



Diminuer les émissions de gaz à effet de serre par les sols en réduisant N₂O en N₂

Catherine HENAULT¹, Mohamed ALKASSEM-ALOSMAN¹, Mustapha ARKOUN², Elodie BARBIER¹, Adeline BESNAULT³, Florian BIZOUARD¹, Hocine BOURENNANE³, Virginie BOURION¹, Henri BREFORT¹, Thomas EGLIN⁴, Guillaume GUYERDET^{1,5}, Alain HARTMANN¹, Cécile LE GALL⁶, Cécile REVELLIN¹, Nicolas SABY³, Camille ROUSSET^{1,7}

¹ Institut Agro, INRAE, Université Bourgogne, Université Bourgogne Franche-Comté, Agroécologie, Dijon, France

² Laboratoire de Nutrition Végétale, Centre Mondial de l'Innovation – ROULLIER, Saint-Malo, France

³ INRAE, Info&Sols, 45075, Orléans, France

⁴ ADEME, Direction Bioéconomie et Energies Renouvelables, Service Planification Énergétique Prospective Impacts et Territoires, F-49000, Angers, France

⁵ INRAE Le Rheu - 66 route du Bois de la Motte - La Motte au Vicomte - 35653 Le Rheu Cedex

⁶ TERRES INOVIA, Avenue Lucien Brétignières, 78850, Thiverval Grignon, France

⁷ Integrative Agroecology Group, Research Division Agroecology & Environment, Agroscope, Reckenholzstrasse 191, 8046 Zurich, Switzerland

Correspondance : catherine.henault@inrae.fr

Résumé :

Les concentrations atmosphériques des principaux gaz à effet de serre (GES) (CO₂, dioxyde de carbone, CH₄, méthane et N₂O, oxyde nitreux) sont actuellement à des niveaux jamais atteints et continuent d'augmenter de manière fulgurante depuis l'industrialisation. Les sols agricoles étant la principale source de N₂O, caractérisé par son très fort pouvoir de réchauffement global, nous cherchons à développer des solutions biotechniques pour diminuer les émissions de ce gaz par les sols. Nos travaux permettent de présenter des chroniques d'abattement des émissions de N₂O par les sols grâce à l'application de deux leviers utilisables par toutes les formes d'agriculture, le chaulage climatique (apport de produits chaulant sur un sol acide pour atteindre un pH de 6.8) et l'inoculation de légumineuses avec des souches de rhizobia possédant les gènes *nosZ*⁺. Ces leviers sont issus d'études préalables que nous avons conduites dans le but de stimuler la réduction de N₂O en N₂ dans les sols. Chemin faisant, nos travaux sur le chaulage climatique ouvrent aussi des perspectives sur l'atténuation des émissions de CO₂ par les sols pour lesquelles des recherches sur les mécanismes sous-jacents, sur les facteurs environnementaux d'influence et sur la généralité des résultats actuels sont requises.

Mots-clés : sols agricoles, atténuation des émissions de gaz à effet de serre, N₂O réductase, pH, chaulage, inoculation des légumineuses

Abstract: Mitigation of Greenhouse Gas Emissions from Soils by Enhancing the N₂O to N₂ Reduction Pathway - The mitigation of greenhouse gas (GHG) emissions, particularly nitrous oxide (N₂O) from agricultural soils, is crucial given the unprecedented atmospheric concentrations of GHGs such as carbon dioxide (CO₂), methane (CH₄), and N₂O, which continue to rise rapidly since industrialization. Agricultural soils represent a major source of N₂O, a potent greenhouse gas with a significant global warming potential. Over time, we explore the evolution and application of biotechnical strategies aimed at mitigating N₂O emissions in soils. Here, we presented two key mitigation approaches, which are: (1) climatic liming which involves liming addition to attain soil pH of 6.8, and (2) inoculation of legumes with rhizobial strains harboring *nosZ* genes, known to encode for N₂O reductase. These approaches were based on prior research conducted to demonstrate their respective efficacy in stimulating N₂O conversion to N₂ in soil. Additionally, our findings from climatic liming suggested its



potential to mitigate soil CO₂ emissions. Nevertheless, further researches are required to understand the underlying mechanisms, environmental determinants, and broader applicability of this approach to mitigate soil CO₂ emissions.

Keywords: agricultural soils, greenhouse gas mitigation, N₂O reductase, pH, liming, inoculation of legumes

1. Introduction

1.1 Contexte et objectifs

Les résultats des mesures des concentrations atmosphériques des principaux gaz à effet de serre (CO₂, dioxyde de carbone, CH₄, méthane et N₂O, oxyde nitreux) mis à disposition par le programme NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration - <https://www.co2.earth/co2-ice-core-data>) montrent que celles-ci sont actuellement à des niveaux jamais atteints et qu'elles continuent d'augmenter de manière fulgurante depuis l'industrialisation. Les sols agricoles étant la principale source de N₂O, caractérisé par son très fort pouvoir de réchauffement global (<https://ghgprotocol.org/sites/default/files/2024-08/Global-Warming-Potential-Values%20%28August%202024%29.pdf>), nous cherchons à développer des solutions biotechniques pour diminuer les émissions de ce gaz par les sols.

1.2 Cahier des charges, bases de la réflexion et angle d'attaque des émissions de N₂O

Concernant ces solutions biotechniques, le cahier des charges que nous nous sommes définis considère trois points principaux. (i) Ces solutions ne doivent pas engendrer de transfert de pollution ou de nouvelles pollutions. (ii) On doit être en capacité de quantifier spécifiquement les bénéfices qu'elles apportent et (iii) elles doivent être en cohérence avec la dynamique de l'écosystème agricole.

Parmi l'ensemble de la littérature sur le sujet, nous pouvons mettre en avant trois documents sur lesquels nous nous sommes appuyés pour identifier et concevoir nos stratégies d'action. (i) Le GIEC (Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat) propose plusieurs pistes pour réduire les émissions de N₂O par les sols, principalement basées sur l'amélioration de l'efficacité de l'azote apporté dans les systèmes de culture en intervenant sur la gestion des cultures et la fertilisation azotée (forme des fertilisants, conditions d'application, ...), (Smith *et al.*, 2014). (ii) Butterbach-Bahl *et al.*, (2013), ont proposé un schéma présentant l'ensemble des mécanismes biotiques et abiotiques impliqués dans les émissions de N₂O par les sols et (iii) Pellerin *et al.*, (2013) ont évalué le potentiel d'atténuation de différentes actions techniques pour réduire les émissions de GES par les sols sur la base d'une méthodologie incluant l'évaluation d'un potentiel d'atténuation unitaire et l'assiette potentielle de déploiement de chaque action.

