



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

RAPPORT DE STAGE

Suivi de l'azote dans une hêtraie tempérée avant et après traçage isotopique $^{15}\text{N-NO}_3$ (Morvan, France)



*Parcelle de hêtre multi-marquée, Breuil,
Morvan, 2010, cliché BEF*

RAPPORT DE STAGE

Suivi de l'azote dans une hêtraie tempérée avant et après traçage isotopique $^{15}\text{N-NO}_3$ (Morvan, France)

Maître de Stage : Bernd Zeller, ingénieur de recherche, *INRA*
Laboratoire de Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers

Tuteur universitaire : Anne Poszwa, maître de conférences, *LIMOS*

Léa Bédel - Juin 2011

Ma première pensée va, cette année encore, à Anne Poszwa sans qui je n'aurais pas mis le premier pied au BEF...

Ensuite je tiens à remercier Laurent Saint André de m'avoir accueillie au sein du BEF ; Bernd Zeller pour sa disponibilité, sa patience, son optimisme, son humour et sa bonne humeur.

Merci à Gregory Van Der Heijden et Emile Boulou Bi pour leur aide tout le long de ce stage... Ils en ont eu de la patience avec moi... Merci !

Dans des moments de doute à propos du protocole, merci à Nicolas Angeli, Claude Bréchet et Christian Hossann de m'avoir donné d'autres pistes de réflexion...

Merci aux stagiaires du « bureau des stagiaires » pour l'excellente ambiance : Laure Nivet, Mathilde Cahen (entre autre pour la Katapult), Nicolas Bilot et sa fameuse tasse et Vialphe Mouyengo.

*Enfin merci à toute l'équipe pour son accueil toujours aussi chaleureux !!!
Et peut-être à bientôt...*

Table des matières

Présentation de l'organisme d'accueil	1
1. Introduction.....	2
1.1. Le cycle de l'azote sous forêt.....	2
1.1.1. Généralités.....	2
1.1.2. Les apports d'azote atmosphérique.....	2
1.1.3. Rétention par les microorganismes	3
1.1.4. Minéralisation et nitrification.....	3
1.1.5. Pertes d'azote hors de l'écosystème.....	3
1.2. Les isotopes stables : généralités - ¹⁵ N traceur de l'azote	4
1.3. Contexte de l'étude.....	4
1.4. Objectifs du stage	6
2. Matériels et méthodes	6
2.1. Site expérimental.....	6
2.1.1. Description	6
2.1.2. Traçage isotopique	7
2.2. Prélèvements d'échantillons.....	8
2.2.1. Les solutions.....	8
2.2.2. Les sols.....	8
2.3 Traitement des échantillons.....	9
2.3.1. Fumigation des échantillons de sol	9
2.3.2. Extraction de l'azote des sols	9
2.3.3. Analyses réalisées sur les solutions et les extraits.....	9
2.3.4. Calculs des flux d'azote dans l'écosystème et bilans.....	9
2.3.5. Développement d'un protocole pour l'analyse du ¹⁵ N dans les solutions.....	10
2.3.6. Analyses statistiques	12
2.3.7. Utilisation d'un modèle : étude du devenir du ¹⁵ N.....	12
3. Résultats.....	12
3.1. Synthèse des différents flux d'azote de 2002 à 2010	12
3.1.1. Evolution globale des flux de N-NO ₃	12
3.2.1. Flux de nitrates en détails.....	13
3.2.1.1. Flux de N-NO ₃ dans la pluie.....	13
3.2.1.2. Flux de N-NO ₃ dans les pluviocessivats	13
3.2.1.3. Flux de N-NO ₃ dans les solutions de sol	13
3.2.1.4. Drainage : couplage des cycles des nitrates et de l'eau.....	14
3.1.2. Bilans des flux azotés de la parcelle.....	15
3.2. Etude de l'azote de la biomasse microbienne	16
3.2.1. Dynamique annuelle comparée de N-NO ₃ et N microbien.....	16
3.2.2. ¹⁵ N de la biomasse microbienne.....	17
3.2.3. ¹⁵ N microbien : Bilan	18
3.3. ¹⁵ N de la biomasse végétale	19
3.4. ¹⁵ N-NO ₃ dans les solutions du sol	19
4. Discussion	19
5. Conclusion et perspectives.....	22
6. Références Bibliographiques	23
7. Annexes.....	26

Table des illustrations (tableaux et figures)

Tableau 1 : Effet des essences sur le cycle de l'azote	4
Tableau 2: Analyse chimique des granites à grains grossiers.....	6
Tableau 3 : Analyses physico-chimiques de la terre fine	7
Tableau 4 : Prélèvements et analyses des solutions de sol	8
Tableau 5 : Bilans de flux d'azote de l'écosystème.....	16
Figure 1 : Transformations de l'azote dans le sol (Adapté de Andrianarisoa, 2009)	3
Figure 2 : Cycle de l'azote à Breuil (Andrianarisoa, 2009).....	5
Figure 3 : Modèle conceptuel des transformations biologiques et microbiologiques de l'azote (Breuil).....	6
Figure 4 : Profil de sol de référence (Mareschal, 2008)	7
Figure 5 : Marquage isotopique.....	8
Figure 6 : Parcelle multi-marquée	8
Figure 7 : Collecte des pluviollessivats et écoulements de tronc	8
Figure 8 : Collecte des solutions de sol.....	8
Figure 9 : Montage de la résine cationique sur les manifolds de la pompe péristaltique	11
Figure 10 : Montage sur la pompe péristaltique	11
Figure 11 : Evolutions globales des teneurs en N-NO ₃ (mg.L ⁻¹) de 2002 à 2010	12
Figure 12 : Flux mensuels de N-NO ₃ dans la pluie (hors couvert)	13
Figure 13 : Flux mensuels de N-NO ₃ dans les pluviollessivats	13
Figure 14 : Flux mensuels de N-NO ₃ dans le sol à 15 cm.....	13
Figure 15 : Flux mensuels de N-NO ₃ dans le sol à 30 cm	14
Figure 16 : Flux mensuels de N-NO ₃ dans le sol à 60 cm	14
Figure 17 : Dynamiques comparées N-NO ₃ et ² H à 60 cm	14
Figure 18 : Bilan des flux de N-NO ₃ sous hêtre à Breuil	15
Figure 19 : Bilan des flux d'azote total sous hêtre à Breuil	15
Figure 20 : Teneur en N-NO ₃ en fonction de la profondeur	16
Figure 21 : Teneur en N microbien en fonction de la profondeur	16
Figure 22 : Relations [N-NO ₃] et N microbien à différentes dates.....	17
Figure 23 : ¹⁵ N total du sol (NF), du sol et de la biomasse microbienne (F).....	18
Figure 24 : Proportion de ¹⁵ N de la biomasse microbienne au cours du temps	18
Figure 25 : Pourcentage du ¹⁵ N apporté dans la biomasse végétale	19
Figure 26 : Différences des flux de N-NO ₃ dans les pluies et les pluviollessivats.....	20
Figure 27 : Différences de flux de N-NO ₃ dans les bougies poreuses à 15, 30 et 60cm	20
Figure 28 : Modélisation du devenir du ¹⁵ N microbien à Breuil d'après Dijkstra.....	21

