

Effets comparés des apports de lisier de porc et d'une fertilisation minérale sur le fonctionnement de la dénitrification dans un sol. Impact sur la réduction de N₂O

Christophe DAMBREVILLE (1), Catherine HÉNAULT (1), Laurent PHILIPPOT (1), Florian BIZOUARD (1),
Rémi CHAUSSOD (1), Thierry MORVAN (2), Jean-Claude GERMON (1)

(1) UMR INRA – U. Bourgogne - Microbiologie et Géochimie des Sols, BP 86510, 21065 Dijon
(2) UMR INRA – ENSAR Sol Agronomie Spatialisation, 4 rue Stang-Vihan, 29000 Quimper cedex

Effets comparés des apports de lisier de porc et d'une fertilisation minérale sur le fonctionnement de la dénitrification dans un sol. Impact sur la réduction de N₂O

L'application pendant 9 ans de lisier de porc raisonnée en fonction des besoins d'azote minéral d'une monoculture de maïs ($\approx 100 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$), comparée à une fertilisation minérale, a entraîné des effets modérés sur les compartiments carbonés du sol et ses capacités à dénitrifier. Dans la couche de surface de la parcelle amendée avec du lisier, la teneur en C total et la quantité de biomasse microbienne sont accrues durablement, +6,5 % et +25 % respectivement. Parallèlement, la capacité microbienne à dénitrifier est stimulée et cet effet est encore mesurable 14 mois après le dernier apport. Cette stimulation ne s'est pas manifestée significativement sur l'activité potentielle mesurée sur le sol maintenu dans son état structural, et encore moins lors des mesures en conditions proches de celles du champ.

La capacité de la microflore du sol amendé à réduire N₂O est accrue de 60 % dans la période qui suit l'épandage, la différence n'étant plus significative 10 mois plus tard avec une variabilité plus importante. Bien que les deux étapes de la dénitrification – production et réduction de N₂O – soient stimulées par ces apports organiques, le sol amendé émet moins de N₂O au cours de la dénitrification lors d'une transition d'un milieu aérobie à un milieu anaérobie.

Ces activités de dénitrification et de réduction de N₂O apparaissent étroitement corrélées à la biomasse microbienne ($r^2 > 0,9$, $p < 0,01$). Elles interviennent essentiellement dans la couche labourée et leur expression dans les conditions du champ demeure fortement conditionnée par les autres facteurs de régulation du milieu, notamment le fonctionnement hydrique.

Compared effects of pig slurry applications and mineral fertilization on soil denitrification. Impact on N₂O reduction

Slurry applications during 9 years at a rate adjusted to maize crop requirements ($100 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$), compared with a mineral fertilization, had moderated effects on soil carbon pools and denitrifying ability. The total organic carbon content and the size of the microbial biomass were increased by +6.5% and +25% respectively, in the soil surface layer amended with pig slurry. Likewise, the ability to denitrify was stimulated, with a detectable effect 14 months after the last slurry application. The stimulation was not significantly observed for the potential denitrification measured in intact soil cores, and was not noticeable at field conditions.

The microbial ability of the amended soil to reduce N₂O to N₂ was 60% higher after the application of slurry, this difference was not significant after 10 months with an higher variability. Even though the two steps of the denitrification process – N₂O production / N₂O reduction – were stimulated by the organic inputs, the amended soil emitted less N₂O from denitrification after a shift to anoxic conditions.

These denitrification and N₂O reduction activities appeared to be closely correlated with microbial biomass ($r^2 > 0.9$, $p < 0.01$). They mainly take place in the soil surface layer and their expression in field conditions is strongly regulated by the environmental factors, and particularly hydric status.

INTRODUCTION

La dénitrification désigne la chaîne de réduction des formes oxydées de l'azote (NO_3^- et NO_2^-) en composés gazeux (N_2O et N_2). Le fonctionnement de cette chaîne de réduction dans les sols fait intervenir des micro-organismes qui utilisent les différents composés azotés de la chaîne de dénitrification comme accepteurs d'électrons au cours de la respiration en absence d'oxygène (PAYNE, 1973). A l'échelle du micro-organisme, les trois principaux facteurs de régulation sont la teneur en oxygène, la teneur en nitrates et la disponibilité en carbone (TIEDJE, 1988). Dans le sol, ces trois facteurs sont eux-mêmes soumis à de nombreux phénomènes de régulation. Dans la chaîne de dénitrification, le carbone intervient comme donneur d'électrons (KNOWLES, 1982), les formes utilisables par les micro-organismes restant peu identifiées (BEAUCHAMP et al, 1989).

Le processus de dénitrification a un impact important d'un point de vue environnemental. D'un côté, il apparaît comme un moyen naturel d'élimination des nitrates en excès dans les sols et les eaux (ELLIS et al, 1975) et d'un autre côté, son fonctionnement s'accompagne généralement de dégagement dans l'atmosphère de N_2O , puissant gaz à effet de serre (KNOWLES, 1982) impliqué aussi dans la destruction de l'ozone stratosphérique (CICERONE, 1987).