Nous avons proposé une représentation simplifiée des mécanismes microbiens impliqués dans les émissions de N₂O par les sols (Figure 1). Celle-ci met en évidence (i) les processus source de N₂O, c'est à dire les premières étapes de la dénitrification et la nitrification et (ii) le rôle puits de la réduction de N₂O en N₂, dernière étape de la dénitrification, et seul mécanisme terrestre connu permettant l'élimination du gaz N₂O. La réduction de N₂O en N₂ est catalysée par l'enzyme N₂O réductase, codée par les gènes *nosZ* (Pauleta *et al.*, 2019 ; Orellana *et al.*, 2014).

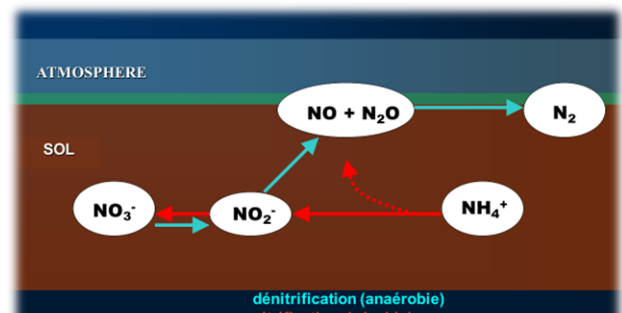


Figure 1 : Représentation simplifiée des mécanismes microbiens impliqués dans les émissions de N₂O par les sols (source : Hénault, 2004)



Afin de réduire les émissions de N_2O par les sols, nous avons choisi de stimuler l'étape de réduction de N_2O en N_2 . En effet, le fonctionnement de cette dernière étape de la dénitrification (i) permet le bouclage du cycle de l'azote et ainsi la sortie de cet élément sous une forme non réactive (N_2), (ii) n'a pas d'impact direct sur la production agricole et (iii) des travaux préliminaires avaient permis d'identifier des situations agronomiques où les sols ne réduisaient pas N_2O en N_2 et fortement émettrices de N_2O . **Stimuler la réduction de N_2O en N_2 des sols est donc apparu une stratégie en cohérence avec notre cahier des charges.**

1.3 Approches retenues pour stimuler la réduction de N_2O en N_2 dans les sols

1.3.1. Introduire des microorganismes capables de réduire N_2O en N_2 (« approche MIC »)

Une première approche consiste à introduire dans le sol des microorganismes capables de réduire N_2O en N_2 (Hénault *et al.*, 2009). Pour des raisons liées à l'écologie microbienne des sols (diversité des microorganismes, équilibres entre les populations, ...) et des raisons économiques (dimensionnement des inoculants), l'implantation dans les sols de groupes microbiens spécifiques présentant des intérêts agronomiques ou environnementaux, reste difficile. Néanmoins, cette difficulté est moindre dans le cas d'organismes symbiotiques avec une plante. En effet, celle-ci crée une niche écologique particulière permettant à son symbiote de se développer dans le sol. C'est le cas par exemple des Rhizobiacées, symbiotes des légumineuses qui peuvent se développer dans les sols en présence de leur plante hôte, qu'ils soient naturellement présents dans le sol ou qu'ils soient inoculés. Les gènes *nosZ* codant pour la synthèse de l'enzyme impliquée dans la réduction de N_2O en N_2 ont été observés chez certains de ces Rhizobiacées symbiotes de plantes cultivées comme *Sinorhizobium melliloti*, souche 2011, symbiote de la luzerne. Sameshima-Saito *et al.* (2006) ont démontré que des plantes de soja inoculées avec la souche *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110, sont effectivement capables de réduire N_2O en N_2 .

1.3.2. Intervenir le cas échéant sur les propriétés physico-chimiques des sols contrôlant leur capacité à réduire N_2O en N_2 (« approche PPC »)

Une seconde approche consiste à rechercher si l'activité de réduction de N_2O en N_2 des sols est contrôlée par leurs propriétés physiques et à intervenir, le cas échéant, sur ces propriétés afin d'y stimuler la réduction de N_2O en N_2 . Suite à des expérimentations en laboratoire avec apport de lisier sur du sol initialement incapable de réduire N_2O en N_2 (Hénault *et al.*, 2001), nous avons envisagé que des apports de matières organiques permettraient de stimuler la réduction de N_2O en N_2 des sols (Hénault *et al.*, 2009). Par ailleurs, Le Gall *et al.*, (2015) ont proposé une ébauche de relation entre pH et capacité des sols à réduire N_2O en N_2 , relation obtenue à partir des sites du projet NO GAS (https://www.rmt-fertilisationenvironnement.org/moodle/pluginfile.php/568/mod_resource/content/0/Casdar_NO_GAS_250909.pdf).

1.3.3. Quantifier les évitements d'émission de GES à différentes échelles

Pour ces deux approches, nous accordons de l'importance à la quantification des évitements d'émission obtenus et potentiels, à différentes échelles (du micro-organisme à la région administrative) pour répondre aux attentes de différentes cibles (académique, professions agricoles, politiques publiques, ...) en considérant l'ensemble des GES, c'est-à-dire principalement N_2O et CO_2 , au regard de leurs pouvoirs de réchauffement global respectifs.



2. Matériels et Méthodes

2.1 Caractérisation de la capacité des sols à réduire N₂O en N₂

2.1.1 Test de laboratoire

Pour caractériser la capacité des sols à réduire N₂O en N₂, nous avons appliqué le test décrit dans la norme ISO/TS 20131-2, basé sur l'utilisation des propriétés inhibitrices de l'acétylène vis-à-vis de la réduction de N₂O en N₂. Ce test permet (i) de connaître la capacité des sols à réduire N₂O par la mesure d'indicateurs (r_{\max}) et, (ii) en étendant le concept de phénotype aux sols, de classer les sols en 3 groupes (i) PhN₂Ored⁻ : sols avec un r_{\max} élevé, signature d'une faible capacité à réduire N₂O, (ii) PhN₂Ored⁺ : sols avec un r_{\max} faible, signature de sa capacité à réduire N₂O et (iii) PhN₂Ored^{+/-} : sols avec un r_{\max} moyen, signature d'une capacité intermédiaire du sol à réduire N₂O.

2.1.2. Sols testés

90 sols du RMQS (Réseau de Mesure de la Qualité des Sols) ont été rééchantillonnés selon le protocole dédié. Ces 90 sites ont été sélectionnés en appliquant la méthodologie d'échantillonnage par hypercube latin, pour couvrir la variabilité des sols français en termes d'occupation, de répartition géographique, de teneur en carbone et de pH, du fait des résultats préliminaires présentés respectivement dans Hénault *et al.*, (2001) et Le Gall *et al.*, (2015).

