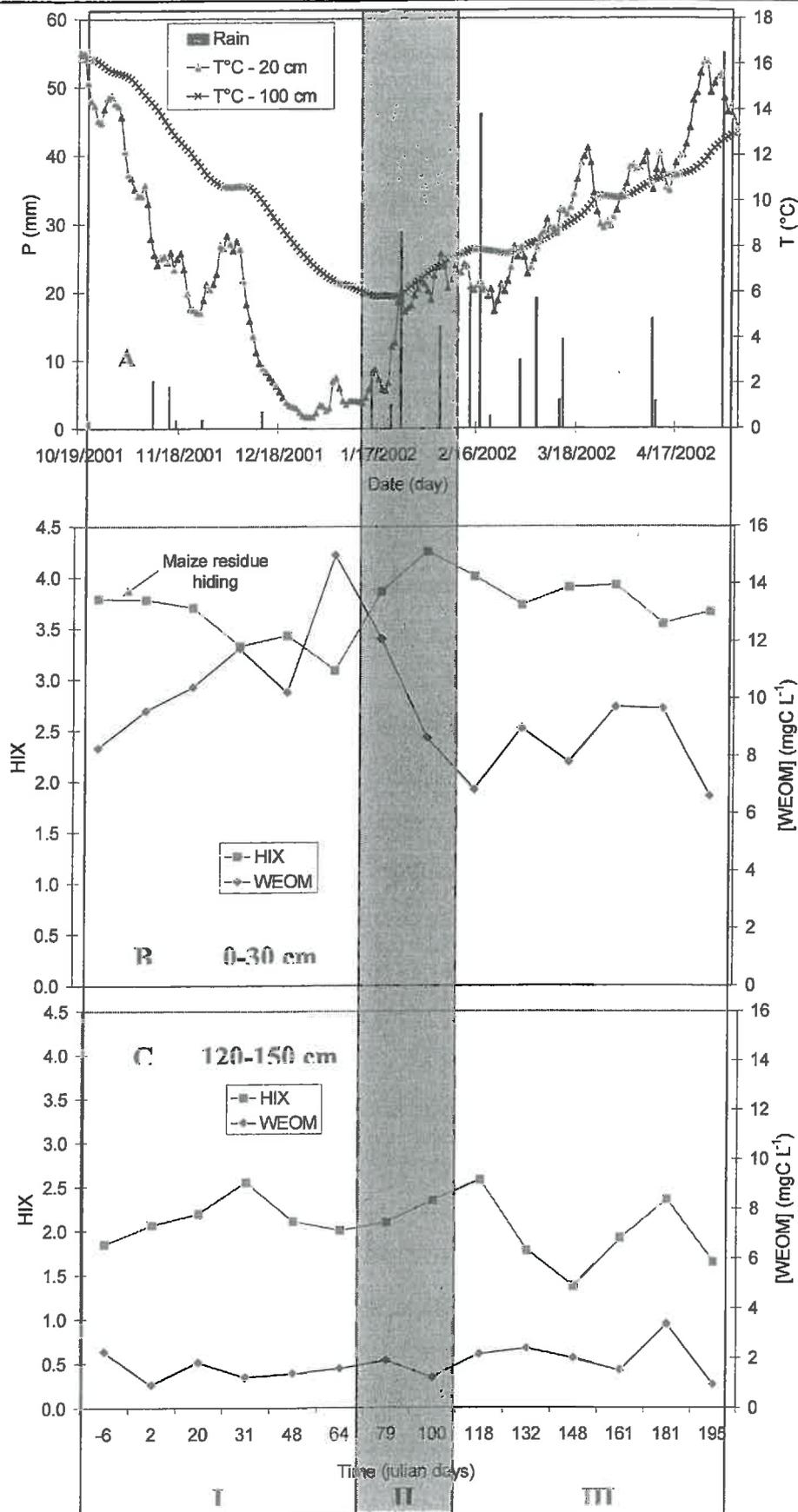


Figure 5 : The seasonal evolution of climate parameters (A) influence both the HIX and the WEOM concentration in the 0-30 cm layer (B) and in the 120-150 cm layer (C)

Similarly to the concentration in WEOM and to the HIX, the aerobic respiratory activity (ARA) generally decreased with increasing depth (Fig. 4 C) and reached a steady state below almost 80 cm depth. This suggested that in the soil profile low HIX values were responsible for a low aerobic respiratory activity. This could seem surprising as we could expect that small WEOM compounds would be more easily assimilated by micro-organisms. However, fluorescence spectroscopy only measures fluorescing compounds, which do not include a lot of microbial nutrients, such as simple sugars, amino-acids, or some aliphatic molecules. The smaller size compounds found in the deeper vadose zone were probably recalcitrant aromatic residues (low HIX) of the decomposition of larger compounds (high HIX). Furthermore, Marschner and Kalbitz (2003) explained that hydrophilic fractions of WEOM should be complexed in the presence of high content of calcium, stabilizing them from further biodegradation. Our soil contained high carbonate level (an average of 875 g kg⁻¹ dw soil) notably in the deeper vadose zone, which could contribute to the observed limitation in the microbial activity.

3.3 Influence of climate on WEOM

Climate factors such as soil temperature and rainfall events were monitored throughout the seasons to assess their influence on both the content and nature of WEOM (Fig. 5). Three main periods were observed. The soil temperature, both at the surface and at the 1-m depth decreased during the period I (first four months of the experiment), that was characterized by very dry weather (Fig. 5A). In the first month of that period, the maize residues were incorporated to the 0-20 cm soil layer. This resulted, in this layer (Fig. 5B), in a sharp increase of the WEOM concentration (from 8.5 to 15 mg L⁻¹) and a slight decrease in HIX values (from 3.7 to 3.1). Residues incorporation brought in a whole range of organic compounds, mostly of high molecular weight. At the same time a constant and important microbial activity at the soil surface (Fig. 4C) was a source of low molecular weight residues. These two sources of variations were constantly combined in the HIX values. Kalbitz et al. (2003a) also did not observe significant HIX variations after maize residue incorporation in an arable soil. However, they observed an increasing HIX value notably for forest soils and grasslands, suggesting a relative enrichment of aromatic compounds during WEOM biodegradation. They explained this result by a combination of increasing both aromatic compounds and microbial products, resulting in unchanged HIX values.

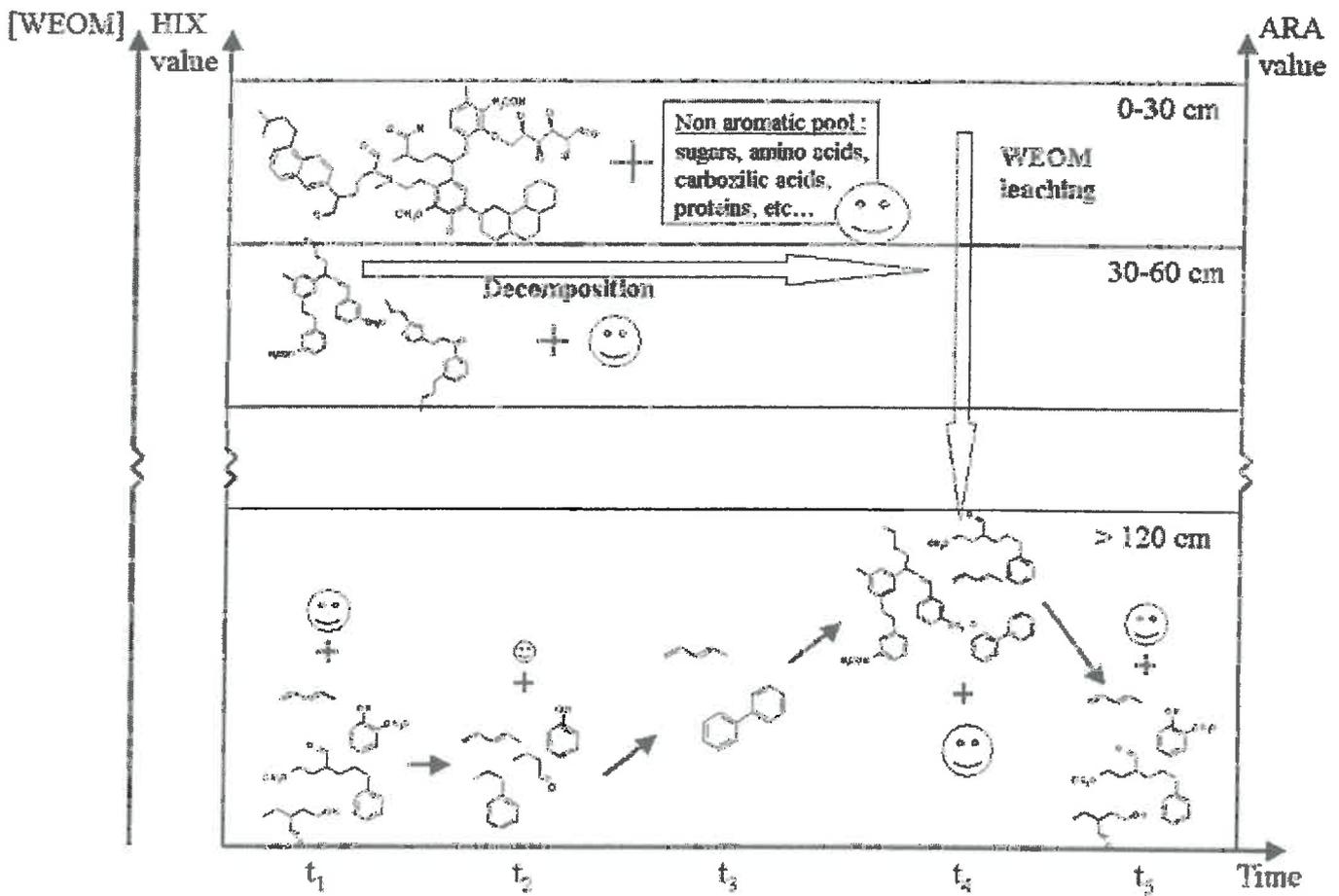


Figure 6 : WEOM quality fate in the vadose zone

During the same period, no observable changes occurred in the deeper vadose zone (Fig. 5C), where both the WEOM content and HIX remained constant (around 0.4 mg L^{-1} and 2.0, respectively). No carbon input from the surface was observed in that deeper zone, due to the extremely low rainfall amounts during that period of time.

Period II corresponded to the end of the winter season, beginning of spring, where soil temperature warmed up and rainfall events occurred (Fig. 5A). A strong decrease of the concentration of WEOM was observed (Fig. 5B) during that period (from 15 to 7 mg L^{-1}) together with an increase in HIX values (from 3.1 to 4.2). The microbial activity, stimulated by increasing temperatures, and the rain that carried the soluble carbon down the profile could be both held responsible for the sharp decrease in WEOM content. Bigger organic compounds are left at the soil surface, resulting in a raise of the HIX values. Desorbing compounds were also probably contributing to this increase. However, during that period, there were still no observable changes occurring in the deeper layers of the soil (Fig. 5C).

Changes in the deeper vadose zone appeared during period III, where the continuous raise in the soil temperature combined with a strong accumulation of rain over the past two months started affecting the WEOM, not in terms of quantity, but mostly in terms of nature of compounds (Fig. 5C). Indeed, after each major rainfall event in that period (February 18 and May 2nd, Fig. 5A), a sharp decrease in the HIX was observed, resulting from the arrival of small organic fluorescent residues. HIX values were returned to the observed average value of 2.0 in this layer.

The various observations regarding the content and the nature of the water-extracted organic matter, in terms of climate factors and microbial activity are summarized in a conceptual scheme (Fig. 6). The organic amendment introduced in the soil is a complex mixture of a wide range of high molecular weight fluorescent organic compounds mixed with some non-fluorescent smaller molecules. The soil microbes can access their nutrients by hydrolysis of parts of the big molecules and by using the pool of the smaller compounds. The left-overs consist of highly fluorescent aromatic residues that are leached down from the surface in the case of a rainfall event and can undergo either further microbial degradation or chemical recomposition. The stronger the rainfall, the more diverse will be the nutrients that will leach from the surface. Indeed, more WEOM quantities should be leached, increasing potentially its diversity. The HIX can be interpreted as a diversity of organic compounds that is translated in quality of nutrient source for the soil microorganisms.

The fate of the organic amendment is a constant combination of various mechanisms namely, biodegradation, leaching, sorption/desorption and probably chemical recomposition.

This combination of mechanisms results in an observed combined decrease in the WEOM content, HIX and microbial activity with depth and is responsible, in a given soil layer, for the evolution of the organic compounds introduced in the soil.

3.4. Limitations of the fluorescence analysis of WEOM

Even though the study of the spatial and temporal evolutions of the HIX throughout the soil profile has brought interesting insights regarding the fate of plant residues in soil, it has also shown some limitations. First, it is influenced by a panel of physical, chemical and biological mechanisms, ranging from leaching to microbial decomposition and adsorption onto soil surfaces. The combination of the WEOM content and the HIX value is still too integrative to truly comprehend the behavior of the soluble organic matter in the soil profile over time. It was shown that a constant HIX value might be the result of both microbial action and leaching, one breaking down large molecules and the other one bringing the small molecules down in the deeper vadose zone. The second limitation is due to the analysis technique itself. Fluorescence spectroscopy only measures fluorescent compounds. Therefore, one needs to be cautious when analysing the HIX values in relation with microbial activity. For example, small HIX values are usually representative of smaller size molecules and could be mistaken for easily biodegradable nutrients. However, these smaller molecules are probably aromatic residues resulting from the decomposition of larger compounds, and therefore are not really easily biodegradable. The fluorescence spectroscopy technique does not give access to most of the biomolecules (carbohydrates, amino-acids, organic acids, etc.) that are easily biodegradable.

A limitation met in this study consisted of measuring simultaneously the WEOM and the microbial activity. Consequently, it was not possible to measure the influence of an input in high HIX WEOM on the microbial activity. Micro-organisms need a longer time than one day to react and to potentially synthesize enzymes in order to assimilate this fresh incoming organic matter. The aerobic respiratory activity would have probably increased a few days later, as observed by the subsequent decrease in HIX values (Fig. 5C). This underlines the need to multiply microbial activity measurements for future experiments and notably to investigate through laboratory experiments the combined evolutions at a short time scale of both HIX and ARA in the deeper vadose zone. In our case, ARA measurements were performed only 3 times in the soil profile during the experiment. It was therefore hazardous to

correlate HIX and ARA values at these dates, as important HIX variations could occur between these dates.

Studies dealing with the fate of organic amendments in soils usually consider the soluble carbon in terms of the total concentration: DOC or WEOM. The addition of a parameter describing some aspects of the nature of the blend of molecules present in the aqueous fraction appeared to be insightful. However, other parameters describing more precisely the nature of the compounds are needed to better understand the fate of these amendments.

4. Conclusion

The objective of our study was to evaluate the potential of the fluorescence spectroscopy technique to characterise the nature of water-extracted organic matter in relation with climate factors and soil microbial activity. The 98 samples analysed provided a good correlation between the emission spectra area and the WEOM concentration suggesting an homogeneous fluorescence contribution from the different fluorescent compounds present in the WEOM. This correlation was necessary for further data interpretation.. The technique allowed some interesting insights in the fate of organic plant residues. The nature of the WEOM varied in the soil profile, with a higher proportion of low molecular weight and size compounds in the deeper layers. The aerobic respiratory activity also decreased with increasing depth suggesting that the small fluorescent WEOM compounds were recalcitrant for biodegradation. High HIX values were correlated with high microbial activities, indicating that the HIX could be an indicator of a great diversity of compounds, or seen as an indicator of quality nutrient source for microbial activity. Rainfall events influenced the distribution of molecular sizes of WEOM in the soil profile by mean of microbial activity and transport. Furthermore, the leaching of small fluorescent residues in the deeper layers were observed using fluorescence spectroscopy whereas they were almost non-detectable by simple C quantification. However, the use of this technique has shown some limitations, mainly due to the fact that it still is too integrative, and not able to clearly discriminate between all the families of molecules present in the solution.

TRANSITION

Les deux chapitres précédents ont permis de bien caractériser et de comprendre les processus biogéochimiques qui ont eu lieu durant un cycle inter-cultural sur un profil de sol situé dans une zone de bas fond, susceptible de connaître des périodes transitoires d'anoxie. Dans le chapitre 4, l'aspect modélisation de la thèse va être présenté. En effet, le modèle P.A.S.T.I.S. permet de simuler le transport des éléments carbone et azote dans la zone non saturée du sol. Cependant, ce modèle ne prenait pas en compte le transport des gaz. C'est pourquoi, un nouveau module a été ajouté au modèle afin de (1) simuler les concentrations de gaz dans la zone non saturée du sol, et (2) d'estimer les émissions de gaz du sol vers l'atmosphère. Ce nouveau module est basé sur la loi des gaz poussières qui présente l'avantage de prendre en compte les phénomènes d'interdiffusion et de décrire la diffusion de multiples espèces gazeuses. Le couplage du module de transfert des gaz au modèle P.A.S.T.I.S. va être réalisé afin de simuler l'ensemble des processus biogéochimiques des éléments C et N dans la zone non saturée du profil de sol étudié.

MODELISATION DES VARIATIONS SAISONNIERES DES CONCENTRATIONS EN CO₂ ET N₂O AVEC UN MODELE DECRIVANT LE DEVENIR DES ELEMENTS C ET N DANS LA ZONE NON SATUREE DU SOL

Ce chapitre 4 correspond à un article soumis pour la revue *European Journal of Soil Science* : P. Cannavo, F. Lafolie, B. Nicolardot, P. Renault (2003) Modelling Seasonal Variations in CO₂ and N₂O Concentrations with a Model Describing C and N Behaviour in the Vadose Zone.

ABSTRACT

Soil gas CO₂ and N₂O concentrations were simulated with a model predicting C and N transport in the vadose zone during a 7-month field experiment, after maize harvesting and incorporation of maize residues in the soil. The gas transport model used the dusty gas theory and was coupled to the PASTIS model. During the experiment, soil atmosphere (CO₂ and N₂O), soil solution (NO₃⁻ and dissolved organic carbon (DOC)), soil water content and temperature, and potential denitrifying and aerobic respiratory activities were measured in a 2.50 m thick soil profile. Soil gas concentrations were correctly simulated even though the model was not able to simulate all the biological processes that produced N₂O. N₂O denitrification peaks after rain were slightly overestimated, as the water-filled pore space was not estimated accurately enough to predict local anoxic conditions. To model CO₂ concentrations, account had to be taken of DOC adsorption onto soil mineral particles and almost all zymogenous biomass death during the period when the ground was frozen. This may be unrealistic in the field experiment and may denote differences when using models. The model satisfactorily simulated NO₃⁻ concentrations in the top soil profile, notably during major rainfall events, and maize residue dry matter loss during the experiment. The modelling of biological processes needs to be improved to provide a better simulation of C and N transport in the vadose zone. In particular, the use of water-filled pore space (WFPS) was not sufficient to predict anoxic periods; simulations should improve if soil aggregate structure is also taken into account.

Key words: CO₂, N₂O, gas transport, dusty gas theory, NO₃⁻, C and N transport, vadose zone, modelling

1. Introduction

The spatial distribution of several gases closely interacts with soil biogeochemistry. As examples, O₂, CO₂, N₂, N₂O, NH₃, H₂, H₂S and CH₄ are produced and/or consumed through various microbial processes, including aerobic and anaerobic microbial respirations, N₂ symbiotic or non-symbiotic fixation, fermentations and acetogenic transformations (Sierra & Renault, 1994; Pelmont, 1993; Dassonville & Renault, 2002). Their distribution affects abiotic geochemistry (Stumm & Morgan, 1996) and micro-organism behaviours (Richards & Webster, 1999; Glinski *et al.*, 2000; Young & Ritz, 2000). Unfortunately to our knowledge, dealing with NO₃⁻ leaching and the emissions of CO₂ and N₂O greenhouse gases, none of the models that combines C and N biotransformations to water, solutes, and heat transport in soils (Ersahin & Karaman, 2001; Garnier *et al.*, 2001; Neergaard *et al.*, 2002; Garnier *et al.*, 2003) include a description of gas transport, despite its importance and the possibility to use simulated versus experimental gas concentrations as a means to check and improve models of C and N behaviours.

Gas transport in soil results from both diffusion and convection (Rolston, 1986). Convection cannot be neglected (Elberling *et al.*, 1998), even if air pressure gradients are often nearly equal zero as a consequence of high air permeability values (Reinecke & Sleep, 2002). Convection results from (1) CO₂ diffusion coefficient lower than O₂ ones (Marrero and Mason, 1972), (2) respiratory quotients (CO₂ production to O₂ consumption ratio) differing from 1, (3) atmospheric changes (Massmann & Farrier, 1992) and (4) temperature fluctuations (Sierra and Renault, 1998). Two main approaches have been used for gas transport modelling. Firstly, Fick's law is an empirical approach describing the diffusive flux of one gas regardless of the others (Baehr & Bruell, 1990); it has been sometimes combined with Darcy's law to describe convection (Webb & Pruess, 2002). Secondly, the dusty gas model gives a description of overall, multicomponent gas diffusion in porous media; it may be combined with Darcy's law to describe convection (Thorstenson & Pollock, 1989). This approach is based on Stefan-Maxwell equations; it assimilates solid and liquid phases as immobile macromolecules (i.e. the dusties) (Massmann & Farrier, 1992), and accounts thus for Knudsen diffusion. Modelling gas diffusion using Fick's law leads to fairly estimate gas transport in the vadose zone (Thorstenson & Pollock, 1989; Freijer & Leffelaar, 1996; Webb & Pruess, 2002). However when comparing the Fick's law efficiency to the dusty gas model, the latter gives better estimation of gas transport (Thorstenson & Pollock, 1989). Fick's law

can overpredict gas diffusion flux under trace diffusion condition (Webb & Pruess, 2002) and is inadequate to deal with stagnant gases (Thorstenson & Pollock, 1989). Moreover, at low air permeability, the Fick's law becomes insufficient to correctly predict gas diffusion (Webb & Pruess, 2002).

In order to better assess C and N behaviours in the entire vadose zone, this study sought to:

- i/ couple a gas transport module using the dusty gas theory with the model PASTIS (Predicting Agricultural Solute Transport In Soils) initially proposed by Lafolie et al. (1991) to describe water flow and N transport and improved latter in order to describe biological processes (Lafolie *et al.*, 1997; Garnier *et al.*, 2001; Garnier *et al.*, 2003);
- ii/ compare observed soil atmosphere and soil NO_3^- content with the model's predictions, using experimental data obtained over a 7-month period on the first 2 m depth of a fluvic hypercalcaric cambisol.

To fulfil these objectives, we focus on distributions and transports of O_2 , CO_2 , N_2 and N_2O .

Table 1 : Main characteristics of soil profile

| Layer (cm) | Clay* (g kg ⁻¹) | Loam* (g kg ⁻¹) | Sand* (g kg ⁻¹) | Total carbonate (g kg ⁻¹) | Density (g cm ⁻³) | pH H ₂ O | pH KCl (1 mol L ⁻¹) | Organic C (g kg ⁻¹) | Organic N (g kg ⁻¹) |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|----------------------------------|---------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 0-30 | 54 | 27 | 23 | 896 | 0.884 | 8.8 | 8.4 | 20.04 | 1.72 |
| 30-60 | 35 | 26 | 15 | 924 | 1.156 | 8.5 | 8.5 | 12.1 | 0.88 |
| 100-160 | 30 | 12 | 8 | 950 | 0.883 | 8.6 | 8.8 | 7.7 | 0.47 |
| organic layer (120-140) | 29 | 23 | 14 | 934 | - | 8.8 | 8.7 | 9.95 | 0.66 |
| Gley zone (120-130) | 97 | 38 | 1 | 864 | 1.07 | 8.5 | 8.2 | 4.61 | 0.50 |
| Clay zone (140-150) | 206 | 71 | 3 | 720 | 1.07 | 8.8 | 8.5 | 6.22 | 0.35 |

* values obtained after decarbonation

2. Materials and methods

2.1. Experimental site

The experimental site (43°58'16" N, 5°0'25" E) was chosen near Avignon (France), in a small region, labeled "vulnerable zone" with regard to major groundwater NO₃⁻ pollution due to agricultural practices (EEC 91-676 directive). The soil was a fluvic hypercalcaric cambisol (FAO classification) (see soil characteristics [table I](#)). In March 2001, 4 soil layers were defined in a preliminary soil profile study: 0-30, 30-60, 60-100, and 100-160 cm, as the water table was 160 cm down. The soil was cultivated with maize in 2000 and 2001 and the experimental site has a Mediterranean climate. A 7-month experiment was conducted, from 25 October 2001 (julian day 297), after corn harvesting and soil tillage with maize residues incorporation (20 cm plowing), to 6 May 2002 (julian day 491). The soil was bare throughout the experiment. More details about the experimental site are presented in (Cannavo *et al.*, 2003a).

2.2 *In situ* measurements

2.2.1 Soil bulk density

Bulk density was estimated on soil cores (15 cm in diam. × 7 cm high) sampled *in situ* in each layer. Solid density was not measured, but a mean value of 2.7 g cm⁻³ was chosen. Textural density was estimated from the clay content of the soil (Fiès & Stengel, 1981).

2.2.2 Soil water suction, soil moisture and soil temperature

To monitor soil water potential, automatic tensiometers (SKT 850, SDEC) were first calibrated using a pressure calibrator (Druck DPI 602) at 4 temperatures (5, 15, 25 and 35°C) and 5 suctions (0, -2, -4, -6, and -7.5 H₂O m), in a climatic chamber. Calibration parameters were estimated by fitting a multilinear regression to experimental data. Relative error was about 0.5 %. They were installed every 20 cm from 20 to 200 cm depth to monitor soil water suction. They were connected to a datalogger (Campbell Scientific, CR10). Values were recorded every 20 minutes.

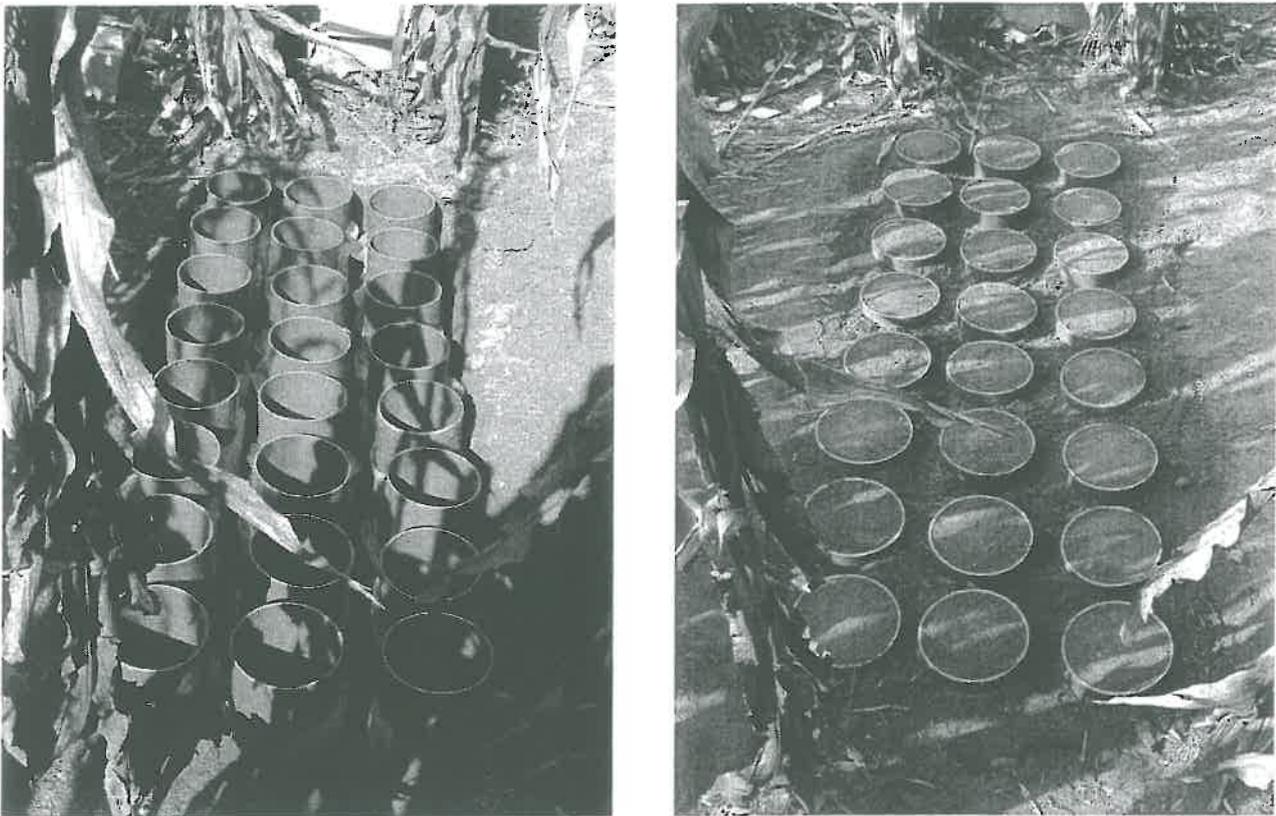


Figure 1: Installation des colonnes de mélange sol/résidus de maïs sur le site expérimental pour le suivi de la décomposition des résidus de maïs

Relationships between soil water suction (ψ , H₂O m) and soil volumetric water content θ (m³ m⁻³) were obtained using the Van Genuchten relationship fitted to experimental data (Van Genuchten, 1980) and was detailed in Cannavo *et al.* (2003a). Spot measurements of soil water suction were also taken, at least 3 times a week, using Hg tensiometers (STM 2150, SDEC) installed at the same depths as the electronic tensiometers.

Soil temperature were also measured at depths of 5, 20, 60, 100 and 170 cm (probe calibration was described in an earlier paper (Cannavo *et al.*, 2003a).

2.2.3 Gas and soil solution sampling

Soil atmosphere probes were installed every 20 cm from 20 to 200 cm depth to monitor O₂, N₂, CO₂ and N₂O partial pressures. Gas samples were collected in each probe once a week, or more frequently after rain, and analysed thereafter as described by Cannavo *et al.* (2003a). Soil was sampled in 30 cm thick layers from 0 to 210 cm depth in order to extract NO₃⁻ and dissolved organic carbon (DOC) soil solution (Cannavo *et al.*, 2003a).

2.2.4 In situ soil maize residue decomposition

In situ maize residue decomposition was studied in 24 PVC columns (20 cm in diam. × 30 cm high) (Fig. 1). Maize residue dry matter (DM) (excluding grain and roots) was estimated before harvest and was distributed as follow: 40.3 and 59.7% for leaves and stems respectively. N content was 0.79 and 0.99% DM for leaves and stems respectively. An average of 13.3 plants m⁻² represented 15.4 tons of dry matter per ha. Two soil layers were reconstituted, a lower one 10 cm thick with a humid bulk density of 1.28 g cm⁻³ and an upper one 17 cm thick, in which the soil was mixed with coarsely chopped maize residues (4-5 cm pieces), 17 g of leaves and 24 g of stems. The amounts of residue incorporated were comparable to field conditions and the leaf:stem ratio matched that of maize in the field. The columns were implanted in the field at 10 cm intervals on the day the maize was harvested (22 October 2001, julian day 294). They were sampled 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24 and 28 weeks later. When the columns were sampled, the amounts of dry residues present in the soil were measured. Coarse residues larger than 2 mm were separated by dry sieving, then the soil was sieved (200 μm mesh) under water and flotation to extract the 0.2-2 mm residue size fraction. The two maize residue size fractions obtained were dried at 75°C.

Table II : Densities and porosities of sampled soils

| Soil | Bulk density (g cm ⁻³) | Textural density (g cm ⁻³) | Total porosity | Structural porosity | Textural porosity |
|-----------------|---------------------------------------|---|----------------|------------------------|----------------------|
| 0-30 cm | 0.884 | 1.745 | 0.625 | 0.421 | 0.354 |
| Compact 0-30 cm | 1.216 | 1.745 | 0.55 | 0.303 | 0.354 |
| 30-60 cm | 1.047 | 1.749 | 0.612 | 0.401 | 0.352 |
| Sandy soil | 0.912 | 1.713 | 0.662 | 0.468 | 0.366 |
| Clayey soil | 1.07 | 1.866 | 0.603 | 0.425 | 0.309 |

They were then ground (80 μm) and total C and N contents were measured using an elemental analyzer (Carlo Erba, NA 1500). Dry residues in soil, without maize residue incorporation, was quantified.

2.3 Laboratory measurements

2.3.1 Gas diffusion coefficient and air permeability measurements

Intact soil cores were sampled in triplicate using stainless steel sampling rings (7 cm internal radius \times 7 cm long) on the 26th February 2002 (julian day 450) in 5 different layers: 0-30 and 30-60 cm layers, clay pockets (around 1-m depth), sandy layers (below 1-m depth), and again in the 0-30 layer few days later, after heavy rains that had compacted the soil surface. To prevent air trapping, each sample was saturated during 48 hours at least under vacuum. Thereafter, they were placed at 1 of the 6 following water suctions: 10, 20, 30, 50, 70 and 100 H₂O cm. Equilibrium was achieved after 48 hours. **Table II** summarizes the porosity and density of soil samples.

Gas diffusion coefficient was measured using a device based on the design by Ball *et al.* (1981), in which krypton-85 was used as the diffusing gas, and the method of diffusion coefficient estimation proposed by Bruckler *et al.* (1989) that was later improved by Cousin *et al.* (1999). Several models of gas diffusion coefficient were assessed with regard to experimental data (Buckingham, 1904; Penman, 1940; Millington & Quirk, 1961; Millington & Shearer, 1971).

The air permeability of each soil sample was thereafter measured on the same device. Several gas flows were imposed using a regulating flow-meter (Brooks, 5850TR Series, 50-3000 gr hr⁻¹, \pm 0.5% precision) and air pressure gradient was thereafter measured using a differential air pressure probe (Keller, Series 41, 10-1000 mbar, \pm 0.2% precision), in order to check whether flow was laminar.

2.3.2 Microbial activities

In order to estimate CO₂ and N₂O production/consumption rates in the soil profile, potential microbial activities were characterized in the lab as described by Cannavo *et al.* (2002).