L'élevage intensif génère de grandes quantités d'effluents riches en carbone et en azote : en France les lisiers porcins constituent approximativement une source de 116 000 t N par an (THEOBALD, 1997). Ces effluents sont généralement épandus sur les sols cultivés où ils sont minéralisés par la microflore du sol (MORVAN, 2000). PARKIN (1987) a montré que les matières organiques constituaient des micro-sites favorables au fonctionnement de la dénitrification. On peut, dès lors, faire l'hypothèse que l'épandage de lisier dans les sols est favorable au fonctionnement de la dénitrification par l'apport de matières organiques et la stimulation de la demande biologique en oxygène. Par ailleurs, ce même type d'apport peut modifier la proportion entre les différents gaz (N_2O et N_2) produits au cours de la dénitrification (HENAULT et al, 2001). Aussi, l'objectif du travail présenté ici a été de rechercher si la nature des fertilisants apportés à un sol (lisier de porc *versus* fertilisation minérale), à une dose agronomique raisonnée avec les besoins de la végétation, induisait des différences dans l'activité dénitrifiante et la

proportion de N_2O formé au cours de cette transformation. Nous avons également étudié l'effet des deux fertilisants sur les quantités de carbone extractible et la biomasse microbienne pour tenter de comprendre leur rôle sur ce processus.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Le site expérimental

Cette étude a été menée sur le site expérimental Champ Noël, localisé à Rennes (INRA - Bretagne, 48°07 N et 1°40 O). Il s'agit d'un sol limoneux fin (LUVISOL selon BAIZE et GIRARD, 1995). La granulométrie et les caractéristiques physico-chimiques de chaque couche de sol étudiée sont présentées dans le tableau 1.

Depuis 1993, la parcelle expérimentale est cultivée en monoculture de maïs. Pour cette étude, nous avons travaillé (1) sur le traitement minéral (TM : 100-120 kg $\text{N-NH}_4\text{NO}_3$ an^{-1} , mi-juin), et (2) sur le traitement organique (TO : 35 m^3 de lisier de porc ha^{-1} an^{-1} au printemps). Les quantités d'azote apportées correspondent à une dose agronomique raisonnée. En 2002, l'épandage de lisier s'est déroulé le 3 avril et l'application du fertilisant minéral mi-juin. L'épandage de lisier a été suivi d'un enfouissement superficiel au moyen d'un outil à dents. Les caractéristiques du lisier étaient pH : 7,7, masse volumique : 1,029, teneur en carbone organique total : 27,2 g l^{-1} , teneur en azote ammoniacal et organique : 2,53 g l^{-1} et 2,00 g l^{-1} respectivement. En 2002, l'épandage de lisier a constitué un apport de 1088 kg C organique ha^{-1} , de 101 et 80 kg N ha^{-1} de NH_4^+ et N organique.

1.2. Prélèvement des échantillons de sol

Des échantillons de sol ont été prélevés le 19 février 2002 (en sortie d'hiver), le 15 avril (après l'épandage du lisier) et le 25 octobre 2002 après la récolte, entre 0-20 cm, 20-40 cm et 40-60 cm. Pour mesurer les activités dénitrifiantes et estimer les densités apparentes, des cylindres de sol non remaniés ont été prélevés. Les cylindres en acier inoxydable, 10 cm de diamètre et 25 cm de profondeur, ont été enfoncés manuellement dans le sol sur une profondeur de 20 cm et récupérés en creusant une fosse pour éviter tout forçage mécanique. Cette fosse a ensuite été utilisée pour enfoncer les cylindres de sol dans les couches 20-40 cm puis 40-

Tableau 1 - Granulométrie et caractéristiques physico-chimiques des sols des deux parcelles (25 octobre 2002)

Traitement	Profondeur (cm)	Argile (%)	Limon (%)	C total (g C kg^{-1})	N total (g N kg^{-1})	C/N	pH eau (%)	CEC* $\text{cmol}^+ \text{kg}^{-1}$
TM	0-20	16	70	9,2 ^b	1,08	8,6	6,4	6,3
	20-40	16	70	7,9 ^c	0,96	8,3	6,5	6,4
	40-60	22	63	4,0 ^d	0,57	7,0	6,5	6,3
TO	0-20	16	70	9,8 ^a	1,12	8,8	6,9	7,0
	20-40	17	70	8,0 ^c	0,96	8,3	6,7	6,4
	40-60	20	69	4,5 ^d	0,63	7,1	6,5	6,3

TM : traitement minéral et TO : traitement organique. CEC : capacité d'échange cationique mesurée au chlorure de cobaltihexammine, les quantités sont exprimées en centimoles de charges positives par kg de sol.

Les valeurs correspondent aux moyennes obtenues pour chaque traitement et chaque profondeur ($n = 8$). Les lettres en exposant distinguent les moyennes qui sont significativement différentes après comparaison deux à deux d'après le test t de Student ($\alpha = 0,05$).

60 cm. Pour mesurer l'humidité massique, l'azote minéral et la taille des différents compartiments carbonés, des échantillons composites de sol ont été constitués après un tamisage à 5 mm.