2.2 Zoom sur les mesures *in situ* des émissions de GES par les sols

2.2.1. Sites expérimentaux

Les dispositifs de nos essais au champ incluent 3 blocs et plusieurs modalités dont une modalité témoin. Concernant l'approche « PPC », nous avons conduit des essais au champ (i) sur le site Arvalis de la Jaillière en Loire Atlantique, (ii) sur une parcelle agricole située à Presly la Noue dans le Cher et (iii) sur une parcelle agricole située près de Saulieu en Côte d'Or. Ces 3 sites ont en commun d'être sur des sols acides, (i) limoneux, limono-sableux pour le site de la Jaillière, (ii) sablo-limoneux pour le site de Presly la Noue et (iii) sableux pour le site de Saulieu. Concernant l'approche « MIC », l'essai au champ a été conduit sur le site INRAE situé à Ardon dans le Loiret, sur un sol sableux et acide.

2.2.2. Protocoles

Les mesures d'émission de GES *in situ* ont été réalisées en appliquant la méthode des chambres statiques (Photos 1) couplées à la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Brièvement, des embases creuses couvrant 0.2 m² (chambres rondes) ou 0.5 m² (chambres carrées), selon la disponibilité du matériel - sont installées en permanence au sol. Elles sont enfoncées dans le sol sur environ 10 cm et dépassent celui-ci sur environ 10 cm aussi. En général, nous installons 3 chambres par parcelle élémentaire, ce qui nous permet d'avoir 9 répétitions par modalité dans les essais contenant 3 blocs. Au moment des mesures, les embases sont fermées hermétiquement par le dessus, délimitant un espace gazeux au-dessus du sol. Des couvercles plats nécessitant de couper les plantes contenues dans les embases sont utilisés dans l'approche « PPC ». Les mesures sont alors réalisées sur une durée de 2h30, de jour. Des couvercles hauts sont utilisés dans l'approche « MIC » pour préserver les plantes. Les mesures sont réalisées sur une durée de 16 h, de nuit. Dans les deux cas, des échantillons gazeux sont prélevés régulièrement pendant la fermeture des chambres. Ces échantillons sont analysés par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un détecteur en capture d'électrons pour N₂O et d'un détecteur à conductivité thermique pour CO₂.



Photos 1 : Chambres au sol utilisés lors de nos mesures :

A. Embases des chambres carrées utilisées sur le site de la Jaillière avec des couvercles plats (approche « PCC »). B. Chambres fermées avec un couvercle haut pour respecter les plantes de soja sur l'essai conduit à Ardon (approche « MIC »). C et D. Chambres rondes fermées avec un couvercle plat sur le site près de Saulieu (approche « PCC »).

2.3 Caractérisation de la capacité des *rhizobia* à réduire N_2O en N_2 (approche « MIC »)

Nos travaux ont été conduits à différentes échelles, allant de la caractérisation génomique à la parcelle cultivée, en passant par des incubations en serre (Photo 2). Nous nous sommes intéressés aux symbiotes du soja, du trèfle, de l'arachide, du fève, du lupin et plus récemment du pois. Nous avons travaillé avec des souches de *rhizobia* de la collection « Microorganismes d'Intérêt Agronomique Environnemental » hébergée par l'UMR AgroEcologie de Dijon. Pour le pois, nous avons aussi réalisé de nouveaux isollements à partir d'un sol agricole. La présence des gènes *nosZ* chez les *rhizobia* étudiés a été recherchée par des techniques de biologie moléculaire (utilisation d'amorces spécifiques, séquençage, ...). L'activité de réduction de N_2O a ensuite été mesurée sur des souches *nosZ+*, en cultures pures ou associées à leur plante hôte, cultivée en milieu inerte (perlite) ou sur sol en serre (Photo 2). Pour le soja, nous avons été jusqu'à la caractérisation au champ.



Photo 2 : Dispositif de mesure de l'activité de réduction de N_2O en serre

2.4 Modification des propriétés physico-chimiques des sols (approche « PPC »)

Pour cette approche, nous avons aussi conduit des travaux à différentes échelles, du mésocosme de sol déstructuré à la parcelle cultivée. Nous avons apporté au sol de la chaux (CaO) sur les sites de la Jaillière et de Presly la Noue et du carbonate de calcium de synthèse ainsi que du carbonate de calcium ($CaCO_3$) d'origine marine (Calcimer®) sur le site de Saulieu (Photo 3). Les doses apportées ont été calculées à l'aide de l'équation proposée par Rémy and Marin Lafleche (1974), pour atteindre un pH de 6.8 (Hénault et al., 2019)



Photo 3 : Apport de carbonate de calcium sur le site situé près de Saulieu



2.5 Changement d'échelles de la parcelle cultivée à la région et de la parcelle cultivée à la France (approche PCC)

Pour le changement d'échelle de la parcelle cultivée à la Région, les équations mobilisées ont été (i) une version adaptée de l'équation Tier 1 du GIEC (Hergoualc'h *et al.*, 2019) tel que suggéré dans la méthodologie, l'adaptation permettant d'introduire le pH des sols dans le calcul, (ii) l'équation Tier 2 publiée par Stehfest et Bouwman (2008), (iii) ainsi que l'équation proposée par Le Gall *et al.* (2015).

A l'échelle régionale (en Bourgogne Franche-Comté), les calculs ont été réalisés en mobilisant les bases de données (BDD) (i) Sols, IGCS (Inventaire, Gestion et Conservation des Sols) à résolution de UCS (unité cartographique des sols), (Chrétien et Laroche, 2006), BDAT (Base de données d'Analyse des Terres, Saby *et al.*, 2014) et ESDAC (European Soil Data Center, Ballabio *et al.*, 2016) à résolution communale, (ii) des variables de culture issus de la BDD des successions culturales parcellaires (Martin *et al.*, 2021) et (iii) la BDD DRIAS^{les futurs du climat} pour les données pluviométriques (Lémond, 2010). De plus, les cartes parcellaires des apports annuels d'azote minéral et organique ont été construites en prenant en compte la carte des zones vulnérables aux nitrates et les données départementales des apports d'azote par culture (DREAL (Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement), 2017).

Les calculs ont été réalisés une première fois à partir de l'ensemble de ces données, puis une seconde fois dans le contexte d'une application théorique d'un chaulage des sols acides permettant d'atteindre le pH de 6.8. Pour le changement d'échelle de la parcelle cultivée à la France, nous avons utilisé différentes approches ("CART-FDA", "cumulative frequency", "map_rmqs" – Hénault *et al.*, 2019) pour calculer l'applicabilité potentielle du chaulage climatique. L'utilisation de différentes approches de calcul permet de proposer un intervalle aux valeurs estimées.

