

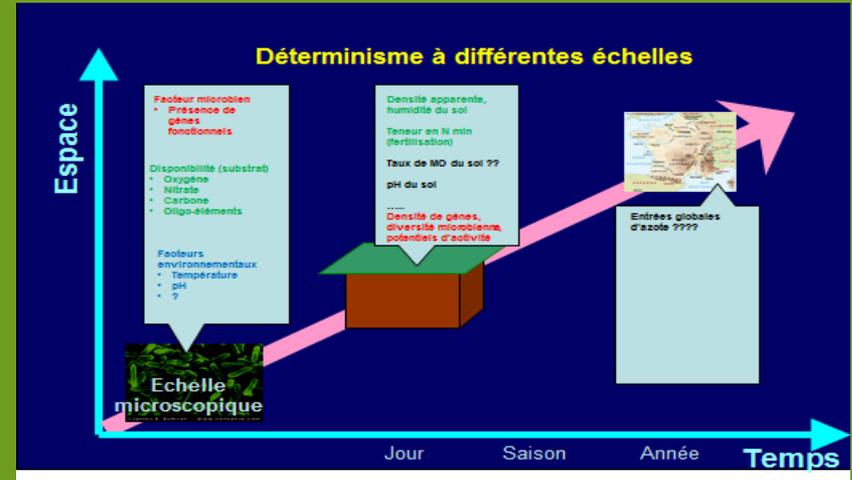


Bases Microbiologiques des Emissions de N₂O par les Sols

En vue de leur atténuation



Hénault Catherine



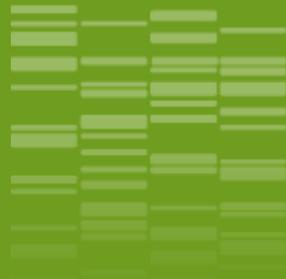
Bases Microbiologiques des Emissions de N₂O par les Sols

En vue de leur atténuation



SOMMAIRE

- ❖ Retour sur quelques connaissances de base
- ❖ Mécanismes microbiologiques impliquant la forme N_2O
- ❖ Organismes microbiens impliqués dans le cycle de N_2O
- ❖ Les outils d'études
- ❖ Déterminisme des émissions de N_2O dans les sols
- ❖ Applications agro-environnementales



_01

Retour sur des connaissances de base

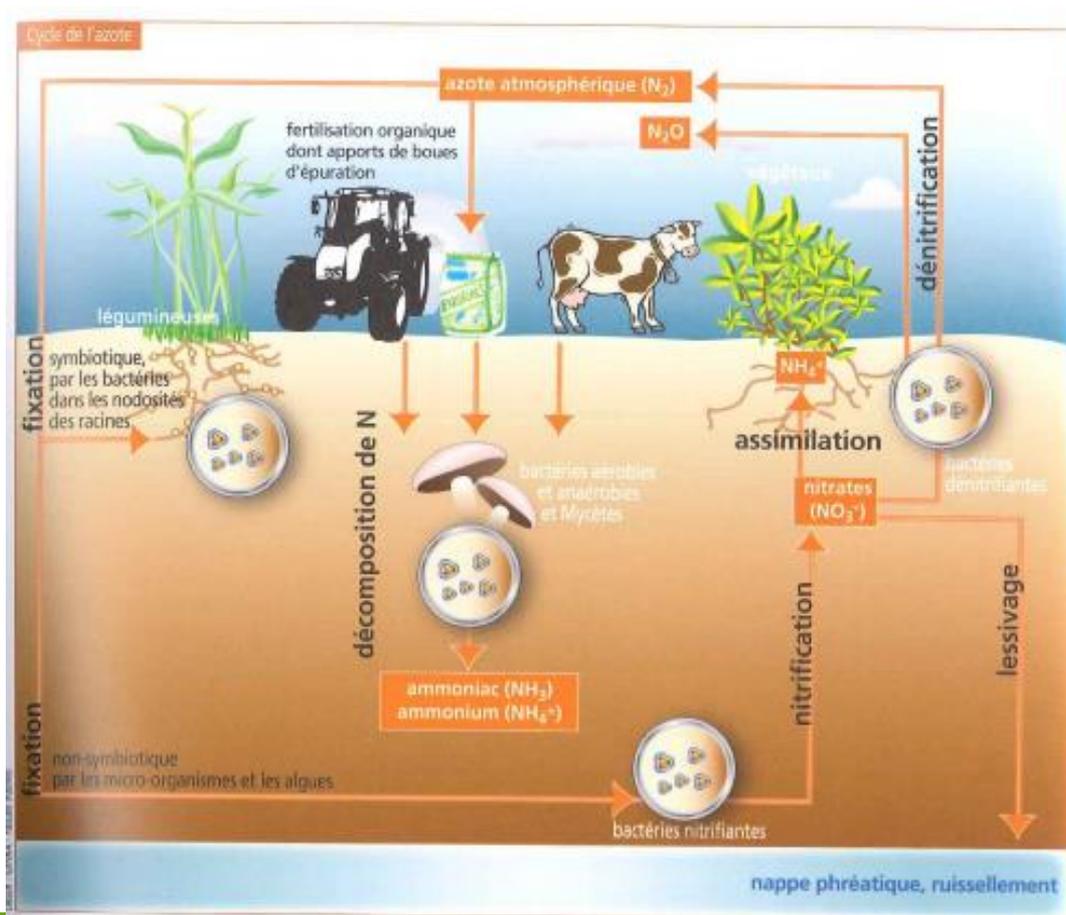
Cycle de l'azote
Microbiologie

Cycle de l'azote

Composés azotés dans l'écosystème terrestre

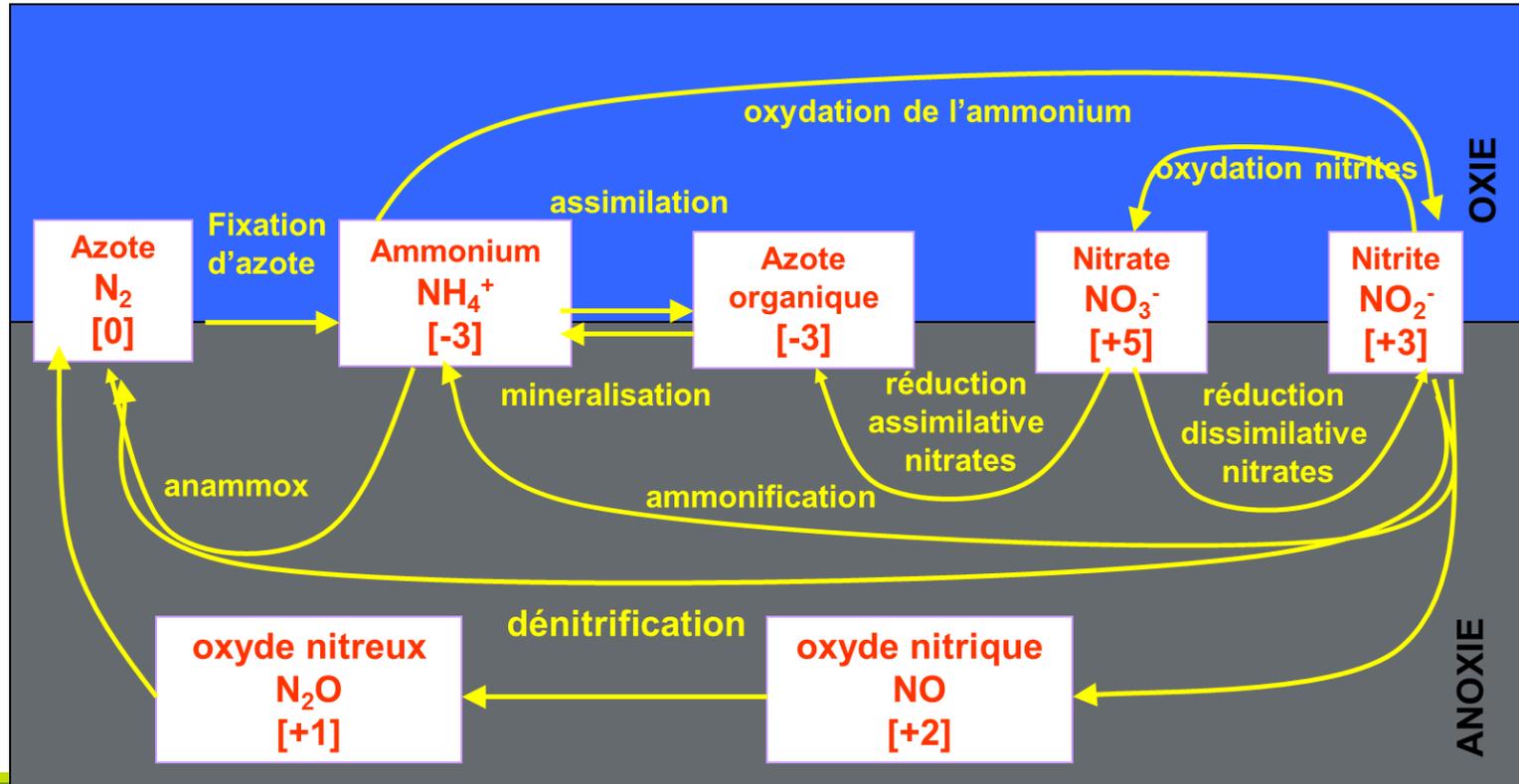
Non réactifs	Réactifs (biologiquement, photochimiquement, radiativement)
N ₂	<p>Formes réduites inorganiques, ammoniac [NH₃], ammonium [NH₄⁺]</p> <p>Formes oxydées inorganiques oxyde d'azote [NO_x], acide nitrique [HNO₃], oxyde nitreux [N₂O], nitrate [NO₃⁻]</p> <p>Composés organiques (urée, amines, protéines, acides nucléiques)</p>