Table III : Aerobic respiratory activity in the soil profile ($10^{-2} \mu\text{g O}_2 \text{g}^{-1} \text{dw h}^{-1}$)

| Sampling date | Layer | | | |
|-------------------|-------------|-------------|------------|-------------|
| | 0-30 cm | 30-60 cm | 60-100 cm | 100-160 cm |
| 09/21/01 – JD 264 | 116 (8.9)* | 61.6 (10.8) | 42.2 (4.3) | 49.7 (6.9) |
| 10/25/01 – JD 298 | 90.8 (25.6) | | | |
| 11/12/01 – JD 316 | 121 (13.1) | | | |
| 12/10/01 – JD 344 | 80 (28.3) | 33.7 (14.2) | 63.7 (3.7) | 63.1 (8.0) |
| 01/10/02 – JD 375 | 97.9 (7.6) | | | |
| 02/18/02 – JD 414 | 69.6 (3.9) | 23.0 (5.6) | 15.7 (5.1) | 15.8 (5.08) |
| 03/04/02 – JD 428 | 96.4 (4.8) | | | |
| 04/02/02 – JD 457 | 57 (3.7) | | | |
| 05/03/02 – JD 488 | 76.1 (10) | 6.6 (0.5) | 1.9 (1.1) | 2.8 (2.9) |

* Numbers in parenthesis are standard errors

Table IV : Potential (PDA) and semi-potential (SPDA) denitrifying activities evolution in the soil profile ($10^{-5} \mu\text{g N}_2\text{O-N g}^{-1} \text{dw h}^{-1}$)

| Sampling date | Layer | | | | | | | |
|-------------------|--------------|--------------|-------------|------------|-------------|-------------|--------------|------------|
| | 0 - 30 cm | | 30 - 60 cm | | 60 - 100 cm | | 100 - 160 cm | |
| | PDA | SPDA | PDA | SPDA | PDA | SPDA | PDA | SPDA |
| 09/21/01 – JD 264 | 9500 (2440)* | 4500 (1410) | 281 (109) | 23.5 (2.8) | 12.3 (1.6) | 5.6 (2.1) | 12.1 (5.9) | 4.43 (0.3) |
| 10/25/01 – JD 298 | 22500 (5380) | 11400 (1630) | | | | | | |
| 11/12/01 – JD 316 | 20100 (7440) | 8490 (2290) | | | | | | |
| 12/10/01 – JD 344 | 20700 (1140) | 10600 (807) | 2250 (380) | 457 (191) | 175 (36.3) | 2.8 (1.4) | 134 (19.8) | 5.8 (4.1) |
| 01/10/02 – JD 375 | 16700 (398) | 6160 (1200) | | | | | | |
| 02/18/02 – JD 414 | 27000 (2540) | 15300 (3680) | 1860 (17.2) | 673 (110) | 100 (49.5) | 25.1 (10.1) | 29.9 (2.0) | 17 (6.94) |
| 03/04/02 – JD 428 | 32400 (1580) | 18100 (465) | | | | | | |
| 04/02/02 – JD 457 | 13400 (577) | 6800 (1230) | | | | | | |
| 05/03/02 – JD 488 | 19900 (3280) | 15200 (3290) | 546 (65.5) | 411 (66.2) | 152 (53.8) | 38.7 (35.1) | 36.5 (20.9) | 5.0 (3.3) |

* Numbers in parenthesis are standard errors

Soil samples were collected with an auger on approximately 1 month basis for the 0-30 cm layer and every 3 months for the other layers (30-60, 60-100, and 100-160 cm layers). The measured values are presented in **Tables III and IV**.

C and N mineralization of maize residues, initially ground to 1 mm, were studied during soil incubations under controlled conditions, as described by Trinsoutrot *et al.* (2000). Soil respiration and N mineralisation were measured on soil samples (from the 0-30 cm layer) which were incubated with or without residues (4 g DM kg⁻¹ dry soil) for 168 days at 28 ± 0.3°C, soil moisture content being maintained at a water suction potential of 3.5 10⁻³ Mpa. Analytical determinations for CO₂ and mineral N are also detailed in Trinsoutrot *et al.* (2000). Biochemical characterization of the residues was determined as Linères & Djakovitch (1993) for the soluble fraction extraction, the hemicellulose, cellulose, and lignin fractions being obtained using the method proposed by Van Soest (1963). Percentage of residue C was 14.5, 36, 40.3 and 9.2 for the soluble, hemicellulose, cellulose and lignin fractions respectively. C to N ratio was 5.9, 73.3, 381.1 and 58.3 for these fractions respectively.

2.4 Model description

The one-dimensional mechanistic PASTIS model (Predicting Agricultural Solute Transport In soils) initially combined a description of simulated water, solute and heat flow to some N transformations in the soil (Lafolie, 1991). It has been coupled with the CANTIS model (Carbon and Nitrogen Transformation In Soil), that describes C and N biotransformations more extensively (Garnier *et al.*, 2001), and with the NEMIS model that describes denitrification (Hénault & Germon, 2000). In this work, we add a description of gas transport.

Numerical solutions for water and heat transport, and nitrogen transport and dynamics are described in Lafolie *et al.* (1997). Parameter values for water, heat and solute transport are presented in **Table V**.

The CANTIS module uses first-order equations for describing biological processes (Garnier *et al.*, 2001). Soil organic matter is divided into 5 organic pools: fresh organic matter (FOM), humified organic matter (HOM), soluble organic compounds (SOL), “autochthonous” microbial biomass (AUB) and “zymogenous” microbial biomass (ZYB). The FOM pool is composed of 4 biochemical fractions: rapidly decomposable material (RDM), hemicelluloses (HCE), cellulose (CEL) and lignin (LIG).

Table V: water, heat and solute parameters values

| | 0-30 | 30-60 | 60-110 | 110-140 | 140-220 |
|---|--------|--------|--------|---------|---------|
| $\psi(\theta)$ | | | | | |
| Soil saturation volumetric water content θ_s (cm ³ cm ⁻³) | 0.38 | 0.465 | 0.38 | 0.53 | 0.48 |
| Soil residual volumetric water content θ_r (cm ³ cm ⁻³) | 0.161 | 0 | 0.152 | 0 | 0.057 |
| α parameter (cm ⁻¹) | 0.0289 | 0.0179 | 0.0189 | 0.1491 | 0.0567 |
| n parameter | 1.491 | 1.229 | 1.563 | 1.243 | 1.339 |
| $K(\theta)$ | | | | | |
| Saturation conductivity K_{sat} (cm h ⁻¹) | 0.6 | 6 | 1 | 80 | 60 |
| n parameter | 1.6 | 1.185 | 1.563 | 1.243 | 1.339 |
| Tortuosity u | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Thermal conductivity λ_T (W m ⁻¹ K ⁻¹) | 2.5 | 3.5 | 3.0 | 3.0 | 2.0 |
| Soil dispersivity λ (cm) | 0.5 | 0.5 | 3 | 3 | 3 |
| Partition constant K_d (Freundlich) for DOC (cm ³ g ⁻¹) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Relationships for the retention curve $\psi(\theta)$ and the hydraulic conductivity $K(\theta)$ (Van Genuchten, 1980):

$$\psi(\theta) = \alpha \cdot \left[\left(\frac{\theta - \theta_r}{\theta_s - \theta_r} \right)^{\frac{n}{n-1}} - 1 \right]^{\frac{1}{n}} \quad \text{and} \quad K(\theta) = K_{sat} \cdot \left(\frac{\theta - \theta_r}{\theta_s - \theta_r} \right)^n \cdot \left[1 - \left(1 - \left(\frac{\theta - \theta_r}{\theta_s - \theta_r} \right)^{\frac{n}{n-1}} \right)^{\frac{n-1}{n}} \right]^2$$

The autochthonous biomass decomposes the humified organic matter (HOM), whereas the zymogenous biomass decomposes fresh (FOM) and soluble (SOL) organic matter.

The denitrification model estimates total denitrification rate as the product of 3 functions depending on: (1) NO_3^- content, (2) water-filled pore space, and (3) soil temperature, respectively. The ratio $\text{N}_2\text{O}/(\text{N}_2\text{O}+\text{N}_2)$ was assumed constant and a 0.1 value was chosen throughout the experiment, as it was not measured continually.

2.4.1 Air flow equation and dusty gas model (DGM)

Air convective flow in the porous medium is assumed to obey Darcy's law and is given by:

$$q = -\frac{B_k}{\mu} \nabla P \quad (1)$$

where: q (m s^{-1}) = volumetric flux per unit area, B_k (m^2) = air permeability, μ ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$) = gas phase viscosity, and P (Pa) = pressure, with:

$$P = CRT \quad (2)$$

where: C (mol m^{-3}) = molar concentration, R = gas constant ($8.314 \text{ kg m}^{-2} \text{ s}^{-2} \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), and T (K) = temperature.

The continuity equation is:

$$\frac{\partial \varepsilon_a P}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(P \frac{B_k}{\mu} \nabla P \right) + S + RT \sum_{i=1}^v \frac{\partial}{\partial z} N_i^D \quad (3.a)$$

where: ε_a ($\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$) = air-filled porosity, t (s) = time, z (m) = depth, P_0 (Pa) = initial pressure, S ($\text{mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$) = a sink term accounting for gas production or consumption, and N_i^D ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) = diffusive molar flux for gas i in a mixture of v gases.

The last term in equation (3.a) indicates that diffusion only can induce pressure gradient and convection. P_0 is used in place of P to linearise the equation:

$$\frac{\partial \varepsilon_a P}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(P_0 \frac{B_k}{\mu} \nabla P \right) + S + RT \sum_{i=1}^v \frac{\partial}{\partial z} N_i^D \quad (3.b)$$

Massman (1989) showed that the linearised equation can be used without noticeable loss of accuracy as long as the pressure at the boundary (P_1) and the initial pressure inside the porous medium (P_0) are such that $1.2 > P_1/P_0 > 0.8$. This condition is entirely satisfied in our case.

This equation is solved with a no-flux boundary condition at the bottom of the profile. At the soil surface the gas pressure is imposed as equal to atmospheric pressure. The S term in the equation is calculated from the consumption and production rates of the various gases

considered. A finite differences scheme similar to the one used for Richards' equation is employed. Air-filled porosity is taken as the difference between total porosity and water content, the latter being calculated by the model for any time and location. Air permeability B_k depends on air-filled porosity. The simple relation $B_k = B_{kmax} \cdot (\varepsilon_a / \varepsilon_T)^2$ was used (with ε_T = total porosity). However, for high B_k values, ∇P is nearly equal to 0. It has been neglected in the following equations.

Given a mixture of ν gases, the dusty gas transport model results in a set of ν equations (Thorstenson & Pollock, 1989). For a given specie i ($i=1, \dots, \nu$), the equation for the isothermal case is as follows:

$$\sum_{j=1, j \neq i}^{\nu} \frac{X_i N_j^T - X_j N_i^T}{D_{ij}^*} - \frac{N_i^T}{D_i^K} = \frac{P \nabla X_i}{RT} + \left\{ 1 + \frac{B_k P}{D_i^K \mu} \right\} \frac{X_i \nabla P}{RT} \quad (4)$$

where: N^T ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) = the total molar flux, X = the molar fraction, D_{ij}^* ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) = the binary diffusion coefficient of specie i and j in the porous medium, and D_i^K ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) = the Knudsen diffusion coefficient.

In the dusty gas model, the total molar flux of a given specie ($N_{i=1}^T = N_i^D + X_i N^V$) is used. The diffusive molar flux (N_i^D) and the viscous molar flux $X_i N^V$ do not appear explicitly. To solve these equations in the unsaturated zone one must know, at any point in the profile, i) the gas pressure, ii) the diffusion coefficients, iii) porous medium gas permeability and gas viscosity and iv) temperature. Gas pressure is obtained from the solution of the air flow equation (3). The gas diffusion coefficients and porous medium gas permeability depend on the water contents and temperatures calculated by the model. The Knudsen diffusion coefficient is calculated as in Thorstenson and Pollock (1989).

Most studies deal with binary or ternary gas mixtures. In these cases, expressions can be derived to express the total flux as a function of the molar fraction gradients of the different species (Alzaydi *et al.*, 1978; Jaynes & Rogowski, 1983; Abriola *et al.*, 1992; Massmann & Farrier, 1992; Webb & Pruess, 2003). Our purpose here is to propose a numerical solution for the dusty gas model that can be used when more than three gas species are involved.

The set of equations for the dusty gas model (DGM) can be written in the form of a linear system of ν equations with ν unknowns N_i^T :

$$-\sum_{j=1, j \neq i}^{\nu} \frac{X_i}{D_{ij}^*} N_j^T + \left[\frac{1}{D_i^K} + \sum_{j=1, j \neq i}^{\nu} \frac{X_j}{D_{ij}^*} \right] N_i^T = -\frac{P}{RT} \nabla X_i - \left[1 + \frac{B_k P}{D_i^K \mu} \right] \frac{X_i \nabla P}{RT} \quad (5)$$

At any point in the soil profile, assuming that the mole fractions, the gas phase pressure and the transport parameters are known, the solution of this system provides the total molar flux

for all the species. For each specie, a mass balance equation can be used to obtain the gas concentrations or mole fractions. For any given specie i with molar fraction X_i , the mass balance equation is as follows:

$$\frac{\partial(\epsilon_a X_i C)}{\partial t} = -\frac{\partial N_i^T}{\partial z} + S_i \quad (6)$$

Note that the balance equations are in fact coupled owing to equations (5). If we assume that the fluxes (N_i^T) are known, these equations are easily solved with a finite difference approximation of the space derivative and a fully implicit scheme to advance in time. Given that the molar fractions must satisfy the relation

$$\sum_{j=1}^{\nu} X_j = 1 \quad (7)$$

one have to solve only $(\nu - 1)$ transport equations.

One way to solve equations (5) and (6) is to derive expressions for the flux as a function of the various molar fraction gradients and hence to obtain a set of coupled partial differential equations. This is possible for binary or ternary gas mixtures only. In order to keep some flexibility in using the code, we decided to solve the set of equations by means of an iterative procedure. In this way we could use any number of gas species without being obliged to change the set of equations. The algorithm for solving the ν transport equations coupled to the equations arising from the DGM is as follows. Let $X_{j,i}^t$ be the mole fraction of gas j at node i and time t . At each node of the finite difference grid the set of equations (5) can be solved to provide a first estimate of gas flux $N_{j,i}^T$ at time $t+dt$. Next, these estimates are used to solve the mass balance equations (6). This step provides new estimates of gas mole fractions $X_{j,i}^k$ which in turn are used with the dusty gas set of equations (5) to get new estimates of the gas flux. This iterative procedure is repeated until the following condition is met:

$$\text{Max}_{j=1,\nu} \frac{\text{Max}_{i=1,N} |X_{j,i}^{k+1} - X_{j,i}^k|}{\text{Max}_{i=1,N} |X_{i,j}^k|} \leq \epsilon \quad (8)$$

where: k = the iteration index, j = the gas specie index, i = finite difference grid index, and N = the number of nodes of the finite difference grid.

In our calculations the convergence criterion is 10^{-5} . When convergence cannot be achieved within a prescribed number of iterations (7), the time step is reduced and the numerical procedure described is started again.

Table VI: Values of biological parameters

| | |
|---|-------------|
| RDM decomposition rate (day^{-1}) | 0.16 |
| HCE decomposition rate (day^{-1}) | 0.064 |
| CEL decomposition rate (day^{-1}) | 0.097 |
| LIG decomposition rate (day^{-1}) | 0.0014 |
| SOL decomposition rate (day^{-1}) | 0.945 |
| ZYB decomposition rate (day^{-1}) | 0.114 |
| AUB decomposition rate (day^{-1}) | 0.000000839 |
| HOM decomposition rate (day^{-1}) | 0.000241 |
| SOL C assimilation yield by ZYB | 0.62 |
| ZYB C assimilation yield by ZYB | 0.62 |
| AUB C assimilation yield by AUB | 0.62 |
| HOM C assimilation yield by AUB | 0.62 |
| Humification coefficient of LIG | 1 |
| Humification coefficient of ZYB | 1.14 |
| Humification coefficient of AUB | 0.431 |
| Maximal nitrification rate ($\text{mg N kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) | 1.59 |
| Affinity constant between NH_4^+ and nitrifying bacteria (mg N kg^{-1}) | 5 |
| Langmuir coefficient for immobilization | 0.05 |
| Partition coefficient between N direct assimilation and N immobilisation by ZYB | 1 |
| Partition coefficient between N direct assimilation and N immobilisation by AUB | 0 |
| Michaëlis-Menten constant for SOL decomposition (mg C kg^{-1}) | 0.1 |
| Michaëlis-Menten constant for HOM decomposition (mg C kg^{-1}) | 0 |

2.4.2 Calibration procedures

As a preliminary step, the water transport model was calibrated using data from sharply different periods of the experiment. Initial conditions were provided by field water potential measurements (23 October 2001, JD 295) every 20 cm depth from 20 to 220 cm depth. The soil profile was divided into 5 soil layers: 0-30, 30-60, 60-110, 110-140 and 140-220 cm. The unsaturated hydraulic conductivity $K(\theta)$ parameters (Van Genuchten, 1980) were calibrated for each soil layer in order to reconstitute satisfactorily water transport, using measured soil water suction (electronic tensiometers and mercury pressure gauge tensiometers). Heat flux parameters were calibrated after water transport calibration. Initial conditions were provided by field soil temperature measurements at 5, 20, 60, 100 and 170 cm depth. During a 20-day period with snow cover (13 December 2001 to 2 January 2002, JD 347-367), a -2°C soil surface temperature value was set in the model, because the model was not adapted for simulating energy balance with a snow pack on the soil surface. The initial conditions for the solute transport model were NO_3^- -N and DOC soil solution concentrations measured on 23 October 2001 (JD 295) in the 7 soil layers from the 0-30 layer to the 180-210 cm layer.

The biological parameters were estimated using incubations described above. The C and N kinetics of the control soil were used to set the values of the parameters linked to the HOM and AUB pools. Then, the C and N kinetics of the residue-amended soil were used to set the values of the parameters related to the FOM and ZYB pools (Table VI). Soil respiration in the 0-30 cm layer was simulated by the CANTIS module, whereas potential aerobic respiratory and denitrifying activities were used in the deepest soil layers corrected with soil temperature and water content (Garnier *et al.*, 2001). Moreover, potential aerobic respiratory was too high to simulate CO_2 concentration correctly, probably due to physical aggregate disruption by sieving, increasing C bioavailability for respiration measurements (Ashman *et al.*, 2003). Thus we used a 0.23 factor correction for the 30-60 cm layer and a 0.01 factor correction for deeper layers. Denitrification was considered to be effective when WFPS was higher than 70% and we set the α power at 5 in the soil WFPS function (Hénault & Germon, 2000). The Q_{10} value for the soil temperature function was set at 2. Moreover, continuous aerobic denitrification occurred at the soil surface, with continuous residual N_2O production during the whole experiment (Cannavo *et al.*, 2003a). Thus, a residual denitrifying activity was set in the model.

After calibration, the model simulated the whole experiment (23 October 2001 to 6 May 2002, JD 295-491).

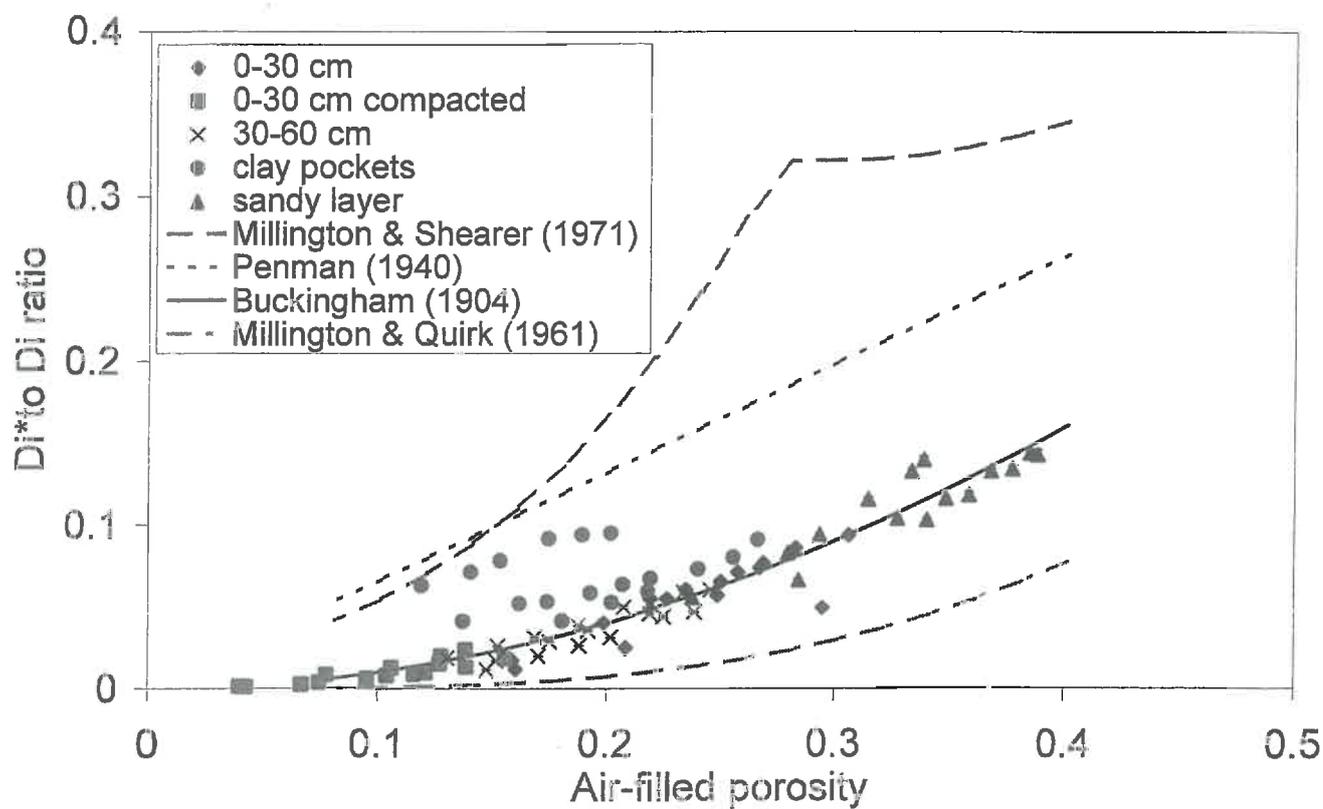


Figure 2 : Experimental D_i^ to D_i ratio as a function of the soil's air-filled porosity. Comparison with simulated data from models by Penman (1940), Buckingham (1904), Millington & Quirk (1961), and Millington & Shearer (1971).*

3. Results and discussion

3.1 Soil gas diffusion coefficient and air permeability

The measured D_i^* to D_i ratios as a function of air-filled porosity are presented in **Figure 2**. The textural porosity was always saturated (**Table II**). D_i^* to D_i ratio values ranged between 0.0014 and 0.1432. When, comparing experimental data to several models (without clay pockets experimental data), the Buckingham (1904) model seemed to fit the experimental data best. The maximal relative error was 55%. Therefore we tried to reduce this error by using a power function that was fitted to the observations with the exception of the clay pocket data. We obtained the relation:

$$D_i^*/D_i = 1.126 \cdot \varepsilon_a^{2.13} \quad (r^2 = 0.9581) \quad (9)$$

This relation took the general form $D_i^*/D_i = A \cdot \varepsilon_a^B$, as already proposed by Buckingham (1904), Penman (1940), and Marshall (1959). The maximal relative error was still 55%, as A and B values were quite close to those of Buckingham (1904). The fitted curve was used in the gas transport model to estimate the binary gas diffusion coefficient as a function of air-filled porosity. When air permeability coefficient B_k was estimated, the differential pressure probe did not detect any pressure gradient in the soil samples. The reason was a high B_k , which allowed gas fluxes with no measurable pressure gradient. A 10^{-10} m^2 value was adopted for air permeability in the model as referred to (Nazaroff & Nero, 1988).

3.2 Physical simulations with PASTIS model

Rainfall events during the experiment are presented in **figure 3**. At 20 cm depth (**Fig. 4 A**) the model satisfactorily simulated the different drying and wetting periods. Deeper in the soil profile, soil water suction was also satisfactorily simulated. There were some significant differences between experimental and simulated data, particularly in April (JD 467) at 40 cm depth (**Fig. 4 B**) and in February (JD 417) at 100 cm depth (**Fig. 4 C**). Nevertheless, these differences were less than 0.4 m H₂O water suction. Below 140 cm depth, experimental and simulated data were very close. Soil volumetric water content was also simulated by the model and compared to soil volumetric water content measured from soil regularly sampled in various places in the field. These data incorporated spatial variability.

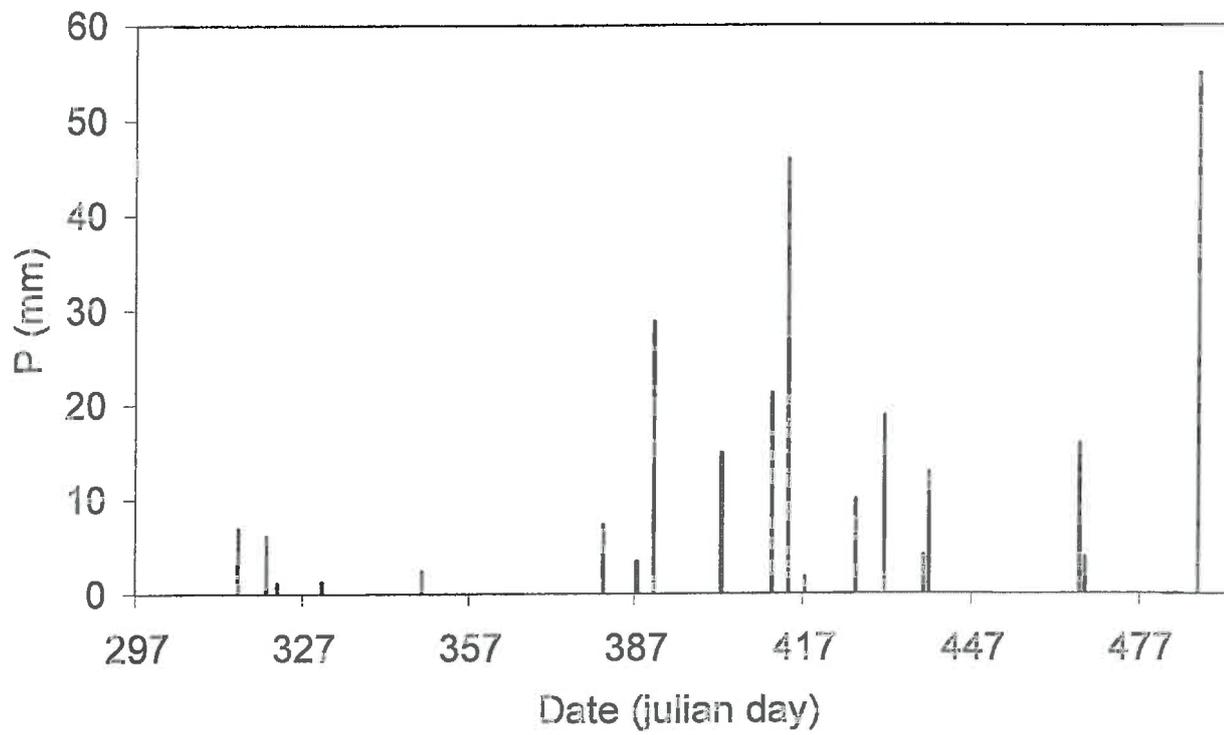


Figure 3: Rainfall events during the experiment

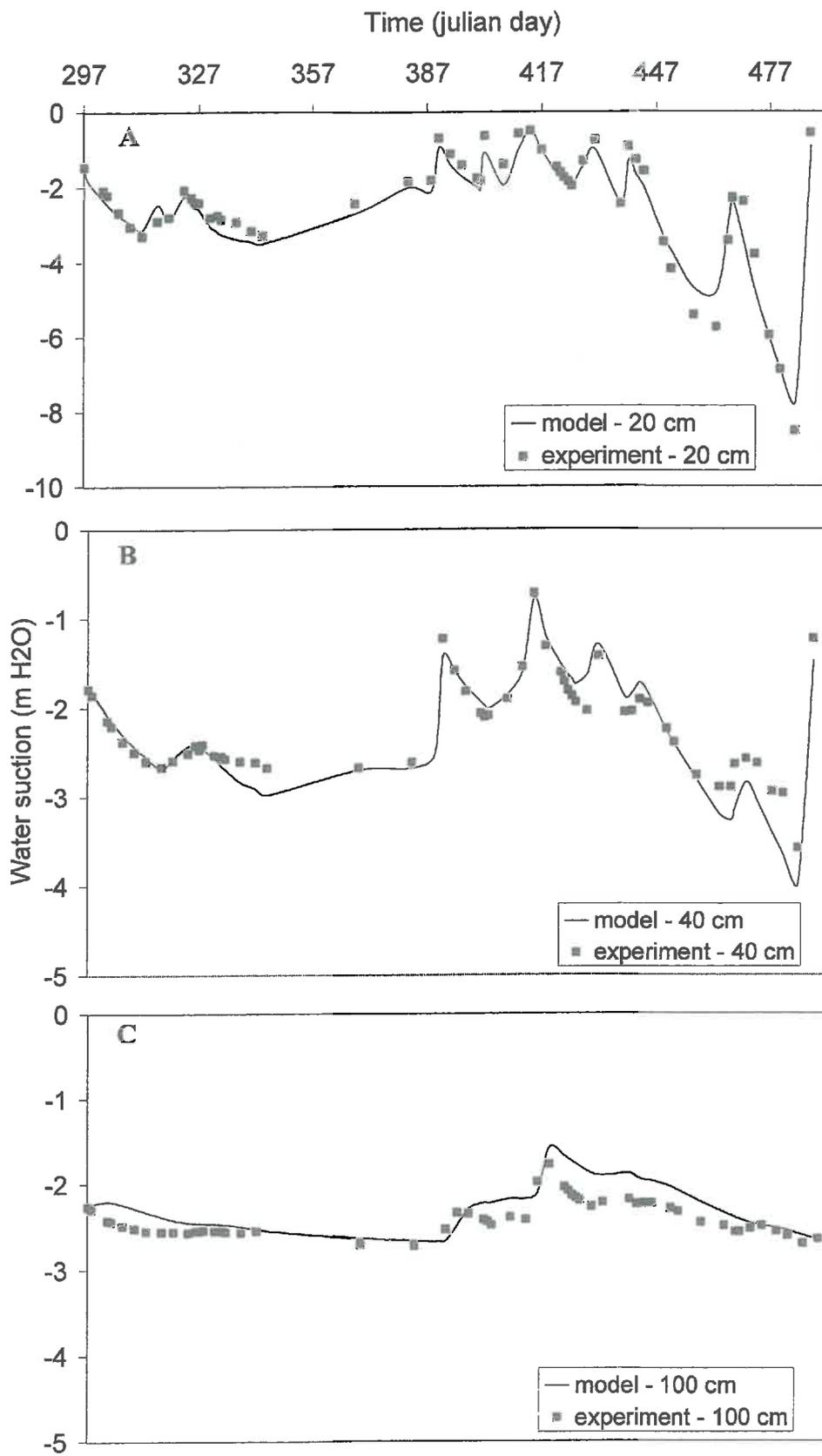


Figure 4: Experimental and simulated soil water suction at depths 20 cm (A), 40 cm (B), and 100 cm (C).

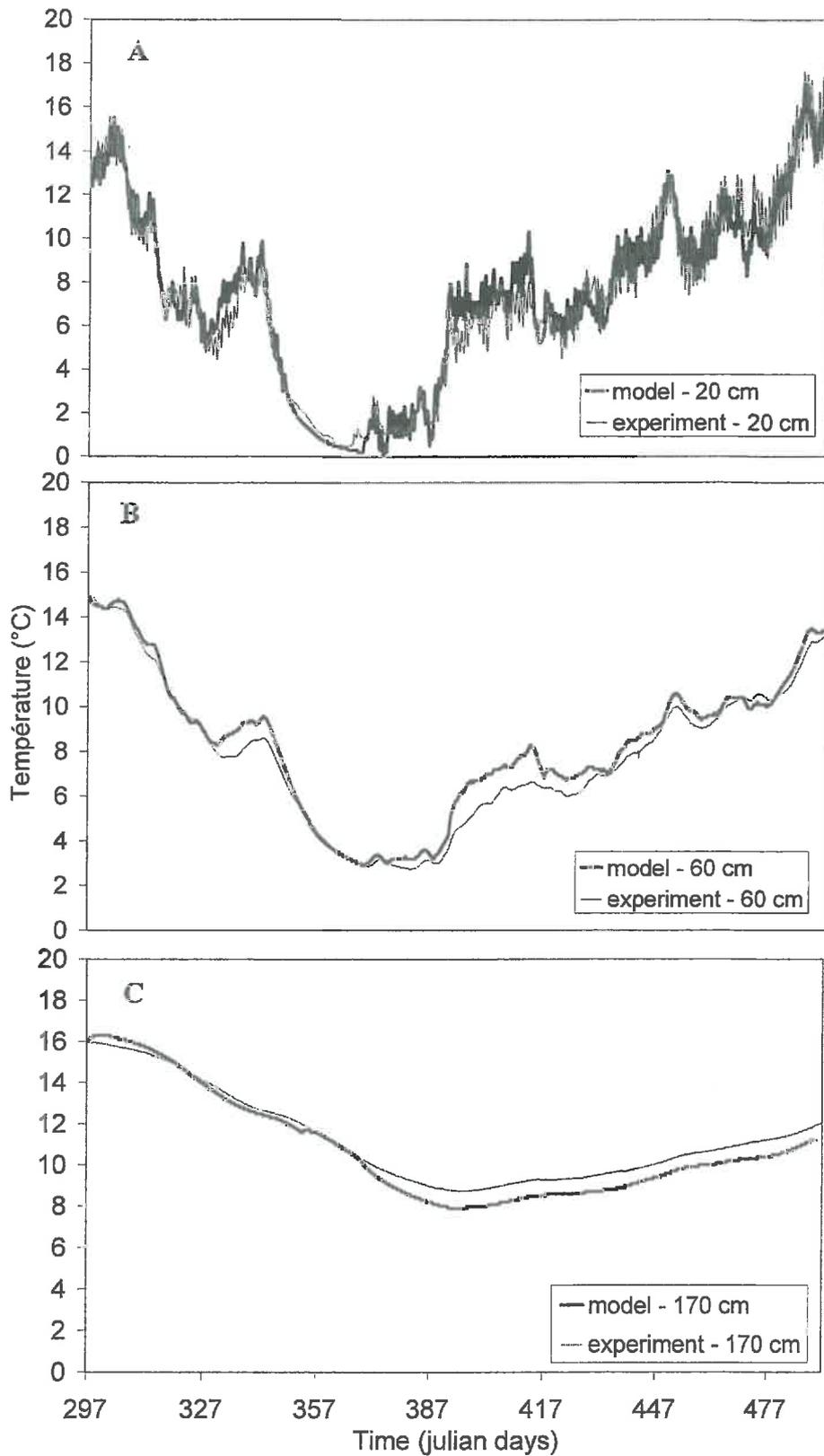


Figure 5: Experimental and simulated soil temperature at 20 cm (A), 60 cm (B) and 170 cm (C) depths.

Without taking the cold winter period into account, the model correctly simulated the soil volumetric water content (results not shown). Therefore, differences between *in situ* and model data during the cold winter period were not very great, as microbial activity was negligible during this period.

Whatever the depth, the model simulated soil temperature satisfactorily (Fig. 5). The -2°C soil surface temperature value set in the model during the 20-day snow cover period allowed a correct reproduction of soil temperature during this period. The differences between experimental and simulated data were generally less than 1.5°C . It was important to minimize the soil temperature error simulation in order to correctly simulate seasonal variations in soil microbial activity, which is highly sensitive to soil temperature (Grundmann *et al.*, 1995; Mergel *et al.*, 2001).

Finally, soil water content and water suction, in addition to soil temperature, were satisfactorily simulated by the model, and this allowed us to model gas transport and microbial activities.

3.3 Biological simulations with PASTIS model

Diffusion models of gas transport in soils have to account for (1) O_2 that is consumed by aerobic respiration, and discriminates between aerobic and anaerobic activities, (2) CO_2 that is produced through organic C mineralisation and can affect microbial activities either directly through its assimilation by autotrophs, or indirectly through changes in soil pH (Suchomel *et al.*, 1990), and (3) N_2O that can be produced by nitrification (Stevens & Laughlin, 1998), denitrification (Nobre *et al.*, 2001) and the dissimilatory reduction of NO_3^- to NH_4^+ (Appello & Postma, 1994), the last pathway being generally negligible (Knowles, 1982).

3.3.1 Simulation of CO_2 concentrations in the soil profile

CO_2 concentration simulations were performed using the CANTIS model with biological parameters (Table VI) in the 0-30 cm layer, and potential aerobic respiratory activity in deeper layers (Tables III and IV). The model did not satisfactorily simulate *in situ* CO_2 concentrations at 20 cm depth (Fig. 6 A). It initially underestimated CO_2 concentration up to 1st November 2001 (JD 305) and overestimated concentrations from then until the beginning of the cold winter period (14 December 2002, JD 348).