Table des annexes

Annexe 1 : Glossaire	I
Annexe 2 : Cycle de l'azote simplifié sous forêt.....	II
Annexe 3 : Site expérimental en forêt de Breuil-Chenue, Morvan, France.....	III
Annexe 4 : Etat des connaissances sur l'azote au niveau de la parcelle de Breuil	IV
Annexe 5 : Colorimètre à flux continu segmenté (SKALAR) : principe et photographie	V
Annexe 6 : Analyseur TOC/TON de Shimadzu : photographie	VI
Annexe 7 : Spectromètre de masse isotopique (EA-IRMS) : principe et photographie	VII
Annexe 8 : Protocole d'extraction de N-NO ₃ et N-NH ₄ des solutions	VIII
Annexe 9 : Tests de Mann-Kendall sur l'évolution des concentrations en nitrates dans les solutions.....	IX
Annexe 10 : Tableau de données : concentrations et flux de N-NO ₃ et N-NH ₄	XI
Annexe 11 : Statistiques sur la biomasse microbienne.....	XVII
Annexe 12 : Statistiques associées au ¹⁵ N microbien	XIX

Présentation de l'organisme d'accueil



- *L'INRA [Institut National de recherche agronomique] au niveau national :*

Premier institut de recherche agronomique en Europe, deuxième dans le monde, l'INRA mène des recherches orientées vers une alimentation saine et de qualité, vers une agriculture compétitive et durable et pour un environnement préservé. L'INRA est un organisme de recherche scientifique publique, placé sous la double tutelle du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche et du ministère de l'Agriculture et de la Pêche.

Les recherches sont guidées par l'évolution des problématiques scientifiques et orientées par les défis planétaires posés par l'alimentation, l'environnement ou encore la valorisation des territoires, que l'agriculture et l'agronomie ont à relever. Changement climatique, nutrition humaine, compétition entre cultures alimentaires et non alimentaires, épuisement des ressources fossiles, équilibre dans la gestion des territoires sont autant d'enjeux qui positionnent l'agronomie comme fondatrice d'un développement harmonieux sur les plans économique, social et environnemental. L'INRA produit des connaissances fondamentales et construit grâce à elles des innovations et des savoir-faire pour la société (Mission de communication, 2005).

- *Centre INRA de Nancy :*

L'INRA s'est implanté en Lorraine en 1961 sur un terrain historiquement marqué par la recherche forestière, la recherche agronomique et laitière ainsi que la recherche en microbiologie. Aujourd'hui, les activités du Centre de Nancy (sous la direction d'Erwin Dreyer) sont organisées principalement autour de trois thématiques :

- Forêts : écologie fonctionnelle, environnement et produits,
- Transferts, sécurité et qualité dans la chaîne alimentaire,
- Agriculture économe et autonome pour le développement durable des territoires.

Les enjeux environnementaux, forestiers, agricoles, alimentaires et énergétiques sont de plus en plus importants. Les champs de compétence développés, seront sollicités de manière croissante dans l'avenir, pour préserver la biodiversité, développer de nouvelles biotechnologies, contribuer à la production d'énergie, garantir l'accès à une eau et à une alimentation de qualité (Lapeyrie, 2005).

- *L'unité BEF [Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers] :*

L'Unité BEF (sous la direction de Laurent Saint-André), fait partie du Département Ecologie des Forêts, Prairies et milieux Aquatiques [EFPA] de l'INRA Nancy. L'Unité BEF étudie les cycles biogéochimiques et le fonctionnement des sols dans les écosystèmes forestiers tempérés et tropicaux, naturels et plantés. Ses objectifs scientifiques sont les suivants :

- Améliorer la connaissance des processus biogéochimiques en forêt ;
- Formaliser les connaissances forestières dans leurs aspects qualitatifs (identification des processus) et quantitatifs (modèles décrivant le fonctionnement biogéochimique des écosystèmes et de bilans de fertilité) ;
- Appréhender et prévoir les modifications des sols et des eaux au cours du développement des peuplements et sous l'influence de changements volontaires ou subis : modifications d'usage des sols, de la pollution atmosphérique, de la sylviculture et changements climatiques ;
- Identifier l'impact des espèces forestières sur la qualité des sols et leur biodiversité fonctionnelle.

L'Unité BEF collabore étroitement avec d'autres Unités de l'INRA de Nancy (EEF [Ecologie et Ecophysiologie Forestières], IAM [Interactions Arbres-Microorganismes],...), différents laboratoires de recherche rassemblés au sein du GIS [Groupement d'Intérêt Scientifique] FABELOR de la FR-EST [Fédération de Recherche Eau-Sol-Terre]. L'unité gère quatre sites ateliers pour l'étude des écosystèmes forestiers [Fougères, Breuil, sites tassement, Montiers] et elle est impliquée dans la Zone Atelier Moselle [ZAM]. De plus, depuis 1998, une collaboration existe entre l'unité BEF et le CIRAD Montpellier [Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement].

1. Introduction

Dans un contexte de changement climatique, les politiques « forestières » du gouvernement (axées autour d'une gestion durable et du développement de la valorisation de la biomasse forestière – ministère de l'agriculture) imposent à court terme de récolter plus de bois dans les forêts françaises pour satisfaire les besoins énergétiques. Pour connaître la durabilité d'un prélèvement accru de biomasse, il est nécessaire d'évaluer le potentiel énergétique des ressources en place, compte tenu de différents types de peuplements et de différents scénarios d'exploitation, tout en s'intéressant également aux impacts environnementaux, en particulier sur la fertilité des sols. Celle-ci est évaluée en partie par l'étude des cycles biogéochimiques des éléments nutritifs (calcium, magnésium, potassium et phosphore) et de l'azote. Les scénarios actuels d'intensification de la sylviculture, notamment des rotations plus courtes et la récolte des rémanents (branches fines et feuilles), entraîneraient une diminution inévitable des éléments nutritifs (Puech 2009) disponibles dans les sols d'autant plus rapide sur des sols pauvres.