3. Résultats

3.1 Capacité des sols à réduire N₂O

Parmi les 90 sites du RMQS testés, nous avons observé que 29 d'entre eux, soit 32 %, présentaient une bonne capacité à réduire N₂O en N₂ (PhN₂Ored⁺) tandis que 36 sites (40 %) sont apparus inaptes à réduire N₂O en N₂ (PhN₂Ored⁻). Les 25 autres sites (28 %) ont présenté un comportement intermédiaire (PhN₂Ored^{+/-}), (Figure 3). Une relation de pédotransfert a pu être établie entre la capacité des sols à réduire N₂O et une combinaison entre les facteurs pH, CEC (capacité d'échange cationique) et teneur en argile, le pH étant la propriété explicative principale. La meilleure relation obtenue entre capacité des sols à réduire N₂O et pH est une fonction en escalier avec 2 valeurs de pH caractéristiques : pH 6.4 en deçà duquel les sols apparaissent globalement incapables de réduire N₂O, et pH 6.8 au-delà duquel la réduction de N₂O en N₂ est facilitée.

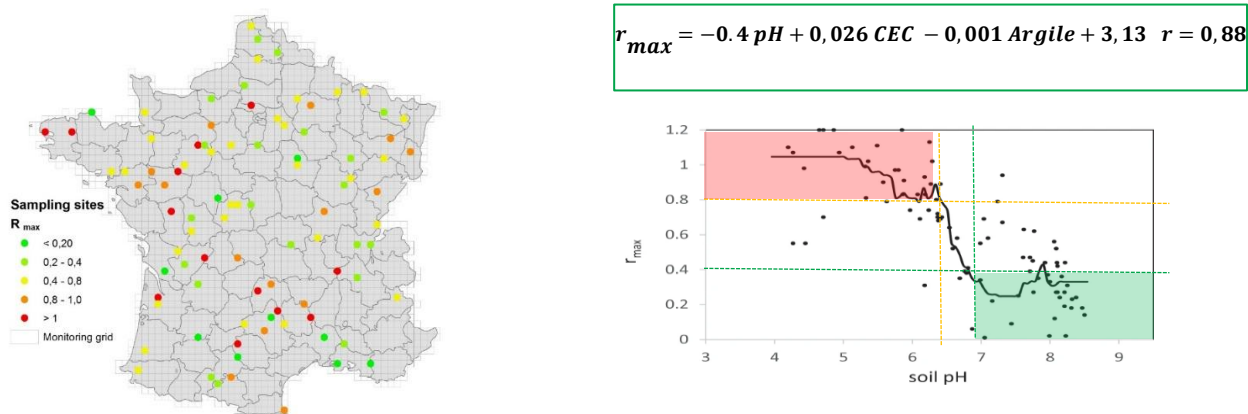


Figure 3 : Répartition spatiale et déterminisme de la capacité des sols à réduire N_2O en N_2
 $r_{max} < 0.4$ (PhN₂Ored⁺) ; $r_{max} > 0.8$ (PhN₂Ored⁻) ; $0.4 < r_{max} < 0.8$ (PhN₂Ored^{+/-})

Exprimé selon l'étude GES, ce résultat montre une « assiette » potentielle d'intervention importante à l'échelle de la France, ce qui nous a encouragé à continuer dans cette voie.

3.2 Le chaulage : levier d'atténuation des émissions de N_2O par les sols ?

3.2.1. Principe

Dérivé de la relation en escalier présenté ci-dessus (Figure 3), le chaulage des sols acides, jusqu'à un pH de 6.8 est alors apparu comme un levier possible d'atténuation des émissions de N_2O par les sols : c'est ce que nous appelons le chaulage climatique. Il s'agit d'un chaulage un peu plus poussé que celui généralement utilisé pour améliorer les propriétés des sols et les rendements des cultures, plutôt préconisé pour atteindre un pH compris entre 6.2 et 6.5.

3.2.2. Impact sur les émissions de N_2O observés *in situ*

Sur le site expérimental ARVALIS de la Jaillière, où d'importantes émissions de N_2O ($> 100 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ j}^{-1}$) ont été observées sur les parcelles témoin, des abattements d'émission de l'ordre de 70 % ont été observés sur les parcelles ayant reçu le produit chaulant en comparaison avec les parcelles témoin (Figure 4).

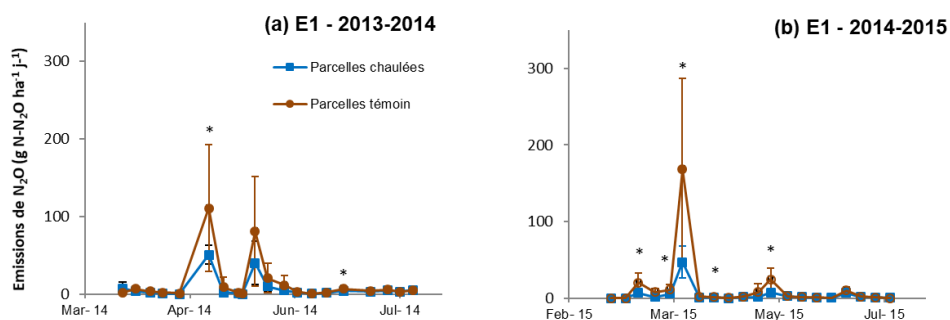


Figure 4 : Emissions de N_2O mesurées sur le site de La Jaillière –

* indique une différence significative entre les flux mesurés sur les différentes modalités.

Sur le site situé dans le Cher, dans un contexte d'émission de N_2O sur les parcelles témoin plus faibles que sur le site de la Jaillière ($\text{max } 10 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ j}^{-1}$), un abattement de 26 % des émissions a été observé après apport de produit chaulant par rapport au témoin. La médiane de ces valeurs est de 49 %.



3.2.3. Quantification des abatements potentiels de N₂O à l'échelle de la Région Bourgogne- Franche-Comté et de la France

Nous avons chiffré un abatement potentiel des émissions de N₂O par l'application de produits chaulant à l'échelle de la Bourgogne Franche-Comté de 15 %. Les différentes étapes de ce calcul sont disponibles dans le dataverse INRAE (<https://doi.org/10.57745/94WYGJ>), tandis que la carte des potentiels de réduction à la résolution de la communauté de communes est disponible sur la plateforme Opteer (<https://www.opteer.org/donnees-territoires/11473/consulter/?Territoire=5075&Type2Territoire=63>). A l'échelle de la France, la médiane des valeurs calculées par les différentes méthodes est de 16 %. Les valeurs ont été comprises entre 13 et 33 % selon les méthodologies mobilisées (Hénault *et al.*, 2019).