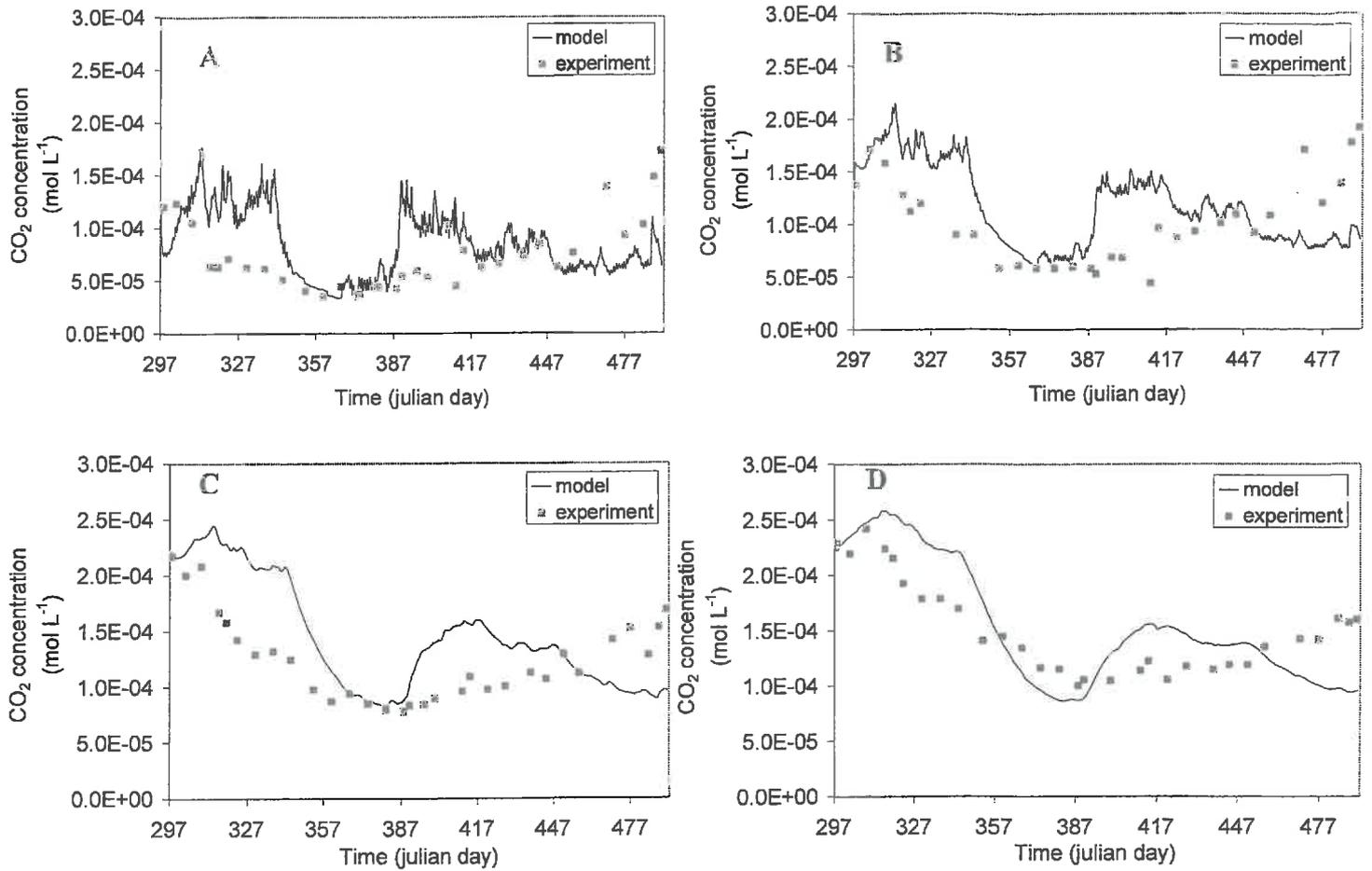


Figure 6: Seasonal variations in CO₂ concentrations in the soil profile at depths 20 cm (A), 40 cm (B), 100 cm (C), and 200 cm (D).

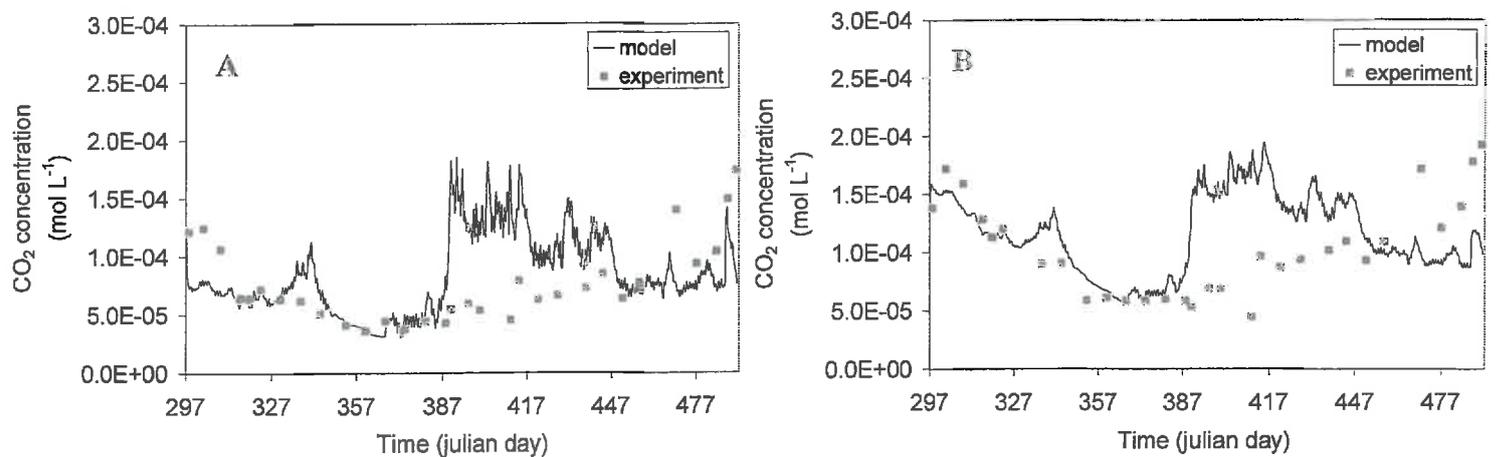


Figure 7: Simulation of seasonal variations in CO₂ concentration in the soil profile at depths 20 cm (A) and 40 cm (B), taking into account the adsorption of soluble organic carbon to soil mineral particles.

This was an overestimation of the burst of zymogenous biomass stimulated by the incorporation of fresh organic matter into the soil. A second overestimation was observed after the cold winter period (19 January 2002, JD 384), when the soil temperature increased significantly (Fig. 5). In this case the zymogenous biomass, stimulated by soil warming, continued to decompose the maize residues, but here again the stimulation was overestimated. After that, the model underestimated CO₂ concentration because it had been assumed that the maize residue would become less bioavailable and so decrease zymogenous biomass activity. The behaviour observed at 20 cm depth was reproduced deeper as CO₂ diffusion from the soil surface layer to the deep vadose zone occurred (Fig. 6 B, C and D).

Two main explanations may be suggested to explain the model's discrepancies. One is DOC adsorption, the other is zymogenous biomass mortality in winter. Soil DOC adsorption onto soil mineral particles was not taken into account and its incorporation in the model should reduce organic substrate bioavailability for ZYB. DOC adsorption onto mineral particles in soil is well known, and is significant (Jardine *et al.*, 1989; Michalzik *et al.*, 1998; Kalbitz *et al.*, 2000). A partition constant K_d of 1 cm³ g⁻¹ was therefore set in the model. This approximate value was representative of several studies in which the K_d coefficient has been measured (Moore *et al.*, 1992; Kaiser *et al.*, 2000a). Taking physical adsorption into account improved the simulated CO₂ concentrations in the soil profile before the winter period (Fig. 7 A and B). A slight overestimation was still observed in early December 2001 (JD 337), as if adsorption delayed and reduced the ZYB burst when maize residue was incorporated in the soil. It seemed to be necessary to limit organic substrate bioavailability to better simulate CO₂ concentration. However, this did not improve CO₂ concentration simulation after the freeze period; this overestimation was more pronounced than in the previous simulation. This can be explained by the fact that less FOM was degraded before winter, thus increasing degradation of maize residues, and consequently CO₂ production, after the winter.

This led us to test the second assumption. During the cold winter period, the soil was frozen for almost 3 weeks, from 17 December to 6 January (JD 351-371). It has already been shown that frozen soils decrease soil biomass (Schimel & Clein, 1996). Thus, the death of a fraction of the zymogenous biomass fraction during the cold period was added to the model. For this 3-week period an exponential function describing ZYB death was applied, as follows:

$$C_{ZYB(j+1)} = C_{ZYB(j)} \cdot \exp^{-\varphi} \quad (10)$$

where: C_{ZYB} (g C m⁻²) = zymogenous biomass carbon content, j (date) = time, and φ = calibration parameter.

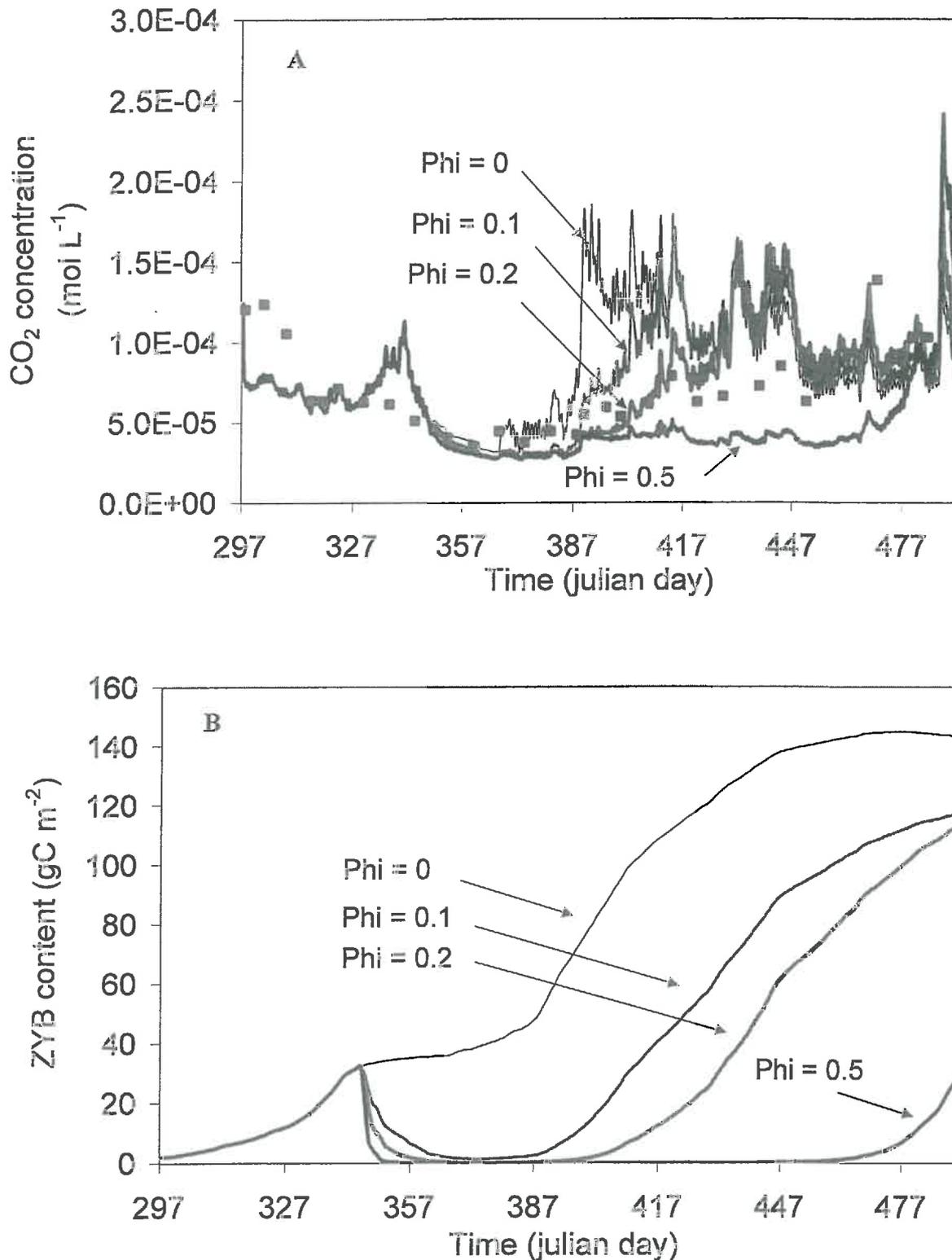


Figure 8: Soil CO₂ concentration (A) and ZYB content (B) at 20 cm depth as influenced by the ϕ parameter describing the ZYB death during the experiment.

Several ϕ values for CO₂ concentration simulations were tested, taking DOC adsorption into account (Fig. 8). When the ϕ value was increased, the CO₂ concentration overestimation occurred later in the experiment and was reduced (Fig. 8 A). When the ϕ value was increased, the ZYB pool in winter decreased more and this necessitated increasing ZYB regeneration time in order to produce CO₂ after the winter (Fig. 8 B). An ϕ value of 0.5 was improbable in the experiment, as the ZYB only developed at the end of the experiment and CO₂ concentration was underestimated. An ϕ value of 0.2 was more suitable than a 0.1 ϕ value. However, an ϕ value of 0.2 implied the death of almost the entire ZYB pool during the cold period. This would be unrealistic *in situ* as it was assumed that only a part of the ZYB would be killed. However, after this cold period, the ZYB was able to grow again and its activity fitted better with *in situ* [CO₂] concentration measurements.

Thus, both DOC adsorption and ZYB death in winter had to be taken into account in the model in order to better fit the experimental CO₂ concentration data. A new simulation was then performed, using a ϕ calibration parameter value of 0.25 for ZYB death and a K_d value of 1 for DOC adsorption (Fig. 9). At all depths, the model now satisfactorily simulated the experimental data. At 20 cm depth, the model showed CO₂ concentration peaks during rain well, though it sometimes overestimated them. During the first month of the experiment, CO₂ concentration at 20 cm depth was still underestimated, whereas the model satisfactorily predicted CO₂ concentration at 40 cm depth and deeper. CO₂ emission into the atmosphere was greater in the simulation than *in situ*, probably owing to diffusion.

The correct modelling of CO₂ concentration whatever the depth enabled us to evaluate CO₂ fluxes. Over the 7-month experiment, the cumulative CO₂ released to the atmosphere was 1540 kg CO₂-C ha⁻¹. This is in the same range as found by Bowden *et al.* (2000) and Kessavalou *et al.* (1998), but 1.3 times lower than Osozawa & Hasegawa (1995) who worked on arable soils with higher soil temperatures. In the 0-20 cm layer, CO₂ production mainly came from decomposition of FOM, with less CO₂ coming from AUB. The CO₂ produced by the ZYB was directly correlated with changes in its content during the experiment. With increasing depth, the HOM pool became dominant in producing CO₂, as no FOM was present below 20 cm depth (unpublished data). Calculated cumulative CO₂ produced by FOM and HOM decomposition in the 0-20 cm layer was 85.8 and 23.8 g C m⁻² respectively. Thus, the proportion of C mineralised from maize residue incorporated into the soil was approximately 78%.

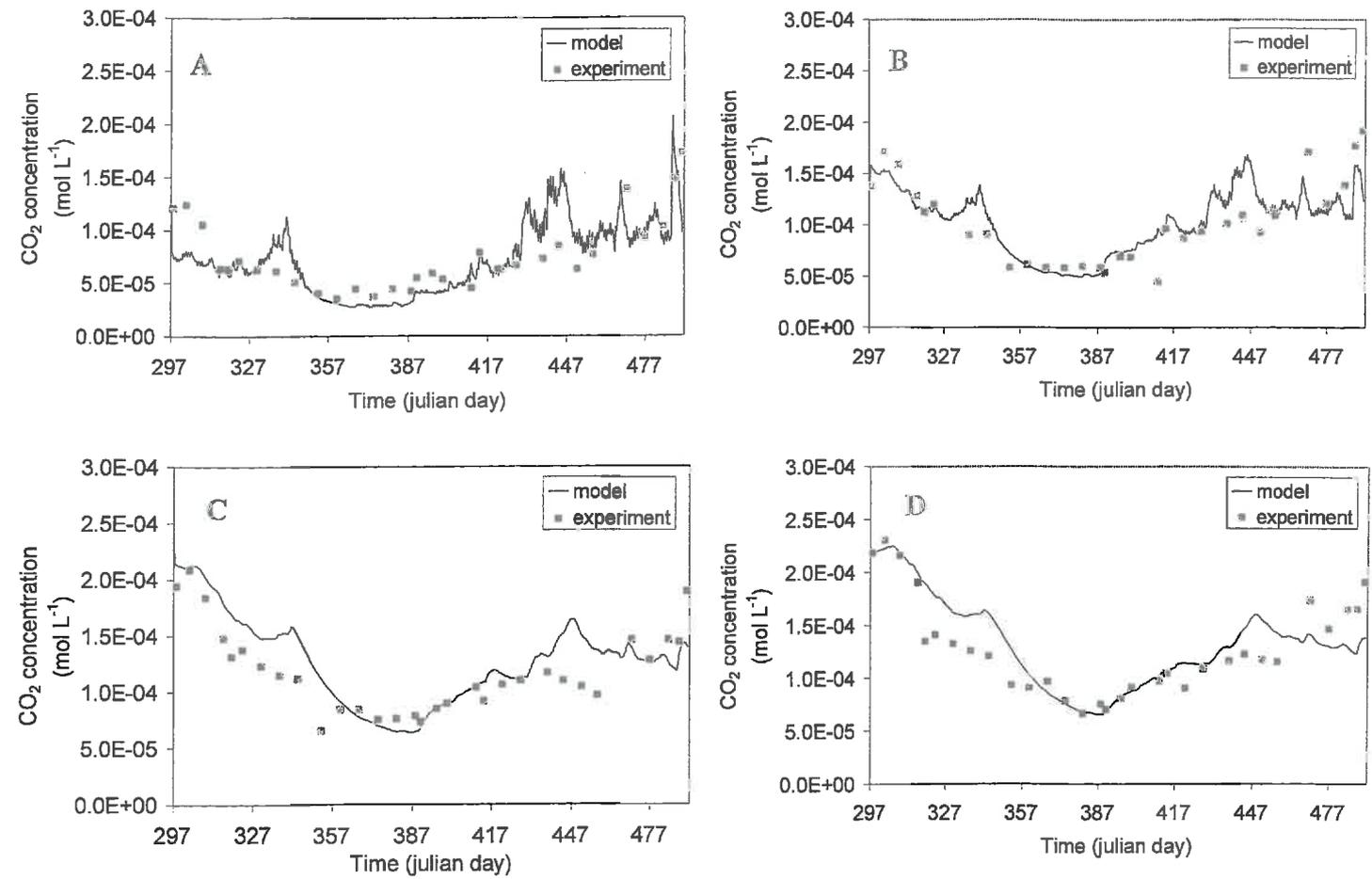


Figure 9: Simulations of soil CO₂ concentration at 20 cm (A), 40 cm (B), 100 cm (C) and 200 cm (D) depth taking into account DOC adsorption and ZYB fraction death during winter.

In the 0-60 cm layer, cumulative CO₂ produced by all together FOM, HOM, ZYB, and AUB during the experiment was 1640 kg C.ha⁻¹. The CO₂ produced at depths below 60 cm was 245 kg C ha⁻¹. Thus, microbial production of CO₂ below 60 cm depth was significant, as it amounted to 15% of CO₂ production from the soil profile as a whole. This high value suggests that microbial activity in the deep vadose zone must be taken into account in models predicting C and N transport.

Next simulations presented thereafter take into account both DOC adsorption and the zymogenous biomass death during the cold winter period.

3.3.2 C mineralisation: maize residue decomposition

In situ maize residue decomposition was measured by adding the >2 mm and 0.2-2 mm size fractions together. It occurred in three distinct stages (Fig. 10). From residues incorporation to 17 December 2001 (JD 293-351), 44.3% of the initial C maize residue disappeared. From 17 December 2001 to 4 February 2002 (JD 351-400), the soil temperature was very low (Fig. 5); this slowed down residue decomposition and there was no significant decomposition. From 4 February to 3 May 2002 (JD 400-488), as soil temperature increased, maize residue decomposed but at a slower rate than that observed during the first period. During the 7-month period altogether, 68.5% of the maize residue C was lost.

The model also simulated the three stages satisfactorily. It predicted decomposition of 77.6% of the maize residue C, which was comparable to the *in situ* reality and similar to the model prediction of C mineralised by maize residue (78%). However, it underestimated the first stage (estimating 33.3% of residue C decomposed) and overestimated the third stage. We were able to limit the underestimation of the first stage by increasing the initial simulated quantity of the ZYB biomass to 10 g C m⁻². This value was based on the maize residue fragment size before its incorporation into the soil, and its decomposition factor K_{MZ} (Garnier *et al.*, 2001; Garnier *et al.*, 2003). The larger the residue fragments, the higher the K_{MZ} and initial ZYB values.

Concerning the decomposition of FOM biochemical fractions simulated by the model, the hemicellulose (HCE) and cellulose (CEL) fractions were predominant in the composition of the maize residue and were mainly responsible for dry matter loss. The readily decomposable matter (RDM) also contributed to dry matter loss.

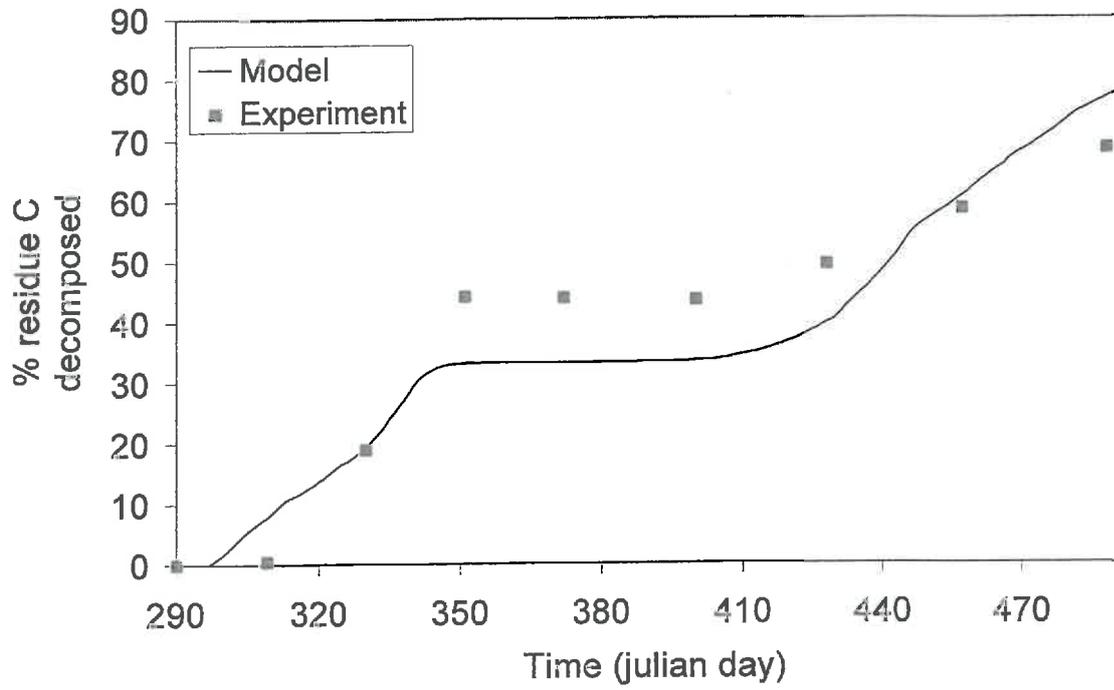


Figure 10: Cumulative maize residue C decomposition during the experiment.

The lignin (LIG) fraction did not significantly contribute to dry matter loss as this fraction is more resistant to biodegradation (Sanger *et al.*, 1997): only 4% was decomposed during the experiment. At the end of the experiment, almost all the RDM fraction, 85% of the HCE fraction and 94% of the CEL fraction had decomposed. The HOM pool decreased slightly from 5752 to 5651 g C m⁻² during the experiment.

3.3.3 Simulation of N₂O concentrations in the soil profile

Seasonal N₂O concentrations in the soil profile have already been presented and characterized in Cannavo *et al.* (2003a). Below a depth of 20 cm the model gave a good representation of N₂O concentration, with no overestimations (Fig. 11 B, C, D). The model reproduced N₂O increases at 20 cm depth (Fig. 11 A) during major rainfall events (24 January – JD 389, 18 February – JD 414, and 6 March 2002 – JD 430). It overestimated the highest *in situ* N₂O peak (18 February) and predicted a N₂O peak on 6 March (rainy day); gas sampling was not performed that day. Gas samples were taken 3 days later and showed an increased N₂O concentration. This suggested that the model was not able to describe the dephasing between the rainfall event and the N₂O emission, as anoxic conditions progressively settle after a rainfall event (slow O₂ consumption) (Renault & Sierra, 1994). The heaviest rain (55 mm) fell on 2 May (JD 487), after a three-week dry period; the model simulated an N₂O peak which was not detected *in situ*. The anoxic conditions cannot have lasted long enough for denitrifying micro-organisms to synthesize denitrifying enzymes. The model uses a denitrification function defined by Hénault & Germon (2000) which is simply based on a WFPS threshold. Thus, it does not include biological processes suggesting that the WFPS function should depend on soil structure and its respiration (Renault & Sierra, 1994). Such limits were also observed on two occasions particularly. Firstly, the model did not simulate the increase in N₂O concentration following incorporation of maize residue into the soil, which favoured denitrification by enhancing aerobic respiratory activity and creating local anoxic conditions (Cannavo *et al.*, 2003a). Secondly, the model failed to simulate increased N₂O concentrations during daily freeze/thaw cycles. Thus, the denitrifying model gave a good simulation of N₂O peaks during rainfall events, even if it was probable that denitrifying enzymes were not earlier synthesized.

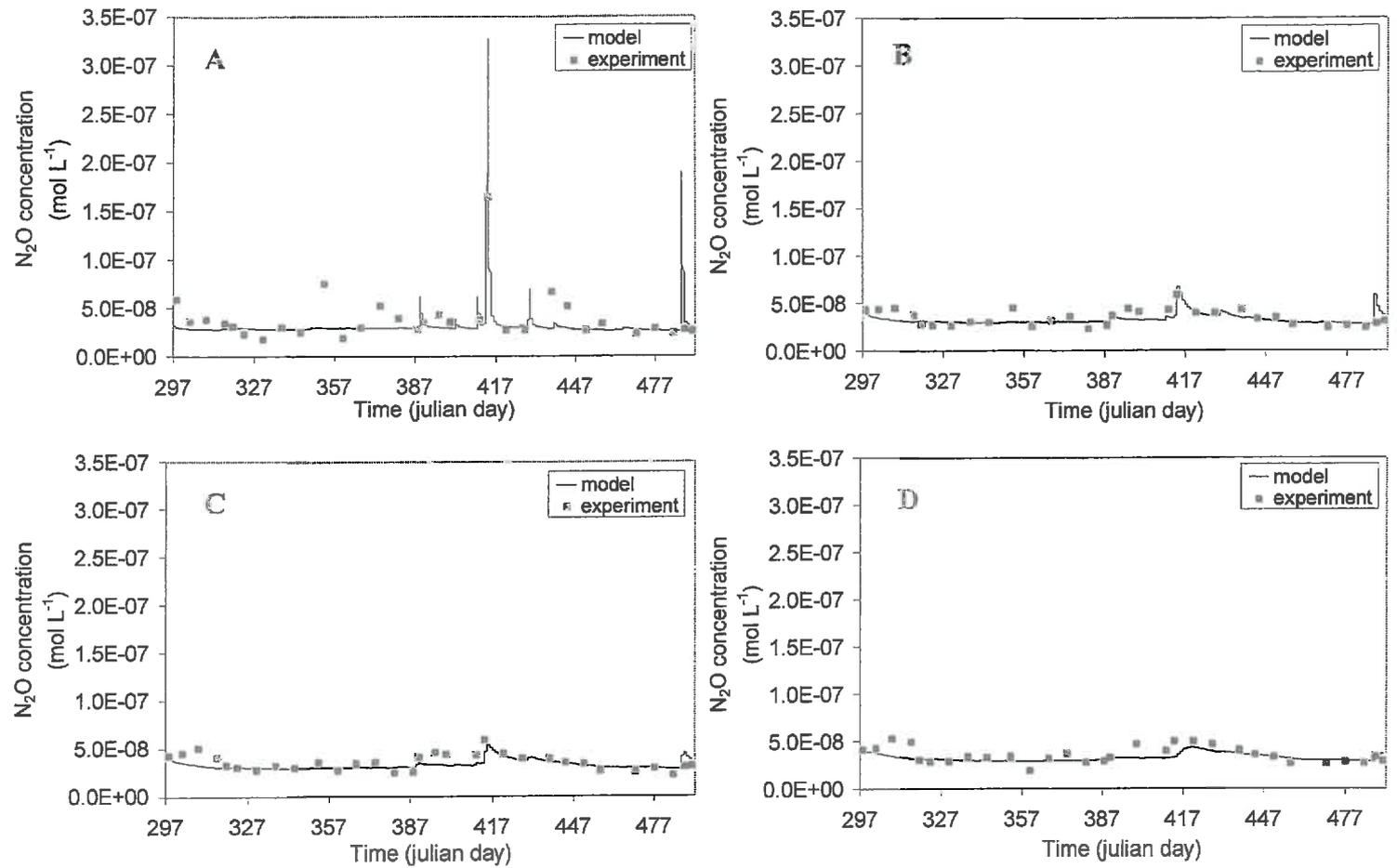


Figure 11: Seasonal variations in N₂O concentration in the soil profile at depths 20 cm (A), 60 cm (B), 100 cm (C), and 200 cm (D).

The residual denitrifying activity in the surface layer was set at $6.5 \cdot 10^{-5} \mu\text{g N}_2\text{O-N g}^{-1} \text{ dw h}^{-1}$, which was equivalent to a daily output of N_2O by denitrification of $4.2 \text{ g N}_2\text{O-N ha}^{-1}$.

According to the model, during the 7-month experiment, the cumulative N_2O gas released to the atmosphere was $0.9 \text{ kg N}_2\text{O-N ha}^{-1}$. This is 7 times as high as Bowden *et al.* (2000), who worked with a temperate forest soil, and 3 times as high as Kessavalou *et al.* (1998), who worked with a tilled arable soil.

3.3.4 Simulation of N mineralisation and NO_3^- concentration in the soil profile

Net N mineralisation over the 7-month experiment was 215 kg N ha^{-1} . It was 3.6 times higher than values published by Mary *et al.* (1999) who studied straw decomposition after disc ploughing. Daily net N mineralisation in the 0-20 cm layer was always positive and varied between 0.007 and $3.439 \text{ kg N ha}^{-1}$.

In situ NO_3^- amounts did not present significant variations in soil layers below the 30-60 cm layer. However, considerable variations were observed in the 0-30 cm layer, and these were correctly reproduced by the model (Fig. 12). Before 16 January 2002 (JD 381), the model generally overestimated *in situ* data. During this period, there was no major rainfall event and the model simulated a slightly increasing NO_3^- amount in this layer. *In situ* NO_3^- concentration measurements were taken in triplicate, with a mean 65% variation coefficient. Thus a large standard error measurement does not explain all NO_3^- concentration variations before 16 January 2002 (JD 381). After this date, however, major rainfall events occurred and the model correctly simulated the decrease in NO_3^- concentration until 24 February 2002 (JD 420) and the increase in NO_3^- concentration thereafter. In the 30-60 cm layer, the model simulated NO_3^- leaching from the top layer in the January-March period (JD 387-447), and was more consistent with the measurements (Fig. 12 B). The model simulated some NO_3^- leaching to lower layers after the heavy February rains (Fig. 12 C and D). However, after this event NO_3^- concentration did not increase below 60 cm depth. This result could not be due to the model default as the PASTIS model has already simulated correct NO_3^- concentration in the deep vadose zone in earlier studies (Garnier *et al.*, 2001; Garnier *et al.*, 2003). There was no water leaching to the groundwater. It would therefore appear that some biological process have not been taken into account. Denitrification in the 0-60 cm might prevent NO_3^- leaching. However, this would imply more N_2O emission than the measured values, since almost 300 kg N ha^{-1} was leached from the 0-30 cm layer during the February rains.

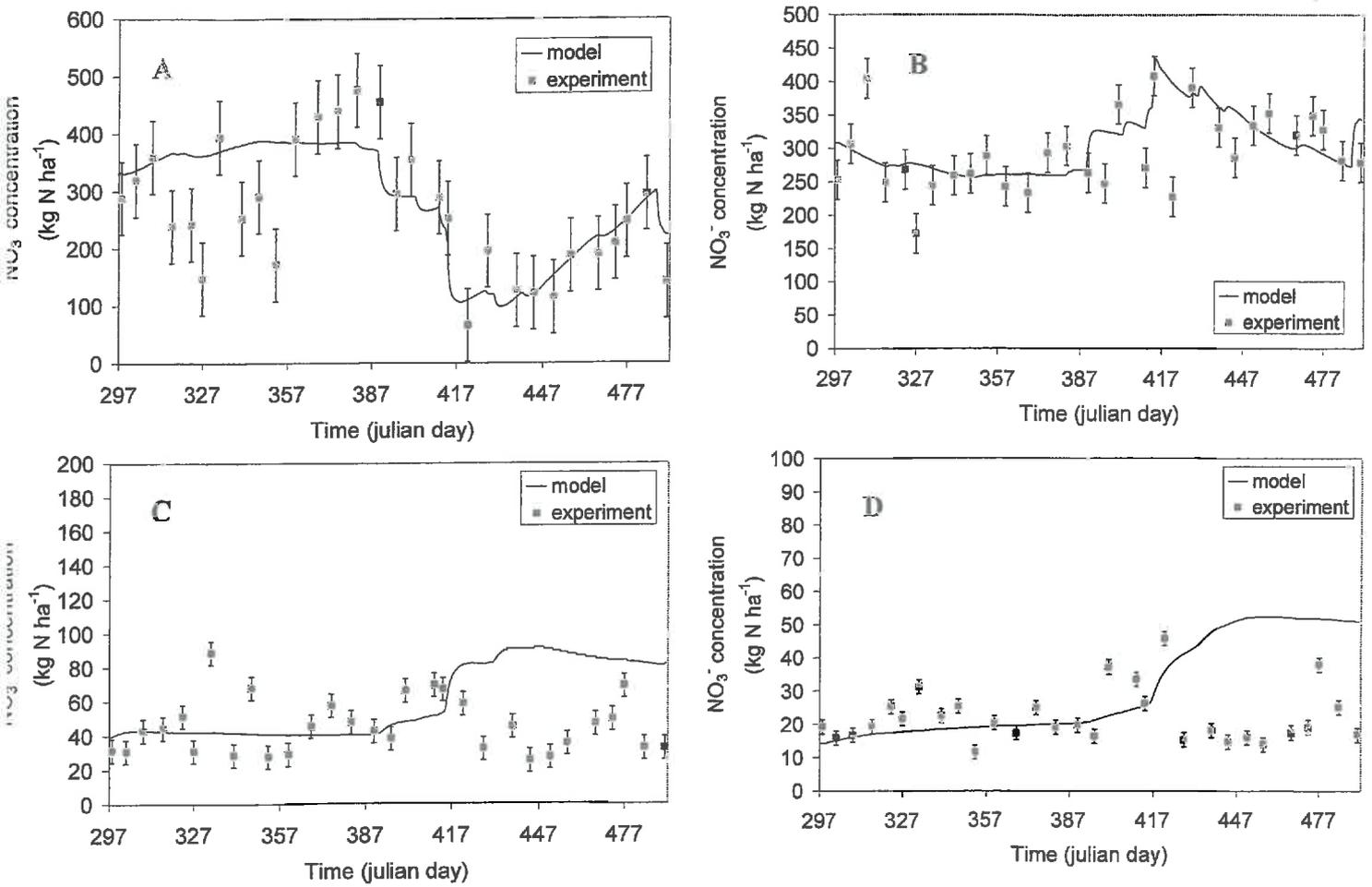


Figure 12: NO_3^- amounts in 0-30 cm (A), 30-60 cm (B), 120-150 cm (C), and 180-210 cm (D) layers during the experiment. Bars represent standard deviation.