1.3. Caractérisation de l'état hydrique et d'aération du sol

L'humidité massique du sol lors des prélèvements a été déterminée par gravimétrie (24 h à 105°C). La densité apparente (ρ_a) du sol a été estimée à partir de la masse et du volume de sol contenu dans les cylindres. L'état d'aération du sol a été globalement caractérisé par le taux de saturation en eau ou part de la porosité occupée par de l'eau (PPOE) (LINN et DORAN, 1984), en calculant le rapport entre l'humidité volumique (H_v) et la porosité totale du sol : $PPOE = H_v / P_t$.

1.4. Evaluation de l'activité dénitrifiante initiale (expérience 1)

L'activité dénitrifiante du sol a été mesurée sur les cylindres de sol non remanié ramenés au laboratoire et incubés à 20°C (HENAULT et GERMON, 2000). Après fermeture hermétique des cylindres, l'atmosphère gazeuse (environ 1,5 l) a été modifiée en remplaçant 120 ml par C_2H_2 ($\approx 8\%$ v/v) pour inhiber la réduction de N_2O en N_2 (YOSHINARI et KNOWLES, 1976). La vitesse de dénitrification a été obtenue en suivant l'évolution de la concentration en N_2O au cours du temps. Les échantillons gazeux ont été analysés sur un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur en capture d'électrons (^{63}Ni , Varian 3400CX).

1.5. La dénitrification potentielle du sol structuré (expérience 2)

Le «potentiel de dénitrification» du sol, paramètre du modèle NEMIS (HENAULT et GERMON 2000), a été déterminé à partir i) des cinétiques de dénitrification (protocole ci-dessus) réalisées sur les cylindres de sol non remanié après apport d'une solution de nitrates (500 ml à 0,1 M KNO_3) et ii) de l'utilisation de la fonction F_w (GRUNDMANN et ROLSTON, 1987) reliant l'activité dénitrifiante du sol à sa PPOE.

1.6. L'activité potentielle de la microflore dénitrifiante en sol déstructuré (expérience 3)

Les capacités microbiennes du sol à dénitrifier et à émettre N_2O au cours de la dénitrification ont été déterminées au laboratoire, à 20°C, sur des échantillons de 50 g de sol frais en suspension (HENAULT et al, 2001). 4 types d'incubation ont été réalisés : deux séries d'incubation avec addition de NO_3^- (50 ml de solution de KNO_3 à 100 mg N l⁻¹) (1) en présence d'acétylène (2,5 % de l'atmosphère gazeuse) et (2) en absence d'acétylène ; deux autres séries d'incubation avec addition d'eau (50 ml) et de N_2O (5 ml) pour tester la capacité du sol à réduire N_2O (1) en absence d'acétylène et (2) l'évolution de la concentration en N_2O en présence d'acétylène (2,5 %). Les incubations ont été réalisées en anaérobiose en remplaçant l'atmosphère avec N_2 . Les fioles ont ensuite été mises à agiter et chaque jour des prélèvements de l'atmosphère gazeuse ont été effectués. Les échan-

tillons de gaz ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un catharomètre (MTI).

1.7. Caractérisation du statut carboné du sol

Les quantités de C organique extractible au sulfate de potassium (K_2SO_4) et de C microbien ont été mesurées. La quantité de C microbien a été estimée avec la méthode fumigation-extraction (VANCE et al, 1987 ; CHAUSSOD et al, 1988 ; WU et al, 1990) : l'extraction au K_2SO_4 est effectuée après 16 heures de fumigation au chloroforme ($CHCl_3$). Toutes les mesures de carbone ont été effectuées sur 10 ml de surnageant en utilisant un analyseur de carbone Dohrmann.

1.8. Mesure de la teneur en azote minéral du sol

La teneur en azote minéral (ammonium, nitrate, nitrite) du sol a été déterminée sur 20 g de sol frais après extraction pendant 1 h à 20°C sous agitation dans 100 ml de KCl molaire. L'extrait obtenu après filtration sur papier Whatman n° 40 a été analysé par colorimétrie (KEENEY et NELSON, 1982). Les analyses ont été effectuées avec un analyseur Perstorp Analytical.

2. STATISTIQUES

Les traitements statistiques ont été réalisés avec le logiciel Systat 8.0. Dans le cas des mesures sur cylindres, l'hypothèse de normalité des distributions a été vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov ($\alpha = 5\%$) ; puis, le test t de Student a été utilisé pour comparer les moyennes deux à deux au niveau de signification de 5 %. Les vitesses de réduction de NO_3^- et de N_2O provenant des suspensions de sol ont été déterminées à partir des pentes des régressions linéaires.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. Caractéristiques du sol au moment des prélèvements

En février et en octobre, les densités apparentes de la couche de surface étaient élevées, proches de 1,5. Lors du prélèvement d'avril, après épandage de lisier et travail du sol, ces densités apparentes étaient plus faibles de l'ordre de 1,35.

L'humidité du sol a varié pendant la période expérimentale. Le taux de saturation correspondant, ou PPOE, en février et en octobre était compris entre 70 % et 90 % sur les deux traitements (tableau 2) constituant une condition favorable au fonctionnement de la dénitrification. En revanche, pour le prélèvement d'avril la PPOE était très faible, inférieure à 32 %.