3.2.4. De N₂O à CO₂

Sur le site expérimental situé près de Saulieu, nous avons mesuré de faibles émissions de N₂O quelles que soient les modalités considérées (témoin et chaulées) et des émissions de CO₂ comprises entre 2 et 60 kg C-CO₂ ha⁻¹ j⁻¹, présentant des variations saisonnières cohérentes avec les variations de température. Contrairement à l'hypothèse selon laquelle l'intégralité du C des carbonates de calcium apportés au sol est systématiquement perdue sous forme CO₂ l'année de l'apport - ce qui correspondrait globalement à une augmentation de 10 % des émissions de sol pouvant remettre en cause l'intérêt

climatique du chaulage - nous avons observé à l'échelle de la parcelle cultivée sur notre site expérimental, une forte diminution (-36 %) des émissions de CO₂ du sol après apport de CaCO₃ (figure 5).

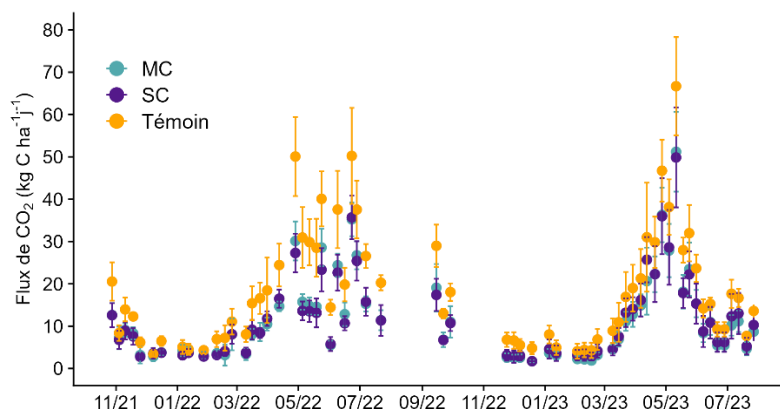


Figure 5 : Emissions de CO₂ mesurées sur le site situé près de Saulieu après apport de produits chaulant

3.3. Utilisation des *rhizobia* pour réduire N₂O en N₂

A l'exception du pois, nous avons identifié dans la collection MIA (i) des *rhizobia* possédant les gènes *nosZ*, symbiotiques de chacune des espèces de légumineuses étudiées, ainsi que (ii) des souches ne possédant pas le gène, ces souches étant utiles pour les expérimentations. Pour le pois, l'isolement *de novo* a permis d'obtenir des isolats *nosZ*⁺. Nous avons pu démontrer, pour toutes les espèces de légumineuses étudiées à l'échelle du système plantes – microbes, leur capacité à réduire N₂O, avec des intensités différentes selon le couple considéré (Hénault *et al.*, 2022).

Les signaux les plus forts ont été obtenus sur soja avec la souche G49 (souche commercialisée en France pour l'inoculation du soja) et sur lupin avec la souche LL200. Au champ, l'inoculation du soja avec la souche *nosZ*⁺ G49 a permis d'observer pendant la période de végétation non fertilisée, des abatements d'émission de l'ordre de 80 % représentant plusieurs g de N-N₂O ha⁻¹ j⁻¹ (Figure 6).

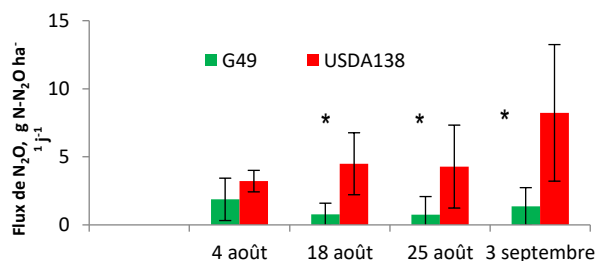


Figure 6 : Emissions de N₂O mesurées *in situ* au cours de l'essai expérimental conduit sur le site INRAE de Ardon avec culture de soja inoculée avec la souche G49 (*nosZ*⁺) et la souche USDA138 (*nosZ*⁻) * indique une différence significative entre les flux selon la souche inoculée



4. Discussion

Actuellement, nous sommes en capacité de présenter des chroniques d'évitements d'émission de N_2O et de CO_2 par les sols, obtenues *in situ* grâce à des leviers utilisables par toutes les formes d'agriculture, i.e. le chaulage climatique et l'inoculation des légumineuses avec des souches possédant les gènes *nosZ*. Nos travaux ont permis de réaliser les preuves de concept, de franchir l'étape critique de démonstration *in situ* et de calculer des atténuations potentielles à échelle régionale et nationale pour ce premier levier.

Au vu de sa complexité, on pourrait être tenté de schématiser le cycle de l'azote par une énorme pelote de laine, bien emmêlée. Pour diminuer les émissions de N_2O par les sols, nous avons cherché à tirer sur un bout de cette pelote, celui de la dernière étape de la dénitrification, i.e. la réduction de N_2O en N_2 , du gène à la parcelle agricole. En tirant sur ce bout de laine, nous avons aussi tiré sur l'énorme pelote qu'est le cycle du carbone. L'expérience montre que ces 2 cycles sont souvent entremêlés, mais leur point de rencontre n'a pas été là où on l'attendait ! En 2001, nous avons observé au laboratoire une stimulation du fonctionnement de la N_2O réductase par un apport de lisier (Hénault et al., 2001). Nous avons alors envisagé un contrôle du fonctionnement de l'enzyme N_2O réductase par la disponibilité en carbone du sol. Sur la base des résultats obtenus plus récemment, nous pensons maintenant que l'apport de lisier avait eu un effet sur le fonctionnement de la N_2O réductase, non pas par le C qu'il avait apporté mais par le pH du sol qu'il avait augmenté. Nos travaux montrent donc, un lien, indirect certes, entre les cycles du carbone et de l'azote via le chaulage climatique, conciliant la réduction des émissions de N_2O et celles de CO_2 , obtenues toutefois par des mécanismes très différents.