Denitrification with N_2 as terminal product was a possibility, since no N_2O increase was observed in the profile. Another assumption should be NO_3^- storage within the microbial-biomass that could later be partially denitrified. Ellis *et al.* (1996) observed a $330 \text{ kg } NO_3^- \text{-N ha}^{-1}$ disappearance after 2 hours incubation under anaerobic conditions, that could be stored by both denitrifiers and micro-organisms capable of autotrophic denitrification, leading to an underestimate of potential gaseous N loss.

4. Conclusion

We incorporated a gas transport module, that combine the dusty gas model to describe gas diffusion to the Darcy's law to describe gas convection, into the model PASTIS. Model's simulations for water, heat, NO_3^- , CO_2 and N_2O were compared with measurements obtained from a 7-month field experiment carried out from autumn to spring after crop residue incorporation into the soil. Model's simulations for water flow and heat transport agree with good agreement with measurements. It also seemed that CO_2 production by the biomass decomposing crop residues was overestimated unless the accessibility of the substrate (DOC adsorption on solids) was reduced and the zymogenous biomass death during the frost period was taken into account. The model correctly reproduced the decomposition of crop residues. Our simple approach to N_2O emissions did not allow us to describe precisely local anoxic conditions favouring denitrifying conditions. Nitrate amounts were correctly reproduced in the 0-30 cm and 30-60 cm soil layers. Deeper in the profile, measured NO_3^- amounts were much lower than in top layers and did not vary whereas the model predicted an increase in NO_3^- at depth due to leaching from the top layers. This point leaves a question open, as large amounts of NO_3^- seemed to have disappeared in the 90-120 cm layer and below. Denitrification with N_2 as terminal product is a possibility since no N_2O increase was observed in the profile and suggested that N_2O emission was limited to the first 30 cm. NO_3^- storage by bacteria under anoxic condition is another possibility. Simulations showed that gas production in deeper layers had to be posited to correctly reproduce gas concentration in the soil atmosphere and fluxes to the atmosphere. Measurements showed that the quality of the DOC changed with time and depth (Cannavo *et al.*, 2003b). Predicting these changes and connecting them with respiration and possibly denitrification seems a key point for improving our understanding of the fate of N and C in deep soil layers and for improving our estimates of the amounts reaching the ground water.

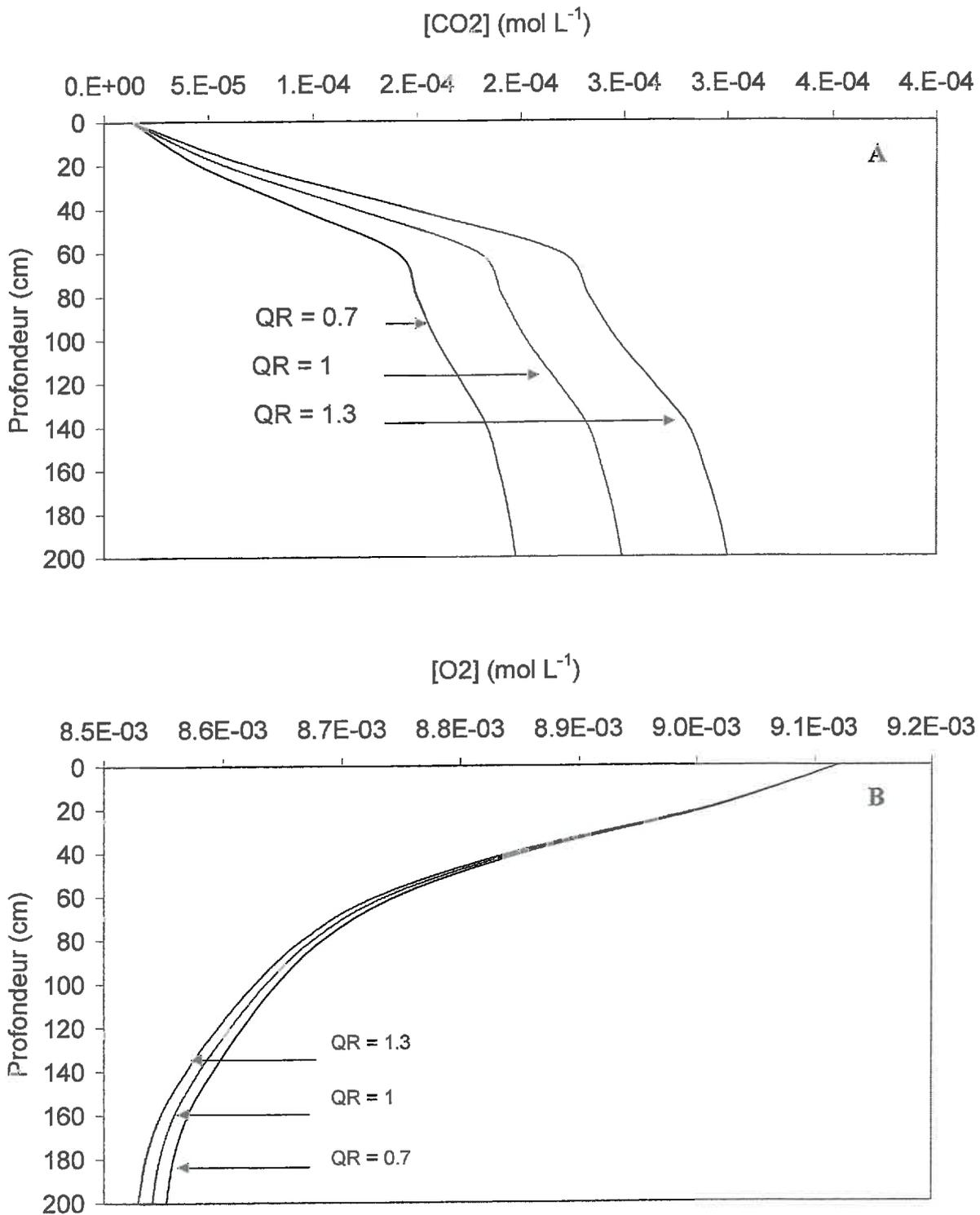


Figure 13 : Sensibilité du modèle au quotient respiratoire QR pour prédire les concentrations en CO_2 (A) et O_2 (B) dans le profil de sol (11 novembre 2001 - JJ 315)

5. Données complémentaires sur la modélisation

Nous désirons apporter des informations complémentaires présentant notre raisonnement sur le cheminement de la modélisation des concentrations en CO₂ et N₂O dans le sol. En effet, durant la phase de modélisation, il a fallu tester différentes variables afin d'évaluer leur effet sur les paramètres étudiés. Ainsi, dans cette discussion vont être présentés l'influence des paramètres suivants sur la simulation :

- Test de sensibilité du modèle au quotient respiratoire (QR) et à WFPS,
- Profondeur d'enfouissement des résidus,
- Valeur du facteur de décomposition K_{MZ} par la biomasse zymogène,
- Prise en compte de la respiration mesurée sur au laboratoire et/ou de la respiration simulée par le modèle CANTIS.

5.1 Effets du quotient respiratoire sur les profils de CO₂ et de O₂, et de WFPS sur la concentration en N₂O

Nous avons étudié l'influence du quotient respiratoire QR sur les profils de concentration en O₂ et en CO₂. Le quotient respiratoire correspond au ratio entre la production de CO₂ et la consommation en O₂ durant l'activité respiratoire aérobie microbienne. Trois valeurs de QR ont été testées : 0.7, 1 et 1.3, sachant que QR varie entre 0.7 et 1.3 (Forcier *et al.*, 1987). La valeur de QR dépend de la nature des substrats organiques assimilés par les micro-organismes du sol (Kader *et al.*, 1989). Quand les lipides sont métabolisés, QR est inférieur à 1 (Kader, 1987) alors que les protides ont un QR plus grand que 1 (Henig, 1972).

Le test de sensibilité a été réalisé à partir de la simulation sur toute la période expérimentale, sans activer le module CANTIS dans l'horizon 0-30, où une activité respiratoire aérobie adéquate a été imposée. La sensibilité du modèle au QR dans le profil de sol est présenté à une date arbitraire (11 novembre 2001, JJ 315). La consommation de O₂ est restée fixe alors que la production de CO₂ a été modifiée pour obtenir les valeurs de QR testées. QR a eu un effet significatif sur les profils de concentration en CO₂ (**figure 13 A**). La concentration en CO₂ augmente quand la valeur de QR croît. L'augmentation de QR diminue légèrement la concentration en O₂, ce dernier étant repoussé vers l'atmosphère en raison de l'augmentation de concentration en CO₂ (**figure 13 B**), sachant que la valeur d'activité de consommation de O₂ est restée la même dans le modèle.

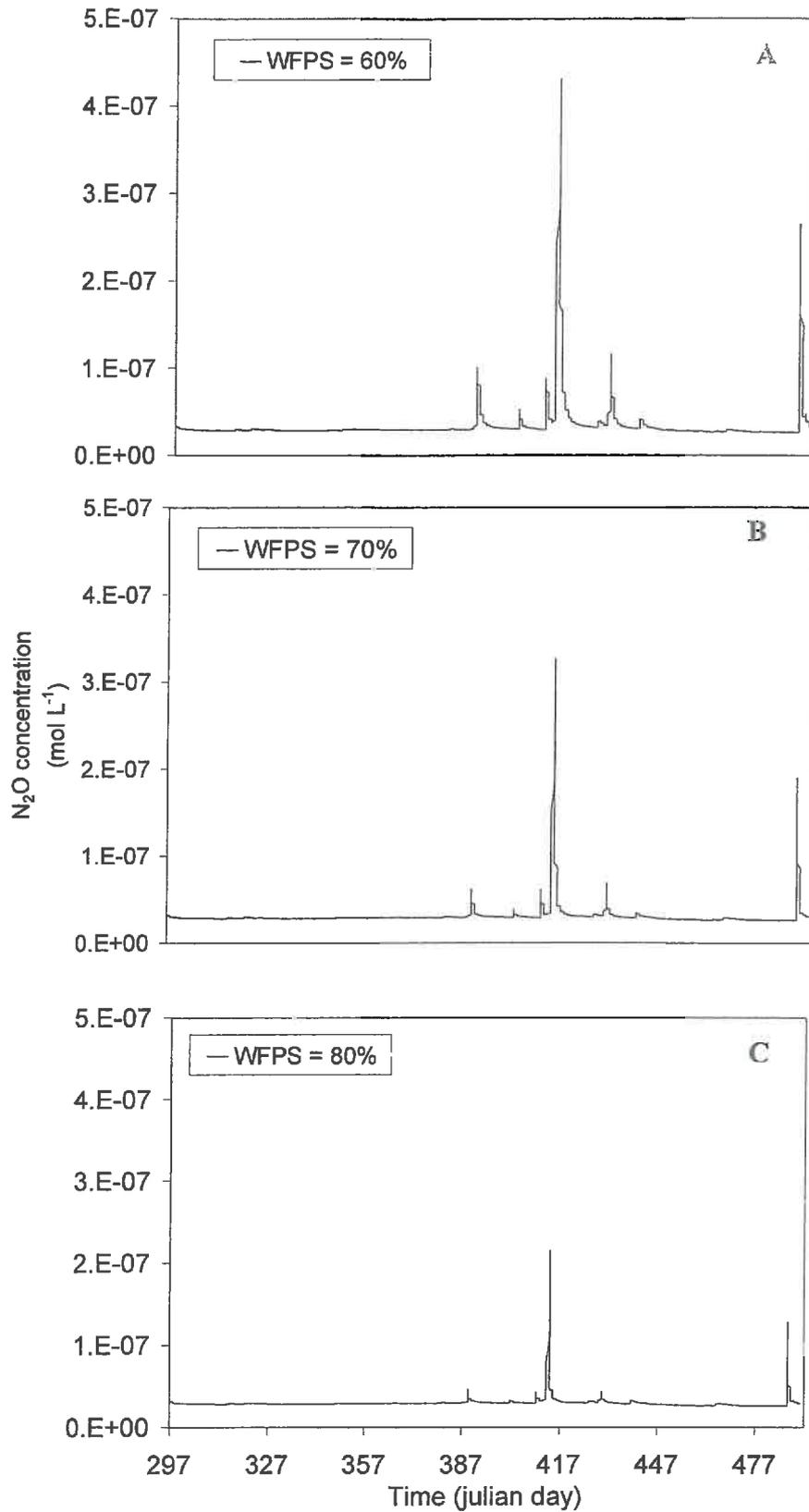


Figure 14 : Sensibilité du modèle à la valeur de l'espace poral occupé par l'eau (WFPS) pour prédire les variations saisonnières de la concentration en N₂O à 20 cm de profondeur (A: 60%, B: 70%, C: 80%).

Il est difficile d'estimer le quotient respiratoire dans le sol, sachant que la matière organique est un mélange complexe de composés (Herbert et Bertsch, 1995). Généralement, on considère que les valeurs de QR dans le sol sont entre 0.9 et 1.1. Il était nécessaire de faire ce test de sensibilité afin d'avoir une idée des valeurs extrêmes des concentrations en CO₂ dans le profil de sol. Ces résultats ont permis de fixer le quotient respiratoire à la valeur 1 pour la simulation des concentrations en gaz

Nous avons également étudié l'influence du seuil de teneur en eau pour que la dénitrification soit effective. Trois valeurs de WFPS ont été testées, en simulant l'ensemble de l'expérimentation, et nous avons observé leurs effets sur les émissions de N₂O à 20 cm de profondeur. Ces trois valeurs sont 60, 70 et 80%. Ces valeurs sont plus faibles que celles proposées par d'autres auteurs (Linn et Doran, 1984; Franzluebbers, 1999) car nous avons vu que dans nos conditions expérimentales des conditions anoxiques pouvaient s'établir à des valeurs plus faibles que celles déjà publiées (chapitre 2).

Le modèle CANTIS était activé dans la couche 0-30 cm et les respirations aérobies potentielles pondérées étaient activées dans les autres couches de sol. Les concentrations en N₂O à 20 cm de profondeur étaient significativement différentes selon la valeur de WFPS (figure 14). Pour une valeur de 80%, des pics de N₂O ne sont pas apparus à certaines dates. C'était le cas le 5 février (JJ 401) et le 14 mars 2002 (JJ 438), après des pluies de 15 et 17 mm, respectivement. L'émission cumulée de N₂O vers l'atmosphère durant l'expérimentation de 196 jours a varié et était de 1.0, 0.86 et 0.80 kg N-N₂O ha⁻¹ pour des valeurs de WFPS respectives de 60, 70 et 80%. Nous ne pouvions pas utiliser un seuil de WFPS de 80% pour la dénitrification dans nos simulations puisque certains pics observés lors des expérimentations n'apparaissaient pas. Ainsi, nous avons choisi la valeur de 70% comme seuil de dénitrification.

5.2 Effet de la profondeur d'enfouissement des résidus

Les résidus de maïs ont été enfouis *in situ* jusqu'à 20 cm de profondeur. Cependant, on peut s'attendre à des variations de la profondeur d'enfouissement qui peuvent s'expliquer par les défauts d'incorporation de ces résidus par l'outil utilisé par l'agriculteur. Ainsi, on a voulu savoir si la profondeur d'enfouissement des résidus avait un impact, notamment sur la quantité de biomasse et la concentration en CO₂ dans l'horizon de surface.

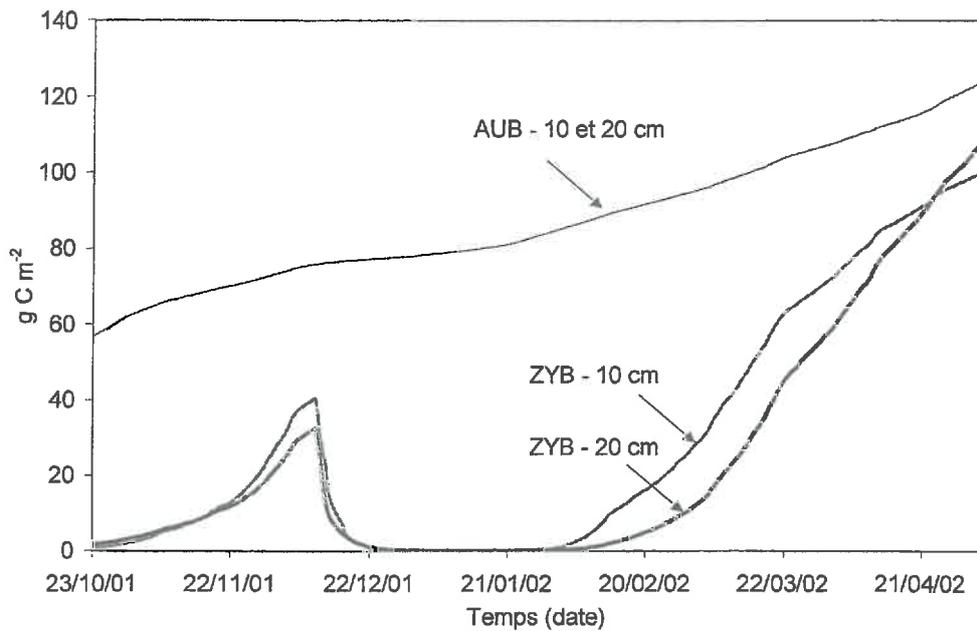


Figure 15 : Effet de la profondeur d'enfouissement des résidus sur la quantité de biomasse C zymogène (ZYB) et autochtone (AUB) dans l'horizon 0-30

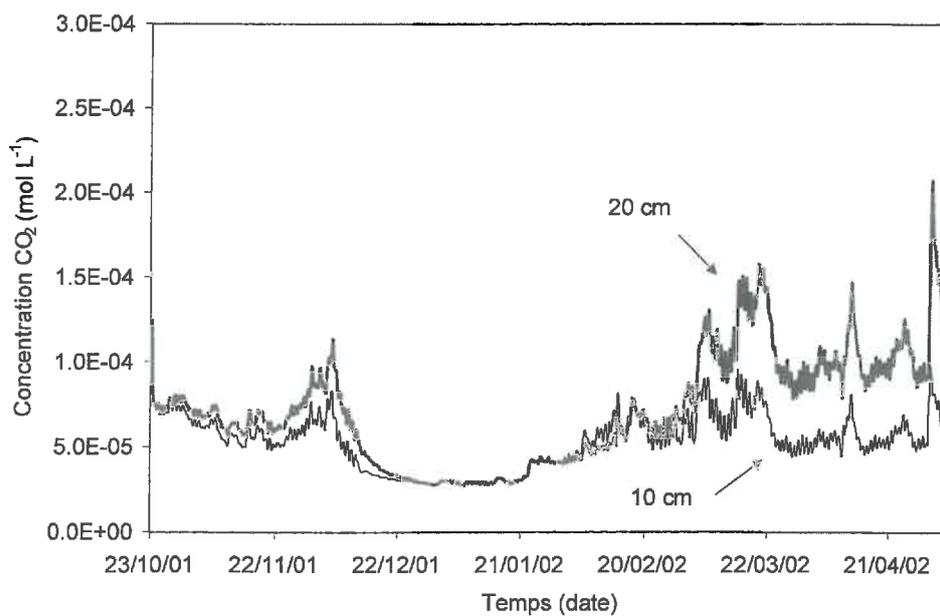


Figure 16 : Effet de la profondeur d'enfouissement des résidus sur la concentration en CO₂ à 20 cm de profondeur

Nous avons ainsi réalisé deux simulations, l'une avec prise en compte d'un enfouissement à 10 cm profondeur, l'autre à 20 cm de profondeur. L'enfouissement des résidus à 10 cm de profondeur conduit à multiplier par 2 la quantité de matière organique fraîche dans la couche 0-10 cm du sol, par rapport à un enfouissement jusqu'à 20 cm de profondeur. De plus, la profondeur d'enfouissement des résidus correspond à la profondeur jusqu'à laquelle se répartit la biomasse zymogène. L'augmentation de teneur en matière organique a induit une légère augmentation du pool de biomasse zymogène observé à la **figure 15**. Il existe une différence significative entre le 23 novembre et le 16 décembre 2001, alors qu'au sortir de l'hiver, la biomasse zymogène augmente plus précocement dans le cas d'un enfouissement à 10 cm de profondeur. Ceci résulte de l'effet thermique en l'absence de limitation par l'azote. Le sol se réchauffe plus vite sur 10 cm que sur 20 cm de profondeur, ce qui explique le déphasage au moment de l'augmentation de la biomasse après l'hiver selon la profondeur d'enfouissement. Les concentrations en CO₂ sont plus faibles dans le cas d'un enfouissement de résidus à 10 cm de profondeur (**figure 16**). Ce résultat s'explique par l'effet physique de diffusion des gaz vers l'atmosphère plus rapide dans les 10 premiers centimètres de profondeur que dans les 20 premiers. La biomasse autochtone n'a pas été affectée par la profondeur d'enfouissement.

Par conséquent, ces résultats montrent que la profondeur de l'enfouissement des résidus a un impact significatif sur le cycle des nutriments et qu'elle représente un facteur de variabilité de la concentration en CO₂ dans le sol.

5.3 Effet du facteur de décomposition K_{MZ}

Il a été observé une forte dépendance entre la valeur de K_{MZ} et la quantité initiale de biomasse zymogène, déjà remarqué par Garnier *et al.* (2003). Le facteur de décomposition K_{MZ} permet de calculer la vitesse de décomposition de la matière organique fraîche. Plus il est faible, plus la vitesse de décomposition augmente. Ce facteur peut être alors indirectement lié à la taille des résidus de maïs. Ces résidus seront d'autant plus vite décomposés qu'ils seront de taille faible. On rappelle l'équation de la vitesse de décomposition de la matière organique fraîche (FOM) par la biomasse zymogène (ZYB) (Garnier *et al.*, 2001):

$$\frac{dC_i}{dt} = -k_i \cdot C_i \cdot \frac{B_z}{K_{MZ} + B_z} \cdot f_T \cdot f_W \cdot f_N$$

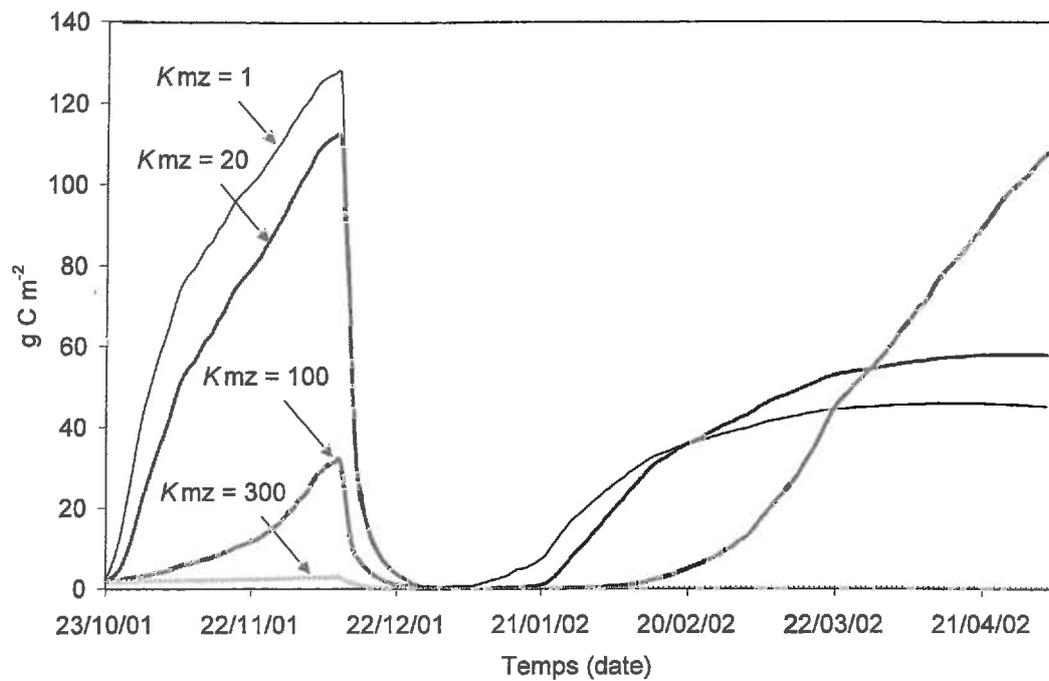


Figure 17 : effet de la valeur de K_{mz} sur la quantité de biomasse zymogène dans l'horizon 0-30 cm

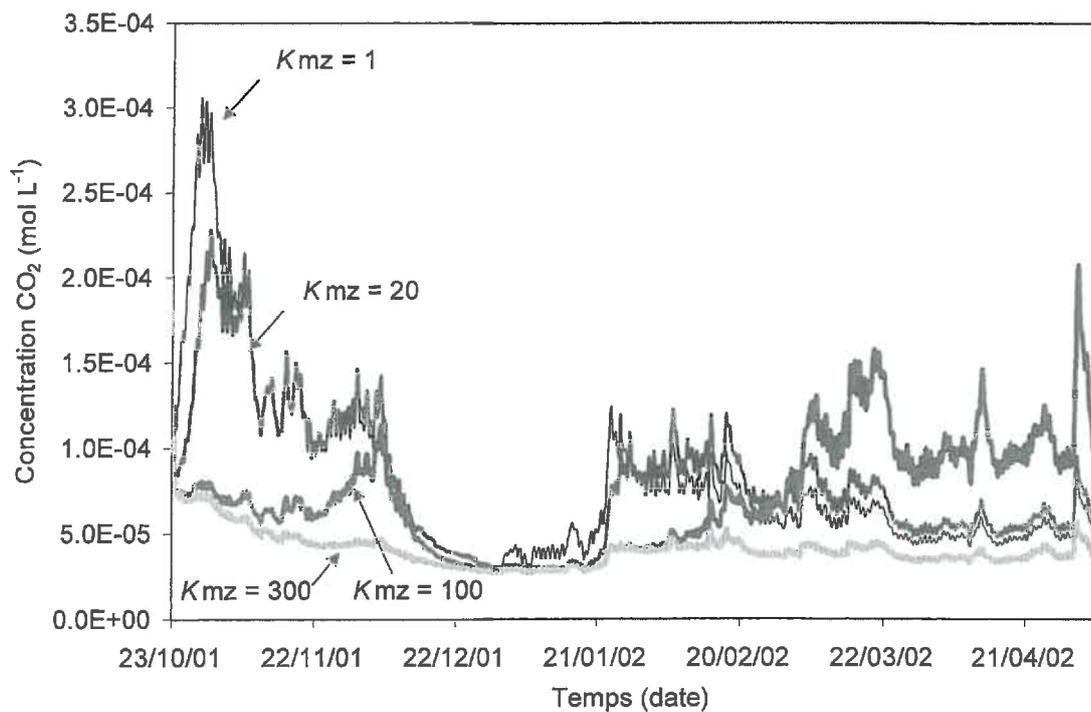


Figure 18 : Effet de la valeur de K_{mz} sur la concentration en CO_2 à 20 cm de profondeur

avec C_i = teneur en carbone dans FOM ou SOL, k_i = constante de vitesse de décomposition de FOM ou SOL, B_Z = teneur en carbone de ZYB, K_{MZ} = facteur de décomposition relié à la taille de ZYB, et f_N = facteur de limitation en azote.

D'après cette relation, afin de conserver une vitesse de décomposition initiale constante, si la valeur de K_{MZ} augmente, alors il faut également que la valeur initiale de la ZYB augmente. Un test de sensibilité du modèle à K_{MZ} a été réalisé avec une valeur initiale de biomasse zymogène de 10 g C.m^{-2} (Figure 17). Lorsque K_{MZ} vaut 1 ou 20, l'accroissement de la biomasse zymogène débute immédiatement après l'enfouissement des résidus. Ces derniers sont suffisamment de petite taille pour être décomposés facilement. En revanche, quand K_{MZ} vaut 100, le pic de quantité de biomasse n'est atteint que bien plus tard, pendant l'hiver. Lorsque K_{MZ} vaut 300, la quantité de biomasse demeure très faible. Plus la valeur de K_{MZ} est grande plus le temps nécessaire à la biomasse zymogène pour décomposer les résidus est grand. Au sortir de l'hiver, plus K_{MZ} est petit, plus la reprise de croissance de la biomasse zymogène est précoce, et moins la quantité de biomasse est importante à la fin de l'expérimentation, en raison du stade plus avancé de décomposition des résidus avant l'hiver. L'effet de la valeur de K_{MZ} sur la biomasse zymogène est automatiquement reproduit sur la concentration en CO_2 (figure 18). Plus le résidu est de petite taille, plus la concentration en CO_2 semble être élevée. Parallèlement, lorsque $K_{MZ} = 100$ et après la période de froid, la concentration en CO_2 est plus conséquente car les résidus ont été moins dégradés auparavant.

Au démarrage de l'expérimentation, la concentration en CO_2 à 20 cm de profondeur a permis d'exclure dans le modèle les valeurs de K_{MZ} de 1 et 20 où un fort pic de CO_2 a été simulé (figure 18). De même, un démarrage de décomposition très tardif des résidus ne peut être envisagé puisque le suivi de la diminution de masse sèche des résidus installés *in situ* dans des colonnes a débuté dès l'enfouissement des résidus dans le sol. Par conséquent, la valeur de $K_{MZ} = 100$ a été retenue pour les simulations. Ainsi, la taille des résidus, en plus de la profondeur d'enfouissement des résidus, est un paramètre additionnel de variabilité de concentration en CO_2 dans le sol.

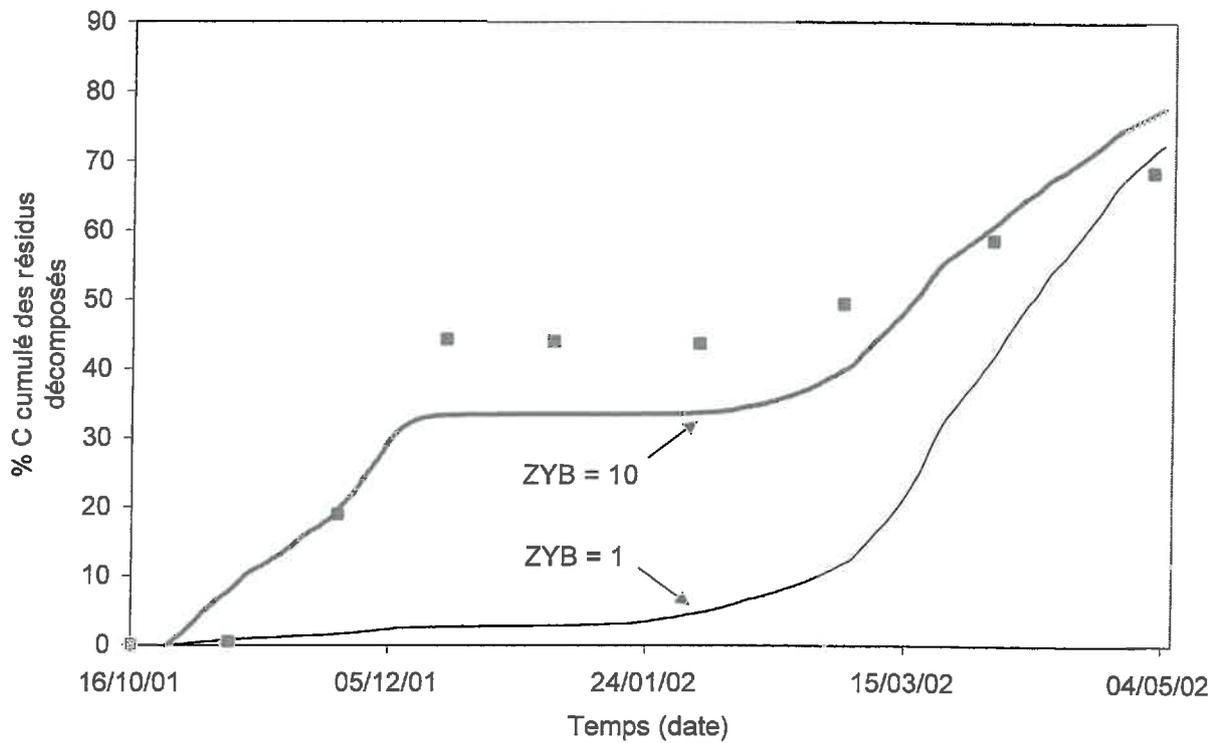


Figure 19 : Comparaison modèle-expérience du cumul de décomposition des résidus de maïs lorsque la quantité de biomasse initiale vaut 1 et 10 g C m⁻²

Les expérimentations de minéralisation des résidus réalisées à Reims, dans le but de déterminer les paramètres du modèle CANTIS, ont été faites pour des résidus de taille de 1 mm. Une valeur initiale de biomasse zymogène de 1 g C m^{-2} était alors fixée dans le modèle PASTIS. La **figure 19** présente la quantité cumulée de C des résidus de maïs décomposée simulée par le modèle. Il apparaît clairement qu'une valeur initiale de ZYB de 1 g C m^{-2} est insuffisante pour refléter la réalité du terrain. Les résidus enfouis *in situ* étaient de taille bien plus importante (3-4 cm) que ceux étudiés en laboratoire. D'où la valeur de K_{MZ} de 100, plutôt qu'une plus faible valeur. Ceci a donc conduit à élever la valeur initiale de la ZYB à 10 g C m^{-2} pour s'approcher des conditions *in situ*.

5.4 Effet de la respiration

Dans ce paragraphe, est présenté l'intérêt de la prise en compte d'à la fois la respiration microbienne générée par le modèle CANTIS, mais aussi de l'activité respiratoire aérobie potentielle mesurée au laboratoire. Toutefois, il va être démontré que seule une fraction de ces activités potentielles, et non la totalité, doit être utilisée.

5.4.1 Respiration avec CANTIS uniquement

Nous avons fait une simulation avec uniquement la respiration microbienne en surface générée par le modèle CANTIS. D'après la **figure 20**, on observe que le modèle sous-estime les concentrations en CO_2 aux différentes profondeurs présentées. Cette sous-estimation est de plus en plus forte avec la profondeur. Ce résultat montre que la respiration aérobie générée par le modèle CANTIS ne suffit pas pour simuler les concentrations de CO_2 dans tout le profil. L'écart montre qu'il y a du CO_2 produit ailleurs. Il est donc nécessaire de prendre en compte la respiration aérobie dans les horizons sous-jacents.

5.4.2 Respiration mesurée au laboratoire

Nous avons fait une simulation sans utiliser le module CANTIS et en imposant les activités respiratoires aérobies potentielles mesurées au laboratoire dans les différents horizons du sol. Il apparaît que ces activités potentielles sont beaucoup trop fortes pour restituer les concentrations observées en CO_2 (**figure 21**).