Cette étude détaille les flux de nitrates dans une hêtraie tempérée et l'importance de compartiments comme la biomasse végétale dans le cycle de l'azote

1.1. Le cycle de l'azote sous forêt

1.1.1. Généralités

Un écosystème forestier est un écosystème à faibles intrants, la minéralisation de la matière organique y est le processus principal permettant la production d'azote minéral [NH_4^+ et NO_3^-]. Le cycle de l'azote dépend ensuite du recyclage des éléments par les chutes de litières. L'azote peut ainsi devenir limitant pour la croissance des arbres. Ce cycle représente les différents états de l'azote et les passages entre ses différentes formes dans un écosystème. L'azote peut se trouver soit sous forme gazeuse [N_2 , NH_3 ou N_2O], soit sous forme organique [protéines, peptides, acides aminés, acides nucléiques], soit sous forme minérale [ammonium NH_4^+ , nitrate NO_3^-]. Contrairement à d'autres nutriments, l'azote minéral dans le sol ne provient pas de l'altération de la roche mère mais de la minéralisation de la matière organique, des apports atmosphériques. Ce cycle est complexe sous forêt car il implique des processus étroitement liés entre l'absorption par les plantes et le turn-over microbien de métabolites de l'azote (Dannenmann *et al.*, 2009).

Cependant, une trop forte entrée d'azote peut déséquilibrer la nutrition des peuplements (Schulze, 1989) et peut contribuer à l'acidification des sols et des cours d'eau (Bonneau *et al.*, 1992) en apportant directement des acides forts nitriques ou lors de la transformation des formes de l'azote dans le sol. L'acidification résulte d'un bilan excédentaire de protons. Il existe différentes sources de protons à l'écosystème, dont certaines réactions du cycle de l'azote (Nedeltsheva, 2005) ; en effet, la nitrification est une réaction d'oxydation qui libère des protons selon la réaction : $\text{NH}_4^+ + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$. Cet apport de protons contribue à l'acidification des sols et des cours d'eau qui est d'autant plus élevée que les anions NO_3^- produits sont lixiviés hors du système sol-plante. En effet, s'ils sont absorbés, la racine en intégrant cet anion en libère un autre, souvent OH^- , selon l'équilibre des charges (ce qui tamponne à moitié l'effet acidifiant des ions H^+ formés lors de la nitrification). Néanmoins, les nitrates sont très mobiles et peuvent être facilement et se retrouver dans la nappe phréatique et dans les cours d'eau. Ainsi, la nitrification contribuera à l'acidification des milieux sol et eau. Pour garder l'équilibre électrique de la solution, une lixiviation simultanée de nitrates et de cations a lieu alors.

1.1.2. Les apports d'azote atmosphérique

En France, les dépôts d'azote sont très variables selon les régions, de l'ordre de 5 à 40 $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$ (Jussy, 1998). Les dépôts sont, par exemple, modérés dans le massif vosgien [$13 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$], alors qu'ils sont très élevés dans les Ardennes [$40 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$] (Jussy, 1998). Toutefois, des données plus récentes (Ranger *et al.*, 2004 ; Richter *et al.*, 2005 ; De Vries *et al.*, 2006) montrent une diminution de ces dépôts, particulièrement en Europe de l'ouest (et notamment dans les Ardennes, suite à la déprise industrielle dans cette région). Ces apports atmosphériques constituent cependant une grande part des apports d'azote à l'écosystème et constituent une vraie fertilisation azotée actuellement (Office National des Forêts. Direction technique et commerciale bois, 2008). La concentration en azote dans les pluies est très liée à la teneur en polluants azotés dans l'atmosphère (Bonneau *et al.*, 1992 ; Winchester *et al.*, 1995 ; Wang *et al.*, 2007).

Une fraction de cet azote peut être directement assimilée par les feuilles via les stomates. Suite à cette absorption foliaire, l'arbre va libérer par ses stomates, des anions ou des cations pour conserver

l'équilibre de charges électriques de la cellule : c'est la récrétion. La pluie, passant à travers le couvert, peut lixivier une partie des molécules déposées ou récrétées à la surface des feuilles, renforçant ainsi le pool d'azote minéral du sol. La forme minérale d'azote (NH_4^+ ou NO_3^-) absorbée ou récrétée au niveau des feuilles dépend du site ainsi que de l'espèce (résineuse ou feuillue).

1.1.3. Rétention par les microorganismes

Les microorganismes du sol, dans un écosystème forestier, peuvent absorber plusieurs centaines de Kg N/ha/an, ils jouent donc un rôle primordial dans la rétention de l'azote (Kaiser *et al.*, 2011). Les microorganismes immobilisent l'azote ce qui le rend moins disponible pour l'arbre (Tateno and Takeda, 2010). La phase d'immobilisation (niveaux élevés d'azote dans la biomasse microbienne et une faible disponibilité de l'azote dans le sol) observée durant l'hiver peut jouer un rôle crucial dans le fonctionnement de l'écosystème. En effet, elle protègerait l'azote dissout, qui est produit lors de la dégradation des litières à l'automne, pour ne pas que l'écosystème le perde au moment où les arbres sont pour la plupart inactifs (Kaiser *et al.*, 2011).

1.1.4. Minéralisation et nitrification

Par définition la minéralisation de l'azote (Figure 1) est la conversion biologique de l'azote minéral réduit (NH_4^+ ou NH_3) en azote minéral oxydé sous forme NO_2^- ou NO_3^- . L'ammonification est la conversion de l'azote organique en NH_4^+ et la nitrification est la conversion des NH_4^+ en NO_3^- et l'immobilisation par les microorganismes. Le terme « taux de minéralisation » de l'azote inclut au moins deux définitions différentes. L'une concerne le potentiel net de minéralisation de l'azote qui est le taux d'accumulation de NH_4^+ et de NO_3^- qui correspond à la différence entre le taux de conversion et de consommation de l'azote organique en $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ et en NO_3^- . L'autre concerne le taux brut de minéralisation qui est le taux réel de conversion de l'azote organique en $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$. C'est la somme du taux d'accumulation et de consommation de NH_4^+ . La détermination du taux brut de minéralisation nécessite l'utilisation des isotopes de l'azote pour séparer simultanément production et consommation (Andrianarisoa, 2009).

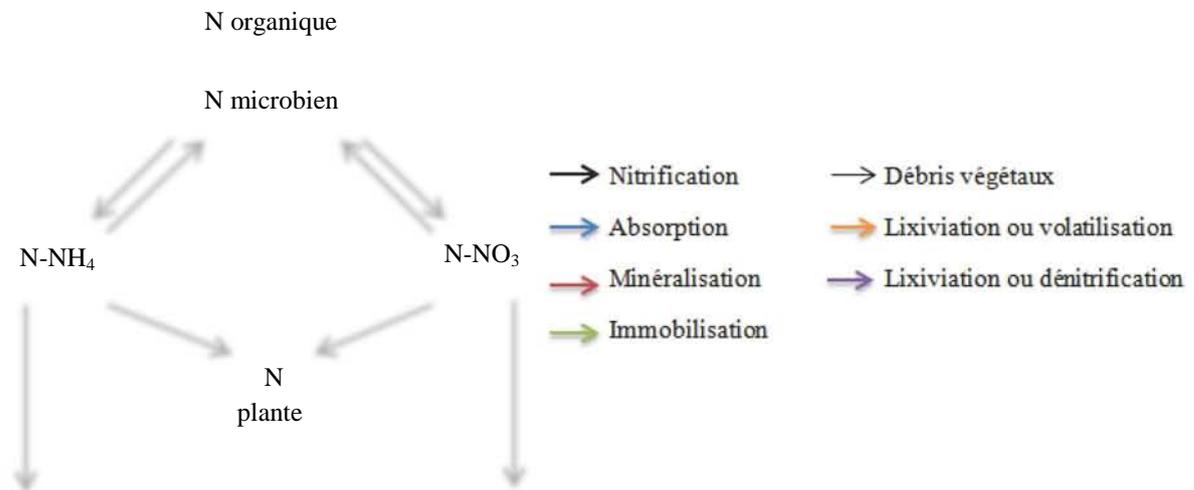


Figure 1 : Transformation de l'azote dans le sol (adapté de Andrianarisoa, 2009)