Cycle de l'azote



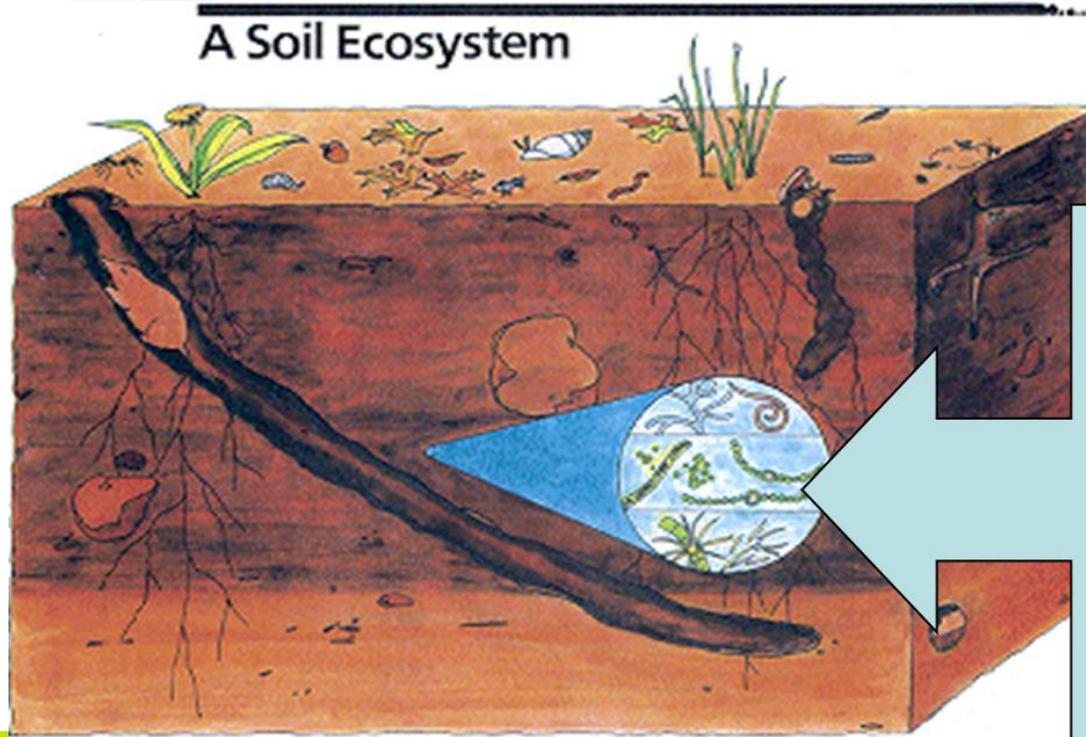
Cycle de l'azote

Les réactions d'oxydo-réduction du cycle de l'azote



Microbiologie des sols

Présentation générale



- Nombre
- Diversité
- Activité

Importance quantitative



- **Nombre de bactéries par g de sol**

10^7 à 10^9



- **Nombre de champignons par g de sol**

**10^3 à 10^6 (les hyphes représentent
une surface très importante)**

jusqu'à 10 000 km d'hyphes /m² de sol



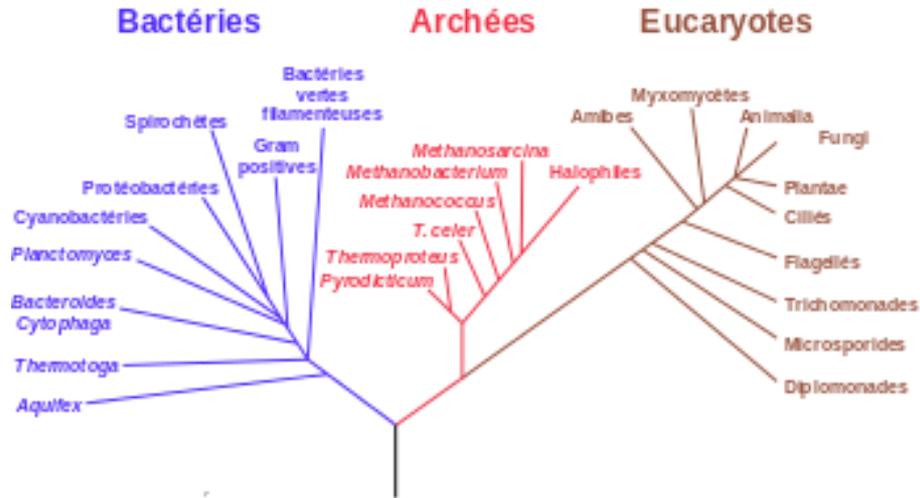
Diversité

Groupes Majeurs	Nombre d'espèces microbiennes			Espèces en culture	
	Espèces décrites	Espèces estimées	%	Nombre	% espèces estimées
Bactéries	3000	30000	10	2300	7
Champignons	69000	1500000	5	11500	0.8
Algues	40000	60000	67	1600	2.5

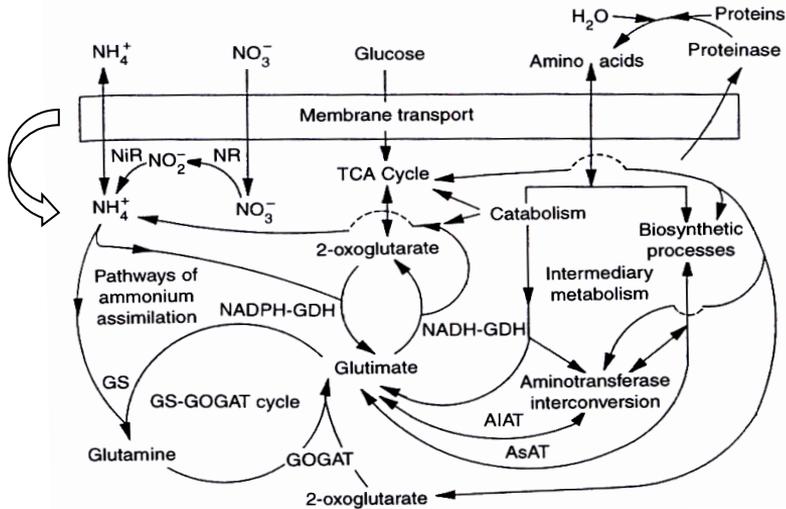
Diversité microbienne des principaux groupes dans le sol (In Giri et al., 2005)