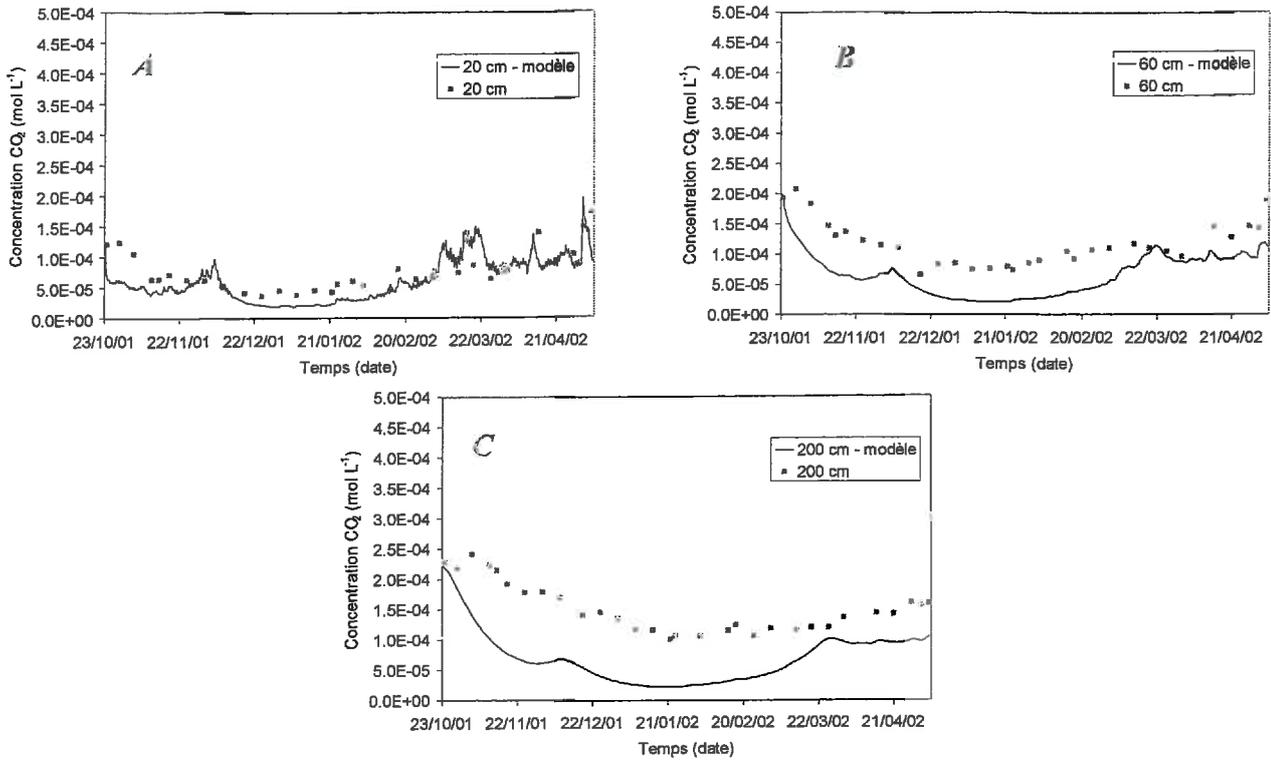


Figure 20 : Simulation des concentrations en CO₂, avec le modèle CANTIS uniquement, à 20 (A), 60 (B) et 200 (C) cm de profondeur

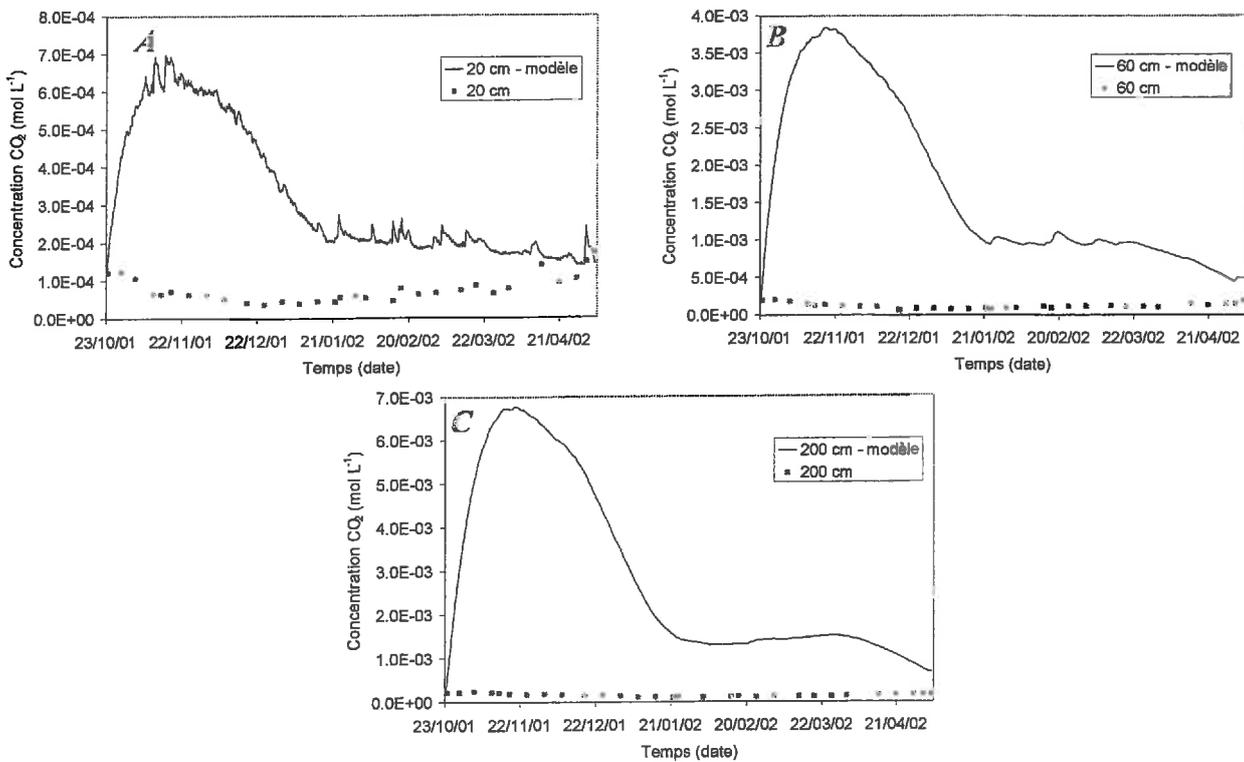


Figure 21 : Simulation des concentrations en CO₂, avec prise en compte des activités respiratoire aérobie potentielle dans tout le profil de sol, à 20 (A), 60 (B) et 200 (C) cm de profondeur

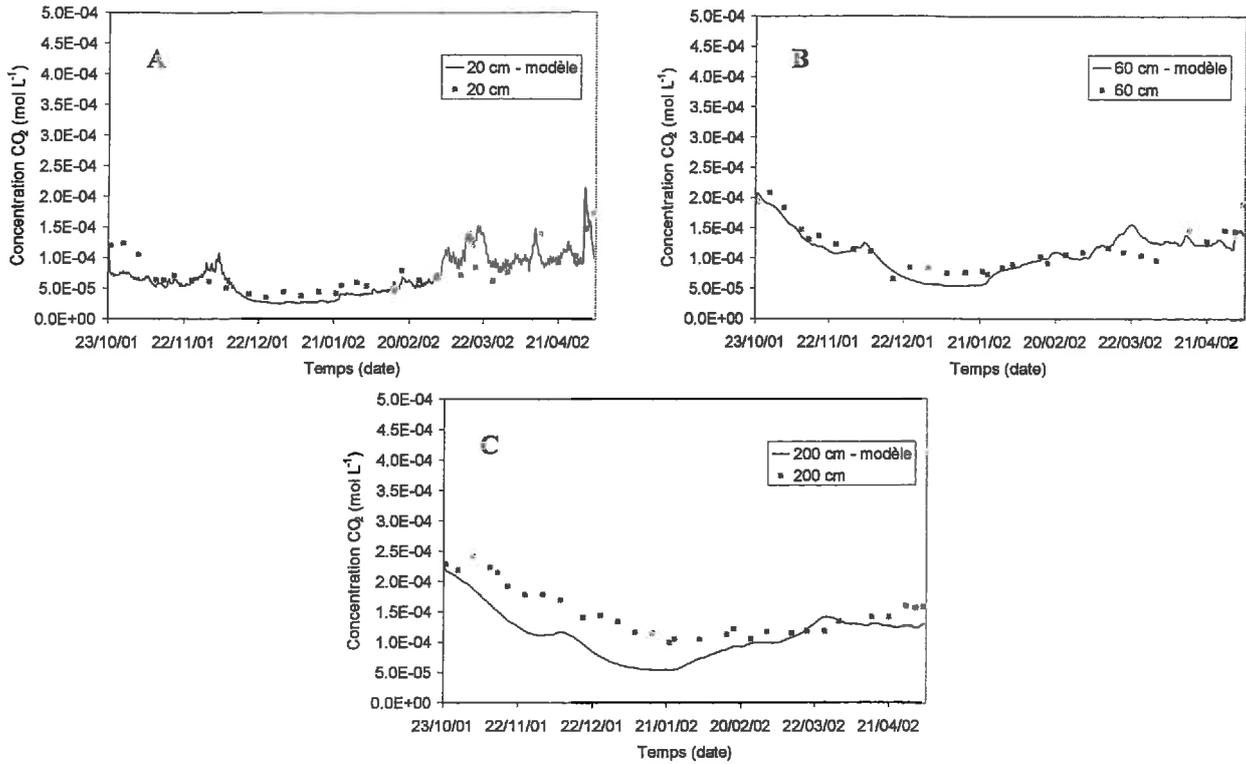


Figure 22 : Simulation des concentrations en CO₂, avec activation du modèle CANTIS dans l'horizon 0-30 et prise en compte de l'activité respiratoire aérobie potentielle dans l'horizon 30-60, à 20 (A), 60 (B) et 200 (C) cm de profondeur

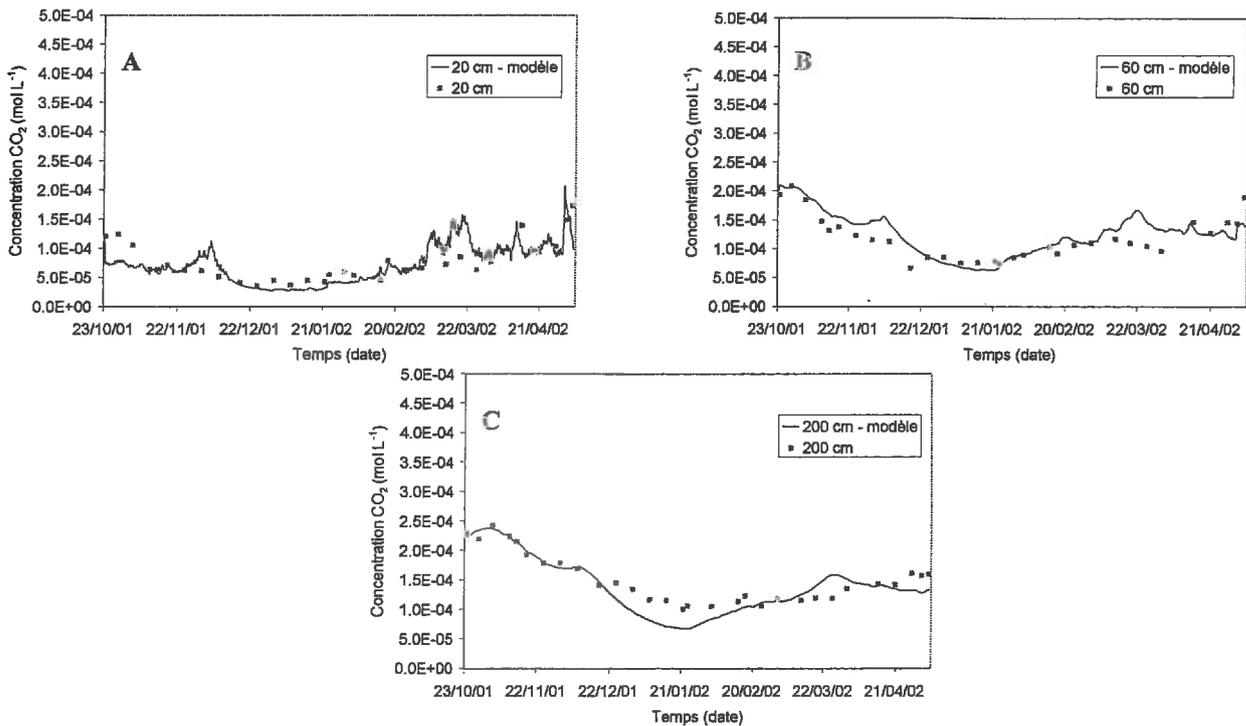


Figure 23 : Simulation des concentrations en CO₂, avec activation du modèle CANTIS dans l'horizon 0-30 et prise en compte de l'activité respiratoire aérobie potentielle dans les horizons inférieurs, à 20 (A), 60 (B) et 200 (C) cm de profondeur

Le modèle surestime largement les valeurs expérimentales, jusqu'à 35 fois trop à 200 cm de profondeur. Ces résultats montrent que les activités potentielles, bien qu'elles soient corrigées avec la température et l'humidité du sol, sont trop fortes. Une raison probable est la modification des propriétés du sol entre le moment de son prélèvement *in situ* et le moment de son analyse au laboratoire. Notamment, la rupture physique du sol en agrégats lors du tamisage a pu augmenter la biodisponibilité du carbone, rendant les activités respiratoire aérobie plus importantes que dans un sol non tamisé (Ashman *et al.*, 2003). C'est la raison pour laquelle il est apparu nécessaire de ne prendre en compte qu'une fraction de ces activités potentielles. En revanche, dans l'horizon de surface il est préférable de conserver la respiration microbienne générée par le modèle CANTIS car ce modèle prend en compte les cinétiques de dégradation des différents pools de matière organique, ce que ne fait pas la mesure au laboratoire des activités potentielles.

5.4.3 Ajustement des respirations

Pour l'ajustement des respirations, nous avons procédé par étapes. Tout d'abord, nous avons pris en compte la respiration microbienne générée par CANTIS, ainsi que l'activité respiratoire aérobie potentielle mesurée dans l'horizon 30-60, avec un facteur de correction de 0.23 fixé dans le modèle pour obtenir la meilleure restitution possible. La **figure 22** montre qu'à 20 et 60 cm de profondeur, les concentrations en CO₂ simulées par le modèle se rapprochent sensiblement des valeurs expérimentales. En revanche, plus profondément à 200 cm de profondeur, le modèle sous-estime ces concentrations. Ainsi, on a pris en compte l'activité respiratoire aérobie potentielle dans les horizons sous-jacents, avec un facteur de correction de 0.01, suffisant pour simuler correctement les concentrations en CO₂ à toute profondeur du profil de sol (**figure 23**). Par conséquent, la nécessité de prendre en compte l'activité respiratoire aérobie dans la zone non saturée profonde a été démontrée. La négliger conduit à mal estimer les transferts de gaz qui s'y produisent.

SYNTHESE DES RESULTATS

L'objectif de notre travail était d'étudier la dynamique des éléments carbone et azote couplée aux activités microbiennes dans la zone non saturée du sol. Ce travail a notamment eu pour but de mettre en avant l'intérêt de ne pas négliger les processus biologiques qui ont lieu dans la zone non saturée profonde. Pour cela, il a fallu entre autres comprendre les interactions entre les variations saisonnières des activités microbiennes et les concentrations en gaz du sol, et de modéliser certains processus biogéochimiques. Ce travail s'est découpé en deux parties, (1) une partie expérimentale menée sur une parcelle agricole du Comtat Venaissin (84), et (2) une partie de modélisation du transfert des gaz d'une part, et du transfert des éléments carbone et azote dans la zone non saturée du sol d'autre part. A l'issue de cette étude, nous avons :

- (1) identifié les processus responsables des variations saisonnières des activités microbiennes dans l'ensemble de la zone non saturée du sol,
- (2) montré la nécessité de prendre en compte les variations spatiales et temporelles de la qualité du carbone organique dissous dans les modèles de prédiction du transfert du carbone et de l'azote,
- (3) estimé les concentrations en CO_2 et N_2O dans l'atmosphère du sol, ainsi que les flux émis vers l'atmosphère à l'aide d'un modèle basé sur la loi des gaz poussière, incorporé dans le modèle PASTIS,
- (4) modélisé le transport et les transformations des éléments C et N dans l'ensemble de la zone non saturée grâce au modèle PASTIS.

I. Synthèse des principaux acquis

I.1. Expérimentation *in situ*

Un des points forts de ce travail de recherche a été d'étudier le plus précisément possible les processus biogéochimiques dans un profil de sol sur une période inter-culturelle. Durant cette expérimentation, un grand nombre de paramètres a été étudié afin de cerner au mieux le fonctionnement de la zone non saturée du sol : teneur en eau et température du sol, solution du sol (COD et NO_3^- essentiellement), atmosphère du sol (CO_2 , N_2O , ainsi que O_2 et N_2), coefficient de diffusion des gaz, pluviométrie - piézométrie, activités microbiennes (respiratoire aérobie et dénitrifiante), et dénombrement de bactéries hétérotrophes et dénitrifiantes.

L'étude expérimentale a permis de souligner de nombreux points. Tout d'abord, sans surprise les activités microbiennes mesurées *in situ* grâce aux concentrations en CO₂ et N₂O ont été fortement dépendantes des facteurs climatiques. Notamment, les concentrations en CO₂ étaient corrélées positivement avec la température du sol. En ce qui concerne les concentrations en N₂O, l'absence d'influence de la température, en raison d'une concentration continue tout au long de l'expérimentation, a suggéré une activité résiduelle dénitrifiante probablement générée par les champignons du sol, pouvant être tout aussi performants à basses températures. Toutefois, les cycles de gel et de dégel pendant l'hiver ont favorisé le processus de dénitrification. L'enfouissement des résidus a eu un effet immédiat sur les teneurs en gaz en surface du sol, où la stimulation de l'activité respiratoire puis de l'activité dénitrifiante ont induit une augmentation de concentration en CO₂ et N₂O respectivement. Les précipitations ont également eu un effet de blocage de la diffusion des gaz et les précipitations les plus importantes ont conduit à production de N₂O par dénitrification. Si le CO₂ a été produit dans tout le profil, le N₂O n'a été produit essentiellement qu'en surface, au vu des gradients de concentration. Ce constat a été confirmé par les activités respiratoires aérobie et dénitrifiante semi-potentielle mesurées au laboratoire. En effet, l'activité dénitrifiante semi-potentielle (ADSP) diminue fortement en-dessous de l'horizon de surface alors que l'activité respiratoire aérobie (ARA) peut rester homogène, voire décroître dans une moindre mesure, dans le profil de sol.

L'étude en laboratoire des activités microbiennes potentielles a permis de souligner l'effet non négligeable d'autres facteurs environnementaux. Dans la couche de surface du sol (0-30 cm), l'ARA et l'ADSP n'ont pas été influencés par les variations de teneur en COD. Toutefois, plus en profondeur, les quantités et variations de COD ont eu tendance à décroître, alors que les variations de l'ARA et de l'ADSP étaient significatives. La première hypothèse a été de supposer que la quantité de COD était un facteur limitant. Or en septembre et en décembre 2001, l'ARA était quasiment homogène dans tout le profil de sol, malgré les plus faibles quantités de COD avec la profondeur. Au cours du temps, l'ARA a diminué dans les horizons profonds où les teneurs en COD sont restées équivalentes. Il a été alors suggéré que la qualité du COD, plutôt que la quantité, en était la cause. Parallèlement, la corrélation entre l'ADSP et la teneur en COD semblait être beaucoup plus prononcée. Cependant, dans l'horizon profond, les variations d'ADSP étaient plus faibles. La communauté dénitrifiante appartenant à celle hétérotrophe ne peut donc être limitée par la teneur en COD. Un autre facteur devait être responsable de la forte baisse d'ADSP dans les horizons profonds. La diminution d'un facteur 100 du nombre de germes dénitrifiants ne pouvait pas expliquer à elle

seule la diminution d'un facteur de plus de 1000 de l'ADSP entre l'horizon 0-30 et l'horizon 100-160. La mesure des teneurs en NO_3^- dans le profil de sol a permis de montrer que dans les horizons profonds NO_3^- était un facteur limitant pour l'activité dénitrifiante.

L'analyse de la qualité du COD s'est donc avérée nécessaire afin de pouvoir établir une ou plusieurs relations avec les variations de l'activité respiratoire aérobie. Pour cela, la spectrofluorimétrie a été la technique d'analyse qualitative la mieux adaptée à nos échantillons. L'utilisation d'un indice d'humification HIX, déjà utilisé par d'autres auteurs, a permis de révéler une variation de la qualité du COD à l'échelle du profil. Celui-ci diminuait avec la profondeur, suggérant la prédominance de molécules fluorescentes de plus petite taille. Aux mois de février et de mai 2002, l'ARA diminue également avec la profondeur. Etant donné que très peu de COD a été lessivé jusqu'à l'horizon 100-160, les bactéries hétérotrophes ont dû se « contenter » du substrat organique présent. Durant le mois de septembre les racines des plants de maïs ont continué à produire des exsudats racinaires dans les couches profondes. Les racines et les exsudats ont été progressivement dégradés, devenant de plus en plus récalcitrants, d'où la baisse de l'ARA au cours du temps dans ces couches. Le suivi dans le temps de HIX et dans les horizons profonds a montré des variations significatives de la qualité du COD alors que la teneur en COD restait constante. Il a été difficile cependant de relier les variations de HIX aux variations de l'ARA dans l'horizon profond en raison du faible nombre de couples d'observation. Cependant il apparaît clairement que les variations de l'ARA peuvent être expliquées par les variations de HIX dans les horizons profonds.

I.2. Modélisation des transformations de C et N

Le couplage du module de transport des gaz au modèle PASTIS a permis de simuler de façon satisfaisante certains processus biogéochimiques qui ont opéré dans le profil de sol étudié. La simulation des concentrations en CO_2 dans le profil de sol a souligné l'intérêt de prendre en compte le phénomène physique d'adsorption du COD et la mort d'une partie de la biomasse zymogène durant la phase de gel du sol. Toutefois, la modélisation du transport des gaz a montré des problèmes possibles ou des lacunes dans la simulation de certains processus biologiques. C'est le cas notamment de la prise en compte de la mortalité de la biomasse zymogène pendant la phase de gel. Ce point soulève la question de savoir si dans la réalité cela est possible, car nous n'avons pas étudié cette mortalité.

D'autres processus physiques jouant sur les processus biologiques n'ont pas été pris en compte par le modèle. C'est le cas des cycles quotidiens de gel/dégel où les pics de N_2O produits par la dénitrification n'ont pu être simulés. C'est le cas également de la phase d'enfouissement des résidus où l'augmentation de N_2O observée *in situ* n'a pu être simulée, contrairement à l'augmentation de CO_2 . Dans ce cas, il faut souligner la nécessité de passer à des modèles prenant en compte l'hétérogénéité du milieu, notamment en cas de présence de matière organique particulaire engendrant des zones de respiration intense. De plus, les pics de N_2O lors des pluies ont bien été simulés par le modèle, avec toutefois une surestimation. Une des raisons pouvant expliquer ces défauts de simulation est la fonction de dénitrification utilisée dans le modèle. Cette fonction tirée du modèle NEMIS prend en compte notamment la notion de WFPS. Il a été déjà montré que le seuil de WFPS favorisant la dénitrification était variable selon le type de sol et était insuffisant pour une description fine des sites locaux d'anoxie dans le sol. Ainsi, le module de dénitrification n'a pas été assez sensible à certains des processus biologiques. Le modèle PASTIS peut utiliser dans son module de dénitrification la notion de sol sous forme d'agrégats et hétérogène pour les transferts de O_2 . La prise en compte de la caractéristique du milieu aurait pu améliorer la simulation des concentrations en N_2O . Ceci n'a pu être réalisé dans le cadre de ce travail faute d'avoir réalisé une étude sur les agrégats de notre profil de sol. Enfin, les concentrations en NO_3^- en-dessous de 60 cm de profondeur ont été mal restituées par le modèle. En effet, les pluies importantes qui ont eu lieu au mois de février 2002 ont conduit le modèle à lessiver NO_3^- jusque dans les horizons les plus profonds, alors que les points de mesure sur le terrain ne montrent pas d'augmentation de concentration en NO_3^- dans ces couches. Dans l'horizon 0-30 cm le modèle estime une perte de NO_3^- de l'ordre de 300 kg N ha^{-1} durant cette période, en accord avec les mesures *in situ*. L'absence d'augmentation de concentration en NO_3^- en-dessous de 60 cm de profondeur laisserait supposer que la dénitrification en est responsable. Cependant une telle perte de NO_3^- se serait traduite, en gardant la même valeur du ratio $N_2O/(N_2+N_2O)$, par des concentrations en N_2O beaucoup plus élevées que celles observées sur le terrain. Il a alors été émis comme hypothèse que la dénitrification, avec comme produit terminal N_2 , a pu s'opérer. La N_2O réductase n'a pas été quantifiée durant l'expérimentation et la question qui se pose est de savoir si elle était présente en quantité suffisante pour pouvoir expliquer ce résultat. Un marquage isotopique ^{15}N pourrait permettre de faire un bilan des espèces N en phase liquide et gazeuse, notamment, afin de mieux estimer les pertes de NO_3^- par dénitrification. Il est également possible qu'un stockage important de NO_3^- par les bactéries en condition anaérobie

puisse entre être la cause, nécessitant des études en laboratoire de leur capacité de stockage en fonction de l'état de saturation en eau du sol.

II. Contexte environnemental et agronomique

Le travaux de recherche menés dans le cadre de cette thèse sont inscrits dans la problématique de contamination des nappes en milieu agricole dans le Comtat Venaissin (84). L'avantage de cette étude est que les résultats acquis sont représentatifs de ce qui se passe réellement sur une parcelle agricole, gérée par l'exploitant. L'idée première était de travailler sur un sol où les risques transitoires d'anoxie, dus aux fluctuations du niveau du toit de la nappe, étaient les plus probables. Lors de la recherche du sol adéquat en mars 2001, notre choix s'était porté sur une parcelle agricole où le sol ne présentait pas à priori de fracturations, avec une texture relativement sableuse pour favoriser les écoulements de l'eau et des solutés vers la nappe. A cette époque, la nappe était à 1.60 m de profondeur, niveau atteint après un hiver très pluvieux. L'épaisseur de la zone non saturée nous semblait idéale pour nos expérimentations.

L'inconvénient majeur des expérimentations sur le terrain est la forte dépendance aux conditions climatiques. La période d'expérimentation s'est déroulée durant une année sèche, surtout au moment où les pluies sont les plus abondantes dans la région (octobre-décembre). Seule la période de janvier-mars 2002 nous a permis d'observer des lessivages importants. La nappe est restée à 2.50 m environ durant toute l'expérimentation, alors que nous avons pensé avoir suffisamment profondément instrumenté la zone non saturée du sol (2.20 m). Une saison plus humide, notamment dès le départ de l'expérimentation, nous aurait peut-être permis d'observer plus en détail le lessivage de composés organiques issus de la matière organique fraîchement enfouie. De plus, au niveau des gaz, nous aurions pu nous attendre à plus d'émissions de N_2O vers l'atmosphère par dénitrification en surface du sol, ainsi que plus en profondeur probablement, si le toit de la nappe s'était maintenu à 1.6-2.0 m de profondeur. Cette saison sèche a toutefois contribué à l'absence de lessivage de NO_3^- dans la nappe.

Par rapport aux problématiques environnementales et agronomiques, ce travail a permis de souligner l'importance de prendre en compte les phénomènes qui existent dans la zone non saturée profonde. Certes les activités microbiennes y sont plus faibles qu'en surface, mais elles sont non négligeables. Environ 15% du CO_2 produit dans le sol durant l'expérimentation étaient originaires des couches de sol au-delà de 60 cm de profondeur. De

plus, ces activités étaient fortement dépendantes des facteurs environnementaux. Notamment, le manque de NO_3^- dans la ZNS profonde, malgré les fortes quantités présentes en surface, a permis de limiter l'activité dénitrifiante potentielle. Il est fort probable que dans le cas d'une saison plus humide, ces activités potentielles auraient été rehaussées, ce qui aurait accru la limitation des risques de contamination des nappes. Aussi, dans les horizons profonds du sol, des variations en qualité et non en quantité du COD ont été observées et seraient responsables des variations de l'activité respiratoire aérobie. Ceci montre d'une part l'intérêt de ne pas négliger les activités microbiennes dans le sous-sol, et d'autre part confirme que les modèles de prédiction du devenir de C et N surestimaient les risques de contamination des nappes en NO_3^- . De plus, il a été montré qu'en surface du sol les émissions continues de N_2O par dénitrification contribuaient à polluer l'atmosphère. Sans tenir compte des événements pluvieux et autres processus biologiques, cette émission résiduelle conduit à une émission annuelle minimale d'environ $1.5 \text{ kg N-N}_2\text{O ha}^{-1}$. Cette quantité non négligeable s'explique principalement par les fortes teneurs en NO_3^- qui ont été mesurées en surface du sol. Ainsi, d'un côté l'atmosphère est soumise à un enrichissement des gaz à effet de serre, mais de l'autre côté, l'activité dénitrifiante limite la pollution de la nappe souterraine où la concentration en NO_3^- est en-dessous de la norme de potabilité.

La prise en compte des processus biogéochimiques dans le modèle PASTIS et dans toute la zone non saturée du sol étudié a permis d'affiner les prédictions du devenir de C et N et d'observer de nouvelles limites où le modèle doit être amélioré. Coupler les transports de gaz aux processus physiques et biologiques n'a à priori jamais été fait auparavant. L'apport du module de transport des gaz a une application très concrète pour l'environnement où il est possible d'estimer convenablement les émissions de gaz à effet de serre vers l'atmosphère.

III. Perspectives de ce travail

Les perspectives de recherche ouvertes par notre travail concernent l'aspect méthodologique et l'aspect modélisation.

III.1. Aspect méthodologique

Durant la phase expérimentale de la thèse, l'équipement sur le site pour le suivi des transferts hydrique et de chaleur a été suffisant pour la compréhension des processus physiques intégrés dans le modèle.

Le principal manque d'analyse durant l'expérimentation concerne l'étude des transferts de gaz. Le suivi des concentrations en gaz prélevé dans les capteurs a montré une certaine cohérence de part leur évolution en fonction des conditions environnementales. Cependant, dans l'optique d'être certain de la validité de ces concentrations, il aurait été nécessaire d'installer des enceintes à la surface du sol afin de mesurer en continu les flux de CO₂ et de N₂O émis vers l'atmosphère. Le suivi des flux de N₂O nous aurait notamment permis de mieux apprécier les émissions continues qui ont été observées dans l'horizon de surface. La mesure de ces flux aurait également été très utile afin de valider les flux calculés par le modèle. Toutefois, l'utilisation de ces enceintes impliquait une surcharge considérable de temps travail pour l'analyse par chromatographie et n'aurait pu être géré par une seule personne.

En ce qui concerne le transfert de soluté, une analyse de dispersion de l'ion bromure a été testée afin d'une part d'estimer le coefficient de dispersion pour la modélisation et d'autre part pour s'assurer de l'absence d'écoulements préférentiels. Malheureusement, le taux d'application (5 g Br.m⁻²) était trop faible pour être détecté dans les horizons sous-jacents à l'horizon 0-30. De plus, il n'a pas suffisamment plu pour observer un lessivage sensible dans les horizons profonds. Ceci étant, au vu des évolutions de la teneur en eau dans le profil de sol au cours de l'expérimentation et d'après le profil pédologique établi après ouverture d'une fosse le 26 février 2002, il apparaissait clairement que la structure du sol ne pouvait favoriser de tels écoulements.

Enfin, nous n'avons pas pu aller aussi loin dans l'étude qualitative du COD que nous l'aurions souhaité. Nous avons cependant trouvé un indice qualitatif qui va au-delà de la prise en compte du paramètre global du COD et qui montre l'importance de poursuivre les

recherches et de prendre en compte la qualité du COD. Nos échantillons étaient tels que l'on ne pouvait pas aller plus loin dans l'étude qualitative. Ils étaient très chargés en NO_3^- ce qui nous a empêché d'utiliser la spectrométrie UV. Les techniques de RMN, de pyrolyse et de spectrophotométrie IR n'étaient pas adaptées à nos échantillons peu concentrés en COD. Quand nous avons appris que la spectrométrie par fluorescence ne nécessitait pas de prétraitement de l'échantillon et que NO_3^- n'interagissait pas avec l'étude du COD, nous avons exploré cette piste qui s'est avérée très intéressante. Ces problèmes étaient propres à notre type de sol, mais il n'empêche que dans la ZNS profonde, les quantités de COD sont généralement faibles. Cette technique est très prometteuse car il sera possible d'identifier les groupements fonctionnels du COD à partir d'une faible quantité d'échantillon.

D'autres analyses plus ponctuelles auraient pu être réalisées. Tout d'abord, l'étude en laboratoire de la cinétique de minéralisation des éléments C et N - sans apport de résidus - dans les horizons inférieurs à la couche 0-30 nous aurait permis d'estimer la respiration microbienne dans la ZNS profonde. Ces résultats auraient alors été confrontés à nos mesures au laboratoire de l'activité respiratoire aérobie potentielle, afin de s'assurer de la validité de nos résultats. Ceci aurait peut-être permis d'expliquer la nécessité de tenir compte d'un facteur de réduction de 0.23 voire 0.01 pour l'activité respiratoire aérobie dans le modèle.

Ensuite, dans l'optique d'améliorer les simulations de N_2O trop simplistes avec le modèle NEMIS, il a été souligné de prendre en compte la structure du milieu étudié. Ceci est indispensable dans l'optique de mieux identifier les risques locaux d'anoxie, notamment en cas de stimulation de l'activité microbienne lors de l'enfouissement des résidus. Il est alors nécessaire de procéder à une analyse d'image des différentes couches du sol avec injection de résine, ainsi qu'à l'analyse de distribution des tailles d'agrégats par tamisage. Il aurait également fallu aller plus loin en poursuivant des analyses de dénitrification à l'échelle de l'agrégat, et en particulier l'analyse de la réduction de N_2O . Il n'a pas été possible de réaliser ce travail en raison des nombreuses autres analyses réalisées. De plus, le sol avait une structure très poreuse due à une forte teneur en calcaire, ce qui aurait pu rendre difficile la sélection des agrégats.

Il faudrait tester ce que devient la biomasse zymogène durant une période de gel prononcée. Est-ce qu'elle disparaît quasi totalement, comme on l'a supposé dans le modèle, ou bien quelle fraction est réellement détruite ? Pour cela des expériences au laboratoire sont nécessaires en imposant au sol des conditions de température semblables à celle observées sur le terrain ; à savoir une période où la biomasse croît, suivi d'une phase de gel où plusieurs

durées peuvent être testées, et enfin un réchauffement du sol où on observe à nouveau la reprise de croissance de la biomasse zymogène.

Enfin, se pose la question des techniques de dénombrement microbien pour la compréhension des variations des activités microbiennes. Nous avons utilisé la technique MPN pour avoir une estimation grossière du nombre de bactéries hétérotrophes et dénitrifiantes. Il a été démontré dans ce travail que ces deux pools de bactéries ne variaient pas de manière significative au cours des 7 mois d'expérimentation. En effet, ces pools restaient en place et étaient plus ou moins actifs selon les conditions environnementales. On pouvait s'attendre à ce résultat, ce qui suggère qu'une place trop importante a été consacrée pour ce type d'analyse. On se pose alors la question de savoir s'il ne vaudrait pas mieux se focaliser vers d'autres méthodes et pourquoi pas la mesure des variations d'activité enzymatique. Cette technique, appliquée notamment sur l'activité de la N_2O réductase, nous aurait permis d'aller plus en détail dans la compréhension des processus d'activation de la synthèse d'enzymes et peut-être résoudre le problème de disparition de NO_3^- lessivé au-delà de 30 cm de profondeur lors des fortes pluies de février.