Le pH du sol avec une valeur caractéristique à 6.8 est ressorti comme le principal facteur de contrôle de la réduction de N_2O en N_2 dans les sols. Ce résultat est très intéressant tant au niveau fondamental qu'appliqué car cette propriété peut être gérée, par exemple, en chaulant les sols acides, sachant que différents matériaux peuvent être utilisés dans ce but et que les sols acides représentent plus d'un tiers des sols français. Bien qu'un peu supérieur au pH généralement préconisé en agriculture pour améliorer la qualité des sols et la production agricole, cette valeur cible (pH > 6.8) n'apparaît pas aberrante d'un point de vue écosystémique et économique. Wang *et al.*, (2018) ont également mis en évidence cette valeur de pH, en observant en Chine, que le facteur d'émission des fertilisants apportés au sol de 1,0 %, proposé par le GIEC jusque récemment, est pertinent pour les sols dont le pH est supérieur à 6.8 et augmente à mesure que le pH diminue. Au cours d'expérimentations de laboratoire conduites à des valeurs de pH de 4,0, 6,1 et 8,0, Liu *et al.*, 2014 ont également observé que le pH bas du sol empêchait la réduction de N_2O . La littérature converge pour expliquer ce fait par un assemblage altéré de l'enzyme N_2O réductase aux bas pH (Bergaust *et al.*, 2010). Les valeurs d'abattement des émissions de N_2O que nous avons observées *in situ* (26 %, 49 % et 66 %) sont cohérentes avec les observations de Mac Millan *et al.* (2016) et de Shaaban *et al.* (2015) qui ont publié des valeurs de réduction des émissions de N_2O en chaulant les sols acides, variant de 16 % à 64 % selon le type de sol, les conditions de température et les apports azotés. La convergence de l'ensemble de ces résultats, incluant des essais en France, a favorisé l'inclusion de ce levier dans la méthodologie du label bas carbone en grandes cultures ([https://www.ecologie.gouv.fr/sites/default/files/M %C3 %A9thode %20LBC %20Grandes %20cultures.pdf](https://www.ecologie.gouv.fr/sites/default/files/M%C3%A9thode%20LBC%20Grandes%20cultures.pdf)).

Au vu de la règle générale prévoyant que tout le carbone des carbonates de calcium est émis sous forme CO_2 (Hergoualc'h *et al.*, 2019), les évitements d'émission de CO_2 que nous avons récemment observés sur le site près de Saulieu, n'étaient pas attendus. La méta-analyse proposée par Zhang *et al.* (2022) présente globalement une augmentation des émissions après chaulage sachant que néanmoins plusieurs articles utilisés lors de cette méta-analyse mentionnent des émissions de CO_2 équivalentes ou plus faibles après apport au champ de produits chaulant (Galbally *et al.*, 2010 ; Lochon *et al.*, 2019). Sur la base de la publication de West et MacBride, 2005 qui suggère une surestimation des émissions de CO_2 après apport de carbonate de calcium par la règle générale, la méthodologie du GIEC laisse ouverte la possibilité d'un calcul différent permettant des estimations d'émissions de CO_2 inférieures à celles issues de l'application de cette règle. De notre côté et à ce stade du travail, nous formulons deux hypothèses



pour expliquer la diminution observée des émissions de CO₂ des sols après apport de produits chaulant (i) le mécanisme pompe à CO₂ où le carbonate de calcium mobilise du CO₂ pour former l'ion bicarbonate mobile dans les formes aqueuses (Hamilton *et al.*, 2007), et (ii) la stabilisation de la matière organique par le Ca²⁺ (Rowley *et al.*, 2018). Il est aussi possible que d'autres mécanismes soient impliqués. Ainsi, pour une application sécurisée de ce levier, il nous apparaît essentiel que la généralité de ce résultat soit validée et que les mécanismes sous-jacents à ces évitements d'émission (et leur régulation par les facteurs environnementaux) soient compris et quantifiés à différentes échelles spatiales et temporelles. Dans le contexte du changement climatique que nous connaissons, les recherches sur l'identification et la compréhension du fonctionnement de ces mécanismes, s'avèrent essentielles et urgentes.

Concernant l'utilisation des *rhizobia nosZ*⁺, nos travaux sont reconnus au niveau international (Bakken *et al.*, 2020) sachant qu'actuellement les autres équipes les plus actives sur ce sujet sont situées au Japon (Akiyama *et al.*, 2016), en Amérique du Sud (Obando *et al.*, 2019) et en Norvège (Wolij *et al.*, 2019). A titre d'exemple, l'équipe japonaise travaille principalement sur le soja avec différentes approches microbiologiques et mise en place d'essais au champ qui ont montré l'importance de prendre en compte la période de décomposition des racines. Il est aussi important de rappeler que par exemple la souche G49 utilisée en France pour inoculer le soja est aussi très bonne fixatrice d'azote. Dans l'état actuel des connaissances, nous n'avons trouvé aucun argument défavorable à l'inoculation des légumineuses avec une souche naturelle *nosZ*⁺, comparativement à l'inoculation avec une souche *nosZ*⁻. Ainsi, l'inoculation des légumineuses avec des souches *nosZ*⁻, quand l'équivalent *nosZ*⁺ est disponible, prive l'écosystème terrestre d'une fonction puits de N₂O, naturelle, renforcée par l'homme, et ne nécessitant aucun moyen supplémentaire de mise en œuvre.

Enfin, d'autres leviers pour réduire les émissions de GES sont aussi à travailler. Notre approche multi-échelle basée sur la gestion de la réduction de N₂O en N₂ peut être étendue aux autres processus microbiens impliqués dans ces émissions. Par exemple le contrôle de l'irrigation des cultures ou le drainage des sols pour limiter l'activité de dénitrification des nitrates constituent une piste très importante tout comme le contrôle des émissions de N₂O par nitrification. Plus proche des propositions formulées par le GIEC, l'optimisation de la nutrition azotée des plantes peut limiter l'ensemble des pertes azotées sous forme gazeuse ou dissoute.

5. Conclusions

Nos travaux permettent de présenter des chroniques d'abattement des émissions de N₂O par les sols grâce à l'application de deux leviers utilisables par toutes les formes d'agriculture, le chaulage climatique et l'inoculation de légumineuses avec des souches possédant les gènes *nosZ*⁺. Ces leviers sont issus d'études préalables que nous avons conduites dans le but de stimuler la réduction de N₂O en N₂. Chemin faisant, nos travaux sur le chaulage climatique ouvre aussi des perspectives sur l'atténuation des émissions de CO₂ par les sols pour lesquelles des recherches sur les mécanismes sous-jacents, sur les facteurs environnementaux d'influence et sur la généralité des résultats actuels sont requises.

Ethique

Les auteurs déclarent que les expérimentations ont été réalisées en conformité avec les réglementations nationales applicables.

Déclaration sur la disponibilité des données et des modèles

Les données qui étayent les résultats évoqués dans cet article sont accessibles sur demande auprès de l'auteur de correspondance de l'article.

Déclaration relative à l'Intelligence artificielle générative et aux technologies assistées par l'Intelligence artificielle dans le processus de rédaction.

Les auteurs n'ont pas utilisé de technologies assistées par intelligence artificielle dans le processus de rédaction.