Arbre phylogénétique de la vie



❖ Métabolisme constitutif

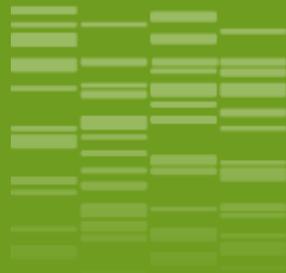


Principales voies d'assimilation et de minéralisation de l'azote

D'après Ahmad et Helleburt, 1991

❖ Métabolisme énergétique

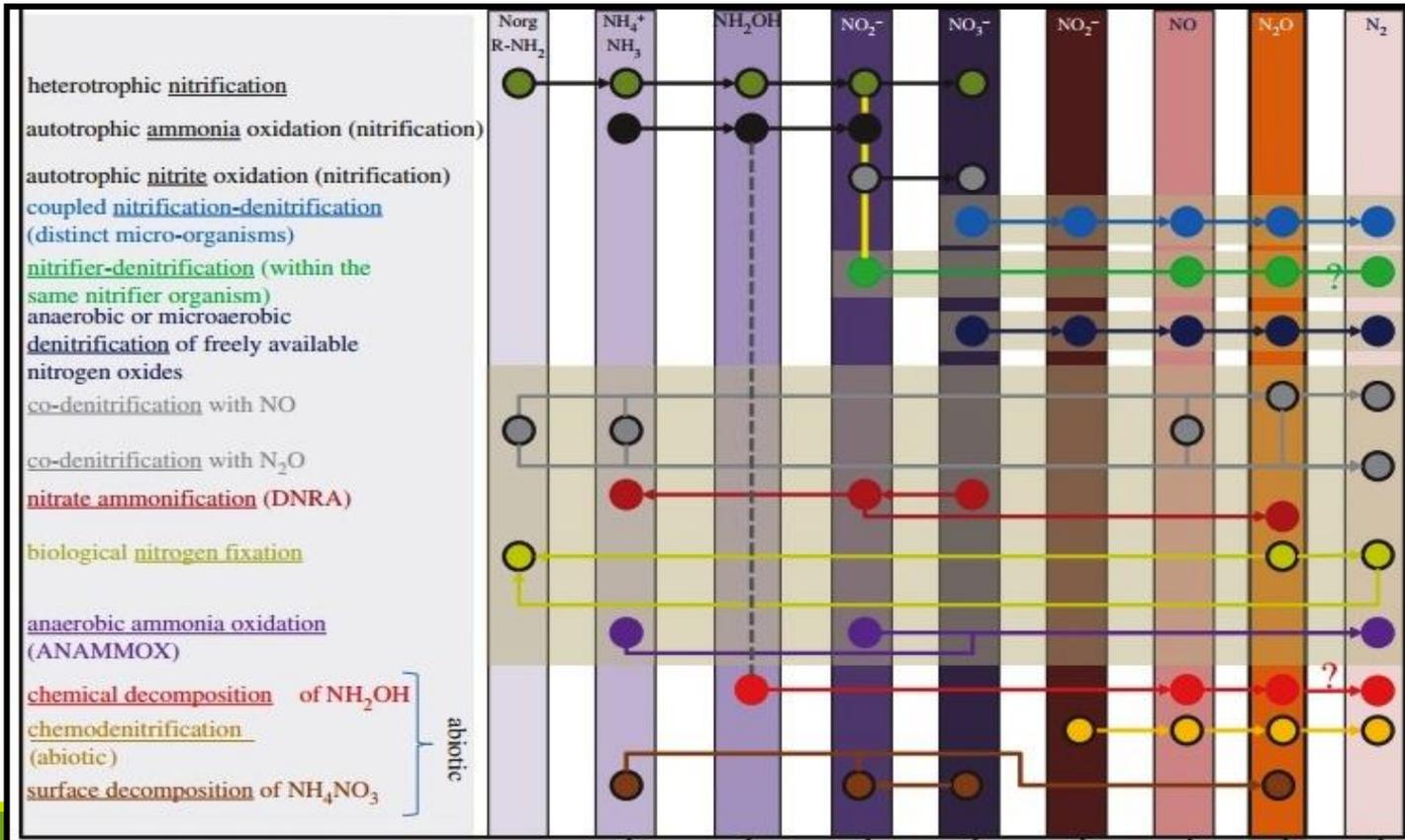
Eh (V)	Accepteur d'électrons
0.82	O ₂
0.75	NO ₃ ⁻
0.75	Fe ³⁺
	Mn ⁴⁺
-0.22	SO ₄ ²⁻
-0.43	CO ₂



_02

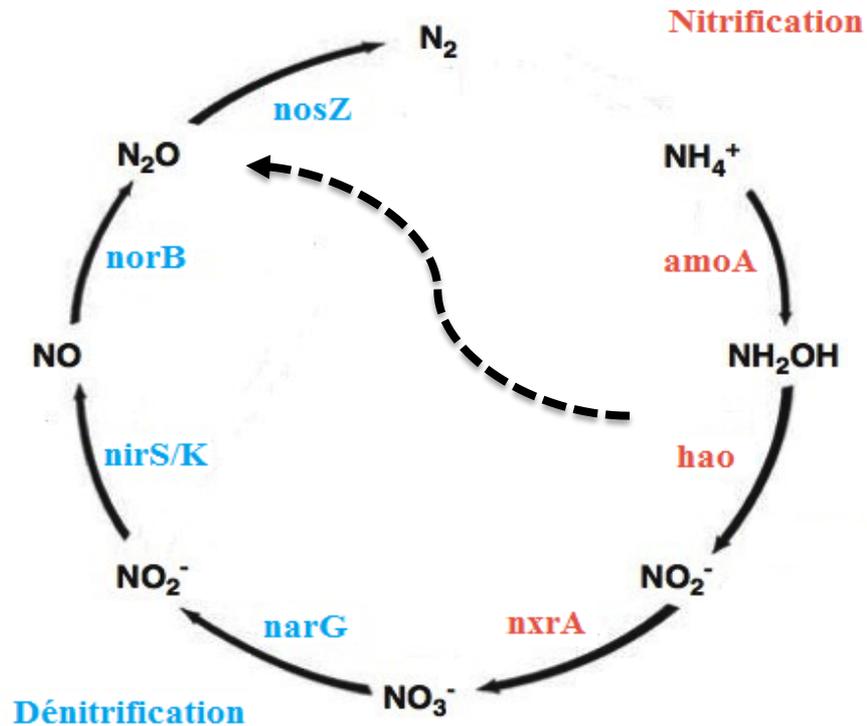
Mécanismes microbiologiques impliquant la forme N_2O

Processus microbiens impliqués dans les émissions de N₂O (Butterbach-Bahl et al., 2013)