Une dernière perspective méthodologique est plus portée sur les thématiques de recherche de l'équipe Couplage entre Transferts et Cycles Biogéochimiques et concerne le couplage entre la réduction biologique de NO_3^- et le cycle du fer. Des études réalisées sur l'horizon 0-30 du profil de sol ont mis en évidence l'effet des rouilles vertes non négligeable sur la dénitrification chimique. Ceci implique la poursuite de l'étude de cette interaction dans la zone non saturée profonde où concrètement les rouilles vertes sont susceptibles d'exister.

III.2. Aspect modélisation

Le modèle des gaz poussières intégré au modèle PASTIS a restitué correctement les concentrations de CO_2 et de N_2O dans le sol. La simulation des concentrations a été possible grâce, notamment, à la mesure du coefficient de diffusion gazeuse. Toutefois, la bonne restitution de ces concentrations ne permet pas d'affirmer que le module de transport des gaz fonctionnerait dans le cas d'autres expérimentations. On sait que le modèle est capable de bien simuler du point de vue physique le transport de l'eau et de la chaleur, mais on ne sait pas encore si du point de vue physique la diffusion des gaz dans le sol est bien restituée par le modèle. Dans le but de vérifier son bon fonctionnement, il faudrait à l'avenir tester la diffusion du gaz à une profondeur donnée suite à un choc de gaz. Par exemple, dans notre expérimentation, nous aurions pu envisager d'injecter dans le capteur d'atmosphère le plus

profond (200 cm) une quantité connue de gaz inerte et dosable en chromatographie, et de prélever à des pas de temps définis l'atmosphère du sol dans les cannes supérieures afin de suivre la diffusion du gaz inerte. On vérifie par la suite si le modèle est bien capable de représenter cette diffusion. Dans ce travail, on a fait confiance au modèle, sans pour autant vérifier son entière validité.

Le phénomène lié aux cycles quotidiens de gel et de dégel du sol en hiver doit pouvoir être intégré dans les modèles. Il s'agit en fait de relier ce phénomène aux conséquences sur la structure du sol, ce qui, indirectement, améliorerait la simulation des activités microbiennes.

Le carbone soluble simulé par le modèle CANTIS ne correspondait pas aux concentrations en COD mesurées sur le terrain. Les techniques d'extractions sont différentes pour ces 2 paramètres. Le COD est extrait à l'eau par agitation à 20°C, alors que le carbone soluble est extrait à l'eau à 100°C puis avec un détergent neutre toujours à 100°C. On utilise donc deux dénominations semblables pour deux techniques différentes. Il est alors nécessaire d'établir un lien entre ces deux paramètres grâce à un modèle. Ceci est primordial si on veut simuler correctement le déplacement du carbone dans le sol. Ce travail de thèse souligne l'intérêt d'aller plus en avant que le simple paramètre global de COD et de prendre en compte la qualité du COD dans la modélisation des activités enzymatiques dans la ZNS profonde. C'est le but ultime en particulier pour la modélisation du cycle du carbone et de l'azote dans la ZNS. Mais avant cela, de nombreux travaux de recherches vont être nécessaires. L'analyse du COD va être conduite sous deux thèmes : l'identification et la fonctionnalité du COD. L'identification du COD passe par la recherche d'indices de qualité tels que le HIX étudié ici, puis par l'identification des groupes fonctionnels grâce à la spectrofluorescence, et au final par l'identification des familles de composés, voire des composés. L'étude fonctionnelle du COD vise à analyser les processus de complexation, de métabolisme et d'adsorption. L'établissement de liens entre un composé donné du COD et ses capacités fonctionnelles permettra d'établir un modèle de transport détaillé des composés du COD dans la ZNS, à partir de l'identification qualitative du signal d'entrée (résidus végétaux, déchets, etc...) en surface du sol. Son couplage avec le modèle PASTIS permettra d'améliorer les prédictions de risque de contamination des nappes par NO_3^- .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abriola L. M., Fen C.-S., Reeves H. W., 1992.** Numerical simulation of unsteady organic vapor transport in porous media using the dusty gas model. In: *Subsurface contamination by immiscible fluids*. Weyer Ed., Balkema, Rotterdam, 195-202.
2. **Addiscott T. M., Bailey N. J., Bland G. J., Whitmore A. P., 1991** Simulation of nitrogen in soil winter wheat crops: a management model that makes the best use of limited information. *Fertil. Res.* 27, 305-312.
3. **Aiken G., Leenheer J., 1993.** Isolation and chemical characterization of dissolved and colloidal organic matter. *Chem. Ecol* 8, 135-151.
4. **Ajwa H. A., Tabatabai M. A., 1994.** Decomposition of different organic material in soils. *Biol. & Fert. of soils* 18, 175-182.
5. **Alvarez C. R., Alvarez R., Grigera M. S., Lavado R. S., 1998a.** Associations between organic matter fractions and the active soil biomass. *Soil Biol. & Biochem.* 30, 767-773.
6. **Alzaydi A. A., Moore C. A., Rai I. S., 1978.** Combine pressure and diffusional transport region flow of gases in porous media. *Am. Inst. Chem. Eng.* 24, 35-43.
7. **Amelung W., Flach K. W., Zech W., 1999.** Lignin in particle-size fractions of native grassland soils as influenced by climate. *Soil Sci. Am. Soc. J* 63, 1222-1228.
8. **Andrén O., Steen E., Ragkai K., 1992.** Modelling the effects of moisture on barley straw and root decomposition in the field. *Soil Biol. & Biochem.* 24, 727-736.
9. **Appello C. A. J., Postma D., 1994.** *Geochemistry, Groundwater and Pollution*. Rotterdam: Balkema. 536 pp.
10. **Arrouays D., Pelissier P., 1994.** Modeling carbon storage profiles in temperate forest humic loamy soils of France. *Soil Sci.* 157, 185-192.
11. **Arya S. P., 1988.** *Introduction to micro-meteorology*, A. Press ed. San Diego, U.S.A.
12. **Ashman M. R., Hallett P. D., Brookes P. C., 2003.** Are the links between soil aggregate size class, soil organic matter and respiration rate artefacts of the fractionation procedure ? *Soil Biol. & Biochem.* 35, 435-444.
13. **Baehr A. L., Bruell C. J., 1990.** Application of the Stefan-Maxwell equations to determine limitations of Fick's law when modeling organic vapor transport in sand columns. *Water Resour. Res.* 26, 1155-1163.
14. **Bakker J. W., Hidding A. P., 1970.** The influence of soil structure and air content on gas diffusion in soils. *Netherlands Journal Agricultural Science* 18, 37-48.
15. **Baldock J. A., Preston C. M., 1995.** Chemistry of C decomposition processes in forests as revealed by solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. In: *Carbons*

-
- Forms and Functions in Forest Soils*. W. W. McFee and Kelly J. M. Ed., Madison, Wisconsin, USA, Soil Science Society of America, 89-117.
16. **Baldeck J. A., Skjemstad J. O., 2000.** Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack. *Org. Geochem.* 31, 697-710.
 17. **Ball B. C., Harris W., Burford J. R., 1981.** A laboratory method to measure gas diffusion and flow in soil and other porous materials. *J. of Soil Sci.* 32, 323-333.
 18. **Beauchamp E. G., 1997.** Nitrous oxide emission from agricultural soils. *Can. J. Soil Sci.* 77, 113-123.
 19. **Belin C., Quellec C., Lamotte M., Ewald M., Simon P., 1993.** Characterization by fluorescence of the dissolved organic matter in natural water. Application to fractions obtained by tangential ultrafiltration and XAD resin isolation. *Env. Tech.* 14, 1131-1144.
 20. **Bell L. C., Richardson D. J., Ferguson S. J., 1990.** Periplasmic and membrane bound respiratory nitrate reductases in *Thiosphaera pantotropha*. *FEBS Lett.* 265, 85-87.
 21. **Bergström L., Johnsson H., Torstensson G., 1991.** Simulation of soil nitrogen dynamics using SOILN model. *Fertil. Res.* 27, 181-188.
 22. **Blaser P., 1994.** The role of natural organic matter in the dynamics of metals in forest soils. In: *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health*. N. Senesi and Miano T. M. Ed., Amsterdam, Elsevier, 943-960.
 23. **Booker F. L., Shafer S. R., Wei C.-M., Horton S. J., 2000.** Carbon dioxide and nitrogen fertilization effects on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plant residue chemistry and decomposition. *Plant & Soil* 220, 89-98.
 24. **Bossic D. A., Scow K. M., 1995.** Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils. *Applied and Environmental Microbiology AEMIDF* 61, 4043-4050.
 25. **Bouten W., de Vré F. M., Verstraten J. M., Duysings J. J. H. M., 1984.** Carbon dioxide in the soil atmosphere: simulation model parameter estimation from field measurements. *Hydrochemical Balances of Freshwater System Proceedings of the Upsala Symposium* 150, 23-30.
 26. **Bouwman A. F., 1990.** Exchange of greenhouse gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. In: *Soils and the Greenhouse Effects*. A. F. Bouwman Ed., New York, Wiley & Sons, 61-127.

27. **Bowden R. D., Rullo G., Stevens G. R., Steudler P. A., 2000.** Soil fluxes of carbon dioxide, nitrous oxide, and methane at a productive temperate deciduous forest. *J. Environ. Qual.* 29, 268-276.
28. **Bremner J. M., Van Houteum W., Van Kessel C., 1991.** Carbon dioxide evolving from wheat and lentil residues as affected by grinding, added nitrogen, and the absence of soil. *Biol. & Fert. of soils* 11, 221-227.
29. **Brockman F. J., Kieft T. L., Frederickson J. K., Bjornstad B. N., Li S. W., Spagenburg W., Long P. E., 1992.** Microbiology of vadose zone Paleosols in south-central Washington state. *Microb. Ecol.* 23, 279-301.
30. **Brooks P. D., Stark J. M., McInteer B. B., Preston T., 1989.** Diffusion method to prepare soil extracts for automated nitrogen-15 analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53, 1707-1711.
31. **Bruckler L., Ball B. C., Renault P., 1989.** Laboratory estimation of gas diffusion coefficient and effective porosity in soils. *Soil Sci.* 147, 1-10.
32. **Buchanan M., King L. D., 1992.** Seasonal fluctuations in soil microbial biomass carbon, phosphorus and activity in no-till and reduced-chemical-input maize agrosystems. *Biol. & Fert. of soils* 13, 211-217.
33. **Buckingham E., 1904.** Contributions to our knowledge of the aeration of soils. USDA Bur. Soil Bull. Vol. 25. Washington, DC: U.S. Gov. Print Office.
34. **Burford J. R., Bremner J. M., 1975.** Relationships between the denitrification capacities of soils and the total, water-soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 7, 389-394.
35. **Burns R. G., Davies J. A., 1986.** The microbiology of soil structure. *Biol. Agric. Hortic.* 3, 337-342.
36. **Cambardella C. A., Elliott E. T., 1992.** Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Sci. Am. Soc. J* 56, 783-788.
37. **Cambardella C. A., Elliott E. T., 1993.** Methods for physical separation and characterization of soil organic matter fractions. *Geoderma* 56, 449-457.
38. **Campbell C. A., Myers R. J. K., Curtin D., 1995.** Managing nitrogen for sustainable crop production. *Fert. Res.* 42, 277-296.
39. **Cannave P., 2000.** L'activité dénitrifiante dans la zone non saturée: Confrontation de plusieurs méthodes sur deux profils de sol dans le Comtat Venaissin (84), France. Mémoire de DEA. *Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.* Avignon. 47 pp.

40. **Cannavo P., 2003.** Variations saisonnières des activités respiratoire aérobie et dénitrifiante dans la zone non saturée du sol : Expérimentation sur une parcelle agricole du Comtat Venaissin et modélisation. Thèse. *Université d'Avignon et Pays de Vaucluse*. Avignon. 233 pp.
41. **Cannavo P., Dudal Y., Boudenne J.-L., Lafolie F., 2003b.** Water extractable matter seasonal evolution in the vadose zone: relation with the soil aerobic respiratory activity. *Geoderma* submitted.
42. **Cannavo P., Richaume A., Lafolie F., 2003a.** Fate of nitrogen and carbon in the vadose zone: in situ and laboratory measurements of seasonal variations in aerobic respiratory and denitrifying activities. *Soil Biol. & Biochem.* impression en cours.
43. **Cannavo P., Richaume A., Renault P., Emblanch C., Bertuzzi P., Lafolie F., 2002.** Denitrification in the upper vadose zone layers : a comparison between a fluvic hypercalcaric cambisol and a haplic calcisol. *Agronomie : agriculture and environment* 22, 479-488.
44. **Cerling T. E., Quade J., 1993.** Stable carbon and oxygen isotopes in soil carbonates. *Geophysical Monograph* 78, 217-231.
45. **Chander K., Goyal S., Mundra M. C., Kapoor K. K., 1997.** Organic matter, microbial biomass and enzyme activity of soils under different crop rotations in the tropics. *Biol. & Fert. Soils* 24, 306-310.
46. **Charpin M., 1999.** Etude de la cinétique de minéralisation de l'azote et du carbone dans les sols du comtat Venaissin, recevant des cultures maraîchères. *Département de chimie, IUT Marseille*. 25 p.
47. **Chèneby D., Hartmann A., Hensult C., Topp E., Germon J. C., 1999.** Diversity of denitrifying microflora and ability to reduce N₂O in two soils. *Biology & Fertility of Soils* 28, 19-26.
48. **Chin Y.-P., Aiken G., Loughlin E. O., 1994.** Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1853-1858.
49. **Christensen B. T., 1996.** Carbon in primary and secondary organomineral complexes. In: *Structure and organic matter storage in agricultural soils* M. R. Carter and Stewart B. A. Ed., Boca Raton, FL, CRC Press Inc., 97-165.
50. **Christensen S., Christensen B. T., 1991.** Organic matter available for denitrification in different soils fractions: effect of freeze/thaw cycles and straw disposal. *J. Soil Sci.* 42, 637-647.

51. Clough T. J., Jarvis S. C., Dixon E. R., Stevens R. J., Laughlin R. J., Hatch D. J., 1999. Carbon induced subsoil denitrification of ¹⁵N-labelled nitrate in 1 m deep soil columns. *Soil Biol. Biochem.* 31, 31-41.
52. Cochran W. G., 1950. Estimation of bacterial densities by means of the " most probable number ". *Biometrics* 6, 105-116.
53. Collin M., Rasmusen A., 1988. A comparison of gas diffusivity models for unsaturated porous media. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 1559-1565.
54. Corre M. D., Schnabel R. R., Shaffer J. A., 1999. Evaluation of soil organic carbon under forests, cool-season and warm-season grasses in the northeastern US. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1531-1539.
55. Cousin I., Porion P., Renault P., Levitz P., 1999. Gas diffusion in a silty-clay soil: experimental study on an undisturbed soil core and simulation in its three-dimensional reconstruction. *Eur. J. Soil Sci.* 50, 249-259.
56. Crutzen P. J., 1981. Atmospheric chemical processes of the oxides of nitrogen, including nitrous oxide. In: *Denitrification, nitrification, and atmospheric nitrous oxide*. C. C. Delwiche Ed., New York, John Wiley & Sons, 17-44.
57. Currie J. A., 1961. Gas diffusion in the aeration of aggregated soils. *Soil Sci.* 92, 40-45.
58. Currie J. A., 1983. Gas diffusion through soil crumbs : The effects of compaction and wetting. *J. of Soil Sci.* 34, 217-232.
59. Currie W. S., Aber J. D., McDowell W. H., Boone R. D., Magill A. H., 1996. Vertical transport of dissolved organic C and N under long-term N amendments in pine and hardwood forests. *Biochemistry* 35, 471-505.
60. Curtin D., Guang W., 1999. Organic matter fractions contributing to soil nitrogen mineralization potential. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 410-415.
61. Dam D. v., Veldkamp E., Breemen N. v., 1997. Soil organic carbon dynamics : variability with depth in forested and deforested soils under pasture in Costa Rica. *Biogeochem.* 39, 343-375.
62. Dassonville F., Renault P., 2002. Interactions between microbial processes and geochemical transformations under anaerobic conditions: a review. *Agronomie* 22, 51-68.
63. de Willigen P., 1991. Nitrogen turnover in the soil-crop system. Comparison of fourteen simulation models. *Fertil. Res.* 27, 141-149.

-
64. **DeCantazaro J. B., Beauchamp E. G., 1985.** The effect of some carbon substrates on denitrification rates and carbon utilization in soil. *Biol. & Fert. of soils* 1, 183-187.
 65. **Derenne S., Largeau C., 2001.** A review of some important families of refractory macromolecules: composition, origin, and fate in soils and sediments. *Soil Sci.* 166, 833-847.
 66. **Dick R. P., Christ R. A., Istok J. D., Iyamuremye F., 2000.** Nitrogen fractions and transformations of vadose zone sediments under intensive agriculture in Oregon. *Soil Sci.* 165, 505-515.
 67. **Dodds W. K., Banks M. K., Clenan C. S., Rice C. W., Sotomayor D., Strauss E. A., Wei Y., 1996.** Biological properties of soil and subsurface sediments under abandoned pasture and cropland. *Soil Biol. & Biochem.* 28, 837-846.
 68. **Doran J. W., Elliott E. T., Paustian K., 1998.** Soil microbial activity, nitrogen cycling, and long-term changes in organic carbon pools as related to fallow tillage management. *Soil & Tillage research* 49, 3-18.
 69. **Dosskey M. G., Bertsch P. M., 1997.** Transport of dissolved organic matter through a sandy forest soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 920-927.
 70. **Eckersten H., Jansson P. E., 1991.** Modelling water flow, nitrogen uptake and production for wheat. *Fertil. Res.* 27, 313-329.
 71. **Elberling B., Larsen F., Christensen S., Postma D., 1998.** Gas transport in a confined unsaturated zone during atmospheric pressure cycles. *Water Resour. Res.* 34, 2855-2862.
 72. **Ellis S., Howe M. T., Goulding W. T., Muggleston M. A., Dendooven L., 1997.** Carbon and nitrogen dynamics in a grassland soil with varying pH : effect of pH on the denitrification potential and dynamics of the reduction enzymes. *Soil Biol. Biochem.* 30, 359-367.
 73. **Ersahin S., Karaman M. R., 2001.** Estimating potential nitrate leaching in nitrogen fertilized and irrigated tomato using the computer model NLEAP. *Agric. Water Management* 51, 1-12.
 74. **Fang F., Kanan S., Patterson H. H., Cronan C. S., 1998.** A spectrofluorimetric study of the binding of carbofuran, carbaryl, and alcarb with dissolved organic matter. *Anal. Chim. Acta* 373, 139-151.
 75. **Fiès J. C., Stengel P., 1981.** Densité texturale des sols naturels: II. - Eléments d'interprétation. *Agronomie* 1, 659-666.

76. **Firestone M. K., Davidson E. A., 1989.** Microbial basis of NO and N₂O production and consumption in soil. In: *Exchange of Trace Gases Between Terrestrial Ecosystems and the Atmosphere*. M. O. Andrae and Schimel D. S. Ed., Wiley, Berlin, 7-21.
77. **Firestone M. K., Tiedje J. M., 1979.** Temporal change in nitrous oxide and dinitrogen from denitrification following onset of anaerobiosis. *Applied and Environmental Microbiology* 38, 673-679.
78. **Follett R. F., 2001.** Soil management concepts and carbon sequestration in cropland soils. *Soil & Tillage research* 61, 770-792.
79. **Forcier F., Raghavan G. S., Gariépy Y., 1987.** Electronic sensor for the determination of fruit and vegetable respiration. *International J. Refrig.* 10, 353-356.
80. **Forman D., Al-Dabbagh S., Dolt R., 1985.** Nitrates, nitrites and gastric cancer in Great Britain. *Nature (London)* 313, 620-625.
81. **Francioso O., Ciavatta C., Sanchez-Cortes S., Tugnoli S., Sitti L., Gessa C., 2000.** Spectroscopic characterization of soil organic matter in long-term amendment trials. *Soil Sci.* 165, 495-504.
82. **Franzluebbers A. J., 1999.** Microbial activity in response to water-filled pore space of variability eroded southern Piedmont soils. *Applied Soil Ecology* 11, 91-101.
83. **Freijer J. I., Leffelaar P. A., 1996.** Adapted Fick's law adapted to soil respiration. *Wat. Res. Research* 32, 791-800.
84. **Fritze H., Pietikainen J., Pennanen T., 2000.** Distribution of microbial biomass and phospholipid fatty acids in Podzol profiles under coniferous forest. *European Journal of Soil Science* 51, 565-573.
85. **Gaffney J. S., Marley N. A., Clark S. B., 1996.** Humic and fulvic acids : isolation, structure, and environmental role. In: *Humic and fulvic acids*. M. N. A. Gaffney J.S., Clark S.B. Ed., American Chemical Society. chapter 1, 2-16.
86. **Garnier P., Néel C., Aita C., Recous S., Lafolie F., Mary B., 2003.** Modelling carbon and nitrogen dynamics in a bare soil with and without straw incorporation. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 1-14 *in press*.
87. **Garnier P., Néel C., Mary B., Lafolie F., 2001.** Evaluation of a nitrogen transport and transformation model in a bare soil. *European J. of Soil Sci.* 52, 253-268.
88. **Garrido F., Hénault C., Gaillard H., Pérez J. C., Germon J. C., 2002.** N₂O and NO emissions by agricultural soils with low hydraulic potentials. *Soil Biol. & Biochem.* 34, 559-575.

89. **Giampaolo S., Pardo M. T., Almendres G., 1996.** Effect of cultivation on chemical characteristics and respiratory activity of crusting soil from Mazowe (Zimbabwe). *Communications in Soil Science & Plant Analysis* 27, 2111-2124.
90. **Glatzel S., Kalbitz K., Dalva M., Moore T., 2003.** Dissolved organic matter properties and their relationship to carbon dioxide efflux from restored peat bogs. *Geoderma* 113, 397-411.
91. **Glinski J., Stepniewski W., Stepniewska Z., Włodarczyk T., Brzezinska M., 2000** Characteristics of aeration properties of selected soil profiles from central Europe. *International Agrophysics* 14, 17-31.
92. **Gobat J. M., Aragno M., Matthey W., 2003.** Le sol vivant. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes. 568 p.
93. **Goering H. K., Van Soest P. J., 1970.** Forage fiber analyses: Apparatus, reagents, procedures, and some applications. USDA Agri. Hanb. 379 U.S, . ed. Washington, D.C.: Gov. Print. Office.
94. **Golchin A., Clarke P., Oades J. M., Skjemstad J. O., 1995.** The effects of cultivation on the composition of organic matter and structural stability of soils. *Australian J. of Soil Research* 33, 975-933.
95. **Goldberg M. C., Weiner E. R., 1989.** Humic substances in the Suwannee river, Georgia: Interactions, properties, and proposed structures. In: *Fluorescence measurement of the volume, shape, and fluorophor composition of a fulvic acid from the Suwannee River*. U. S. G. Survey Ed., Denver, CO. Open-File Rep. 87-557. Chapter K.
96. **Granli T., Bockman O. C., 1994.** Nitrous oxide from agriculture. *Norv. J. Agri. Sci* 12 (supplement), 1-125.
97. **Grant R. F., 1991a.** The distribution of water and nitrogen in the soil-crop system: a simulation study with validation from a winter wheat field trial. *Fertil. Res.* 27, 199-213.
98. **Grant R. F., 1991b.** A technique for estimating denitrification rates at different soil temperatures, water contents and nitrate concentrations. *Soil Sci.* 152, 41-52.
99. **Grant R. F., 1993.** Evolution of nitrous oxide from soil: I. model development. *Soil Sci.* 156, 259-265.
100. **Gregerich E. G., Monreal C. M., Schnitzer M., Schulten H. R., 1996.** Transformation of plant residues into soil organic matter: chemical characterization of plant tissue, isolated soil fractions, and whole soils. *Soil Sci.* 161, 680-693.

101. **Griffin D. M., 1981.** Water potential as a selective factor in the microbial ecology of soils. In: *Water potential relations in soil microbiology*. J. F. Parr, Gardner W. R. and Elliott E. T. Ed., Madison, Soil Science Society of America.
102. **Grundmann G. L., Renault P., Rosso L., Bardin R., 1995.** Differential effects of soil water content and temperature on nitrification and aeration. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, 1342-1349.
103. **Grundmann G. L., Relston D. E., 1987.** A water function approximation to degree of anaerobiosis associated with denitrification. *Soil Sci.* 144, 437-441.
104. **Gu B., Schmitt J., Chen Z., Liang L., McCarthy J. F., 1995.** Adsorption and desorption of different organic matter fractions on iron oxide. *Geochem. Cosmochim. Acta* 59, 219-229.
105. **Guggenberger G., 1994a.** Acidification effects on dissolved organic matter mobility in spruce forest ecosystems. *Environment International* 20, 31-41.
106. **Guggenberger G., Kaiser K., 1998.** Significance of DOM in the translocation of cations and acidity in acid forest soils. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 161, 95-99.
107. **Guggenberger G., Kaiser K., 2003.** Dissolved organic matter in soil: challenging the paradigm of sorptive preservation. *Geoderma* 113, 293-310.
108. **Guggenberger G., Kaiser K., Zech W., 1998a.** Mobilization and immobilization of dissolved organic matter in forest soil. *Z. Pflanzernaehr. Bodenk.* 161, 401-408.
109. **Guggenberger G., Zech W., Schulten H., 1994.** Formation and mobilization pathways of dissolved organic matter : evidence from chemical structural studies of organic matter fractions in acid forest floor solutions. *Org. Geochem.* 21, 51-66.
110. **Hadas A., Sofer M., Molina J. E., Barak P., Clapp C. E., 1992.** Assimilation of nitrogen by soil microbial population: NH_4 versus organic N. *Soil Biol. & Biochem.* 24, 137-143.
111. **Hansen S., Jensen H. E., Nielsen N. E., Svendsen H., 1991.** Simulation of nitrogen dynamics and biomass production in winter wheat using the danish simulation DAISY. *Fertil. Res.* 27, 245-259.
112. **Hassink J., 1995.** Decomposition rate constants of size and density fractions of soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, 1631-1635.
113. **Hautala K., Peuravuori J., Pihlaja K., 2000.** Measurement of aquatic humus content by spectroscopic analyses. *Wat. Res.* 34, 246-258.

114. **Haynes R. J., Beare M. H., 1997.** Influence of six crop species on aggregate stability and some labile organic matter fractions. *Soil Biol. & Biochem.* 29, 1647-1653.
115. **Hénault C., Germon J. C., 1995.** Quantification de la dénitrification et des émissions de protoxyde d'azote par les sols. *Agronomie : agriculture and environment* 15, 321-355.
116. **Hénault C., Germon J. C., 2000.** NEMIS, a predictive model of denitrification on the field scale. *Eur. J. Soil Sci.* 51, 257-265.
117. **Hendriksen N. B., 1997.** Earthworm effects on respiratory activity in a dung-soil system. *Soil Biol. Biochem.* 29, 347-351.
118. **Henig Y., 1972.** Computer Analysis of the Variables Affecting Respiration and Quality of Produce Packaged in Polymeric Films. PhD thesis. *Rutgers University.* Rutgers, NJ. 178 p.
119. **Herbert B. E., Bertsch P. M., 1995.** Characterization of dissolved and colloidal organic matter in soil solution : a review. *Carbon forms and functions in forest soils. Soil Science Society of America Inc, Madison,* 63-88.
120. **Holtan-Hartwig L., Dorsch P., Bakken L. R., 2000.** Comparison of denitrifying communities in organic soils : kinetics of NO₃⁻ and N₂O reduction. *Soil Biol. Biochem* 32, 833-843.
121. **Holtan-Hartwig L., Dürsch P., Bakken L. R., 2002.** Low temperature control of soil denitrifying communities: kinetics of N₂O production and reduction. *Soil Biol. & Biochem.* 34, 1797-1806.
122. **Hunter K. S., Wang Y., Van Cappellen P., 1998.** Kinetic modeling of microbially-driven redox chemistry of subsurface environments : coupling transport, microbial metabolism and geochemistry. *Journal of Hydrology* 209, 53-80.
123. **Hussain I., Olson K. R., Ebelhar S. A., 1999.** Long-term tillage effects on soil chemical properties and organic matter fractions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 1335-1341.
124. **Hutsch B. W., 2001.** Methane oxidation in non-flooded soils as affected by crop production. *Eur. J. Agron.* 14, 237-260.
125. **IPCC, 1995.** Climate change 1994: report of working groups I and III of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press. 379 pp.
126. **IPCC, 1996.** Climate change 1995: the science of climate change. Contribution of WGI to the second assessment report of the intergovernmental panel of climate change. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press. 572 pp.

127. **Jacinthe P. A., Lal R., Kimble J. M., 2002.** Carbon budget and seasonal carbon dioxide emission from a central Ohio Luvisol as influenced by wheat residue amendment. *Soil & Tillage research* 67, 147-157.
128. **Jambert C., 1995.** Emissions de composés azotés dans l'atmosphère par des agrosystèmes fertilisés: Maïsiculture dans les landes de Gascogne. *Université Paul Sabatier*. Toulouse. 111 pp.
129. **Jambert C., Delmas R. A., Labroue L., Chassin P., 1994.** Nitrogen compound emissions from fertilized soils in a maize field pine tree forest agrosystem in the southwest of France. *Journal of Geophysical Research* 99, 523-530.
130. **Jansen B., Nierop K. G. J., Verstraten J. M., 2003.** Mobility of Fe(II), Fe(III) and Al in acidic forest soils mediated by dissolved organic matter: influence of solution pH and metal/organic carbon ratios. *Geoderma* 113, 323-340.
131. **Jardine P. M., Weber N. L., McCarthy J. F., 1989.** Mechanisms of dissolved organic carbon adsorption on soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53, 1378-1385.
132. **Jarvis S. C., Barraclough D., Williams J., Rook A. J., 1991.** Patterns of denitrification loss from grazed grassland: effects of fertilizer inputs at different sites. *Plant & Soil* 131, 77-88.
133. **Jarvis S. C., Hatch D. J., 1994.** Potential for denitrification at depth below long-term grass swards. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1629-1636.
134. **Jaynes D. B., Rogowski A. S., 1983.** Applicability of Fick's law to gas diffusion. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47, 425-430.
135. **Johnson W. P., 2000.** Sediment control of facilitated transport and enhanced desorption. *Journal of environmental engineering* 126, 47-57.
136. **Kader A. A., 1987.** Respiration and gas exchange of vegetables. In: *Postharvest Physiology of Vegetables*. J. Weichman Ed., New York, Marcel Dekker.
137. **Kader A. A., Zagory D., Kerbel E. L., 1989.** Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical Rev. Food Sci. & Nutr.* 28, 1-30.
138. **Kaiser K., Guggenberger G., 2000.** The role of DOM sorption to mineral surfaces in the preservation of organic matter in soils. *Org. Geochem.* 31, 711-725.
139. **Kaiser K., Haumaier L., Zech W., 2000a.** The sorption of organic matter in soils as affected by the nature of soil carbon. *Soil Sci.* 165, 305-313.
140. **Kaiser K., Zech W., 1997.** Competitive sorption of dissolved organic matter fractions to soils and related mineral phases. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 64-69.

141. Kaiser K., Zech W., 1998. Rates of dissolved organic matter release and sorption in forest soils. *Soil Sci.* 163, 714-725.
142. Kalbitz K., 2001. Properties of organic matter in soil solution in a German fen area as dependent on land use and depth. *Geoderma* 104, 203-214.
143. Kalbitz K., Schmerwitz J., Schwesig D., Matzner E., 2003b. Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma* 113, 273-291.
144. Kalbitz K., Schwesig D., Schmerwitz J., Kaiser K., Haumaier L., Glaser B., Ellerbrock R., Leinweber P., 2003a. Changes in properties of soil-derived dissolved organic matter induced by biodegradation. *Soil Biol. & Biochem.* in press.
145. Kalbitz K., Solinger S., Park J.-H., Michalzik B., Matzner E., 2000. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils : a review. *Soil Sci.* 165, 277-304.
146. Kamphake L. J., Hannah S. A., Cohen J. M., 1967. Automated analysis for nitrate by hydrazine reduction. *Wat. Res.* 1, 205-216.
147. Katupitiya A., Eisenhauer D. E., Ferguson R. B., Spalding R. F., Roeth F. W., Bobier M. W., 1997. Long-term tillage and crop rotation effects on residual nitrate in the crop root zone and nitrate accumulation in the intermediate vadose zone. *Transactions of the ASAE* 40, 1321-1327.
148. Kawahigashi M., Sumida H., Yamamoto K., 2003. Seasonal changes in organic compounds in soil solutions obtained from volcanic ash soils under different land uses. *Geoderma* 113, 381-396.
149. Kessavalou A., Mosier A. R., Doran J. W., Drijber R. A., Lyon J. L., Heinemeyer O., 1998. Fluxes of carbon dioxide, nitrous oxide and methane in grass sod and winter wheat-fallow tillage management. *J. Environ. Qual.* 27, 1094-1104.
150. Kester R. A., Boer W., Laanbroeck H. J., 1997. Production of NO and N₂O by pure cultures of nitrifying and denitrifying bacteria during changes in aeration. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3872-3877.
151. Kieft T. L., Soroker E., Firestone M. K., 1987. Microbial biomass response to a rapid increase in water potential when dry soil is wetted. *Soil Biol. Biochem.* 19, 119-126.
152. King J. A., Smith K. A., Pyatt D. G., 1986. Water and oxygen regimes under conifer plantations and native vegetation on upland peaty gley soil and deep peat soils. *J. of Soil Sci.* 37, 485-497.
153. Knabner I., Meybeck M. H., Meyer J. L., Sedell J. R., 1990. What are the temporal and spatial variations of organic acids at the ecosystem level ? In: *Organics Acids in*

- Aquatic Ecosystems*. E. M. Perdue and Gjessing E. T. Ed., Chichester, Life Sciences Research report 48. John Wiley & Sons, 315-329.
154. **Knowles R., 1982.** Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46, 43-70.
155. **Kögel-Knabner I., 2000.** Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *Org. Geochem.* 31, 609-625.
156. **Kögel-Knabner I., Leeuw J. W., Hatcher P. G., 1992.** Nature and distribution of alkyl carbon in forest soil profiles: implications for the origin and humification of aliphatic biomacromolecules. *Sci. Tot. Environ.* 117/118, 175-185.
157. **Kornaros M., Lyberatos G., 1997.** Kinetics of aerobic growth of a denitrifying bacterium, *Pseudomonas denitrificans*, in the presence of nitrates and/or nitrites. *Water Res.* 31, 479-488.
158. **Körner H., Zumft W. G., 1989.** Expression of denitrification enzymes in response to the dissolved oxygen level and respiratory substrate in continuous culture of *pseudomonas stutzeri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1670-1676.
159. **Koskinen W. C., Keeney D. R., 1982.** Effect on pH on the rate of gaseous products of denitrification in a silt loam soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46, 1165-1167.
160. **Kouassi A. M., Zika R. G., Plane J. M. C., 1990.** Light-induced alternation of the photophysical properties of dissolved organic matter in seawater, part II. Estimates of the environmental rates of the natural water fluorescence. *Neth. J. Sea Res.* 27, 33-41.
161. **Krom M. D., 1980.** Spectrophotometric determination of ammonia: a study of a modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocyanurate. *The Analyst* 105, 305-316.
162. **Lafolie F., 1991.** Modeling water flow, nitrogen transport and root uptake including physical non-equilibrium and optimization of the root water potential. *Fertil. Res.* 27, 215-231.
163. **Lafolie F., Bruckler L., de Cockborne A. M., 1997.** Modeling the water transport and nitrogen dynamics in irrigated salad crops. *Irrig. Sci.* 17, 95-104.
164. **Landhausser S. M., Muhsin T. M., Zwiazek J. J., 2002.** The effect on water relations on aspen (*Populus tremuloides*) and white spruce (*Picea glauca*) at low soil temperatures. *Can. J. Botany* 80, 684-689.
165. **Larson R., Rochwell A. L., 1980.** Fluorescence spectra of water-soluble humic materials and some potential processors. *Arch. Hydrobiol.* 89, 416-425.
166. **Laughlin R. J., Stevens R. J., 2002.** Evidence for fungal dominance of denitrification and codenitrification in a grassland soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66, 1540-1548.