1.1.5. Pertes d'azote hors de l'écosystème

Les pertes d'azote par drainage se font surtout sous forme de nitrates (Jussy *et al.*, 2000) qui est plus mobile que l'ammonium (Binkley et Hart, 1998). Les pertes par drainage sont fonction des apports atmosphériques, du ratio C/N de l'humus (Gundersen et al., 1998), des besoins en azote des végétaux, de l'intensité de la minéralisation, de la nitrification et de l'immobilisation microbienne (Jussy et al., 2000).

L'azote peut aussi être perdu par dénitrification : ce processus correspond à la réduction des nitrates en gaz N_2O ou/et N_2 par les bactéries. Il est principalement réalisé en conditions anoxiques, lorsque les bactéries utilisent le nitrate comme accepteur final d'électron pour la respiration cellulaire.

Les pertes d'azote peuvent être dues au prélèvement par les arbres et à la récolte des litières ou du bois. Cette dernière empêchant le retour des éléments contenus dans les feuilles au sol.

1.2. Les isotopes stables : généralités - ¹⁵N traceur de l'azote

Certains éléments chimiques existent à l'état naturel sous différentes formes que l'on appelle «isotopes». Par opposition aux isotopes radioactifs dont les proportions varient avec le temps, les isotopes présents dans une proportion constante et connue à l'état naturel sont appelés «isotopes stables». C'est le cas par exemple pour l'hydrogène qui possède deux isotopes stables (¹H, et ²H), ou pour l'azote (¹⁴N, ¹⁵N). Les propriétés chimiques de ces isotopes sont identiques mais ils diffèrent par leurs propriétés physiques et en particulier par leurs masses (numéro atomique différent).

Les isotopes stables (non radioactifs) sont couramment utilisés pour l'étude de l'origine des éléments nutritifs (contribution de deux sources différenciées par leur composition isotopique à un mélange) et de processus biogéochimiques (via les fractionnements isotopiques qu'ils occasionnent : de par leur différence de masse, les isotopes d'un même élément chimique vont réagir différemment au cours des transformations qu'ils peuvent être amenés à subir dans leur milieu) dans le milieu naturel (Dambrine, Support de présentation orale ; Poszwa, Cours M2). L'apport en excès d'un isotope (« marqué ») en faible abondance naturellement peut permettre de suivre différents flux dans un écosystème (apport d'isotopes stables, comme le ¹⁵N, ¹⁸O, ²H, ...).

Le ¹⁵N est un traceur de la dynamique de l'azote dans les écosystèmes. Après l'apport de cet azote « marqué », celui-ci va être immobilisé dans différents compartiments de l'écosystème (comme l'arbre ou la biomasse microbienne), ces compartiments auront une signature isotopique comprise entre la signature naturelle et celle de l'azote apporté en fonction des proportions du mélange. Ainsi le ¹⁵N est un traceur de la mobilité de l'azote dans l'écosystème. Il permet par exemple de suivre la vitesse d'absorption foliaire d'azote par ajout de ¹⁵N sur les feuilles (Zeller *et al.*, 1997) ou la vitesse de circulation de l'azote des litières en dégradation vers les racines et les feuilles (Zeller *et al.*, 1999). Il permet aussi de suivre l'azote immobilisé dans la biomasse microbienne ; en effet l'enrichissement en ¹⁵N de la biomasse microbienne augmente fortement la première année après le dépôt de litières marquées et tend à se stabiliser par la suite (Zeller *et al.*, 1999).

1.3. Contexte de l'étude

L'étude porte sur un site expérimental en forêt de Breuil-Chenu où la forêt native était un taillis sous futaie (TSF), autrefois exploité intensivement pour le bois de chauffage de la région parisienne.

En 1976, cette parcelle a été déboisée et replantée suivant un dispositif en blocs. Sur chaque bloc est plantée une essence forestière (Chêne, Pin, Epicéa, Douglas, Hêtre et Sapin – Annexe 3) afin de tester l'effet des essences sur les caractéristiques du sol et les cycles du carbone, de l'azote et des éléments nutritifs.

Des études antérieures sur le cycle de l'azote ont été réalisées sous les six essences et sous le TSF (Tableau 1 - Les valeurs chiffrées sont présentées en Annexe 4).

	TSF	Hêtre	Chêne	Epicéa	Pin	Sapin	Douglas	Source
Type humus	Moder	Mull	N.D.	Moder	Mull	Moder	Mull	Andrianarisoa, 2009
Minéralisation nette	--	++	-	+/-	+	N.D.	+/-	Andreux et al., 2004
Minéralisation brute	--	-	++	+	+/-	N.D.	++	Andreux et al., 2004
Nitrification nette	--	++	+/-	--	+	N.D.	-	Andreux et al., 2004
Nitrification brute	--	+/-	+	+	++	N.D.	++	Andreux et al., 2004
Srock N dans sol	+	++	N.D.	-	+	+	-	Andrianarisoa, 2009
N microbien immobilisé	-	+	N.D.	++	-	N.D.	++	Andrianarisoa, 2009
Nitrification humus/ Ah	N.D.	-	++	--	N.D.	N.D.	+	Trum et al., 2011
Stimulation nitrification	-	+/-	N.D.	+/-	+	-	++	Andrianarisoa, 2009
Inhibition nitrification	+	-	N.D.	+/-	-	+/-	-	Andrianarisoa, 2009
Biomasse racinaire	++	+/-	N.D.	+	-	+	+	Andrianarisoa, 2009
Prélèvement nitrate	N.D.	-	-	+/-	+	+/-	+/-	Sigenfuhr H., 2009
Prélèvement ammonium	N.D.	-	-	++	++	+/-	+	Sigenfuhr H., 2009
Retour N par les litières	++	+/-	N.D.	+	-	-	+	Andrianarisoa, 2009
Nitrate lessivé à 30cm	--	-	N.D.	+/-	++	-	++	Andrianarisoa, 2009
Bilan pertes N	--	-	N.D.	+/-	++	-	++	Andrianarisoa, 2009

Tableau 1 : Effet des essences sur le cycle de l'azote –
(N.D. : non déterminé ; ++ : très fort, + : fort ; +/- modéré ; - : faible et -- : très faible)

Ces études ont montré l'effet des essences sur certains processus comme la nitrification, la minéralisation, et le drainage de nitrates en profondeur. La comparaison du cycle de N sur des peuplements âgés de 30 ans montre que la nitrification est forte sous peuplement de hêtre, pin et douglas (humus de type Mull pour ces trois essences), intermédiaire sous chêne et faible sous sapin de Nordmann et épicéa (Humus de type Moder - Zeller *et al.*, 2007 ; Andrianarisoa, 2009).