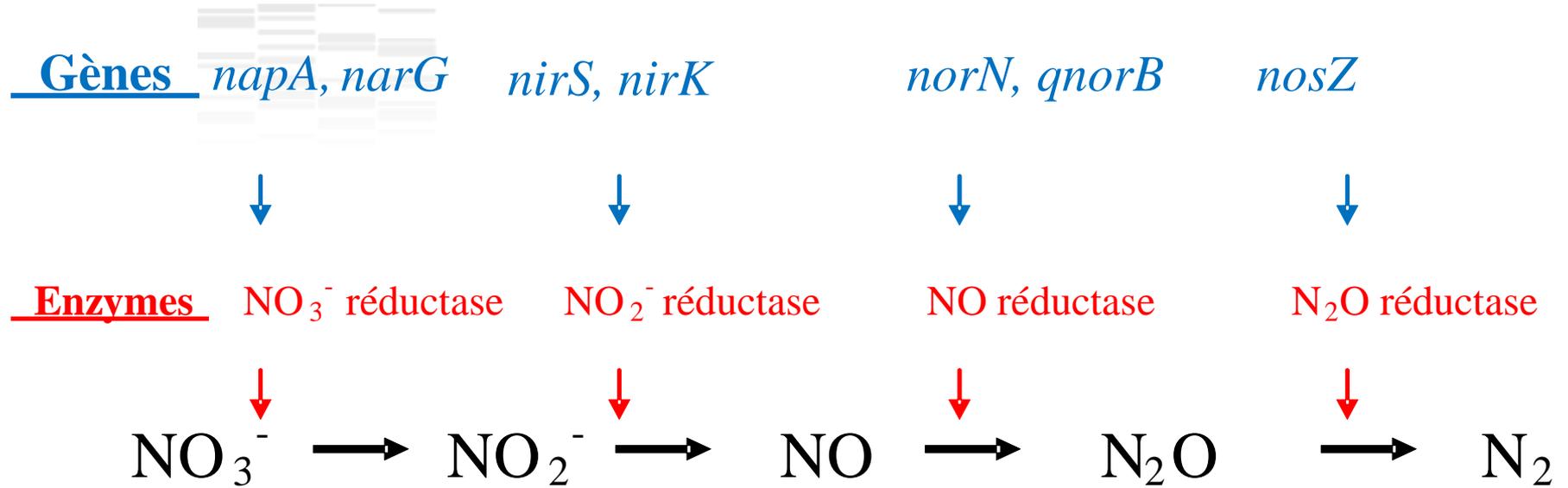


Processus microbiens impliqués dans les émissions de N₂O

(d'après Lu et al., 2012)



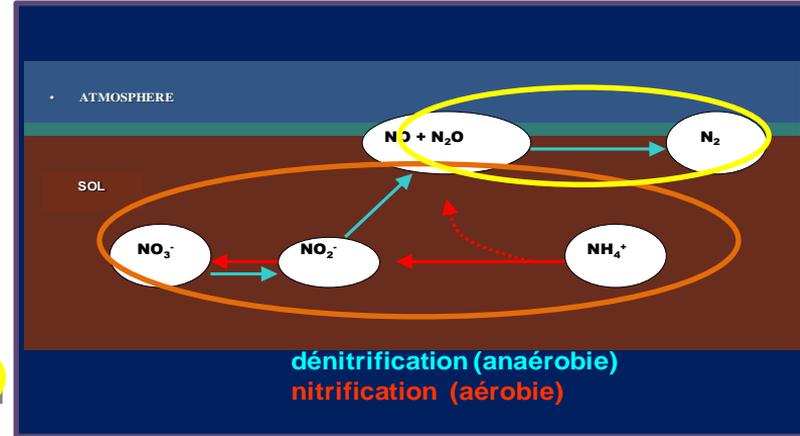
La dénitrification



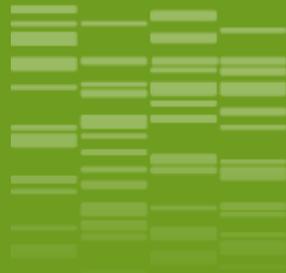
On retient

❖ Identifiés actuellement

- Des mécanismes sources de N_2O
 - 1^{ères} étapes de la dénitrification
 - La nitrification
- Un mécanisme puits
 - La dernière étape de la dénitrification



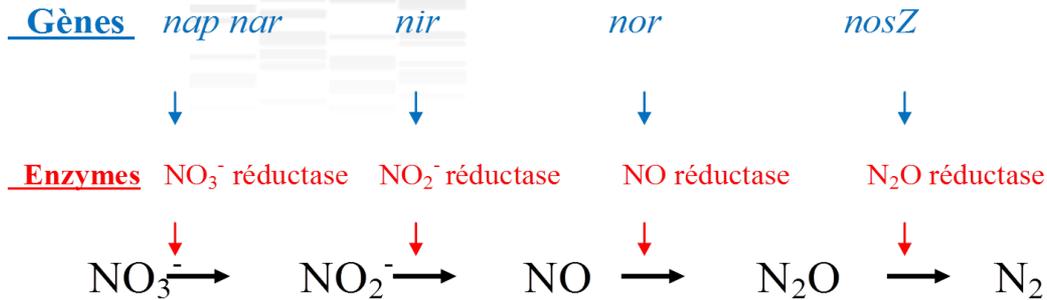
- ## ❖ Des interactions entre les mécanismes, des variantes sur les mécanismes ...



_03

Organismes microbiens impliqués dans les émissions de N₂O

Définitions – organismes dénitrifiants



- Micro-organismes aérobies-anaérobies facultatifs :

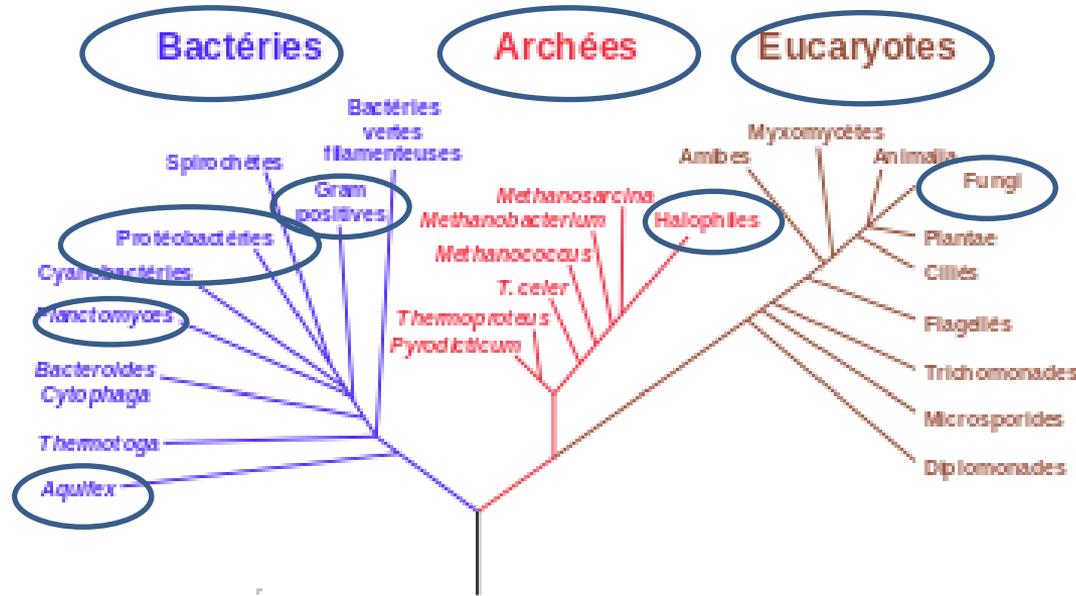
En présence d'oxygène dans les sols, ils utilisent l'oxygène pour leur métabolisme énergétique

En conditions de stress en Oxygène (sol avec des taux d'humidité élevés), ils utilisent les oxydes d'azote (NO₃⁻, NO₂⁻, NO, N₂O comme accepteurs d'électrons).