Globalement, les teneurs en nitrates des deux parcelles étaient proches aux trois dates de prélèvement, à l'exception du prélèvement d'avril où la teneur en nitrate, 12 jours après l'apport de lisier, était supérieure dans la parcelle TO, la parcelle TM n'ayant pas été fertilisée. La parcelle TM a été fertilisée plus tard dans l'année (mi-juin) ; la teneur en nitrates au sein de cette dernière était plus élevée en octobre, entre 20-40 cm.

Tableau 2 - Conditions du sol des deux parcelles TM (minéral) et TO (lisier) : teneur en nitrates et taux de saturation

Traitement	Profondeur (cm)	Nitrates (mg N kg ⁻¹ sol)			Taux de saturation en eau (%)		
		19 février	15 avril	25 octobre	19 février	15 avril	25 octobre
TM	0-20	1,9 (0,1)	7,0 (0,1)	4,6 (1,1)	74,0 (2,8) ^{ab}	32,2 (1,6) ^a	87,6 (2,0) ^a
	20-40	4,8 (0,1)	nd	10,0 (2,1)	82,3 (2,6) ^{bc}	nd	85,6 (2,0) ^a
	40-60	3,8 (0,1)	nd	5,4 (1,1)	88,7 (2,0) ^c	nd	68,1 (0,8) ^c
TO	0-20	3,3 (0,2)	19 (0,3)	3,1 (0,3)	72,1 (1,6) ^a	25,1 (2,2) ^a	84,9 (1,5) ^a
	20-40	6,7 (0,3)	nd	5,0 (0,6)	78,4 (2,0) ^b	nd	82,5 (1,1) ^a
	40-60	6,3 (0,2)	nd	4,1 (0,5)	87,9 (2,2) ^c	nd	76,8 (1,4) ^b

nd : non déterminé. Traitements et signification statistique : cf tableau 1. N = 3 pour les teneurs en nitrates et n = 8 pour le taux de saturation.

Tableau 3 - Quantité de carbone extractible au K₂SO₄ et de biomasse microbienne (mg C kg⁻¹ sol)

Traitement	Profondeur (cm)	C extractible			C biomasse		
		19 février	15 avril	25 octobre	19 février	15 avril	25 octobre
TM	0-20	23 (0,2) ^b	22 (0,5) ^b	34 (1,7) ^a	178 ^b	168 ^b	144 (6) ^b
	20-40	17 (0,4) ^c	nd	20 (1,4) ^c	140 ^d	nd	122 (3) ^c
	40-60	10 (0,2) ^e	nd	8,7 (0,3) ^e	30 ^f	nd	35 (3) ^d
TO	0-20	29 (0,5) ^a	35 (0,2) ^a	20 (1,3) ^c	222 ^a	235 ^a	239 (4) ^a
	20-40	22 (0,5) ^b	nd	26 (1,8) ^b	154 ^c	nd	117 (6) ^c
	40-60	14 (<0,1) ^d	nd	12 (0,8) ^d	84 ^e	nd	34 (3) ^d

nd : non déterminé. Traitements et signification statistique : cf tableau 1. N = 3 en février et avril et n = 8 en octobre.

3.2. Effet du lisier sur l'évolution du statut carboné du sol

L'effet de la nature des fertilisants (organique ou minéral), appliqués pendant 9 ans, se manifeste sur les différents pools de carbone étudiés (C total, C de la biomasse microbienne, C extractible) tout en étant de portée limitée. L'accroissement est significatif dans la couche de surface de la parcelle traitée avec du lisier (TO) pour le C total, de l'ordre de +6,5 % (tableau 1) ainsi que pour le C microbien, entre +25 et +66 % et le C extractible à l'exception du prélèvement d'octobre (tableau 3). Cette différence entre les deux parcelles s'atténue avec la profondeur et n'apparaît pas dans les 2 couches plus profondes. Plusieurs auteurs sont parvenus aux mêmes conclusions (ROCHETTE et al, 2000 ; MORVAN, 2000).

La littérature indique aussi qu'après un apport récent de lisier la réponse de la biomasse microbienne et de la minéralisation du C est rapide avec un pic de courte durée (ROCHETTE et al, 2000 ; SAVIOZZI et al, 1997). Nos résultats d'avril indiquent que si tel était le cas le pic de minéralisation du C et de biomasse microbienne a été de courte durée, moins de 12 jours, bien que pour la biomasse microbienne on puisse observer, par ailleurs, un effet résiduel sur un temps plus long, au moins 10 mois (février, tableau 3).

3.3. Estimation «du potentiel de dénitrification du sol»

L'activité potentielle de dénitrification de la couche de surface, déterminée à partir des cylindres de sol intact, n'apparaît pas significativement influencée par la nature du fertilisant y compris 12 jours après un apport (tableau 4). Des différences significatives ont été observées en février pour les couches comprises entre 20-60 cm tout en s'accroissant avec

la profondeur (x 8,8 entre 20-40 cm et x 105 entre 40-60 cm). Cependant en octobre, les activités des couches sous-jacentes sont semblables dans les deux sols et ne confirment pas la tendance d'une activité plus forte dans le sol TO.