Dans les sols des peuplements où la nitrification est élevée, l'accumulation de litière est plus faible, l'humus est de type mull alors que dans les sols des peuplements où la nitrification est faible, la litière tend à s'accumuler et l'humus est de type moder. Andrianarisoa (2009) a interchangé la couche d'humus entre un peuplement où la nitrification est faible (TSF) et un peuplement où la nitrification est forte (Douglas). La conclusion est que l'humus seul ne suffit pas à contrôler la nitrification : la nitrification augmente très peu en remplaçant l'humus de Douglas par celui du TSF, par contre la nitrification augmente fortement en remplaçant l'humus du TSF par un humus de Douglas ou en enlevant l'humus. Trum (2004) sur le site de Breuil a montré que sous le Douglas, la forte nitrification est observée dès la couche Olv (litière vieille).

La minéralisation est forte sous hêtre (minéralisation nette = minéralisation brute - prélèvements végétal et microbien) et douglas (minéralisation brute : principalement due à la dégradation biologique). Cependant le stock d'azote du sol n'est pas pour autant important sous les trois peuplements où la nitrification est élevée ; il est important sous hêtre, intermédiaire sous pin et faible sous douglas. Ces constats sont appuyés par les valeurs de drainage des nitrates en profondeur ; les pertes à 30 cm sont faibles sous hêtre ce qui explique le fort stock d'azote présent dans le sol et il est fort sous pin et douglas. Sous ces deux dernières essences, l'azote ne reste pas dans le sol il est perdu par lixiviation des nitrates. Malgré une nitrification et une minéralisation forte sous hêtre, les nitrates ne se retrouvent pas dans les eaux de drainage contrairement au peuplement de douglas (Figure 2).

De plus, sur des peuplements âgés de quatre ans, sur un site voisin, la nitrification est forte sous peuplement de hêtre et douglas, intermédiaire sous pin et faible sous sapin, épicéa et chêne ; l'effet des essences se met très rapidement en place (Bédél, 2010).

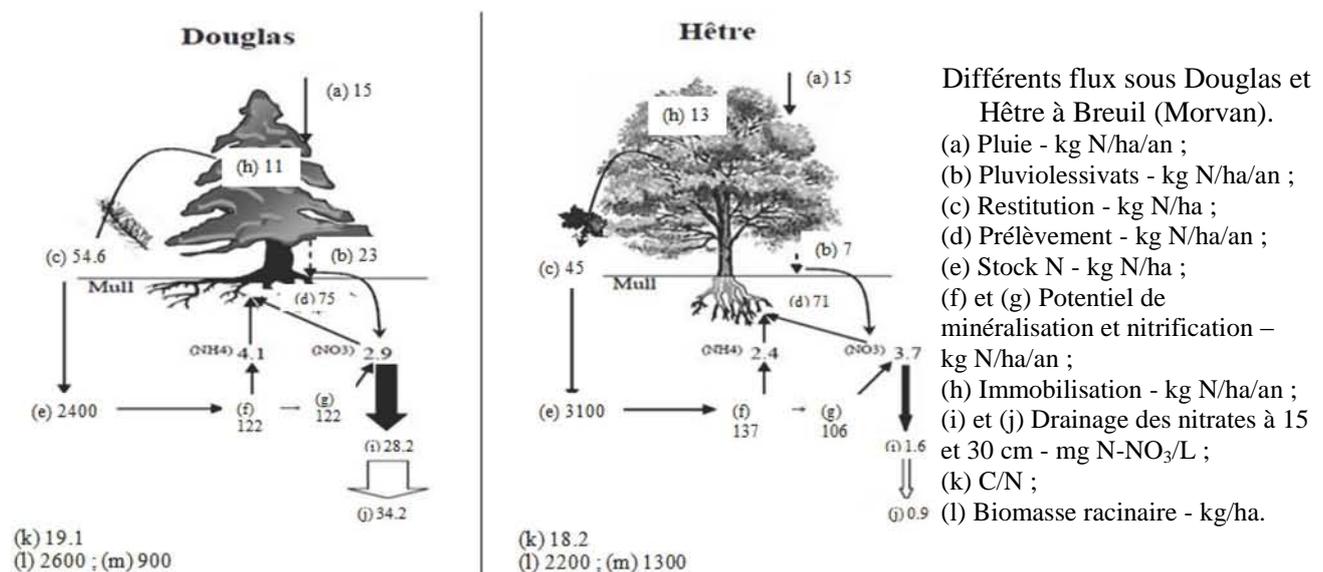


Figure 2 : Cycle de l'azote sous douglas et hêtre à Breuil (Flux moyens sur plusieurs années - Andrianarisoa, 2009)

L'effet du hêtre sur le cycle de l'azote soulève plusieurs interrogations sur le devenir des nitrates. Pour étudier ces questions, une expérience de traçage isotopique a été réalisée en avril 2010.

L'hypothèse la plus plausible pour expliquer la diminution du nitrate en profondeur et la faible lixiviation de ceux-ci sur un sol qui nitrifie et minéralise beaucoup supposerait une transformation en azote organique (réduction des nitrates) par immobilisation microbienne importante et/ou une transformation du nitrate en ammonium (avec l'activité DNRA : Dissimilatory nitrate reduction to ammonium - Figure 3).