ORCID des auteurs

Catherine Hénault (0000-0002-1210-2499) - Mustapha Arkoun (0000-0002-7676-5494) - Elodie Barbier (0009-0004-4529-0555) - Cécile Le Gall (0000-0002-1874-6009) - Nicolas Saby (0000-0001-8964-1194) - Camille Rousset (0000-0002-9251-3959)

Contributions des auteurs

C. Hénault : Rédaction, conception et réalisation des travaux, montage et gestion des projets. **M. Alkassem** : Changement d'échelles. **M. Arkoun** : Conception et suivi des travaux sur le chaulage. **E. Barbier** : Détection du gène *nosZ* des souches de la collection MIA. **A. Besnault** : Caractérisation de la capacité des sols du RMQS à réduire N₂O. **F. Bizouard** : Gestion de l'essai de Saulieu. **H. Bourenane** : Relecture, modélisation et changement d'échelles, suivi de projet. **V. Bourion** : Expérimentations avec légumineuses. **H. Bréfort** : Expérimentation et suivi de projets. **T. Eglin** : Relecture, conception et suivi de projets, **G. Guyerdet** : Expérimentation. **A. Hartmann** : Expérimentation, conception et suivi de projets sur les *rhizobia*. **C. Le Gall** : Conception et suivi de projets et d'expérimentation. **C. Revellin** : Expérimentation, montage et suivi de projets sur les *rhizobia*. **N. Saby** : Modélisation et mobilisation du RMQS. **C. Rousset** : Rédaction, conception et réalisation des travaux sur le chaulage.

Déclaration d'intérêt

Les auteurs déclarent ne pas travailler, ne pas conseiller, ne pas posséder de parts, ne pas recevoir de fonds d'une organisation qui pourrait tirer profit de cet article, et ne déclarent aucune autre affiliation que celles citées en début d'article.

Remerciements

Nous remercions les membres des comités de pilotage des projets *NatAdGES* et *SOLGES* pour le temps qu'ils ont consacré au suivi de ces projets et pour les échanges riches lors des réunions de comité.

Nous remercions GISSOL pour l'accès aux données et méthodologies relatives aux sols. Nous remercions ARVALIS pour son accueil sur le site de La Jaillière.

Déclaration de soutien financier

Ce travail a été soutenu par le programme « Investissements d'Avenir », projet ISITE-BFC *NatAdGES* (contrat ANR-15-IDEX-0003 ; N° Synergie FEDER BG0025603 ; N° BPI France DOS0112927/00 ; CMI-Roullier), par l'ADEME, projet Reactif *SOLGES* (contrat 1260C0040) et par l'ex-Région Bourgogne.

Références bibliographiques

Akiyama H, Hoshino Y, Itakura M. *et al.* 2016. Mitigation of soil N₂O emission by inoculation with a mixed culture of indigenous Bradyrhizobium diazoefficiens. *Sci. Rep.* 6, 32869. <https://doi.org/10.1038/srep32869>

Bakken LR, Frostegård Å. 2020. Emerging options for mitigating N₂O emissions from food production by manipulating the soil microbiota. *COSUST.* 47, 89-94. ISSN 1877-3435. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.08.010>.

Ballabio C, Panagos P, Monatanarella L. 2016. Mapping topsoil physical properties at European scale using the LUCAS database. *Geoderma.* 261, 110-123. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.07.006>.

Bergaust L, Mao Y, Bakken L, Frostegård A. 2010. Denitrification Response Patterns during the Transition to Anoxic Respiration and Posttranscriptional Effects of Suboptimal pH on Nitrous Oxide Reductase in *Paracoccus denitrificans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 6387-96. 10.1128/AEM.00608-10.

Butterbach-Bahl K, Baggs EM, Dannenmann M, Kiese R, Zechmeister-Boltenstern S. 2013. Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls? *Philos. Trans. R. Soc.* 368, 20130122. doi: 10.1098/rstb.2013.0122.

Chrétien J, Laroche B. 2006. L'inventaire des sols de Bourgogne. *Rev. Sci. Bourgogne-Nature.* 4, 18-20.

DREAL, 2017. Evaluation de la mise en œuvre des 5èmes Programmes d'actions dans les zones vulnérables des deux ex-régions Bourgogne et Franche-Comté. réfPLACE : « DrealBFC-17-SBEP-PAR ».



- Galbally IE, Meyer M, Wang YP, Smith CJ, Weeks IA. 2010. Nitrous oxide emissions from a legume pasture and the influences of liming and urine addition. *Agric. Ecosyst. Environ.* 136, 262-272. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.10.013>.
- Hamilton SK, Kurzman AL, Arango C, Jin L, Robertson GP. 2007. Evidence for carbon sequestration by agricultural liming. *Glob. Biogeochem. Cycles* 21. doi:10.1029/2006GB002738
- Hénault C. Les étapes dans le sol des cycles biogéochimiques du carbone et de l'azote : Incidences environnementales des activités anthropiques. 2004. Habilitation à Diriger des Recherches. Ecole doctorale Buffon. Université de Bourgogne, 68 p. 55 dias.
- Hénault C, Barbier E, Hartmann A, Revellin C. 2022. New Insights into the Use of *Rhizobia* to Mitigate Soil N₂O Emissions. *Agriculture*. 12, 271. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020271>.
- Hénault C, Bourennane H, Ayzac A *et al.* 2019. Management of soil pH promotes nitrous oxide reduction and thus mitigates soil emissions of this greenhouse gas. *Sci. Rep.* 9, 20182. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56694-3>.
- Hénault C, Cellier P, Jeuffroy MH, Nicolardot B, Revellin C. 2009. Réduire les émissions par les sols du gaz à effet de serre, N₂O. COMIFER-GEMAS – 9ème rencontres de Blois – Fertilisation raisonnée et analyses de terre : quoi de neuf en 2009 ? Blois, 25-26 nov 2009. (communication orale invitée, résumé, texte intégral).
- Hénault C, Chêneby D, Heurlier, K, Garrido, F, Perez S, Germon JC. 2001. Laboratory kinetics of soil denitrification are useful to discriminate soils with potentially high levels of N₂O emission on the field scale. *Agronomie*. 21 : 713-723. <https://doi.org/10.1051/agro:2001165>.
- Hergoualc'h K, Akiyama H, Bernoux M, Chirinda N, del Prado A, Kasimir A, MacDonald JD, Ogle SM, Regina K, van der Weerden TJ. 2019. N₂O Emissions from Managed Soils, and CO₂ Emissions from Lime and Urea Application. In: Calvo Buendia E, Tanabe K, Kranjc A, Baasansuren J, Fukuda M, Ngarize S, Osako A, Pyrozhenko Y, Shermanau P and Federici S. (eds). 2019 Refinement to the 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Volume 4: Agriculture, Forestry and Other Land Use Switzerland: Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). <https://hdl.handle.net/10568/112778>
- Le Gall C, Cellier P, Hénault C. 2015. Emissions par les sols du gaz à effet de serre N₂O. In: Bernard Bourges, Jean-Sébastien Broc, Thomas Gourdon, dir., Empreinte carbone : évaluer et agir (p. 27-50). Paris, FRA : Transvalor - Presses des Mines.
- Lémond J. 2010. Le projet DRIAS : premières études et documents ; CNRM / GAME, Météo-France, CNRS ; Direction de la Climatologie. Réunion Comité Utilisateurs, le 29 juin 2010. <http://www.drias-climat.fr/ref>
- Liu B, Frostegård Å, Bakken L. 2014. Impaired reduction of N₂O to N₂ in acid soils is due to a posttranscriptional interference with the expression of *nosZ*. *mBio*. 5: e0183-14.
- Lochon I, Carrère P, Yvin JC, Houdusse-Lemenager D, Bloor JMG. 2019. Impacts of low-level liming on soil respiration and forage production in a fertilized upland grassland in Central France. *Sci. Total Environ.* 697, 134098. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134098.
- Mac Millan AS, Pal P, Phillips RC, Palmada T, Berben PH, Jha N, Saggarr S, Luo J. 2016. Can pH amendments in grazed pastures help reduce N₂O emissions from denitrification? – The effects of liming and urine addition on the completion of denitrification in fluvial and volcanic soils. *Soil Biol. Biochem.* 93, 90-104.
- Martin P, Rabenandrasana N. *et al.* 2021. RPG Explorer Crop successions France 2007-2014, 2007-2019, 2015-2019, Portail Data INRAE, V2, UNF:6:WJbvCafksh00/+PmNI2Zcg <https://doi.org/10.15454/XH84QB>.
- Obando M, Correa-Galeote D, Castellano-Hinojosa A, Gualpa J, Hidalgo A, Alché JD, Bedmar E, Cassán F. 2019. Analysis of the denitrification pathway and greenhouse gases emissions in Bradyrhizobium sp. strains used as biofertilizers in South America, *J. Appl. Microbiol.* 127, 739–749, <https://doi.org/10.1111/jam.14233>.
- Orellana LH, Rodriguez-R LM, Higgins S, Chee-Sanford JC, Sanford RA, Ritalahti KMLöffler FE, Konstantinidis KT. 2014. Detecting Nitrous Oxide Reductase (*nosZ*) Genes in Soil Metagenomes: Method Development and Implications for the Nitrogen Cycle. *mBio* 5:10.1128/mbio.01193-14.
- Pauleta SR, Carepo M, Moura I. 2019. Source and reduction of nitrous oxide. *Coordination Chemistry Reviews*, 387 : 436-449, <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.02.005>.