En ce qui concerne la localisation de la dénitrification dans le profil de sol, l'activité dénitrifiante est principalement localisée dans la couche de surface et décroît rapidement en profondeur, surtout à partir de 40 cm. Cette diminution drastique avec la profondeur a été notée par d'autres auteurs dans diverses situations (LORO et al, 1997 ; GROFFMAN et al, 1992). MAC CARTY et BREMNER (1992) ont montré que cette absence d'activité dénitrifiante en profondeur est due à l'absence de carbone disponible pour la dénitrification.

3.4. Capacités microbiennes des deux sols à dénitrifier et à émettre N₂O au cours de la dénitrification

Les capacités microbiennes à réduire NO₃⁻ ne sont pas significativement différentes en février dans les deux parcelles 10 mois après la dernière fertilisation (tableau 5), malgré une vitesse plus forte dans la couche de surface de la parcelle TO. Cette capacité à réduire NO₃⁻ est significativement augmentée (x 1,3 p<0,05) après un apport récent de lisier de porc (12 jours), avril 2002.

La capacité à réduire N₂O en N₂ apparaît plus élevée dans le sol qui a reçu des apports de lisier (tableau 5), sans que la différence ne soit significative en février dans la couche 0-40 cm. Par contre, en avril, après l'apport de lisier, la capacité à réduire N₂O est significativement supérieure dans le sol ayant reçu du lisier (p<0,05).

Ces observations permettent de penser que dans la période qui suit un épandage de lisier, dans le cas présent pendant

Tableau 4 - Vitesses moyennes de dénitrification avant et après l'apport de lisier, avec acétylène (8 %)

Type d'activité	Traitement	Profondeur (cm)	Vitesses de dénitrification (g N-N ₂ O ha ⁻¹ j ⁻¹)		
			19 février	15 avril	25 octobre
En conditions de terrain	TM	0-20	38 (52) ^{ab}	6,5 (4,8) ^d	1371 (1229) ^{ab}
		20-40	11 (4) ^d	nd	183 (42) ^a
		40-60	3 (2) ^d	nd	0,5 (0,4) ^d
	TO	0-20	117 (17) ^{ab}	3,0 (1,1) ^d	115 (56) ^{ab}
		20-40	42 (11) ^c	nd	71 (32) ^{bc}
		40-60	5 (3) ^d	nd	0,2 (0,2) ^d
Potentielle	TM	0-20	5005 (882) ^{ab}	3742 (1177) ^{bc}	10477 (2933) ^a
		20-40	450 (140) ^d	nd	1130 (657) ^{cd}
		40-60	1,1 (0,7) ^e	nd	5 (3) ^e
	TO	0-20	7451 (1605) ^{ab}	6226 (1070) ^{ab}	8593 (1709) ^a
		20-40	3939 (1383) ^{abc}	nd	1443 (663) ^{cd}
		40-60	116 (55) ^{de}	nd	17 (15) ^e

nd : non déterminé. Traitements et signification statistique : cf tableau 1. N = 8.

Tableau 5 - Vitesses de réduction de NO₃⁻ et N₂O en anaérobiose

Activités	Traitement	Profondeur (cm)	Février 2002 (µg N g ⁻¹ h ⁻¹)	Avril 2002 (µg N g ⁻¹ h ⁻¹)
Réduction NO ₃ ⁻	TM	0-20	0,367 (±0,054) ^a	0,363 (±0,016) ^a
		20-40	0,174 (±0,007) ^a	nd
		40-60	0,007 (±0,004) ^a	nd
	TO	0-20	0,460 (±0,006) ^a	0,582 (±0,023) ^b
		20-40	0,180 (±0,008) ^a	nd
		40-60	0,025 (±0,005) ^b	nd
Réduction N ₂ O	TM	0-20	1,120 (±0,074) ^a	1,071 (±0,027) ^a
		20-40	0,462 (±0,073) ^a	nd
		40-60	0,004 (±0,004) ^a	nd
	TO	0-20	1,818 (±0,386) ^a	1,748 (±0,112) ^b
		20-40	0,517 (±0,128) ^a	nd
		40-60	0,018 (±0,002) ^b	nd

nd : non déterminé. Traitements et signification statistique : cf tableau 1. N = 3.

au moins deux semaines, la capacité dénitrifiante est vraisemblablement stimulée, même si elle ne s'exprime pas dans le sol en place (cf. paragraphe 3.5). Cette stimulation à court terme par des apports de lisier a été observée par THOMPSON (1989), et PAUL et BEAUCHAMP (1989). Cependant, cette stimulation pourrait persister de façon atténuée plusieurs mois après l'apport. Cet effet à plus long terme est confirmé par une étude en cours (DAMBREVILLE, non publié).

Les vitesses mesurées à partir des suspensions de sol sont fortement corrélées avec celles observées sur les cylindres de sol intact ($r^2 = 0,817$ $p < 0,01$), et sont en moyenne 4,6 fois plus élevées avec une variabilité moindre. PARKIN et al (1984) justifient une telle différence entre ces deux méthodes par une meilleure distribution des substrats azotés, carbonés et des enzymes de dénitrification dans le cas des suspensions de sol. On peut ajouter que le niveau d'anaérobiose obtenu avec la méthode des cylindres est inférieur à celui des suspensions de sol.