167. Laverman A. M., Zoomer H. R., Engelbrecht D., Berg M. P., van Straalen N. M., van Verseveld H. W., Verhoef H. A., 2000. Soil layer-specific variability in net nitrification and denitrification in an acid coniferous forest. *Biol. & Fert. of soils* 32, 427-434.
168. Leenheer J. A., Huffman E. W. D., 1976. Classification of organic solutes in water by using macroreticular resins. *J. Res., U.S. Geol. Surv.* 4, 753-751.
169. Leffelaar P. A., Wessel W., 1988. Denitrification in homogeneous closed system: experiment and simulation. *Soil Sci.* 146, 335-349.
170. Lemke R. L., Izaurralde R. C., Nyborg M., 1998. Seasonal distribution of nitrous oxide emissions from soils in the Parkland region. *Soil Sci. Am. Soc. J* 62, 1320-1326.
171. Lensi R., Clays-Josserand A., Monrozier L. J., 1995. Denitrifiers and denitrifying activity in size fractions of a mollisol under permanent pasture and continuous cultivation. *Soil Biol. & Biochem.* 27, 61-69.
172. Linères M., Djakovitch J. L., 1993. Caractérisation de la stabilité biologique des apports organiques par l'analyse biochimique. In: *Matières organiques et agricultures. quatrième journées de l'analyse de terre et Cinquième forum de la fertilisation raisonnée.* J. Decroux and Ignazi J. C. Ed., Paris: GEMAS-COMIFER, pp. 159-168.
173. Linn D. M., Doran J. W., 1984. Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 1267-1272.
174. Lombardi A. T., Jardim W. J., 1999. Fluorescence spectroscopy of high performance liquid chromatography fractionated marine and terrestrial organic materials. *Wat. Res.* 33, 512-520.
175. Long P. E., Rawson S. A., 1991. Hydrogeologic and geochemical controls on microorganisms in subsurface formations, *DOE Office of Energy Research*, 22-30.
176. Longo N., Moyengo M., 1999. Flux d'eau et transfert des solutés dans les horizons profonds des sols du Mont-Amba. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 64, 115-122.
177. Lu X. Q., Maie N., Hanna J. V., Childress D. L., Jaffa R., 2003. Molecular characterization of dissolved organic matter in freshwater wetlands of the Florida Everglades. *Wat. Res.* 37, 2599-2606.
178. Luo J., White D. C., Ball P. R., Tillman R. W., 1996. Measuring denitrification activity in soils under pasture: optimizing conditions for the short-term denitrification enzyme assay and effects of soil storage on denitrification activity. *Soil Biol. & Biochem.* 28, 409-417.

179. **Ma L., Scott H. D., Shaffer M. J., Ahuja L. R., 1998.** RZWQM simulations of water and nitrate movement in a manured tall fescue field. *Soil Sci.* 163, 259-270.
180. **Mariotti A., 1997.** Quelques réflexions sur le cycle biogéochimique de l'azote dans les agrosystèmes. Maîtrise de l'azote dans les agrosystèmes, Reims.
181. **Marschner B., Bredow A., 2002.** Temperature effects on release and ecologically relevant properties of dissolved organic carbon in sterilized and biologically active soil samples. *Soil Biol. & Biochem.* 34, 459-466.
182. **Marschner B., Kalbitz K., 2003.** Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 113, 211-235.
183. **Marshall T. J., 1959.** The diffusion gases through porous media. *J. Soil Sci.* 10, 79-84.
184. **Mary B., Beaudoin N., Justes E., Machel J. M., 1999.** Calculation of nitrogen mineralization and leaching in fallow soil using a simple dynamic model. *Eur. J. Soil Sci.* 50, 549-566.
185. **Mary B., Fresneau C., Morel J. L., Mariotti A., 1993.** C and N cycling during decomposition of root mucilage, roots and glucose in soil. *Soil Biol. & Biochem.* 25, 1005-1014.
186. **Mason E. A., Malinauskas A. P., 1983.** Gas transport in porous media: the dusty gas model., Elsevier ed. Amsterdam.
187. **Massmann J., Farrier D. F., 1992.** Effects of atmospheric pressures on gas transport in the vadose zone. *Water Resour. Res.* 28, 777-791.
188. **Massmann J. W., 1989.** Applying groundwater flow models in vapor extraction system design. *J. Environ. Engineering* 115, 129-149.
189. **McCarthy J. F., Williams T. M., Liang L., Jardine P. M., Jolley L. W., Taylor D. L., Palumbo A. V., Cooper L. W., 1993.** Mobility of natural organic matter in a sandy aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 27, 667-676.
190. **McCarty G. W., Bremner J. M., 1992.** Factors affecting the availability of organic carbon for denitrification of nitrate in subsoil. *Biol. & Fert. of Soils* 15, 132-136.
191. **McCarty G. W., Shelton D. R., Sadeghi A. M., 1999.** Influence of air porosity on distribution of gases in soil under assay for denitrification. *Biology & Fertility of Soils* 30, 173-178.
192. **McConnaughey P. K., Bouldin D. R., 1985.** Transient microsite models of denitrification: I. Model development. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49, 886-901.

-
193. **McInerney M., Bolger T., 2000.** Temperature, wetting cycles and soil texture effects on carbon and nitrogen dynamics in stabilized earthworm casts. *Soil Biol. Biochem.* 32, 335-349.
194. **McInerney M. J., 1988.** Biology of anaerobic microorganisms. In: *Anaerobic hydrolysis and fermentation of fats and proteins*. J. W. Sons Ed., USA, 373-417.
195. **McKnight D. M., Bencala K. E., Zellweger G. W., Aiken G. R., Feder G. L., Thorn K. A., 1992.** Sorption of dissolved organic carbon by hydrous aluminium and iron oxides occurring at the confluence of Deer Creek with the Snake river, Summit country, Colorado. *Env. Sci. Technol.* 26, 1388-1396.
196. **Mergel A., Kleos K., Bothe H., 2001.** Seasonal fluctuations in the population of denitrifying and N₂-fixing bacteria in an acid soil of a Norway spruce forest. *Plant & Soil* 230, 145-160.
197. **Michalzik B., Küsel K., Solinger S., Matzner E., 1998.** Dynamics of DOC and DON in forest soil. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 87, 225-236.
198. **Millington R. J., Quirk J. P., 1961.** Permeability of porous solids. *Trans. Faraday Soc.* 57, 1200-1207.
199. **Millington R. J., Shearer R. C., 1971.** Diffusion in aggregated porous media. *Soil Sci.* 111, 372-378.
200. **Moldrup P., Olesen T., Schjonning P., Yamaguchi T., Rolston D. E., 2000.** Predicting gas diffusion coefficient in undisturbed soil from soil water characteristics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 94-100.
201. **Molina J. E., Clapp C. E., Schaeffer M. J., Chichester F. W., Larson W. E., 1983.** NCSOIL, a model of nitrogen and carbon transformation in soil: description, calibration and behaviour. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47, 85-91.
202. **Moore T. R., 1989.** Dynamics of dissolved organic carbon in forested and disturbed catchments, Westland, New Zealand. *Water Res. Research* 25, 1321-1330.
203. **Moore T. R., 281-292, 1998.** Dissolved organic carbon : sources, sinks and fluxes and role in the soil carbon cycle. In: *Soils processes and the carbon cycle*. K. J. M. CRC Press edited by Lal R., Follett R.F., [and al.] Ed., 281-292.
204. **Moore T. R., Dalva M., 2001.** Some controls on the release of dissolved organic carbon by plant tissues and soils. *Soil Sci.* 166, 38-47.
205. **Moore T. R., de Souza W., Koprivnjak J.-F., 1992.** Controls on the sorption of dissolved organic carbon by soils. *Soil Sci.* 154, 120-129.

-
206. Mühlherr I. H., Hiscock K. M., 1998. Nitrous oxide production and consumption in british limestone aquifers. *J. Hydrol.* 211, 126-139.
207. Mulholland P. J., Dahm C. N., David M. B., DiToro D. M., Fischer T. R., Kogel-Knabner I., Meybeck M. H., Meyer J. L., Sedell J. R., 1990. What are the temporal and spatial variations of organic acids at the ecosystem level ? In: *Organics Acids in Aquatic Ecosystems*. E. M. Perdue and Gjessing E. T. Ed., Chichester, Life Sciences Research report 48. John Wiley & Sons, 315-329.
208. Murphy D., Sparling G. P., Fillery I. R. P., McNeill A. M., Braunberger P., 1998. Mineralisation of soil organic nitrogen and microbial respiration after simulated summer rainfall events in an agricultural soil. *Australian Journal of Soil Research* 36, 231-246.
209. Myrold D. D., 1988. Denitrification in ryegrass and winter wheat cropping systems of Western Oregon. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 412-416.
210. Myrold D. D., Tiedje J. M., 1985. Diffusional constraints on denitrification in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51, 1194-1199.
211. Nardi S., Pizzeghello D., Reniero F., Rascio N., 2000. Chemical and biochemical properties of humic substances isolated from forest soils and plant growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 639-645.
212. Nazaroff W. W., Nero A. V., 1988. Radon and its decay products in indoor air. 548 p.
213. Neale C. N., Hughes J. B., Ward C. H., 2000. Impact of unsaturated zone properties on oxygen transport and aquifer reaeration. *Ground Water* 38, 784-794.
214. Néel C., 1996. Modélisation couplée du transfert et des transformations de l'azote: paramétrisation et évaluation d'un modèle en sol nu (Thèse). *Université Pierre et Marie Curie - Paris VI*. Paris. 254 p.
215. Neergaard A., Hauggaard-Nielsen L. S., Jensen J., Magid, 2002. Decomposition of white clover (*Trifolium repens*) and ryegrass (*Lolium perenne*) components: C and N dynamics simulated with the DAISY soil organic matter submodel. *European J. of Agronomy* 16, 43-55.
216. Neff J. C., Hobbie S. E., Vitousek P. M., 2000. Nutrient and mineralogical control on dissolved organic C, N and P fluxes and stoichiometry in Hawaiian soils. *Biogeochem.* 51, 283-302.
217. Nöbre A. D., Keller M., Crill P. M., Harriss R. C., 2001. Short-term nitrous oxide profile dynamics and emissions response to water, nitrogen and carbon additions in two tropical soils. *Biol. & Fert. of soils* 34, 363-373.

-
218. **Osezawa S., Hasegawa S., 1995.** Diel and seasonal changes in carbon dioxide concentration and flux in an Andosol. *Soil Sci.* 160, 117-124.
219. **Oyedele D. J., Schjonning P., Sibbesen E., Deboz K., 1999.** Aggregation and organic matter fractions of three Nigerian soils as affected by soil disturbance and incorporation of plant material. *Soil Tillage Research* 50, 105-114.
220. **Paramasivam S., Alva A. K., Prakash O., 1998.** Denitrification from sandy soils treated with liquid or dry granular nitrogen form. *Soil sci.* 163, 686-693.
221. **Parkin T. B., 1987.** Soil microsites as a source of denitrification variability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51, 1194-1199.
222. **Parmelee R. W., Beare M. H., Cheng W., Hendrix P. F., Rider S. J., Crossley D. A., Coleman D. C., 1990.** Earthworms and enchytraeids in conventional and no-tillage agroecosystems: a bioassay approach to assess their role in organic matter breakdown. *Biol. & Fert. of soils* 10, 1-10.
223. **Parr J. F., Gardner W. R., Wildung R. E., 1981.** Water potential relations in soil microbiology. Soil Sci. Soc. Am. Spec. Publ. Madison, SSSA.
224. **Parry S., Renault P., Chadoeuf J., Chenu C., Lensi R., 2000.** Particulate organic matter as a source of variation in denitrification in clods of soil. *Eur. J. Soil Sci.* 51, 271-281.
225. **Parry S., Renault P., Chenu C., Lensi R., 1999.** Denitrification in pasture and cropped soil clods as affected by pore space structure. *Soil Biol. & Biochem.* 31, 493-501.
226. **Patterson H. H., Cronan C. S., Lakshman S., Plankey B. J., Taylor T. A., 1992** Comparison
227. of soil fulvic acids using synchronous scan fluorescence spectroscopy, FTIR, titration and
228. metal complexation kinetics. *Sci. Total Environ.* 113, 179-196.
229. **Pelmont J., 1993.** Bactéries et Environnement: adaptations physiologiques. Grenoble: Presses Universitaires de Grenoble.
230. **Penman H. L., 1940.** Gas and vapour movements in the soil: 1. The diffusion of vapours through porous solids. *J. Agric. Sci.* 30, 437-462.
231. **Piccolo A., 2001.** The supramolecular structure of humic substances. *Soil Sci.* 166, 810-832.
232. **Qualls R. G., Haines B. L., 1991.** Geochemistry of dissolved organic nutrients in water percolating through a forest ecosystem. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55, 1112-1123.

233. Ramos C., Carbonell E. A., 1991. Nitrate leaching and soil moisture prediction with LEACHM model. *Fertil. Res.* 27, 171-180.
234. Recous S., 1995. Réponse des matières organiques des sols aux changements atmosphériques globaux. II - Effet de la température sur la minéralisation d'un résidu végétal (maïs) et de la matière organique des sols. *Ecosystèmes et Changements Globaux: Les dossiers de l'Environnement de l'INRA* 8, 81-85.
235. Recous S., Fresneau C., Faurie G., Mary B., 1988. The of labelled ^{15}N urea and ammonium nitrate applied to a winter wheat crop. *Plant & Soil* 112, 205-214.
236. Recous S., Machet J. M., Mary B., 1992. The partitioning of fertilizer-N between crop and soil: comparison of ammonium and nitrate applications. *Plant & Soil* 144, 101-111.
237. Recous S., Robin D., Darwis D., Mary B., 1995. Soil inorganic N availability: effect on maize residue decomposition. *Soil Biol. & Biochem.* 27, 1529-1538.
238. Reinecke S. A., Sleep B. E., 2002. Knudsen diffusion, gas permeability, and water content in an unconsolidated porous medium. *Water Res. Research* 38, 16.1-16.15.
239. Renault P., Parry S., Sierra J., Bidet L., 1997. Les transferts de gaz dans les sols: implications environnementales et agronomiques. *Courrier de l'environnement de l'INRA* 32, 33-50.
240. Renault P., Sierra J., 1994. Modelling oxygen diffusion in aggregated soils II. Anaerobiosis in topsoil layers. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1023-1030.
241. Rice C. W., Smith M. S., 1984. Short term immobilization of fertilizer nitrogen at the surface of no-till and plowed soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 295-297.
242. Richards J. E., Webster C. P., 1999. Denitrification in the subsoil of the broadbalk continuous wheat experiment. *Soil Biol. Biochem.* 31, 747-755.
243. Rijtema P. E., Kroes J. G., 1991. Some results of nitrogen simulations with the model ANIMO. *Fertil. Res.* 27, 189-198.
244. Robin D., 1994. Effet de la disponibilité de l'azote sur les flux bruts de carbone et d'azote au cours de la décomposition des résidus végétaux dans les sols. *Thèse de Doctorat de l'INA P.G.* Paris. 201 p.
245. Rochette P., Flanagan L. B., 1997. Quantifying rhizosphere respiration in a corn crop under field conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 466-474.
246. Rochette P., Flanagan L. B., Gregorich E. G., 1999. Separating soil respiration into plant and soil components using analyses of the natural abundance of carbon-13. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 1207-1213.

-
247. **Rodrigo A., Recous S., Néel C., Mary B., 1997.** Modelling temperautre and moisture effects on C-N transformations in soils: comparison of nine models. *Ecol. Modelling* 102, 325-339.
248. **Rolston D. E., 1986.** Gas diffusivity. In: *Methods of Soil Analysis: Part I. Physical and mineralogical methods, 2nd edition.* A. Klute Ed., 1089-1102.
249. **Rolston D. E., Rao P. S. C., Davidson J. M., Jessup R. E., 1984.** Simulation of denitrification losses on nitrate fertilizer applied to uncropped, cropped and manure-amended field plots. *Soil Sci.* 137, 270-279.
250. **Romkens P. F. A. M., Dolfing J., 1998.** Effect of Ca on the solubility and molecular size distribution of DOC and Cu binding in soil solution samples. *Environ. Sci. Technol.* 32, 363-369.
251. **Ross D. J., Tate K. R., 1993.** Microbial C and N, and respiratory activity, in litter and soil of a southern beech (*Nothofagus*) forest : distribution and properties. *Soil Biol. & Biochem.* 25, 477-483.
252. **Rosswall T., Paustian K., 1984.** Cycling of nitrogen in modern agricultural systems. *Plant and Soils* 76, 3-21.
253. **Rovira P., Vallejo V. R., 1997.** Organic carbon and nitrogen mineralization under mediterranean climatic conditions : the effects of incubation depth. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1509-1520.
254. **Russo V. M., Abney T. D., 1993.** An apparatus to monitor soil CO₂. *HortTechnology* 3, 335-337.
255. **Sallam A., Jury W. A., Letey J., 1984.** Measurement of gas diffusion coefficient under relatively low air-filled porosity. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 3-6.
256. **Sandaa R.-A., Torsvik V., Enger O., Daae F. L., Castberg T., Hahn D., 1999.** Analysis of bacterial communities in heavy metal contaminated soils at different levels of resolution. *FEMS Microbiol. Ecol.* 30, 237-251.
257. **Sanger L. J., Cox P., Splatt P., Whelan M. J., Anderson J. M., 1997.** The characterization of a lignin-derived organic matter fraction in soils developed under different vegetation types. *J. of Applied Ecology* 34, 14-20.
258. **Schimel J. P., Clein J. S., 1996.** Microbial response to freeze-thaw cycles in tundra and taiga soils. *Soil Biol. & Biochem.* 28, 1061-1066.
259. **Schitzer M., Khan S. U., 1972.** Humic substances in the environment, M. Dekker ed. New York. 327 p.

260. Senesi N., Miano T. M., Provenzano M. R., Brunetti G., 1989. Spectroscopic and compositional comparative characterization of I.H.S.S. reference and standard fulvic and humic acids of various origin. *Sci. Tot. Environ.* 81/82, 143-156.
261. Seritti A., Morelli E., Nannicini L., Giambelluca A., Scarano G., 1994. Fluorescence emission characteristics of naturally occurring organic matter in relation to metal complexation studies. *Sci. Tot. Environ.* 148, 73-81.
262. Shinkarev A. A., Breus I. P., Kopysov G. F., 1996. Vertical leaching of water-soluble organic matter from the upper horizons of sol-podzolic soil and leached chernozem. *Eurasian soil science* 28, 1374-1380.
263. Sierra J., Renault P., 1994. Respiratory activity and oxygen distribution in natural aggregates in relation to anaerobiosis. *Soil Sci. Am. Soc. J* 60, 1428-1438.
264. Sierra J., Renault P., 1998. Temporal pattern of oxygen concentration in a Hydromorphic Soil. *Soil Sci. Am. Soc. J* 62, 1398-1405.
265. Simunek J., Suarez D. L., 1993. Modeling carbon dioxide transport and production in soil. 1. Model development. *Water Resour. Res.* 29, 487-497.
266. Singh J. P., 1996. Nitrogen mineralization of legume residues in soils in relation to their chemical composition. *Journal of the Indian Society of Soil Science* 44, 219-223.
267. Six J., Feller C., Deneff K., Ogle S. M., de Moraes J. C., Albrecht A., 2002. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils - Effects of no-tillage. *Agronomie* 22, 755-775.
268. Skopp J., Jawson M. D., Doran J. W., 1990. Steady-state aerobic microbial activity as a function of soil water content. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, 1619-1625.
269. Sollins P., Glassman C., Paul E. A., Swanston C., Lajtha C., Jeil J. W., Elliott E. T., 1999. Soil carbon and nitrogen. Pools and fractions. *Standard soil methods for long-term ecological research.* Oxford University Press, Oxford, UK, 89-105.
270. Sommers L. E., Gilmour C. M., Wildung R. E., Beck S. M., 1981. The effect of water potential on decomposition processes in soils. In: *Water Potential Relations in Soil Microbiology.* J. F. Parr, Gardner W. R. and Elliott E. T. Ed., Madison, Soil Sci. Soc. Am., 97-117.
271. Sørensen P., Jensen E. S., 19, 29-35, 1995. Mineralization of carbon and nitrogen from fresh and anaerobically stored sheep manure in soils of different texture. *Biol. & Fert. of Soils* 19, 29-35.
272. Spalding R. F., Exner M. E., 1993. Occurrence of nitrate in groundwater - a review. *J. Environ. Qual.* 22, 392-402.

-
273. **Stams J. M.**, 1994. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Ant. Van Leeuw.* 66, 271-294.
274. **Stanford G., Dziena S., Vander Pol R. A.**, 1975. Effect of temperature on denitrification rate in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proceeding.* 39, 867-870.
275. **Stevens R. J., Laughlin R. J.**, 1998. Measurement of nitrous oxide and di-nitrogen emissions from agricultural soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 52, 131-139.
276. **Stumm W., Morgan J. J.**, 1996. Aquatic Chemistry, r. edn. ed. New York: Wiley-Interscience. 1022 pp.
277. **Suarez D. L., Simunek J.**, 1993. Modeling carbon dioxide transport and production in soil. 2. Parameter selection, sensitivity analysis, and comparison of model predictions to field data. *Water Resour. Res.* 29, 499-513.
278. **Suchomel K. H., Kremer D. K., Long A.**, 1990. Production and transport of carbon dioxide in a contaminated vadose zone : a stable and radioactive carbon isotope study. *Env. Sci. Technol.* 24, 1824-1831.
279. **Swift M. J., Heal O. W., Anderson J. M.**, 1979. Décomposition in Terrestrial Ecosystems. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications.
280. **Thomsen I. K., Schjønning P., Jensen B., Kristensen K., Christensen B. T.**, 1999. Turnover of organic matter in differently textured soils. II. Microbial activity as influenced by soil water regimes. *Geoderma* 89, 199-218.
281. **Thorstenson D. C., Pollock D. W.**, 1989. Gas transport in unsaturated zones : Multicomponent systems and the adequacy of Fick's Laws. *Water Resour. Res.* 25, 477-507.
282. **Thurman E. N.**, 1985. Organic Geochemistry of Natural Waters, Nijhoff/Junk ed. Boston.
283. **Tian G.**, 1998. Effect soil degradation on leaf decomposition and nutrient release under humid tropical conditions. *Soil Sci.* 163, 897-906.
284. **Tiedje J. M.**, 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: *Biology of Anaerobic Microorganisms.* A. J. B. Zehnder Ed., Wiley, Chichester, UK, 179-244.
285. **Tiedje J. M.**, 1994. Denitrifiers. In: *Methods of Soil Analysis: Part 2. Microbiological and Biochemical Properties.* R. W. e. a. Weaver Ed., Madison, Soil Science Society of America, 245-267.
286. **Tiedje J. M., Sexstone A. J., Myrold D. D., Robinson J. A.**, 1982. Denitrification: Ecological niches, competition and survival. *Antonie Van Leeuwenhoek* 48, 569-583.

-
287. **Tipping E., 1998.** Modelling the properties and behaviour of dissolved organic matter in soils. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 87, 237-252.
288. **Tipping E., Woolf C., 1990.** Humic substances in organic acid soil: modeling their release to the soil solution in terms of humic charge. *J. Soil Sci.* 41, 505-519.
289. **Torn M. S., Trumbore S. E., Chadwick O. A., Vitousek P. M., Hendricks D. M., 1997.** Mineral control of soil organic matter carbon storage and turnover. *Nature* 389, 170-173.
290. **Trinsoutrot I., Recous S., Bentz B., Lineres M., Cheneby D., Nicolardot B., 2000.** Biochemical quality of crop residues and carbon and nitrogen mineralization kinetics under nonlimiting nitrogen conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 918-926.
291. **Van Genuchten M. T., 1980.** A closed form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44, 892-898.
292. **Van Soest P. J., 1963.** Use of the detergent in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content. *J. AOAC* 46, 825-835.
293. **Van Veen J. A., Ladd J. N., Frissel M. J., 1985.** Modelling C and N turnover through the microbial biomass in soil. *Plant & Soil* 76, 257-274.
294. **Vanlauwe B., Nwoke O. C., Sanginga N., Merckx R., 1999.** Evaluation of methods for measuring microbial biomass C and N and relationships between microbial biomass and soil organic matter particule size classes in West-African soils. *Soil Biol. & Biochem.* 31, 1071-1082.
295. **Vereecken H., Vanclooster M., Swerts M., Diels J., 1991.** Simulating water and nitrogen behaviour in soils cropped with winter wheat. *Fertil. Res.* 27, 233-243.
296. **Verseveld H. W., Verhoef H. A., 2000.** Soil layer-specific variability in net nitrification and denitrification in an acid coniferous forest. *Biol. & Fert. of soils* 32, 427-434.
297. **Vinther F. P., Eiland F., Lind A. M., Elsgaard L., 1999.** Microbial biomass and numbers of denitrifiers related to macropore channels in agricultural and forest soils. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 603-611.
298. **Wander M. M., Traina S. J., 1996.** Organic matter fractions from organically and conventionally managed soils : II. Characterization of composition. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60, 1087-1094.
299. **Wander M. M., Yuang X., 2000.** Influence of tillage on the dynamics of loose- and occluded-particulate and humified organic matter fractions. *Soil Biol. & Biochem.* 32, 1151-1160.

300. Wassenaar L., Aravena R., Fritz P., Barker J., 1990. Isotopic composition (^{13}C , ^{14}C , ^2H) and geochemistry of aquatic humic substances from groundwater. *Organic geochemistry* 15, 383-396.
301. Webb S. W., Pruess K., 2002. The use of fick's law for modeling trace gas diffusion in porous media. *Transport in Porous media* 51, 327-341.
302. Weier K. L., Doran J. W., Power J. F., Walters D. T., 1993. Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon, and nitrate. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 66-72.
303. Weissenhorn I., Munch J. C., Fischer W. R., 1990. Characterization of denitrifying bacterial communities with distinct trophic requirements from soil under various agricultural use. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 60, 141-146.
304. Wershaw R. L., Kennedy K. R., 1998. Use of ^{13}C -NMR and FTIR for elucidation of degradation pathways during natural litter decomposition and composting: IV. Characterization of humic and fulvic acids extracted from senescent leaves. In: *Humic Substances; Structures, Properties and Uses*. G. D. E. A. Ghabbour Ed., Cambridge, Royal society of Chemistry, 61-68.
305. Westerhoff P., Chen W., Esparza M., 2001. Fluorescence analysis of standard fulvic acid and tertiary treated wastewater. *J. Environ. Qual.* 30, 2037-2046.
306. Whalen J. K., Bottomley P. J., Myrold D. D., 2000. Carbon and nitrogen mineralization from light- and heavy-fraction additions to soil. *Soil Biol. & Biochem.* 32, 1345-1352.
307. Whitmore A. P., 1995. Modelling the mineralization and leaching of nitrogen from crop residues during three successive growing seasons. *Ecol. Modelling* 81, 233-241.
308. Whitmore A. P., Coleman K. W., Bradbury N. J., Addiscott T. M., 1991. Simulation of nitrogen in soil and winter wheat crops: modelling nitrogen turnover through organic matter. *Fertil. Res.* 27, 283-291.
309. Witter E., Dahlin S., 1995. Microbial utilization of [^{14}C] labelled straw and [^{13}C] labelled glucose in soils of contrasting pH and metal status. *Soil Biol. & Biochem.* 27, 1507-1516.
310. Xiaoqiao L., Jaffe R., 2000. Interaction between Hg(II) and natural dissolved organic matter : a fluorescence spectroscopy based study. *Wat. Res.* 35, 1793-1803.
311. Xu X., Nieber J. L., Gupta S. C., 1992. Compaction effect on the gas diffusion coefficient in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 1743-1750.

-
312. **Young I. M., Ritz K., 2000.** Tillage, habitat space and function of soil microbes. *Soil & Tillage Research* 53, 201-213.
313. **Zahn M. T., Grimm W.-D., 1993.** Nitrate and chloride loadings as anthropogenic indicators : nitrate and chloride loading as anthropogenic indicators in the groundwater of an Alp foothills region in the upper Bavaria, FRG. *Water, Air, Soil Pollution* 68, 469-483.
314. **Zhou L. X., Wong J. W. C., 2000.** Microbial decomposition of dissolved organic matter and its control during a sorption experiment. *J. Environ. Qual.* 29, 1852-1856.
315. **Zsolnay A., 2003.** Dissolved organic matter: artefacts, definitions and functions. *Geoderma* 113, 187-209.
316. **Zsolnay A., Baigar E., Jimenez M., Steinweg B., Saccomandi F., 1999.** Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38, 45-50.

PUBLICATION :

P. Cannavo, A. Richaume, P. Renault, C. Emblanch, P. Bertuzzi, et F. Lafolie (2002)

Denitrification in the upper vadose zone layer: a comparison between a fluvic

hypercalcaric cambisol and a haplic calcisol, *Agronomie* (22), 479-488

Denitrification in the upper vadose zone layers: a comparison between a fluvic hypercalcaric cambisol and a haplic calcisol

Patrice CANNAVO^{a, c, *}, Agnès RICHAUME^b, Pierre RENAULT^a, Christophe EMBLANCH^c,
Patrick BERTUZZI^a, François LAFOLIE^a

^a INRA, Unité Climat Sol Environnement, Bâtiment Sol, Domaine Saint-Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9, France,

^b UCB – Lyon 1, Écologie Microbienne, UMR-CNRS 5557, 43 boulevard du 11 novembre 1918,
69622 Villeurbanne Cedex, France,

^c UAPV, Laboratoire d'Hydrogéologie, 74 rue Louis Pasteur, 84029 Avignon Cedex 1, France

(Received 17 July 2001; accepted 7 March 2002)

Abstract – The vertical distributions of heterotrophs, NO₃⁻-reducers and denitrifiers, specific respiratory and denitrifying activities were studied in the upper vadose zone of two profiles, distinguished from each other by the risk of transitory anaerobic conditions. According to pedological observations, 3 and 4 layers were defined in the fluvic hypercalcaric cambisol and haplic calcisol profiles, respectively. Bacterial enumerations were performed using the Most Probable Number (MPN) method. Aerobic respiratory and denitrifying activities were estimated from the depletion of O₂ and the accumulation of N₂O in the presence of C₂H₂, respectively, for soil in sealed flasks incubated in optimal conditions. The denitrifier – to – heterotroph ratio indicates that the denitrifying ability favors microorganisms in the competition for deep layer colonization in the poorly aerated site. Whereas specific aerobic respiration does not vary or increase with depth, the specific denitrifying activity decreases with depth and is mostly affected by organic-C in the poorly aerated site. The use of specific denitrifying activity should be accounted for in models of denitrification.

denitrification / denitrifying bacteria / heterotroph micro-organisms / specific activity / vadose zone

Communicated by Edward Topp (London, Canada)

Correspondence and reprints
Patrice.Cannavo@avignon.inra.fr

Résumé – Dénitrification dans la zone non saturée superficielle : comparaison entre un fluvic hypercalcaric cambisol et un haplic calcisol. Dans cette étude les distributions verticales des micro-organismes hétérotrophes, des réducteurs de nitrate et des dénitrifiants, ainsi que de leurs activités spécifiques respiratoires et dénitrifiantes, ont été comparées dans la zone non saturée superficielle de deux sites se distinguant par le risque de conditions anoxiques transitoires. Suite à une caractérisation pédologique, 3 et 4 horizons ont été distingués respectivement aux niveaux d'un fluvic hypercalcaric cambisol et d'un haplic calcisol. Les nombres de bactéries ont été estimés par la méthode du nombre le plus probable (MPN). Les activités respiratoire aérobie et dénitrifiante ont été caractérisées par le suivi respectif de la disparition de O_2 ou de l'accumulation de N_2O en présence de C_2H_2 , pour du sol incubé en conditions optimales à l'intérieur de flacons scellés. Le rapport dénitrifiants/hétérotrophes indique que l'aptitude à dénitrifier donne un avantage dans la compétition pour coloniser les horizons profonds du site le moins bien aéré. Alors que l'activité respiratoire aérobie spécifique semble constante ou s'accroître avec la profondeur, l'activité spécifique dénitrifiante décroît. Elle est affectée par le C-organique plus faible dans le site moins aéré. L'introduction de l'activité spécifique dénitrifiante dans les modèles de dénitrification pourrait améliorer les prédictions de concentration en NO_3^- arrivant à la nappe.

dénitrification / bactérie dénitrifiante / micro-organismes hétérotrophes / activité spécifique / zone non saturée

1. INTRODUCTION

Nitrate contamination of underground water has increased during the last few decades [33], and $[NO_3^-]$ is often higher than $50 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ solution [20], the threshold of water potability defined by the European Community (EEC 80-778 directive). Preventing/reducing NO_3^- pollution by modifying agricultural practices requires improving our understanding of the transport and biogeochemical transformations within the "vadose zone – underground water" continuum on regional scales [20].

A lot of studies have been performed on C and N transport and transformations along this continuum. On the one hand, studies have dealt with soil organic layers [4, 10], and several mechanistic models (such as PASTIS [16], CERES [29] and STICS [1]) often satisfactorily reflect N evolution over long periods (e.g. 1 year) in these surface layers. On the other hand, studies have dealt with underground water [8], and several models combine water and solute transports with N transformations, including redox reactions in aquifers [14, 26]. Only a few studies have dealt with NO_3^- behaviour in the vadose zone below soil organic layers [11, 30]. The main characteristics which distinguish these layers from surface organic layers include (i) the organic-C content, supplied only by transport from organic layers [22], (ii) the aeration, decreasing with depth [32], and (iii) the long residence time of water [18].

The N behaviour in the "vadose zone – underground water" continuum is generally explained by dilution and dispersion of NO_3^- in the intermediate layers [11], although, it is largely recognized that biological processes such as denitrification are known to affect both NO_3^- leaching and NO_3^- content [11, 30].