- Pellerin S, Bamière L, Angers D, Béline F, Benoît M, Butault JP, Chenu C, Colnenne-David C, De Cara S, Delame N, Doreau M, Dupraz P, Faverdin P, Garcia-Launay F, Hassouna M, Hénault C, Jeuffroy MH, Klumpp K, Metay A, Moran D, Recous S, Samson E, Savini I, Pardon L. 2013. Quelle contribution de l'agriculture française à la réduction des émissions de gaz à effet de serre? Potentiel d'atténuation et coût de dix actions techniques. Rapport d'étude, INRA (France), 454p.
- Rémy JC et Marin-Lafèche A. 1974: L'analyse de terre : réalisation d'un programme automatique. Annales agronomiques, 25, 607-632.
- Rousset C, Mathieu O, Brefort H, Guyerdet G, Bizouard F, Frederico Fonseca R, Jovovic I, Santoni AL, Arkoun M, Hénault C. 2023. Impact de l'apport de produits chaulant sur les émissions de CO₂ du sol : des effets contrastés observés à différentes échelles. 16èmes rencontres du Comifer-Gemas. Tours, 21-22 novembre 2023. Présentation poster + résumé.
- Rousset C, Bréfort H, Frederico Fonseca R, Guyerdet G, Bizouard F, Arkoun M, Hénault C. 2024. Surprising minimisation of CO₂ emissions from a sandy loam soil over a rye growing period achieved by liming (CaCO₃). Sci. Total Environ. 953 : 175973. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175973>.
- Rowley MC, Grand S, Verrecchia ÉP. 2018. Calcium-mediated stabilisation of soil organic carbon. Biogeochemistry 137, 27–49. doi:10.1007/s10533-017-0410-1
- Saby N, Lemerrier B, Arrouays D, Leménager S, Louis B, et al. 2014. Le programme Base de Données des Analyses de Terre (BDAT) : Bilan de 20 ans de collecte de résultats d'analyses. EGS, 2014, 21, pp.141-150. hal-01209243.
- Sameshima-Saito R, Chiba K, Hirayama J, Itakura M, Mitsui H, Eda S, Minamisawa K. 2006. Symbiotic *Bradyrhizobium japonicum* Reduces N₂O Surrounding the Soybean Root System via Nitrous Oxide Reductase. Appl. Environ. Microbiol. 72(4), 2526–2532. doi: 10.1128/AEM.72.4.2526-2532.2006.
- Shaaban M, Peng Q, Hu R, Wu Y, Lin S, Zhao J. 2015. Dolomite application to acidic soils: a promising option for mitigating N₂O emissions. Environ. Sci. Pollut. Res. 22, 19961–19970. doi:10.1007/s11356-015-5238-4
- Smith P, Bustamante H, Ahammad H, Clark H, Dong EA, et al. 2014: Agriculture, Forestry and Other Land Use (AFOLU). In: Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. et al. (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Stehfest E, Bouwman A. 2006. N₂O and NO emission from agricultural fields and soils under natural vegetation : summarizing available measurement data and modelling of global annual emissions. Nutr. Cycl. Agroecosystems. 74:207-288.
- Wang Y, Guo J, Vogt RD, Mulder J, Wang J, Zhang X. 2018. Soil pH as the chief modifier for regional nitrous oxide emissions: new evidence and implications for global estimates and mitigation. Glob. Change Biol. 24:e617-e626.
- West TO, McBride AC. 2005. The contribution of agricultural lime to carbon dioxide emissions in the United States: dissolution, transport, and net emissions. Agric. Ecosyst. Environ. 108, 145–154. doi:10.1016/j.agee.2005.01.002
- Wolij K, Degefu T, Frostegård Å. 2019. Host Range and Symbiotic Effectiveness of N₂O Reducing *Bradyrhizobium* Strains. Front. Microbiol. 10, 2746. doi: 10.3389/fmicb.2019.02746.
- Zhang HM, Liang Z, Li Y, Chen ZX, Zhang JB, Cai ZC, Elsgaard L, Cheng Y, van Groenigen KJ, Abalos D. 2022. Liming modifies greenhouse gas fluxes from soils: A meta-analysis of biological drivers. Agric. Ecosyst. Environ. 340, 108182. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108182>.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 4.0)

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue Innovations Agronomiques et son DOI, la date de publication.