Les formes gazeuses (N₂O, N₂) représentent plus de 80 % des nitrates transformés

Diversité – organismes dénitrifiants

Arbre phylogénétique de la vie



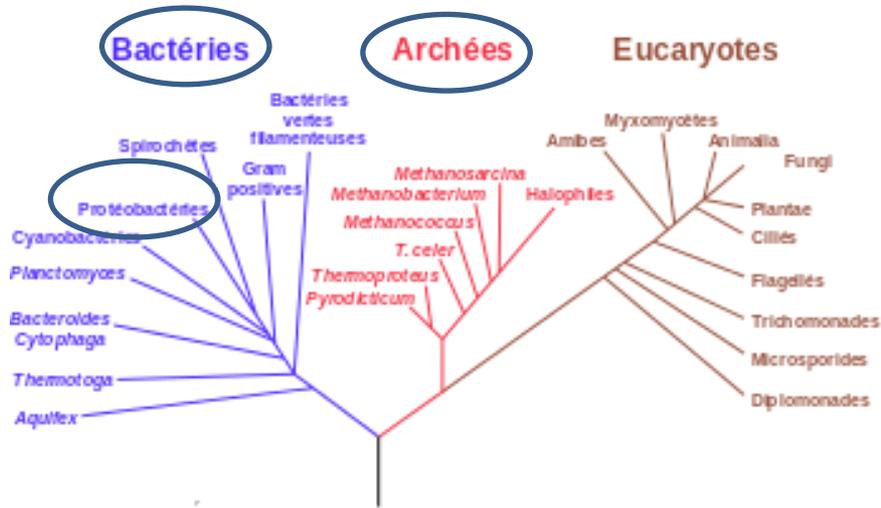
- De l'ordre de 80 % des microorganismes du sol aurait la capacité à dénitrifier les nitrates
- De l'ordre de 5 % des microorganismes du sol aurait la capacité à réduire N_2O

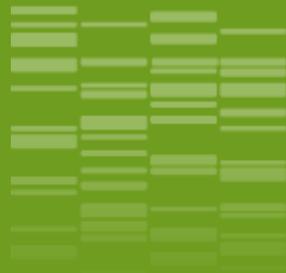
Définitions – organismes nitrifiants

Organismes autotrophes , c'est-à-dire qu'ils utilisent des formes minérales de carbone (CO_2) comme source de carbone (métabolisme constitutif).

Ils tirent leur énergie de l'oxydation des formes azotés

Arbre phylogénétique de la vie





_04

Les outils d'études

Les outils d'études

- ❖ Outils de biologie moléculaire
- ❖ Les inhibiteurs, l'acétylène
 - ❖ inhibition de la nitrification
 - ❖ inhibition de l'étape de réduction de N_2O en N_2
- ❖ Des mesures d'activité en conditions contrôlées
- ❖ Le traçage isotopique

Les outils d'études : les outils de biologie moléculaire

- ❖ Principe : étude de l'ADN du sol après extraction
- ❖ Technique : identification de structures moléculaires spécifiques et amplification des séquences
- ❖ Application :
 - ❖ quantification de gènes
 - ❖ structure de la communauté microbienne impliquée dans la réalisation d'une fonction
 - ❖ Préviation d'une activité ?

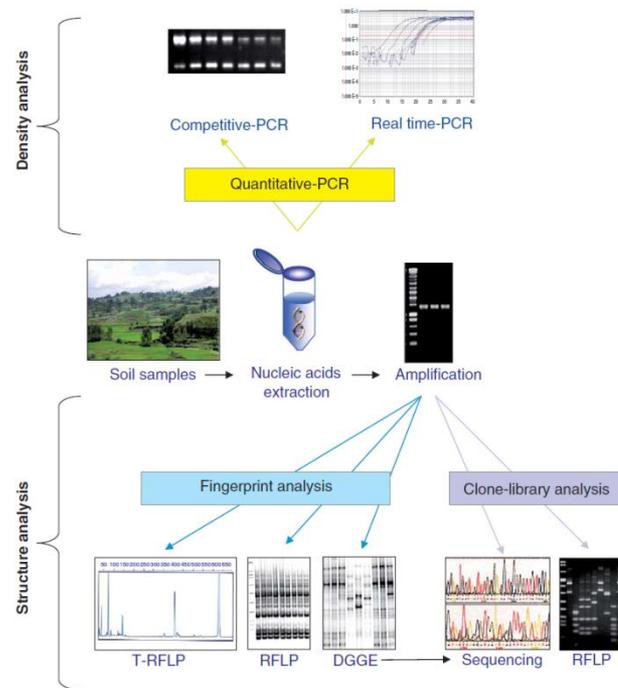


Figure 3 Methods used to assess diversity and density of denitrifiers with a PCR-based approach.

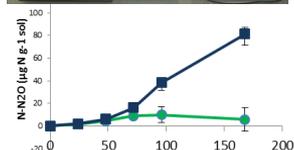
D'après Philippot et al., 2007

Les outils d'études : les inhibiteurs, l'acétylène

- ❖ Principe : l'acétylène à faible pression partielle inhibe la nitrification et à forte pression partielle inhibe la nitrification et la réduction de N_2O en N_2 , N_2O devenant le produit final de la dénitrification
- ❖ Technique : application sur des échantillons de sol ou des souches pures (en anaérobiose)
- ❖ Application :
 - ❖ Mesure d'activités en conditions standardisées



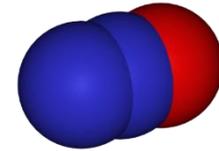
Avec acétylène
Sans acétylène



Les outils d'études : le traçage isotopique

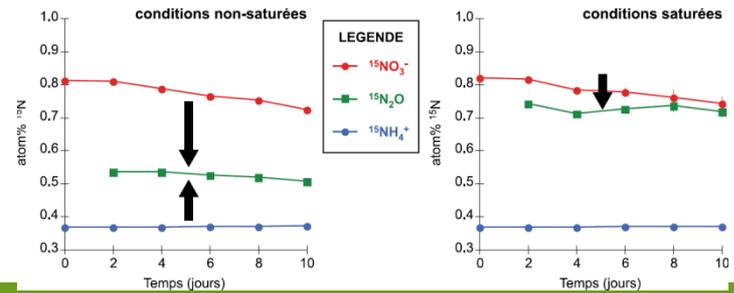
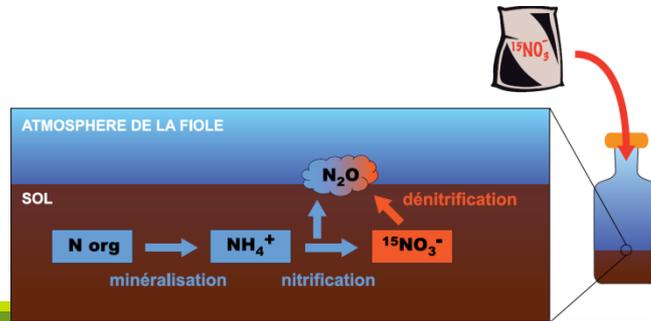
❖ Principes :

- ❖ apport d'un substrat marqué
- ❖ fractionnement isotopique
- ❖ structure moléculaire de N_2O (isotopomères)



❖ Applications :

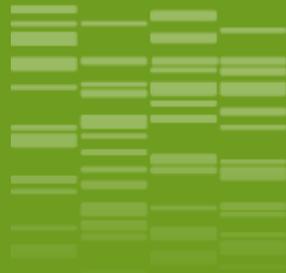
- ❖ Mesure de flux de N_2
- ❖ différenciation des processus sources (nitrification / dénitrification)