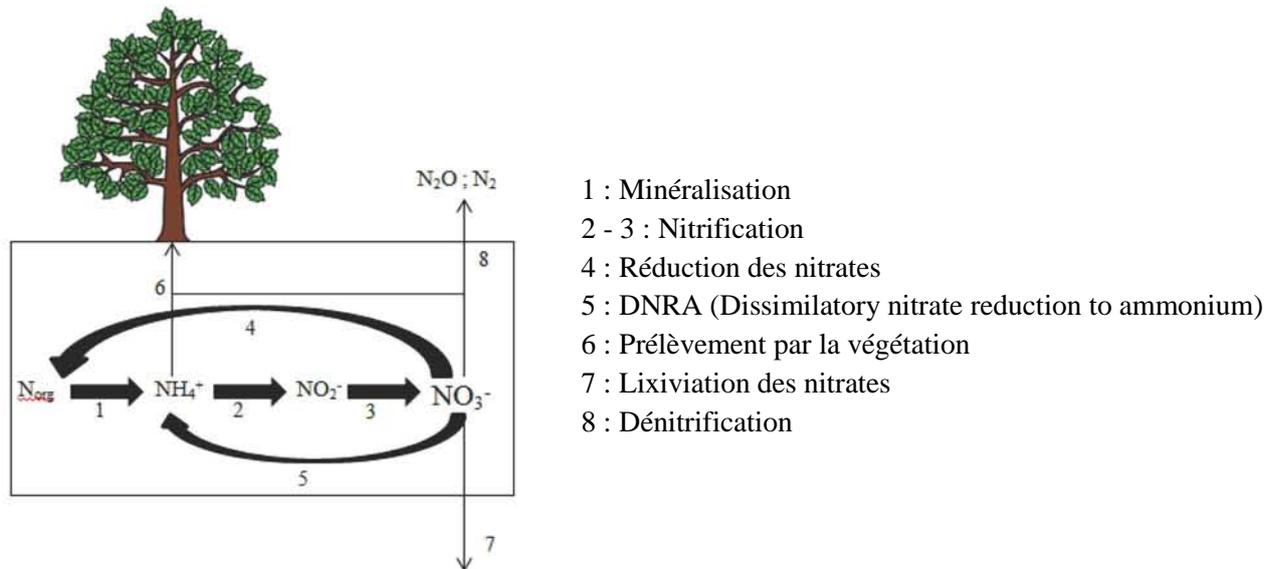


Figure 3 : Modèle conceptuel de transformations biologiques et microbiologiques de l'azote, sous hêtre, à Breuil

1.4. Objectifs du stage

Le premier objectif du stage était l'étude la base de données « azote » disponible sur la parcelle de hêtre en forêt de Breuil-Chenu (peuplement de 30 ans), afin de comprendre la dynamique de l'azote dans cet écosystème. Cette étude permet d'observer, via l'étude des différents flux sur 10 ans et leurs variations intra et interannuelles, si le bilan global de l'écosystème est excédentaire ou déficitaire en azote. Cette étude sert à confirmer ou non les données antérieures et permet de déterminer si l'azote peut être un moteur de l'acidification de cet écosystème

Toujours dans le but de comprendre la dynamique actuelle de l'azote (surtout des nitrates) sur cette même parcelle, un traçage isotopique a été réalisé en avril 2010. Cette partie avait donc pour but d'estimer le devenir de l'azote dans cette hêtraie. La forte minéralisation et les faibles pertes en nitrates sur cette parcelle suggèrent une forte rétention de l'azote (des nitrates) dans l'écosystème empêchant ainsi le transfert vertical. Afin de comprendre ce cycle des nitrates, le ^{15}N (apporté sous forme de $^{15}\text{NO}_3$) a été suivi dans la biomasse microbienne, pour déterminer son rôle dans le cycle de l'azote ; dans la biomasse végétale, pour suivre l'immobilisation par l'arbre et dans les solutions de sol afin de quantifier l'azote présent dans les solutions de sol pour évaluer le ^{15}N perdu par drainage. Cette étude sert donc à quantifier les nitrates immobilisés dans ces différents compartiments et permet une meilleure compréhension du cycle des nitrates en expliquant notamment les raisons de leur faible drainage.

2. Matériels et méthodes

2.1. Site expérimental

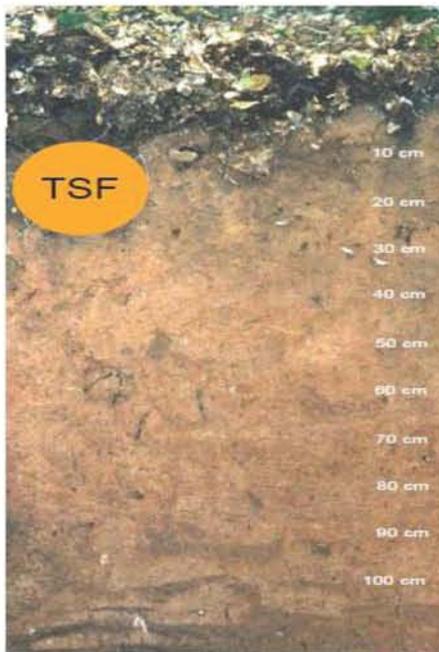
2.1.1. Description

Le site expérimental de Breuil se situe à 100km à l'Ouest de Dijon (coordonnées lat. $47^\circ 18'10''$, Long. $4^\circ 4'44''$ - Annexe 3), dans le Morvan à une altitude est de 650m. La pluviométrie annuelle moyenne est de 1280mm à dominance hivernale et la température annuelle moyenne est de 9°C . Le substratum géologique est un granite leucocrate à gros grains et à deux micas ; cette roche est acide et contient plus de 75% de silice (Tableau 2).

	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	TiO ₂	P ₂ O ₅	PF	Total
%	76,07	13,55	1,26	0,05	0,13	0,31	3,51	4,46	0,07	0,08	100,2

Tableau 2: Analyse chimique du granite à grains grossiers (Adapté de Mareschal, 2008)

Le sol est un sol brun acide ($4 < \text{pH} < 4.5$), désaturé (S/T < 10% - Tableau 3) de type alocrisol (Référentiel Pédologique - Baize, D., Girard, M.C., 1998) avec une dégradation podzolique en surface. La texture est sablo-limoneuse en surface et plus argileuse en profondeur (Figure 4).



+10/0 cm : Humus : dysmoder, Oh >2cm.

0-5cm : A1/E – Hz noir 7.5YR2.5/2, organique, texture LS, structure particulière, quartz lavés, meuble, poreux, riche en racines fines à moyennes.

5-8cm : A1-A1/Bp – Hz marron 7.5YR2.5/3, texture L, structure massive, porosité forte, meuble, riche en racines, limite diffuse.

8-35cm : Sal 1 – Hz marron 7.5YR4/4, texture LS, structure polyédrique sub-angulaire fine, homogène, meuble, poreux, nombreuses racines fines à moyennes, limite diffuse.

35-75cm : Sal 2 – Hz brun 7.5YR4/6, texture LSA, structure polyédrique bien exprimée, homogène, poreux, racines de toutes tailles, piérisosité aléatoire, limite diffuse.

75-95cm : B/C – Hz brun 7.5YR4/6, texture ALS, structure polyédrique sub-angulaire à angulaire stable, homogène, porosité moyenne, peu de racines, piérisosité moyenne, limite nette.

95-140cm : C – Hz brun-jaunâtre 7.5YR4/6, texture S, structure polyédrique sub-angulaire à angulaire, porosité moyenne, peu de racines, présence de blocs de granite altérés, limite progressive.