As denitrification plays an important role in the vadose zone in the reduction of NO_3^- and in order to extend later to the entire vadose zone models combining transport to N biogeochemical transformations, the goal of the present study was to characterize and understand the distribution of the denitrifying activity in the upper vadose zone layers. This activity depends on the density of denitrifiers and their specific denitrifying activity. These two parameters result from (i) the possible advantage conferred by the ability to reduce N oxides for the medium colonization and (ii) whether environmental conditions induce the expression of their denitrifying activities. Therefore, denitrifying potential and semi-potential activities were analyzed with regard to $[NO_3^-]$ and organic-C distributions, as well as heterotroph bacteria numbers and aerobic respiratory specific activity as indirect indicia of the aeration of the soil. This procedure was repeated for two soil profiles distinguished from each other by annual water regime and risk of anaerobic conditions.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Experimental sites and sample collections

Two sites were chosen near Avignon (France), in a small region, labeled a "zone vulnérable" with regard to major groundwater NO_3^- pollution due to agricultural practices (EEC 91-676 directive). Both correspond to calcareous loamy clay soils. Saint-Pierre soil ($43^{\circ}99' \text{ N}$; $5^{\circ}00' \text{ E}$) is a fluvic hypercalcaric cambisol (FAO classification). Ferro-calcaric concretions and reduction-oxidation stains – indicating the existence of temporary

Table I. Main characteristics of the Saint-Pierre and Pichone soil profiles.

| Layer ^a | Clay ^b (%) | Loam ^b (%) | Sand ^b (%) | Total carbonate (g·kg ⁻¹) | Density (g·cm ⁻³) | C/N | NC ₃ ⁻ (mmol·kg ⁻¹ dw soil) | NH ₄ ⁺ (mmol·kg ⁻¹ dw soil) | Organic-C (g·kg ⁻¹) | WFPS ^c |
|--------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--|----------------------------------|------|--|--|------------------------------------|-------------------|
| SP1 | 58.3 | 32.3 | 9.4 | 444 | 1.14 | 8.6 | 1.03 | 0.21 | 20.30 | 0.54 |
| SP2 | 57.5 | 33.0 | 9.5 | 581 | 1.40 | 8.9 | 0.81 | 0.28 | 15.28 | 0.75 |
| SP3 | 75.0 | 18.8 | 6.2 | 966 | 1.07 | 11.9 | 0.88 | 0.03 | 4.16 | 0.85 |
| P1 | 49.8 | 40.7 | 9.5 | 363 | 1.34 | 9.1 | 0.10 | 0.15 | 12.88 | 0.45 |
| P2 | 52.1 | 41.7 | 6.2 | 343 | 1.51 | 8.6 | 0.07 | 0.08 | 8.81 | 0.65 |
| P3 | 41.4 | 32.5 | 26.1 | 265 | 1.58 | 8.4 | 0.36 | 0.10 | 5.95 | 0.65 |
| P4 | 40.9 | 29.0 | 30.1 | 345 | 1.63 | 9.3 | 1.44 | 0.07 | 5.95 | 0.64 |

^a SP: Saint-Pierre (1: layer 0–30 cm; 2: layer 30–70 cm; layer 70–145 cm); P: Pichone (1: layer 0–35 cm; 2: layer 35–70 cm; 3: layer 70–100 cm; 4: layer 100–130 cm).

^b Values obtained after decarbonation.

^c Water Filled Pore Space at the sampling date.

pH_{H2O} ranged between 8.3 and 8.8 with depth for the Saint-Pierre site and had a constant value of 8.4 for the Pichone site.

anaerobiosis – are present in the lower half of the profile. At sampling time, spinach was cropped and the water table was at 1.45 m depth. Pichone soil (44°01'N; 5°01' E) is a haplic calcisol (FAO classification). At sampling time, this soil was bare and tillage had already been performed for the next cereal crop. The preceding crop was corn. The water table was at about 10 m depth. Characteristics of the upper vadose zone layers of these 2 sites are reported in Table I. At sampling time, Pichone was drier than Saint-Pierre.

According to pedological observations, 3 and 4 layers were defined in the first 1.45 and 1.3 m of Saint-Pierre and Pichone, respectively. Almost 5 kg of fresh soil were sampled in each layer at the end of March 2000. The samples were air dried for 24 h at room temperature in order to obtain approximately 0.1 g H₂O·g⁻¹ soil moisture and sieved thereafter at 2 mm. The soil samples were stored in sealed plastic bags at 4 °C in the dark, until use.

2.2. Enumeration of heterotroph, denitrifying and NO₃⁻-reducing bacteria by the most probable number (MPN) method

Triplicate microbial enumerations were performed in May 2000. Soil amounts equivalent to 10 g dw were homogenized in 50 ml of NaCl (8 mg·l⁻¹ solution) for 1.5 min, with a Waring blender. The soil suspension was serially diluted 10-fold. One hundred microliters of the

dilutions were aliquoted in 8 × 12 wells of microtiter plates containing 100 µl of Nutrient Broth (NB, Difco, Detroit, USA) concentrated twice. For denitrifying bacteria, the medium was amended with KNO₃ (5 mm). The plates were incubated at 28 °C for 7 and 12 days for heterotroph and denitrifier enumerations, respectively. For denitrifier enumerations, anaerobic conditions were obtained using the BBL GasPack Pouch System (Becton Dickinson, Sparks, USA). The presence of heterotrophs was revealed by the turbidity in positive wells. The presence of denitrifiers was considered positive if neither NO₃⁻ nor NO₂⁻ was detected using Morgan's reagent and Griess-Ilosway's reagent, respectively. The presence of NO₃⁻ reducers was considered positive if only NO₂⁻ was detected. The most probable number of heterotroph or denitrifying micro-organisms was estimated by Cochran's method [3].

2.3. Denitrification measurement

Potential denitrification activity (PDA) and semi-potential denitrification activity (SPDA) were measured for each layer in April 2000. PDA corresponds to the activity in non-limiting NO₃⁻ and organic-C and anaerobe conditions, whereas SPDA corresponds to the activity solely in non-limiting NO₃⁻ conditions. For each measurement, 25 g of air dried soil were placed into a 150 ml plasma flask, and 25 ml of a solution containing either 40 mm

KNO_3^- and 10 mm succinic acid were added for PDA measurement, or 40 mm KNO_3^- only for SPDA measurement. Anoxic conditions were obtained by 3 cycles of alternating vacuum (3 min) and N_2 filling (3 min). Nitrogen in the flask was equilibrated with the atmospheric pressure with a syringe needle, and 3.6 ml of N_2 were replaced by 2.4 ml of C_2H_2 to inhibit N_2O reduction, and 1.2 ml of Kr to detect leakage. The plasma flasks were then incubated at 20 °C under shaking. 0.25 ml gas samples were withdrawn with a pressure-lock syringe (SGE II, SGE, France) 3, 4, 5 and 6 h after introducing C_2H_2 and immediately analyzed for N_2O by ECD gas chromatography with a HP 5890 Series II fitted with a porapak Q column (80–100 μm mesh, 2 m) coupled to an integration software on a PC workstation. The carrier gas was Ar-CH_4 (95/5), and the temperatures were 50 and 300 °C for the oven and the detector, respectively. Other 0.25 ml gas samples were used for O_2 , CO_2 , N_2 , C_2H_2 , and Kr analysis by TCD gas chromatography with a HP 5890 Series II fitted with porapak Q (80–100 μm mesh, 1.8 m) and molecular sieve (1.5 A, 1.8 m) columns coupled to the same integration software. Carrier gas was He, and the temperatures were 50 and 120 °C for the oven and the detector, respectively. The relative precision for the two GC was about 0.5–1%. A simple linear regression was used to estimate the denitrifying activity expressed in $\text{mol N-N}_2\text{O}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ dw soil}\cdot\text{s}^{-1}$. The ECD precision enabled us to detect a denitrification activity of about 3×10^{-13} $\text{mol N}_2\text{O}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ dw soil}\cdot\text{s}^{-1}$ with a variation coefficient of about 1%. Three replicates were performed for each layer. Potential and semi-potential denitrifying specific activities (PDSA and SPDSA respectively, expressed in $\text{mol N}_2\text{O}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) were obtained by expressing PDA and SPDA per denitrifying bacteria, respectively.

2.4. Microbial respiration measurement

Microbial respiration measurements were performed in April 2000. The soil samples were re-wetted and equilibrated at a 0.001 MPa water suction for 48 h at 20 °C. One hundred grams of fresh soil were placed into a 150 ml plasma flask. A volume of 1.2 ml was replaced by Kr to detect possible gas leakage. Gas samples of 0.25 ml were withdrawn 0, 24, 48 and 72 h after sealing the flasks, and immediately analyzed for O_2 , CO_2 , N_2 , and Kr using the GC equipped with a TCD. A simple linear regression was used to estimate the O_2 consumption, the aerobic respiratory activity (ARA, expressed in $\text{mol O}_2\cdot\text{kg}^{-1}\text{ dw soil}\cdot\text{s}^{-1}$). Three replicates were analyzed for each layer. Aerobic respiratory specific activity (ARSA

expressed in $\text{mol O}_2\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) was obtained by expressing respiration activity per heterotrophic bacteria.

2.5 Statistical analyses and other treatments

Three statistical treatments were performed:

- (i) Means and confidence intervals ($P < 0.90$) of the mean microbial number densities were estimated assuming a Log-normal distribution, as suggested in Cochran's method [3]. Using 0.90 as a critical value was justified by the fact that differences were often significant and not significant using 0.90 and 0.95 as critical values, respectively. Because deviations in microbial activity measurements between replicates can be overlooked (see Results section), confidence intervals ($P < 0.90$) for the specific activities were deduced from the mean PDA and SPDA and the confidence intervals ($P < 0.90$) of the mean microbial numbers;
- (ii) A statistical test of the existence of statistical differences between profile layers, using the ANOVA method;
- (iii) Confidence intervals ($P < 0.90$) of the slopes between microbial measurements and depth enabled us to assess better whether microbial activity or number density vary with depth.

3. RESULTS

3.1. Distribution of heterotrophs, NO_3^- -reducers and denitrifiers

The densities of heterotrophs, NO_3^- -reducers, and denitrifiers in each vadose zone layer are presented in Figure 1. For both profiles, there was generally a decrease in the bacterial densities with increasing depth. Nevertheless, it was not always possible to statistically distinguish between the mean densities ($P < 0.90$), partly because of the large uncertainty of the MPN method (Fig. 1): e.g. the surface layers of the Saint-Pierre (i.e. 0–30 cm depth) and Pichone sites had means of 6.8×10^6 and 1.5×10^7 heterotrophs $\text{cells}\cdot\text{g}^{-1}\text{ dw soil}$, and [1.5×10^6 , 3.1×10^7 , 6.2×10^6 , 3.8×10^7] confidence intervals ($P < 0.90$), respectively. For the Saint-Pierre site, NO_3^- reducing bacterial densities were statistically different ($P < 0.90$) between the 0–30 cm layer and the other two layers (30–70 and 70–145 cm). No trend was

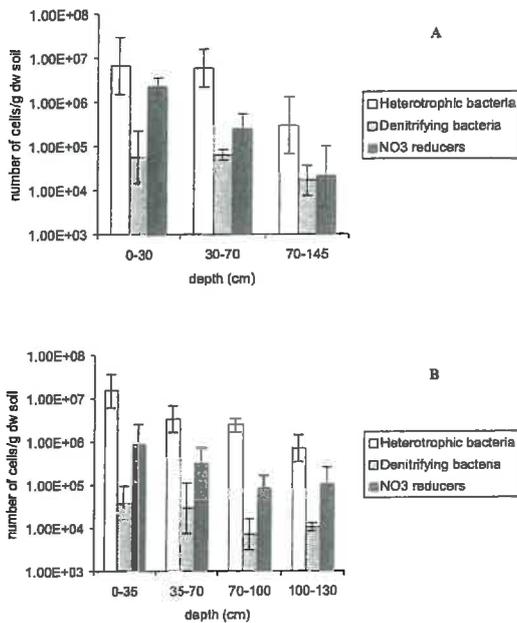


Figure 1. MPN enumeration of heterotrophic bacteria, denitrifying bacteria and NO₃⁻ reducers (confidence intervals are for $P < 0.90$). A: Saint-Pierre soil profile, B: Pichone soil profile.

observed for heterotroph and denitrifying bacteria, although the mean heterotroph number was quite small in the 70–145 cm layer with regards to the two upper layers. For the Pichone site, although confidence intervals generally overlapped for adjacent layers, the slope coefficients between the depth and the density values were significant ($P < 0.90$) for heterotroph bacteria and NO₃⁻ reducers. When considering each layer and microbial community separately, there was no statistical difference between the Saint-Pierre and Pichone sites for heterotroph bacteria, NO₃⁻ reducers and denitrifying bacteria. To compare the bacterial densities in the Saint-Pierre and Pichone upper vadose zone layers over the same thickness, we averaged over the same 130 cm depth. Thus, these bacterial densities were, respectively, for the Saint-Pierre and Pichone sites: 3.9×10^6 and 6.0×10^6 for heterotrophs, 6.7×10^5 and 4.0×10^5 for NO₃⁻ reducers and 4.2×10^4 and 2.4×10^4 for denitrifiers. Therefore, bacterial densities were higher for the Saint-Pierre site than for the Pichone site, except for heterotroph bacteria which were greater for the Pichone site.

The denitrifying bacteria – to – heterotroph bacteria ratio significantly increased with depth for the Saint-

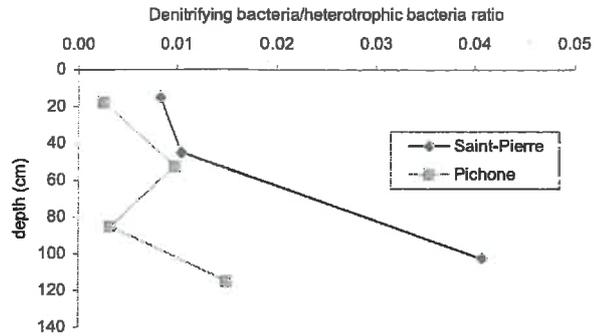


Figure 2. Denitrifying bacteria – to – heterotroph ratio as a function of depth for the Saint-Pierre and Pichone soil profiles.

Pierre site ($P < 0.90$) (Fig. 2); it was 2.7 times higher in the 70–145 cm layer of Saint Pierre than in the 100–130 cm depth layer of Pichone.

3.2. Potential and semi-potential denitrifying activities

Potential and semi-potential denitrifying activities are presented for both sites in Table II. It was not possible to measure the semi-potential denitrifying activity in the 70–145 cm layer of Saint-Pierre, suggesting that the actual value was lower than the detection limit of 3×10^{-13} mol N₂O·kg⁻¹·dw soil·s⁻¹. Confidence interval limits were narrow, and facilitated the analysis of these activities. PDA and SPDA decrease with increasing depth for both soils: activity at 1 m depth was about 2% of its value in surface organic layers. PDA values were higher than SPDA ones: the SPDA – to – PDA ratio ranged between 0 for the 70–145 cm layer in the Saint-Pierre site and 0.88 for the 100–130 cm layer in the Pichone site (Tab. II). For the Saint-Pierre site, this ratio decreased continually with increasing depth whereas, for the Pichone site, it decreased until the 35–70 cm layer and increased beyond this layer. ANOVA tests confirmed that PDA and SPDA significantly differ between layers for each of the 2 profiles ($P < 0.90$).

Denitrifying activities were higher in the Saint-Pierre site than in the Pichone site, and the SPDA – to – PDA ratio was lower for the Saint-Pierre site in the first 70 cm depth (Tab. II).

Table II. Denitrifying activities, respiratory activities and specific activities in the Saint-Pierre and Pichone profiles.

| Layer | PDA (10^{-12} mol N_2O · kg^{-1} dw· s^{-1}) | SPDA (10^{-12} mol N_2O · kg^{-1} dw· s^{-1}) | SPDA/PDA | PDSA (10^{-20} mol N_2O · $cell^{-1}$ · s^{-1}) | SPDSA (10^{-20} mol N_2O · $cell^{-1}$ · s^{-1}) | ARA (10^{-10} mol O_2 · kg^{-1} dw· s^{-1}) | ARSA (10^{-20} mol O_2 · $cell^{-1}$ · s^{-1}) |
|-------|--|---|----------|---|--|---|--|
| SP1 | 13200 (976)* | 4300 (358) | 0.33 | 20000 | 6510 | 35.4 (1.0) | 44.4 |
| SP2 | 3500 (51) | 524 (32) | 0.15 | 5310 | 795 | 14.2 (0.5) | 22.5 |
| SP3 | 32 (3.5) | below detection limit | nd | 227 | nd | 8.8 (1.1) | 253 |
| P1 | 5800 (189) | 2625 (110) | 0.45 | 14300 | 6480 | 44.1 (7.6) | 27.1 |
| P2 | 284 (18) | 48 (2.4) | 0.17 | 849 | 143 | 16.6 (4.5) | 48.5 |
| P3 | 13 (1.0) | 8 (0.2) | 0.62 | 178 | 101 | 8.2 (1.0) | 34.6 |
| P4 | 8 (1.4) | 7 (0.7) | 0.88 | 80 | 62 | 15.1 (7.1) | 215 |

Detection limit: 3×10^{-13} mol N_2O · kg^{-1} · s^{-1} .

*Numbers in parentheses are SE.

nd: not determined.

3.3. Denitrifying and aerobic respiratory specific activities

For the two soil profiles, the distributions of PDSA and SPDSA are presented in Table II. PDSA and SPDSA decreased with increasing depth for both soil profiles: values at about 1 m depth were only about 0.85% the values in the surface organic layer. PDSA and the SPDSA were statistically identical for both soil profiles. Mean PDSA values in the surface organic layer were 2×10^{-16} and 1.43×10^{-16} mol N_2O · $cell^{-1}$ · s^{-1} for the Saint-Pierre and Pichone sites, respectively. Mean SPDSA values in the same layer were 0.651×10^{-16} and 0.648×10^{-16} mol N_2O · $cell^{-1}$ · s^{-1} for the Saint-Pierre and Pichone sites, respectively. Beyond the surface organic layer, PDSA and SPDSA were higher in the Saint-Pierre site on average, except for the deepest Saint-Pierre layer, where SPDSA could not be detected. ANOVA tests confirmed that PDSA and SPDSA significantly differ between layers for each of the 2 profiles ($P < 0.90$).

ARSA values were not statistically different between the Saint-Pierre and Pichone sites (Tab. II). The aerobic respiratory specific activity did not vary with depth in the first 2 and 3 layers for Saint-Pierre and Pichone, respectively. It seemed to increase in the deepest layer of these 2 sites, although it was not statistically different with regard to the overlapping of the mean confidence intervals. However, ANOVA method indicates that ARSA values significantly differ between layers ($P < 0.90$) for both profiles. Mean ARSA values were 33×10^{-20} and

37×10^{-20} mol O_2 · $cell^{-1}$ · s^{-1} in the 2 and 3 first layers of the Saint-Pierre and Pichone sites, respectively. In contrast, mean ARSA values were 253×10^{-20} and 215×10^{-20} mol O_2 · $cell^{-1}$ · s^{-1} , (i.e. 7.6 and 5.8 times greater, respectively) in the deepest layer of the Saint-Pierre and Pichone sites, respectively.

4. DISCUSSION

The aim of this work was to characterize and understand the vertical distribution of the denitrifying activity, in order to extend later to all the vadose zone models combining transport and C and N transformations. Experiments were therefore performed on two soil profiles distinguished from each other by the annual water regime and risk of anaerobic conditions. Because the denitrifying activity depends on the density of denitrifiers and their specific denitrifying activity – which is exacerbated in anaerobic conditions –, we try to relate these two parameters to additional measurements on $[NO_3^-]$, organic-C and O_2 consumption.

4.1. The effect of geochemical characteristics on denitrification

The Saint-Pierre site had higher contents in NO_3^- and total organic-C than the Pichone site (Tab. I). Organic

carbon content decreased with increasing depth from 20.3 to 4.2 g·kg⁻¹ and from 12.9 to 5.95 g·kg⁻¹ for the Saint-Pierre and Pichone sites, respectively. NO₃⁻ content decreased from 1.03 to 0.88 mmol·kg⁻¹ dw soil for the Saint-Pierre site, whereas it first decreased from 0.15 to 0.08 mmol·kg⁻¹ dw soil, and increased thereafter to 1.44 mmol·kg⁻¹ dw soil in the deepest layer for the Pichone site. Ferro-calcic concretions and reduction-oxidation stains present only in the lower half of the Saint-Pierre profile probably denote that its water regime increases the risk of transient anaerobic conditions.

The range of Michaelis constant estimates for denitrification found in the literature (1.42 × 10⁻³ mmol NO₃⁻·dm⁻³ solution [19] to 6.0 mmol NO₃⁻·dm⁻³ solution [9] includes the NO₃⁻ concentrations in the Pichone and Saint-Pierre sites, suggesting that NO₃⁻ can limit denitrification in situ, in so far as the lowest K_m estimates have been obtained on homogeneous soil slurries [19], and the highest values have been obtained on intact soil cores [9]. It has already been shown that the presence or the absence of NO₃⁻ in anaerobic conditions can affect the synthesis of denitrification enzymes [15].

The effect of organic-C variation with depth is complex, because (i) it affects simultaneously aerobic and anaerobic microbial activities, and (ii) the amount of total organic-C insufficiently describes the effect of organic matter, which also depends on its nature. Dealing with the nature of organic-C, it is generally accepted that soluble compounds are better used than non-soluble ones [12, 21, 22]. Nevertheless, fulvic and humic acids – the most abundant dissolved organic compounds (DOC) [7], [28, 36] – are poorly consumed [7] whereas hydrophilic acids and simple compounds are better used [34]: consequently, only a small fraction of DOC is really mineralized [34].

Measurements of microbial activities showed a low variability between replicates (25 and 100 g of fresh soil for each replicate in denitrification and respiration characterizations, respectively). PDA and SPDA decreased like organic-C with increasing depth (Tab.II). The PDA values found in Saint-Pierre and Pichone surface layers were either of the same order of magnitude [24] or between 2.8 to 10 times higher for the Saint-Pierre than other studies [11], [23, 30]. The SPDA values of the Saint-Pierre site were smaller than those found by [6, 13]. As already observed [11, 30], the PDA decreased with depth, and was similar to the results obtained by [30]. However, PDA values of Saint-Pierre were 11 times lower than [11] at 1 m depth. The variation in SPDA – to – PDA ratio is complex. This ratio reflects the limiting

effect of organic-C on the denitrifying activity. PDA results from (i) the density of denitrifiers, which are facultative heterotrophs (i.e. which also grow in aerobic conditions), and (ii) their specific denitrifying activity which depends on the synthesis and activation of denitrification enzymes related to environmental conditions, including O₂ partial pressure and NO₃⁻ concentration [35].

4.2. Microbial distributions and specific activities

A decrease in micro-organisms with increasing depth was observed as a general trend ($P < 0.90$). This trend is generally observed within several meters below the surface [5] and micro-organisms are still present below more than 40 m depth [2]. The amounts of heterotroph bacteria in these soils were about 10⁷ cells·g⁻¹ dw soil (surface layer) which is in the same range as those found by other studies. They were lower than [5, 35] who found 10⁸ cells·g⁻¹ dw soil but were higher than [37], even if the MPN method leads to generally large uncertainties between replicates, in agreement with the large confidence intervals for each bacterial enumeration. These orders of magnitude are those expected in the method [3].

The amounts of denitrifying bacteria were quite homogeneous in both soil profiles, although they seemed to decrease slightly with increasing depth. The density of denitrifiers was lower than that found by [17] but was still higher than [37] for an organic layer. Although there is uncertainty concerning MPN enumeration results, the general trends in denitrifying activity are in agreement with the trend in the density of denitrifiers. As an example, the mean denitrifier density was higher in the Saint-Pierre site than in the Pichone site, in accordance with the higher PDA and SPDA in the Saint-Pierre site.

The denitrifying – to – heterotroph bacteria ratio was between 0.25 and 4.08%, according to previous results restricted to the soil surface layer: [17] obtained a ratio of 5 and 10% for soil under permanent pasture and cropped soil, respectively, and [37] obtained a ratio between 0.7 and 6.9% for a cropped soil. This ratio increased with depth, especially within the Saint-Pierre profile. This ratio is generally considered to be a biological indicator of the advantage conferred by the ability to denitrify in colonizing a medium [27]. This ratio shows that the denitrifying capacity favors the colonization of deeper layers within the Saint-Pierre profile, where reduction-oxidation stains denote the risk of transient anoxic conditions.

The NO_3^- reducers – to – heterotroph bacteria ratio value was quite high (7 times higher) in the 0–30 cm Saint-Pierre site compared with the 0–35 cm Pichone site (result not shown). This may result from agricultural practices. It can be explained by the spreading of fermented waste one month before sampling. Indeed, NO_3^- reducers include fermenting bacteria, which can reduce NO_3^- in NO_2^- but cannot carry out the subsequent denitrification steps. Indeed, this difference first results from an increase of about 5×10^6 NO_3^- reducers per g of soil between the surface layers of the Saint-Pierre and Pichone profiles (Fig. 1). It corresponds to about $35 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ of NO_3^- reducer biomass, which is lower than 2% of the mass of generally spread waste.

Denitrifying specific activity and specific aerobic respiratory activity made it possible to estimate the performance of denitrifying and heterotroph bacteria, respectively. The PDSA values were higher than those found by [17] in the organic layer soil, whereas the ARSA values were in the same range as those measured by [31]. The ARSA values did not vary significantly ($P < 0.90$) in the 2 and 3 first layers of the Saint-Pierre and Pichone sites, respectively, and increased in the deepest layer, showing a greater performance of heterotroph cells. This could be attributed to two main reasons: (1) as oxygenation is supposed to decrease with increasing depth, micro-organisms increased their performance by generally changing their terminal oxidase, i.e.: they substituted their *o* cytochrom with the *d* cytochrom [25] and/or (2) as organic matter content decreased with increasing depth, the relative abundance of oligotroph populations increased and induced an increase in the average performance of heterotrophs. Finally, the ARSA values showed that heterotroph micro-organisms modified their biodiversity to adapt to environments which were poorly supplied with organic matter. This biodiversity becomes less important in ecosystems with poor nutrient supply [2]. PDSA and SPDSA decreased with depth, and like PDA and SPDA, PDSA was higher than SPDSA. Denitrifying bacteria performance decreased with depth, as some denitrifying conditions like organic-C were unfavorable. Variations in PDSA might result from a change in denitrifier biodiversity and/or a low expression of their denitrifying ability due to the poor organic matter content of these layers (Tab. I) but also due to a lower oxygenation and NO_3^- content. The results for SPDSA might be explained by the limiting C substrate so that denitrifying bacteria were less efficient in decomposing organic matter forms in the deepest layers. In fact, at the same content of really usable organic-C, the higher the specific denitrifying activity is, the higher is the risk of

limitation of the potential denitrification activity by the organic-C, as was observed in this study. Potential denitrification specific activity (PDSA) was higher in the Saint-Pierre site than in the Pichone site; although the organic-C content of the Saint-Pierre was higher, the SPDA – to – PDA ratio was lower in this site. PDSA is also lower on Pichone soil, resulting from the better aeration status of this profile which reduces the expression of a denitrifying activity.

Therefore, large variations of the specific denitrifying activity may be expected, whereas it may be assumed that specific aerobic respiration is less variable as long as heterotrophs are mainly aerobic bacteria (specific aerobic respiration is expressed per heterotroph bacteria). It was observed that at the same content of usable organic-C, the higher the specific denitrifying activity is, the higher the risk is of limiting the potential denitrification activity by the organic-C.

5. CONCLUSION

In order to investigate denitrification in the vadose zone below the organic surface layer, aerobic respiration and denitrification were measured and combined with functional community enumeration (heterotrophs, denitrifiers and NO_3^- -reducers) within two profiles, distinguished from each other by the risk of transient anaerobiosis, resulting from the water regime and evidenced by reduction-oxidation stains in the poorly aerated ones.

The Saint-Pierre site showed more favorable conditions for denitrification, such as an anoxic regime, and the presence of high organic C and NO_3^- contents.

The denitrifier – to – heterotroph bacteria ratio, the specific denitrifying activity and the specific aerobic respiration suggested a change in microbial diversity and/or an adaptation to environmental conditions including oxygenation, NO_3^- content or organic matter content in the deepest layers.

Variations of depth and time in the specific denitrifying activity should be accounted for in mechanistic models of denitrification, which generally suppose that denitrification is proportional to the denitrifying biomass, when explicitly describing microbial dynamics. Therefore, bacterial enumeration without microbial activities cannot inform alone on denitrification in the vadose zone. There is a need to account for seasonal variations in specific denitrifying activity and denitrifier

biomass, which may result from changes in aeration and NO_3^- concentration, as well as quantitative and qualitative changes in the organic matter.

Acknowledgements: This work was carried out in the Soil Science Unit, INRA, Avignon (France), and the Laboratoire d'Écologie Microbienne (Villeurbanne, France). We thank C. Young of the INRA Translation Service for reviewing the English version of the manuscript. The authors wish to thank N. Salin for helping with denitrifying activity measurements and F. Gourbière for statistical analyses, G. Sévenier for nitrate concentration measurements, M. Bourlet for pedological analyses and Dr. J.-P. Legros for helping with FAO classification.

REFERENCES

- [1] Brisson N., Mary B., Ripoche D., Jeuffroy M.H., Ruget F., Nicoullaud B., Gate P., Devienne-Baret F., Antonioletti R., Durr C., Richard G., Beaudoin N., Recous S., Tayot X., Plenet D., Cellier P., Machet J.M., Meynard J.M., Delécolle R., STICS: a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balances. I. Theory and parametrisation applied to wheat and corn, *Agronomie* 18 (1998) 311–346.
- [2] Brockman F.J., Kieft T.L., Frederickson J.K., Bjornstad B.N., Li S.W., Spagenburg W., Long P.E., Microbiology of vadose zone Paleosols in south-central Washington state, *Microb. Ecol.* 23 (1992) 279–301.
- [3] Cochran W.G., Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number", *Biometrics* 6 (1950) 105–116.
- [4] De Neve S., Hofman G., N mineralization and nitrate leaching from vegetable crop residues under field conditions: a model evaluation, *Soil Biol. Biochem.* 30 (1998) 2067–2075.
- [5] Dodds W.K., Banks M.K., Clenan C.S., Rice C.W., Sotomayor D., Strauss E.A., Wei Y., Biological properties of soil and subsurface sediments under abandoned pasture and cropland, *Soil Biol. Biochem.* 28 (1996) 837–846.
- [6] Ellis S., Howe M.T., Goulding W.T., Mugglestone M.A., Dendooven L., Carbon and nitrogen dynamics in a grassland soil with varying pH: effect of pH on the denitrification potential and dynamics of the reduction enzymes, *Soil Biol. Biochem.* 30 (1997) 359–367.
- [7] Gaffney J.S., Marley N.A., Clark S.B., Humic and fulvic acids: isolation, structure, and environmental role. in: Gaffney J.S., Marley N.A., Clark S.B. (Eds.), *Am. Chem. Soc. (Chap. 1)* (1996) 2–16.
- [8] Gómez M.A., González-López J., Hontoria-García E., Influence of carbon source on nitrate removal of contaminated groundwater in a denitrifying submerged filter, *J. Hazard. Mater. B* 80 (2000) 69–80.
- [9] Hénault C., Quantification de la dénitrification dans les sols à l'échelle de la parcelle cultivée, à l'aide d'un modèle prévisionnel, Ph.D. Thesis in Agronomic Science ENSA Montpellier, Montpellier, 1993, 108 p.
- [10] Hussain I., Olson K.R., Ebelhar S.A., Long-term tillage effects on soil chemical properties and organic matter fractions, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63 (1999) 1335–1341.
- [11] Jarvis S.C., Hatch D.J., Potential for denitrification at depth below long-term grass swards, *Soil Biol. Biochem.* 26 (1994) 1629–1636.
- [12] Kalbitz K., Solinger S., Park J.-H., Michalzik B., Matzner E., Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review, *Soil Sci.* 165 (2000) 277–304.
- [13] Katz R., Hagin J., Kurtz L.T., Participation of soluble and oxidizable soil organic compounds in denitrification, *Biol. Fert. Soils* 1 (1985) 209–213.
- [14] Kinzelbach W., Schäfer W., Herzer J., Numerical modeling of natural and enhanced denitrification processes in aquifers, *Water Resour. Res.* 27 (1991) 1123–1135.
- [15] Kömer H., Zumft W.G., Expression of denitrification enzymes in response to the dissolved oxygen level and respiratory substrate in continuous culture of *Pseudomonas stutzeri*, *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989) 1670–1676.
- [16] Lafolie F., Modelling water flow, nitrogen transport and root uptake including physical non-equilibrium and optimization of the root water potential, *Fertil. Res.* 27 (1991) 215–231.
- [17] Lensi R., Clays-Josserand A., Monrozier L.J., Denitrifiers and denitrifying activity in size fractions of a mollisol under permanent pasture and continuous cultivation, *Soil Biol. Biochem.* 27 (1995) 61–69.
- [18] Longo N., Moyengo M., Flux d'eau et transfert des solutés dans les horizons profonds des sols du Mont-Amba, *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent* 64 (1999) 115–122.
- [19] Maag M., Malionovsky M., Nielsen S.M., Kinetics and temperature dependence of potential denitrification in riparian soils, *J. Environ. Qual.* 26 (1997) 215–223.
- [20] Mariotti A., Quelques réflexions sur le cycle biogéochimique de l'azote dans les agrosystèmes, Maîtrise de l'azote dans les agrosystèmes, Reims (France), 19–20 novembre 1996, Ed. INRA, Paris (Les colloques, 83, 1997, pp. 9–22).
- [21] McCarty G.W., Bremner J.M., Factors affecting the availability of organic carbon for denitrification of nitrate in subsoil, *Biol. Fert. Soils* 15 (1993) 132–136.
- [22] Moore T.R., Dissolved organic carbon: sources, sinks and fluxes and role in the soil carbon cycle in: Lal R., Kimble J.M., Follett R.F., et al., *Soils processes and the carbon cycle*, CRC Press Inc, Boca Raton – USA, 1998, pp. 281–292.
- [23] Paramasivam S., Alva A.K., Prakash O., Denitrification from sandy soils treated with liquid or dry granular nitrogen form, *Soil Sci* 163 (1998) 686–693.
- [24] Pell M., Stenberg B., Stenström Torstensson, Potential denitrification activity assay in soil – with or without chloramphenicol?, *Soil Biol. Biochem.* 28 (1996) 393–398.
- [25] Pelmont J., Nitrate, dénitrification, in: *Bactéries et Environnement, Adaptations Physiologiques*, Presses Universitaires de Grenoble, 1993, pp. 575–604.
- [26] Postma D., Boesen C., Kristiansen H., Larsen F., Nitrate reduction in an unconfined sandy aquifer: water chemistry,

reduction processes and geochemical modeling, *Water Resour. Res.* 27 (1991) 2027–2045.

[27] Philippot L., Renault P., Sierra J., Hénault C., Clays-Josserand A., Chenu C., Chaussod R., Lensi R., Dissimilatory nitrite-reductase provides a competitive advantage to *Pseudomonas* sp. RTC01 to colonise the centre of soil aggregates, *FEMS Microbiol. Ecol.* 21 (1996) 175–185.

[28] Qualls R.G., Haines B.L., Geochemistry of dissolved organic nutrients in water percolating through a forest ecosystem, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55 (1991) 1112–1123.

[29] Quemada M., Cabrera M.L., CERES-N model prediction of N mineralized from cover crop residues, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59 (1995) 1059–1065.

[30] Richards J.E., Webster C.P., Denitrification in the sub-soil of the broadbalk continuous wheat experiment, *Soil Biol. Biochem.* 31 (1999) 747–755.

[31] Ross D.J., Tate K.R., Microbial C and N, and respiratory activity, in litter and soil of a southern beech (*Nothofagus*) forest:

distribution and properties, *Soil Biol. Biochem.* 25 (1993) 477–483.

[32] Sierra J., Renault P., Temporal pattern of oxygen concentration in a Hydromorphic Soil, *Soil Sci. Am. Soc. J.* 62 (1998) 1398–1405.

[33] Spalding R.F., Exner M.E., Occurrence of nitrate in groundwater – a review, *J. Environ. Qual.* 22 (1993) 392–402.

[34] Thurman E.M., Organic geochemistry of natural waters, Martinus, Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Dordrecht, 1985, 497 p.

[35] Tiedje J.M., Biology of anaerobic microorganisms, Alexander J.B. Zehnder, inc (1988) 179–231.

[36] Tipping E., Modelling the properties and behaviour of dissolved organic matter in soils, *Mitt. Dtsch. Bodenk. Ges.* 87 (1998) 237–252.

[37] Weissenhorn I., Munch J.C., Fischer W.R., Characterization of denitrifying bacterial communities with distinct trophic requirements from soil under various agricultural uses, *Mitt. Deutsch. Bodenk. Ges.* 60 (1990) 141–146.

**SCHEMA DE CONCEPTION DES CAPTEURS
D'ATMOSPHERE DU SOL**