D'après Mathieu et al., 2008

.026

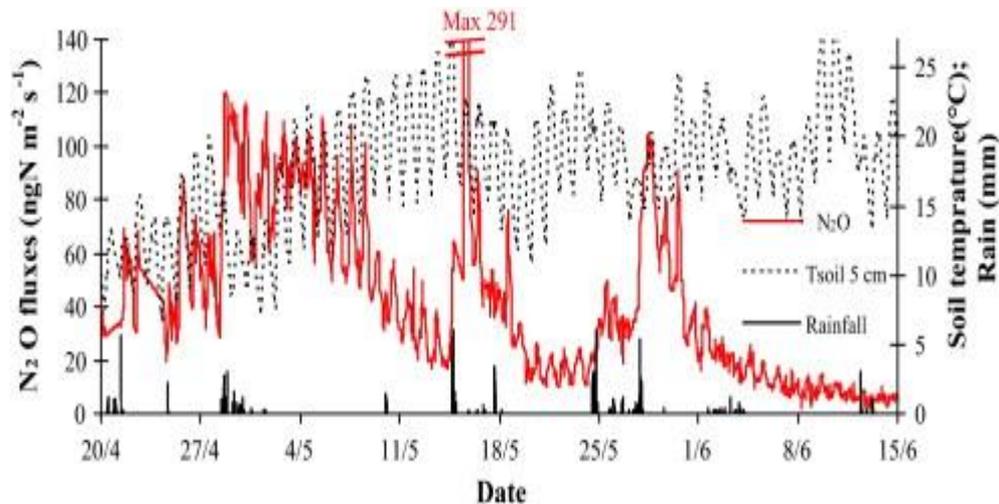
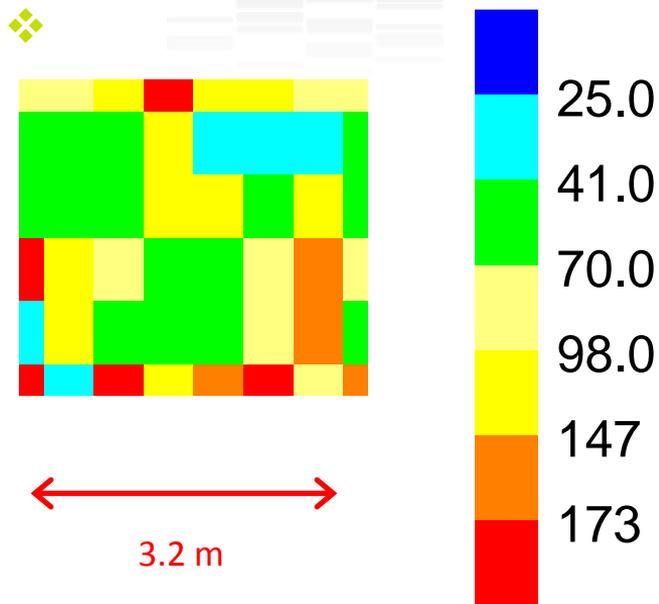
05/11/2014



_05

Déterminisme des émissions de N₂O

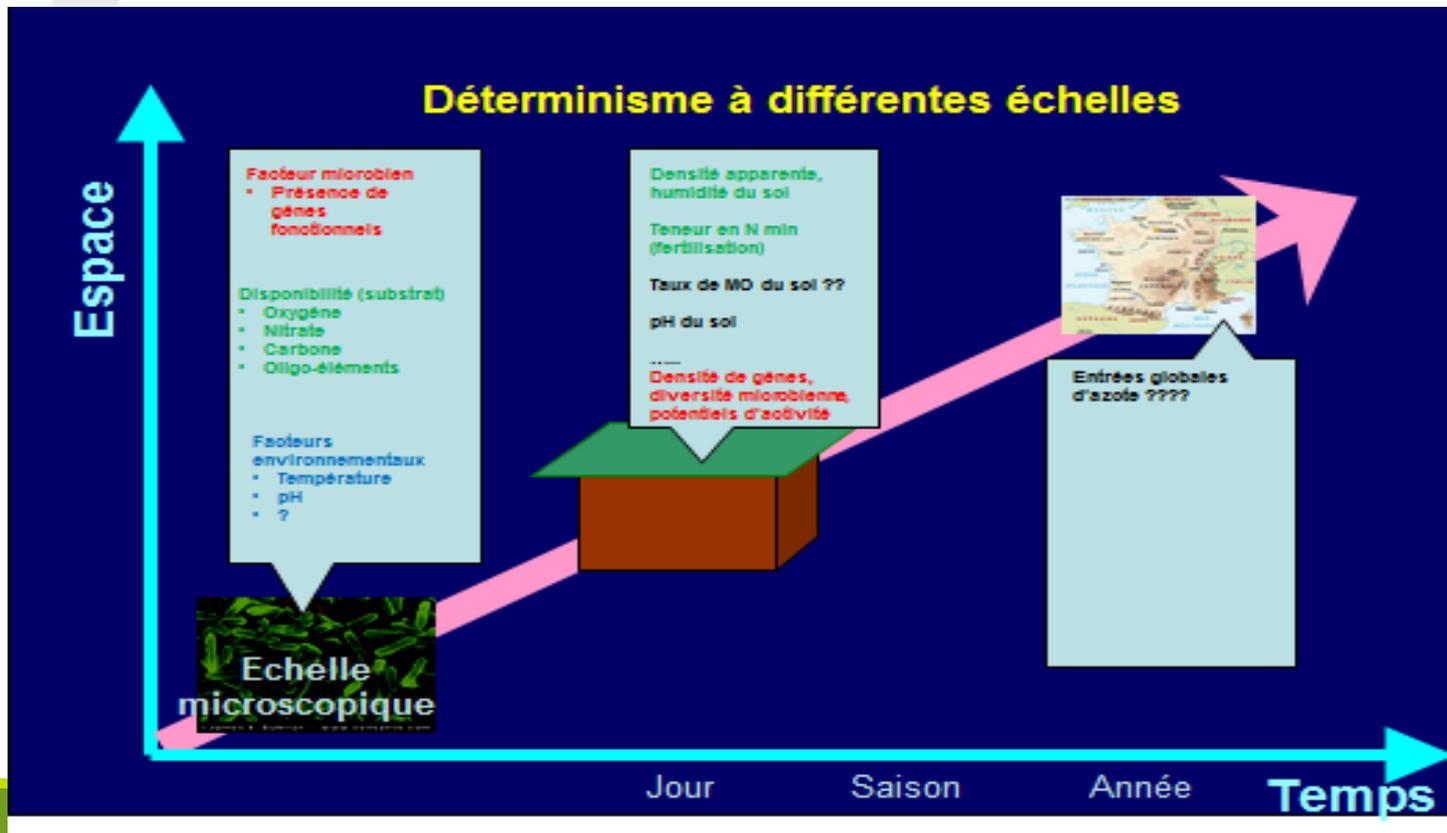
Variabilité spatiale et temporelle des émissions de N₂O par les sols