Figure 4 : Profil de sol de référence (Adapté de Mareschal, 2008)

Dans le peuplement d'origine (TSF : taillis sous futaie) l'humus est de type moder et dans les plantations il est plus hétérogène et varie entre un dysmull et un moder (Tableau 1).

niveaux	cations adsorbés (cmolc kg ⁻¹), CEC et pH														cations 'basiques' / saturation				stock d'éléments échangeables de la terre fine (kg/ha ⁻¹)					
	Fe	Mn	K	Na	Ca	Mg	Al	H	Al (titré)	Acidité	S	T	S/T	pH (eau)	pH (KCl)	K/S (%)	Na/S (%)	Ca/S (%)	Mg/S (%)	K	Fe	Mg	Ca	Na
0-5	0.66	0.04	0.39	0.03	0.15	0.27	7.26	1.13	6.37	7.49	1.5	9	0.2	3.8	3.1	25.5	2.0	9.8	17.6	37.4	30.0	8.0	7.4	1.7
05-10	0.22	0.04	0.21	0.01	0.05	0.12	6.72	0.4	5.94	6.34	0.7	7	0.1	4.2	3.74	32.3	1.5	7.7	18.5	30.0	14.9	5.3	3.7	0.8
10-15	0.04	0.03	0.12	0.01	0.02	0.06	4.82	0.14	4.21	4.35	0.3	4.6	0.1	4.6	4.16	41.4	3.4	6.9	20.7	37.5	5.9	5.8	3.2	1.8
15-25	0.02	0.05	0.09	0.01	0.01	0.03	3.34	0.08	3.06	3.14	0.2	3.4	0.1	4.6	4.27	42.9	4.8	4.8	14.3	37.7	4.0	3.9	2.1	2.5
25-40	0.01	0.06	0.08	0	0	0.02	2.52	0.08	2.41	2.5	0.2	2.7	0.1	4.5	4.26	44.4	0.0	0.0	11.1	45.0	2.7	3.5	0.0	0.0
40-55	0.02	0.08	0.08	0.00	0.01	0.02	2.62	0.07	2.38	2.46	0.2	2.7	0.1	4.5	4.26	38.1	0.0	4.8	9.5	31.9	3.8	2.5	2.0	0.0
55-70	0.01	0.11	0.08	0.01	0.01	0.02	2.46	0.02	2.45	2.47	0.2	2.7	0.1	4.5	4.26	34.8	4.3	4.3	8.7	60.1	3.6	4.7	3.8	4.4
75-100	0.01	0.04	0.07	0.02	0	0.01	4.17	0.04	3.72	3.76	0.2	3.9	0	4.7	4.23	46.7	13.3	0.0	6.7	77.3	5.2	3.4	0.0	13.0
100-140	0.01	0.02	0.1	0.03	0.01	0.08	5.36	0.15	5.03	5.18	0.3	5.4	0.1	5.0	4.09	40.0	12.0	4.0	32.0	209.6	9.9	52.1	10.7	37.0

Tableau 3 : Analyses physico-chimiques de la terre fine (Mareschal, 2008)

La placette de hêtre a été équipée en 2001 avec des fluateaux lysimétriques à 0 et 10cm de profondeur (3 répétitions), de bougies poreuses à 15, 30 et 60cm de profondeur (5 répétitions), de gouttières en PVC de 2m de long pour collecter les pluviollessivats (4 répétitions) et de colliers pour collecter les écoulements de troncs. Le site est équipé d'une station d'acquisition des données météorologiques, l'eau de pluie hors-couvert est collectée par deux pluviomètres : pluviomètre sur une antenne au-dessus du couvert et pluviomètre dans une clairière à 500m du site. Les solutions sont collectées et analysées tous les 28 jours depuis 2001.

2.1.2. Traçage isotopique

Les données analysées dans cette étude sont celles venant de la parcelle de hêtre sur une période de 2002 à 2010. Cette parcelle a été choisie pour être marquée (le 07 avril 2010, Figure 5) avec différents isotopes stables (^{15}N , ^{44}Ca , ^{26}Mg , ^2H) et permet un couplage des cycles de l'azote (cycle des nitrates), de l'eau (^2H utilisé comme traceur de l'eau) et des éléments nutritifs dans l'écosystème pour suivre la répartition des traceurs dans le sol et la plante, dresser des bilans, optimiser et développer des modèles. La mise en filet de la parcelle permet la collecte des chutes de litières (Figure 6). L'azote est apporté sous forme $^{15}\text{N-NO}_3$, appliqué à 100mg/m².



Figure 5 : Marquage isotopique



Figure 6 : Parcelle multi-marquée

2.2. Prélèvements d'échantillons

2.2.1. Les solutions

Les écoulements de troncs et pluviollessivats sont collectés dans des bidons situés dans une fosse (Figure 7) ; les solutions de sol (eaux extraites par les bougies poreuses – Figure 8) sont collectées dans des bouteilles en verre. Les campagnes de prélèvement d'échantillons ont lieu environ tous les 28 jours (prélèvements plus fréquents juste après le marquage) et servent à plusieurs analyses dont les analyses de l'azote (N-NH_4 , N-NO_3 , TOC : carbone total et TON : azote total, ^{15}N - Tableau 4).



Figure 7 : Collecte des pluviollessivats et des écoulements de tronc



Figure 8 : Collecte des solutions du sol

Dates de prélèvements	Analyses effectuées sur les solutions de sol					
	N-NO ₃	N-NH ₄	TOC	TON	¹⁵ N	² H
07/04/2010						X
08/04/2010						X
09/04/2010	X	X				X
10/04/2010						X
13/04/2010	X	X				X
14/04/2010	X	X				X
20/04/2010	X	X	X	X		X
04/05/2010	X	X	X	X	X	X
18/05/2010	X	X	X	X	X	X
15/06/2010	X	X	X	X	X	X
15/07/2010	X	X	X	X	X	X
10/08/2010	X	X	X	X		X
08/09/2010	X	X	X	X		X
04/10/2010	X	X	X	X		X
04/11/2010	X	X	X	X	X	X
07/12/2010	X	X	X	X		X
03/01/2011	X	X	X	X	X	X
25/01/2011	X	X	X	X		X
22/02/2011	X	X	X	X		X
22/03/2011	X	X	X	X		X
19/04/2011	X	X	X	X	X	X
16/05/2011	X	X	X	X		X

Tableau 4 : Prélèvements et analyses des solutions de sol (Les analyses en rouges sont issues du protocole développé durant le stage)

2.2.2. Les sols

Depuis les marquages, des carottes de sol sont prélevées à la tarière cylindrique aux mêmes dates (huit carottes par date) pour des analyses d'éléments du sol comme l'azote. Les carottes sont découpées pour analyser chaque profondeur de sol indépendamment (tous les 2.5 cm jusqu'à 10 cm et ensuite tous les 5 cm jusqu'à 45 cm pour les prélèvements les plus profonds) ce qui permet une résolution verticale intéressante.

Du 8 avril au 15 juin les prélèvements étaient réalisés sur 15 cm ; de 15 juillet au 4 novembre sur 30 cm et depuis le 22 mars ils sont réalisés sur 45 cm. L'approfondissement progressif des prélèvements est réalisé dans le but de suivre le traceur de plus en plus profondément.