Par ailleurs, nos résultats montrent une relation étroite entre les activités dénitrifiantes potentielles et la biomasse micro-

bienne du sol, tant avec les capacités à réduire NO₃⁻ ou N₂O par les suspensions de sols en anaérobiose (respectivement $r^2 = 0,904$ $p < 0,01$ et $r^2 = 0,940$ $p < 0,001$, figure 1a), qu'avec les mesures sur les cylindres de sol ($r^2 = 0,887$ $p < 0,001$, figure 1b). En outre, nous observons, par ailleurs, que cette augmentation linéaire de l'activité dénitrifiante avec la biomasse microbienne s'effectue au delà d'un seuil qui a été évalué à 105 mg C kg⁻¹, laissant penser que ce niveau de biomasse est indispensable pour que l'activité dénitrifiante potentielle se manifeste. La définition d'un seuil de biomasse nécessaire à l'expression de la dénitrification est à mettre en parallèle avec les résultats de BURTON et BEAUCHAMP (1985) qui ont montré qu'une teneur en carbone hydrosoluble supérieure à 60-80 mg C kg⁻¹ sol était requise pour le fonctionnement de la dénitrification en surface. Ceci renforce l'idée de la dépendance étroite de la biomasse microbienne et de la disponibilité en carbone.

3.5. Facteurs de régulation de la dénitrification au champ

Les vitesses de dénitrification observées dans la couche de surface sont relativement élevées, de l'ordre de 100 g N ha⁻¹ j⁻¹

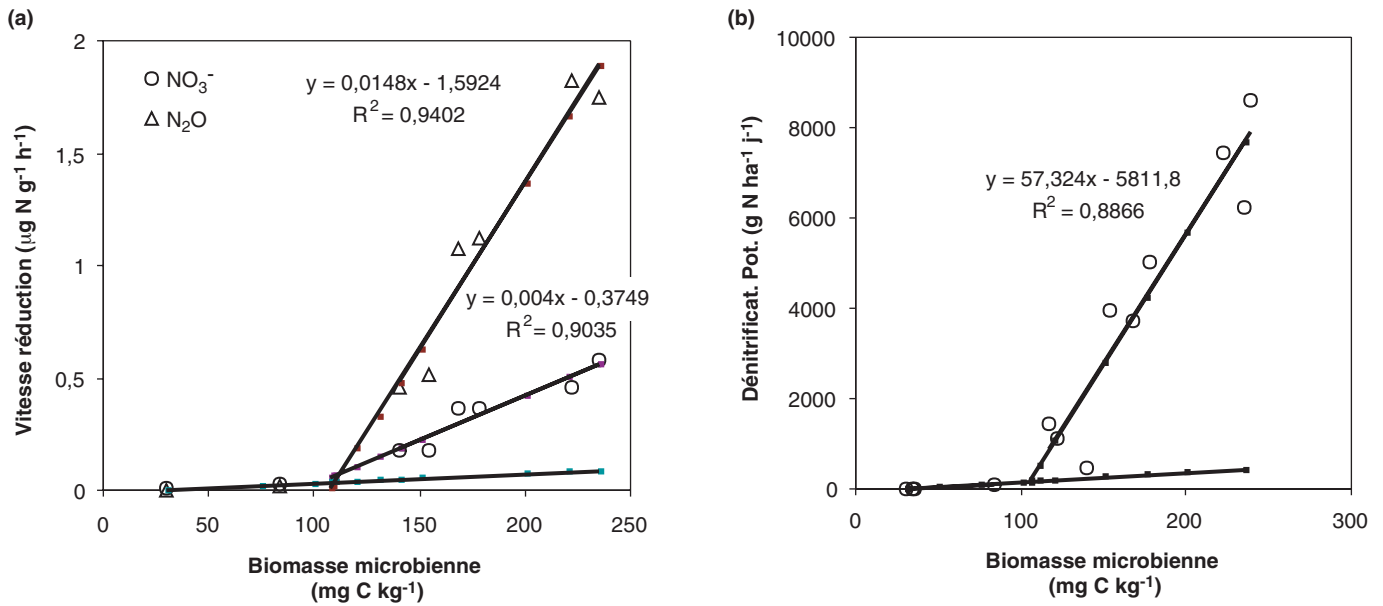


Figure 1 - Relation entre la taille de la biomasse et (a) la capacité des sols à réduire NO_3^- et N_2O en anaérobiose, (b) la dénitrification potentielle sur cylindres de sol intact

en février et en octobre sans différence significative entre les traitements minéral et organique (tableau 4). Après l'épandage, l'activité dénitrifiante mesurée sur l'horizon 0-20 cm était très faible, de l'ordre de quelques $\text{g N ha}^{-1} \text{j}^{-1}$. Globalement, cette activité représente moins de 3 % de l'activité potentielle. Les seules différences significatives ont été observées plus en profondeur : dans la couche 20-40 cm, la vitesse de dénitrification dans le traitement organique s'élève à $42 \text{ g N ha}^{-1} \text{j}^{-1}$ et est supérieure ($\times 3,8$ $p < 0,05$) à celle du traitement minéral. Par contre, en octobre, entre 20-40 cm, l'activité dénitrifiante dans la parcelle TM est nettement supérieure ($\times 2,6$ $p < 0,05$) à celle de la parcelle TO.