d'après Grossel et al., 2014

d'après Laville et al., 2011

Déterminisme à différentes échelles

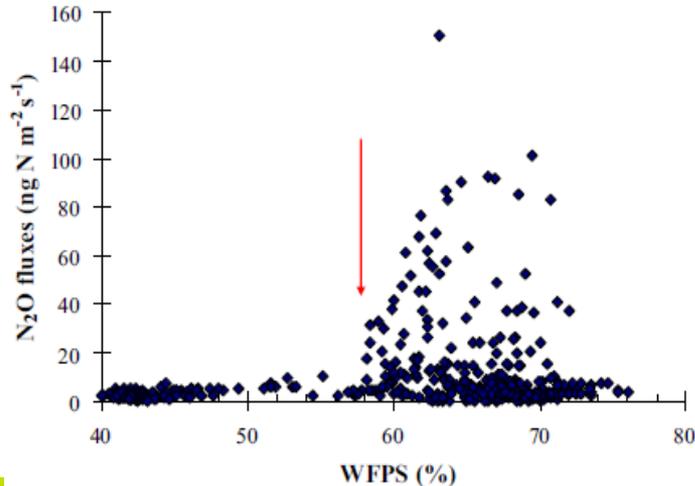


Déterminisme par le statut hydrique des sols

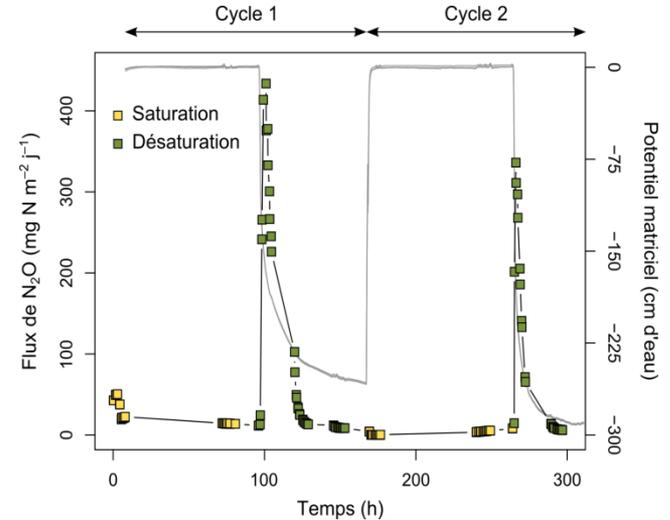
Coefficient de diffusion de l'O₂ :

- Eau = $2.6 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ Air = $2.3 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$

→ La teneur en eau est un important facteur de contrôle des émissions de N₂O pour différentes raisons dont le contrôle des métabolismes énergétiques microbiens

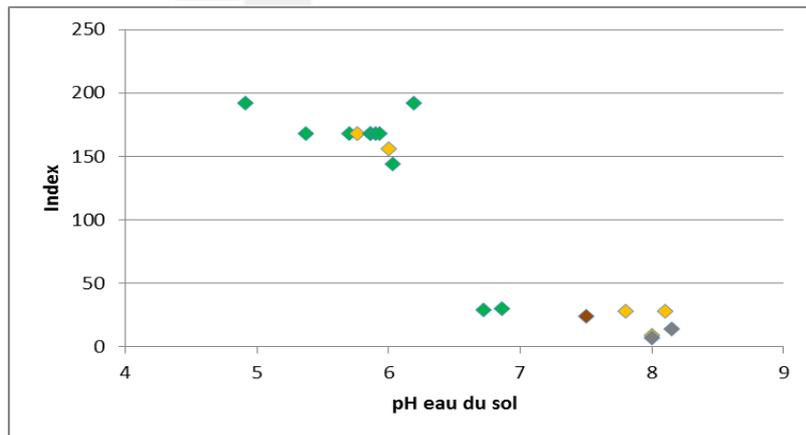


d'après Laville et al., 2011



d'après Rabot 2014

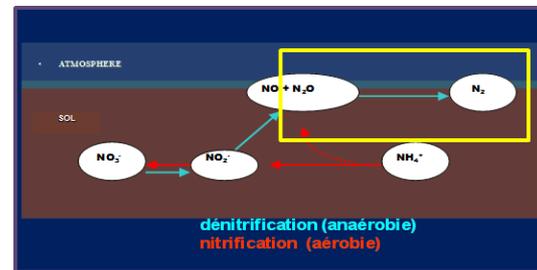
Effet du pH sur la capacité des sols à réduire N₂O



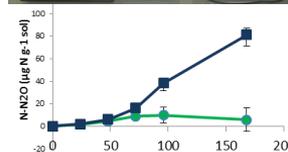
Effet du pH des sols sur leur capacité de réduction de N₂O en N₂ (exprimée sous la forme d'un index, Hénault *et al.*, 2001)

Une valeur élevée de l'index est indicatrice d'une situation à risque en terme d'émission de N₂O

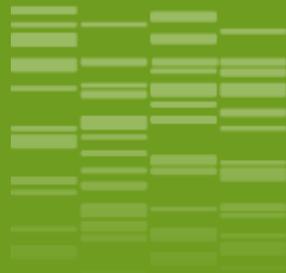
Sols de prairie, sols cultivés, sols forestiers et indéterminé.



Avec acétylène
Sans acétylène

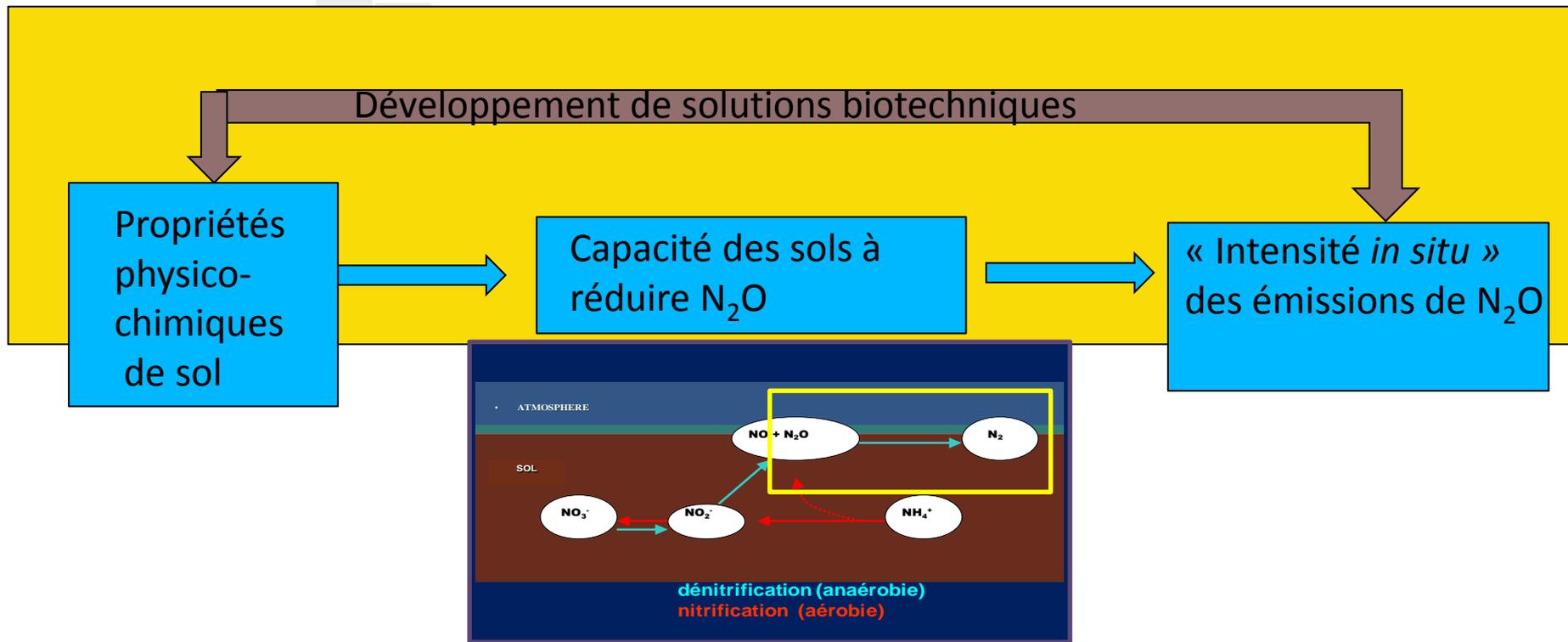


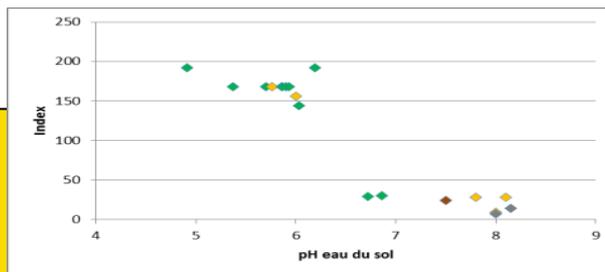
D'après Hénault *et al.*, 2011



_06

Exemple d'applications agro-environnementales



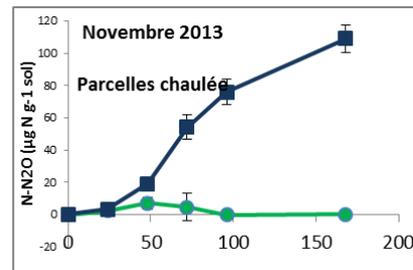
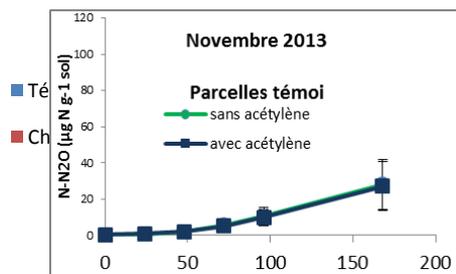
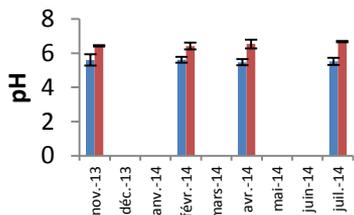


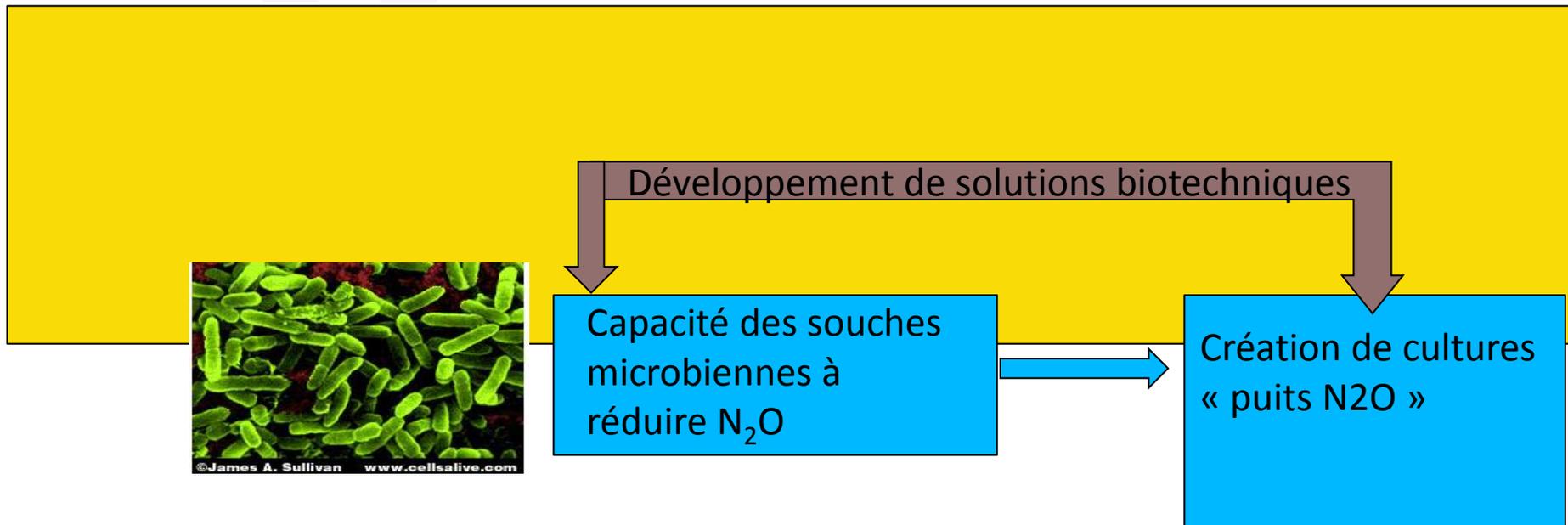
Développement de solutions biotechniques

pH

Capacité des sols à réduire N₂O

« Intensité *in situ* »
des émissions de N₂O





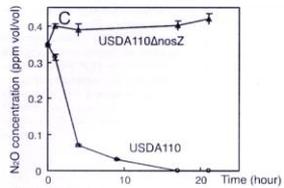
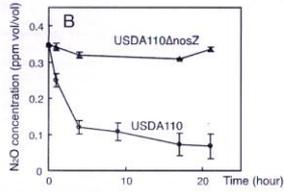
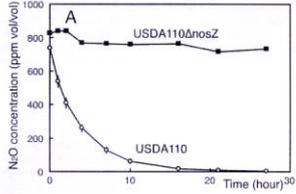
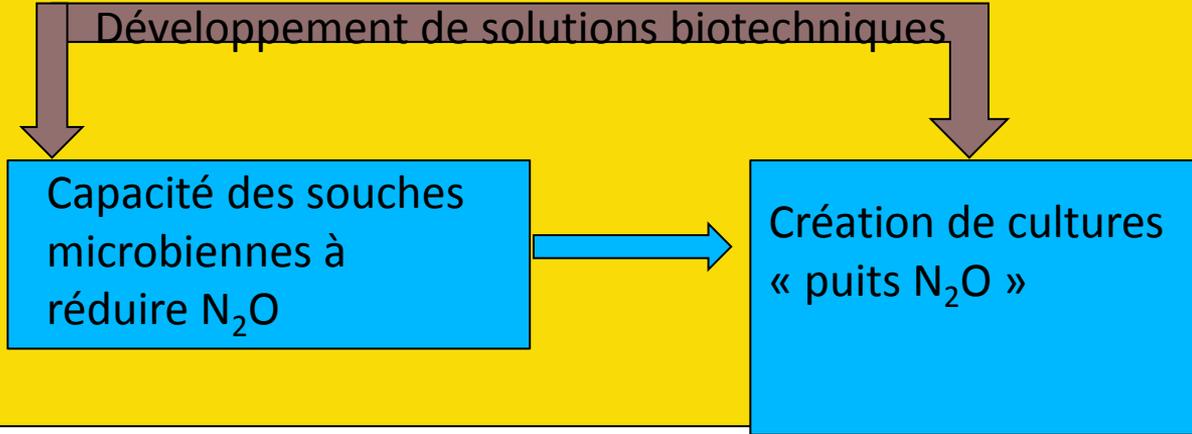


FIG. 4. N₂O uptake from root systems of intact plants (A and B) and decapitated root systems (C) inoculated with the wild-type strain or the nosZ mutant of *Bradyrhizobium japonicum* USDA110. Initial gas phases were adjusted to approximately 800 ppm (A) (intact plant) and 0.34 ppm (B) [intact plant] and C [decapitated root system] of N₂O in air. Soybean plants that harbored 0.26 to 0.30 g (A), 0.15 to 0.22 g (B), or 0.18 to 0.36 g (C) of nodules (fresh weight per plant) were examined by a test tube system (see the text). Triplicate determinations were carried out, except that data for USDA110ΔnosZ inoculation in panel A show means of duplicate determinations. Error bars, SDs.

Une équipe japonaise a montré que la souche *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110, symbiote du soja est capable de réduire N₂O en N₂. (Sameshima-Saito et al., 2006)

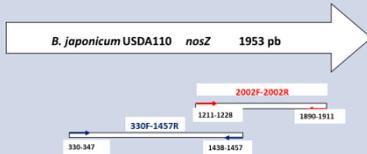


Caractérisation Expérimentale

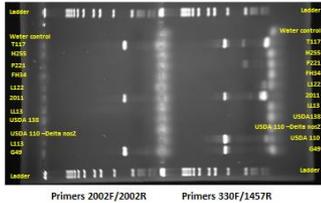
Modélisation

Génotypique

ADN



PCR products obtained for INRA strains



Phénotypique

Souches pures

Nodosités



Plantes entières



Champ

Champ

Adaptation de NOE

$$N_2O_d = D_p \times F_W \times F_N \times F_T \times r_{max}$$