Bien que les apports de lisier aient engendré une augmentation de la dénitrification potentielle, celle-ci ne s'exprime que lorsque les conditions environnementales sont favorables. Ainsi, en avril, l'activité dénitrifiante a été fortement contrôlée par la faible teneur en eau qui conditionne la disponibilité en O_2 ; la PPOE observée n'était que de 32 %, une valeur insuffisante pour permettre l'apparition d'environnements anoxiques nécessaires à la dénitrification (LINN et DORAN, 1984 ; GRUNDMANN et ROLSTON, 1987).

Quelques mois après l'épandage (octobre), alors que les conditions d'humidité et de PPOE étaient à nouveau favorables, l'activité dénitrifiante dans le sol en place n'est pas apparue augmentée, indiquant que malgré des effets perceptibles des apports de lisier à dose agronomique sur le carbone ou la biomasse microbienne dans l'horizon labouré, il est difficile de conclure à un effet net sur la dénitrification dans les conditions du champ. Cette même conclusion a été aussi mise en évidence par MAAG (1989) et LOWRANCE et al, (1998). Cela nous conduit à penser que sous épandage de lisier, l'apport organique, relativement modéré, exerce un effet limité sur l'intensité de la dénitrification qui reste sous le contrôle déterminant des autres facteurs du milieu.

3.6. Ratio $\text{N}_2\text{O} / (\text{N}_2\text{O} + \text{N}_2)$ de la dénitrification en anoxie

La prévision de l'effet de l'apport de lisier sur l'intensité des émissions de N_2O au cours de la dénitrification demeure l'une des questions clé concernant la gestion de ces effluents. HENAULT et al (2001) ont défini un indicateur empirique du niveau d'émission de N_2O d'un sol au cours de la dénitrification. D'après les valeurs de cet indicateur, respectivement 9,98 et 4,02 dans la couche 0-20 cm des sols TM et TO et 18,9 et 16,3 dans la couche 20-40, il semble qu'*in situ* le produit majoritairement formé au cours de la dénitrification serait N_2 dans ces deux horizons. Par contre, la valeur de cet indicateur est de 68 et 63 respectivement entre 40-60 cm indiquant que N_2O serait préférentiellement formé, en quan-

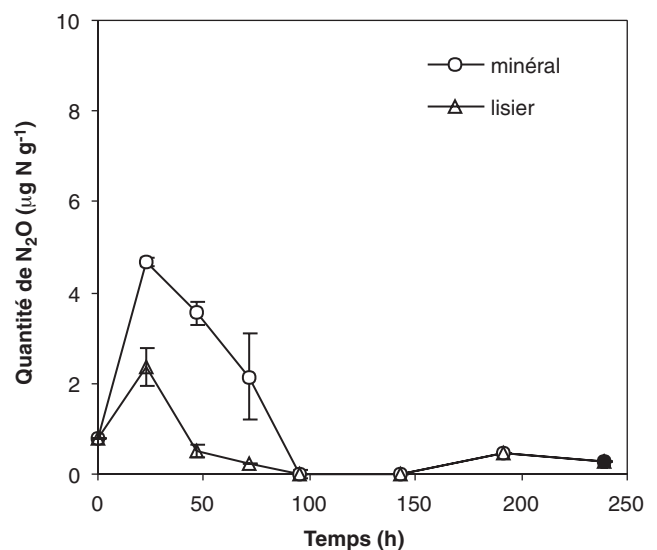


Figure 2 - Accumulation transitoire de N_2O au cours de la dénitrification en absence d'acétylène

tité négligeable toutefois étant donnée la faible intensité de l'activité à cette profondeur.

HENAUULT et al. (2001) avaient observé que l'apport de lisier permettait de restaurer la capacité d'un sol à réduire N_2O lorsque cette capacité initiale était faible. Dans notre cas, les apports répétés de lisier n'ont pas nettement influencé le rapport des produits de la dénitrification, certainement parce que ce sol présentait déjà une forte capacité à dénitrifier jusqu'à N_2 .

Malgré une capacité à réduire N_2O bien supérieure ($\times 3,4$) à la capacité à réduire NO_3^- lors d'un passage d'un milieu aérobie à un milieu anaérobie on observe une accumulation transitoire de N_2O lors des incubations (figure 2). Ce phénomène serait expliqué par l'ordre d'induction des enzymes de dénitrification : la N_2O -réductase est synthétisée plusieurs heures après l'induction des autres enzymes de dénitrification (FIRESTONE et TIEDJE, 1979). Cependant la quantité de N_2O accumulé de façon transitoire a été modifiée par la nature du fertilisant, le fertilisant organique ayant permis une réduction de cette quantité (figure 2). Ce phénomène est aussi cohérent avec le fait que les nitrates et nitrites sont de meilleurs accepteurs d'électrons que N_2O qui peuvent être

utilisés préférentiellement lorsque la quantité de réducteurs est limitante (FIRESTONE, 1982).

CONCLUSION

Cette étude met en évidence certains effets des apports de lisier sur la dénitrification et les teneurs en carbone organique. Les apports de lisier de porc à dose agronomique entraînent une augmentation de la teneur en carbone total, carbone extractible et de la biomasse microbienne. L'augmentation de la taille de ces compartiments carbonés et plus particulièrement de la biomasse microbienne se traduit par une augmentation de la capacité microbienne du sol à dénitrifier. A long terme (10 ans), l'effet de ces apports organiques bien que durable est limité en terme d'amplitude à la fois sur les compartiments carbonés et sur cette capacité à dénitrifier. Cette intensification de la capacité microbienne à dénitrifier n'a pas suffi à modifier significativement l'activité dénitrifiante observée au champ où les conditions optimales n'étaient pas réunies. En outre, les apports de lisier permettent d'améliorer la capacité d'un sol à réduire NO_3^- en N_2O et N_2O en N_2 mais cet effet sur la réduction de N_2O en N_2 devrait être de portée limitée pour les sols qui présentent initialement une capacité marquée à réaliser cette seconde étape de la dénitrification.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAIZE D., GIRARD M.C., 1995. In «Référentiel pédologique français». INRA Editions, 332p.
- BEAUCHAMP E.G., TREVORS J.T., PAUL J.W., 1989. *Adv. Soil Sci.*, 10, 113-142.
- BURTON D.L., BEAUCHAMP E.G., 1985. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 16, 539-549.
- CHAUSSOD R., HOUOT S., GUIRAUD G., HETIER J.M., 1988. In «Nitrogen efficiency in agricultural soils». Elsevier éd. 312-326.
- CICERONE R.J., 1987. *Science*, 237, 35-41.
- ELLIS J.R., MIELKE L.N., SCHUMAN G.E., 1975. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39, 107-111.
- FIRESTONE M.K., TIEDJE J.M., 1979. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38, 673-679.
- FIRESTONE, 1982. In «Nitrogen in agricultural soils». F.J. Stevenson Ed. 940 p.
- GROFFMAN P.M., GOLD A.J., SIMMONS R.M., 1992. *J. Environ. Qual.*, 21, 666-671.
- GRUNDMANN G.L., ROLSTON D.E., 1987. *Soil Science*, 144, 437-441.
- HENAUULT C., GERMON J.C., 2000. *Europ. J. Soil Sci.*, 51, 257-270.
- HENAUULT C., CHENEY D., HEURLIER K., GARRIDO F., PEREZ S., GERMON J.C., 2001. *Agronomie*, 21, 713-723.
- KEENEY D.R., NELSON D.W., 1982. In «Methods of soil analysis». 643-698. A.L. Page éd.
- KNOWLES R., 1982. - Denitrification. *Microbiol. Rev.*, 46, 43-70.
- LINN D.M., DORAN J.W., 1984. *Soil Sci. Am. J.*, 48, 1267-1272.
- LORO P. J., BERGSTROM D. W., BEAUCHAMP E. G., 1997. *J. Environ. Qual.*, 26, 706-713.
- LOWRANCE R., JOHNSON J.C., NEWTON G.L., WILLIAMS R.G., 1998. *J. Environ. Qual.*, 27, 1504-1511.
- MAC CARTY G. W., BRENNER J. M., 1992. *Biol. Fertil. Soils*, 15, 132-136.
- MAAG M., 1989. In «Nitrogen in organic wastes applied to soils». J.A. Hansen and K. Henriksen Ed. 381p.
- MORVAN T., 2000. Rapport de fin de contrat DAE Conseil Régional des Côtes d'Armor.
- PARKIN T.B., KASPAR H. F., SEXSTONE A. J., TIEDJE J. M., 1984. *Soil Biol. Biochem.*, 16, 323-330.
- PARKIN T.B., 1987. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 51, 1194-1199.
- PAUL J.W., BEAUCHAMP E.G., 1989. *Can. J. Soil Sci.*, 69, 49-61.
- PAYNE W.J., 1973. *Bacteriol. Rev.*, 37, 409-452.
- ROCHETTE P., ANGERS D.A., COTE D. 2000. *Soil Sci. Am. J.*, 64, 1389-1395.
- SAVIOZZI A., LEVI-MINZI R., RIFFALDI R., VANNI G., 1997. *Biol. Fertil. Soils*, 25, 401-406.
- THEOBALD O., 1997. Doc. ADEME, 8p.
- THOMPSON R.B., 1989. *Soil Biol. Biochem.*, 21, 875-882.
- TIEDJE J.M., 1988. In «Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium». A.J.B. Zehnder éd., 179-244.
- VANCE G.F., BROOKES P.C., JENKINSON D.S., 1987. *Soil Biol. Biochem.*, 19, 703-707.
- WU J., JOERGENSEN R.G., POMMERENING B., CHAUSSOD R., BROOKES P.C., 1990. *Soil Biol. Biochem.*, 22, 1167-1169.
- YOSHINARI T., KNOWLES R., 1976. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 69, 705-710.