2.3 Traitement des échantillons

2.3.1. Fumigation des échantillons de sol

Une partie des échantillons de sol prélevés subissent une fumigation qui permet de libérer le contenu des microorganismes, notamment de l'azote et du carbone, afin de connaître les quantités d'azote et de carbone immobilisées.

Pour déterminer la biomasse microbienne, 20 g de sol sont placés dans des cristallisoirs en verre, puis placés dans un dessiccateur contenant du chloroforme. La fumigation se réalise sous vide, à l'obscurité sur une durée de 24h). Après la fumigation, une étape d'extraction est nécessaire pour récupérer l'azote et le carbone.

2.3.2. Extraction de l'azote des sols

L'azote des échantillons de sol (fumigés et témoins : non fumigés) est extrait par agitation de 20g de sol dans 100ml de K_2SO_4 à 0.05M pendant 1h. Ensuite les extraits sont filtrés à $2\mu\text{m}$ (filtres sans cendres) et serviront à différentes analyses.

2.3.3. Analyses réalisées sur les solutions et les extraits

Les teneurs en nitrate et en ammonium des solutions collectées (pluie, pluviollessivats et solutions de sol) et des extraits de sol non fumigés ont été mesurées à l'aide d'un spectromètre d'absorption moléculaire (San ⁺⁺ de SKALAR - cf. Annexe 5).

Pour déterminer l'azote et le carbone total, les solutions et les extraits ont été analysés avec un TOC-VCSN / TNM-1 de Shimadzu (Annexe 6). Les extraits analysés sont de deux types, les extraits de sol témoin et de sol fumigés. La biomasse microbienne est déterminée sur sol tamisé, par différence entre la concentration en azote et en carbone des échantillons fumigés et des témoins non fumigés.

$$\text{N(C)}_{\text{microbien}} = \text{N(C)}_{\text{total sol fumigé}} - \text{N(C)}_{\text{total sol non fumigé}} \quad {}^{15}\text{N}_{\text{microbien}} = {}^{15}\text{N}_{\text{total sol fumigé}} - {}^{15}\text{N}_{\text{total sol non fumigé}}$$

En 2010, le ^{15}N est suivi dans la biomasse microbienne avec des analyses à l'EA-IRMS (Annexe 7). L'extrait est évaporé à l'étuve à 65°C et le résidu sec est récupéré puis conditionné dans des capsules en étain pour l'analyse.

2.3.4. Calculs des flux d'azote dans l'écosystème et bilans

***Bilans d'azote de l'écosystème :**

Pour estimer la variation de la taille des pools pour les différents éléments, le principe de conservation de la masse est utilisé. Les entrées et les sorties de matière du système considéré (profil de sol jusqu'à 60cm) sont calculées.

Δ stock = Entrées (apports atmosphériques)-sorties (drainage à 60cm et immobilisation nette dans la biomasse aérienne)

APPORTS par les dépôts atmosphériques : Les dépôts secs de NO_3 et NH_4 sont calculés par différence entre le flux sous couvert et le flux hors couvert. Si celle-ci est négative (c.à.d. flux sous couvert < flux hors couvert) alors le dépôt sec est estimé nul. (Ulrich, 1983).

IMMOBILISATION nette : En 2001, lors de l'éclaircie, des prélèvements de biomasse végétale ont été réalisés afin d'établir des tarifs de biomasse-minéralomasse. Ces équations sont de la forme :

minéralomasse = $a \times ((\text{diamètre}) - 1,30)^b$, où a et b sont les paramètres ajustés.

Ces tarifs permettent d'estimer l'azote immobilisé dans la biomasse aérienne chaque année à partir des inventaires forestiers. Les différences interannuelles permettent d'estimer l'immobilisation nette (= prélèvement total d'azote - azote total dans la chute de litière).

DRAINAGE : Pour estimer le drainage à la base du profil (au-delà de la zone explorée par les racines), un modèle de bilan hydrique, à compartiments et à flux, BILJOU (Granier et al., 1999), a été calibré et validé sur la période 2002-2009 grâce à un suivi de l'humidité volumétrique des sols (sondes TDR à 15, 30 et 60cm de profondeur). Ce flux de drainage d'eau a été couplé aux concentrations mesurées mensuellement dans les bougies à 60cm.

À certaines dates de prélèvement, quand le sol est trop sec, aucune solution ne peut être récoltée donc les analyses ne peuvent pas être réalisées. Pour combler ce manque de données un modèle de « gapfilling » est utilisé. Ce modèle sert aussi à recalculer les valeurs aberrantes. La valeur manquante (ou aberrante) est calculée en fonction de la concentration (C_0) mensuelle moyenne déterminée sur plus de dix ans de mesures, des concentrations à T+1 et T-1 (prélèvement suivant et précédent).

Valeur manquante = $A*(C_0 \text{ mensuelle moy}) + B*(C_0 \text{ à } T-1) + C*(C_0 \text{ à } T+1)$. Où A, B et C sont des coefficients déterminés pour chaque élément (NO_3 , NH_4 ...) et pour chaque solution (PL, Bougies -15, -30 et -60 cm).

***Quantité de ^{15}N en excès microbien :**

Pour calculer le ^{15}N de la biomasse microbienne l'équation utilisée est adaptée de Epron et al. (2011).

$$\delta^{15}\text{N} = \frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{fumigé}} * \text{N}_{\text{fumigé}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{non fumigé}} * \text{N}_{\text{non fumigé}}}{\text{N}_{\text{fumigé}} - \text{N}_{\text{non fumigé}}}$$

***Quantité de ^{15}N en excès microbien, soluble et restant :**

^{15}N restant (ou manquant) = ^{15}N total apporté - ^{15}N soluble ($\text{NO}_3 + \text{NH}_4$) - ^{15}N microbien

$\text{N total} \times \text{Atom \% } ^{15}\text{N excès} \times 10 = ^{15}\text{N } \mu\text{g.kg}^{-1}$ de sol

Où $\text{Atom \% } ^{15}\text{N excès} = \text{Atom \% } ^{15}\text{N mesuré} - \text{Abondance naturelle } ^{15}\text{N}$

$\mu\text{g } ^{15}\text{N.kg}^{-1}$ de sol $\times 50 \times \text{densité apparente} = \mu\text{g } ^{15}\text{N.m}^{-2}$

Où $\text{densité apparente du sol} = 0.75 [0-5\text{cm}] ; 0.97 [5-10\text{cm}] \text{ et } 1.07 [10-15\text{cm}]$

$\mu\text{g } ^{15}\text{N.m}^{-2} * 1000 = \text{mg } ^{15}\text{N.m}^{-2}$

% du ^{15}N apporté = $\text{mg } ^{15}\text{N.m}^{-2}$ (car 100mg.m^{-2} ont été apportés)

***Quantité de ^{15}N dans les feuilles et les branches (exprimée en % du ^{15}N apporté) :**

^{15}N (en kg.ha^{-1}) = ($\text{atom \% } ^{15}\text{N mesuré} - \text{abondance naturelle de } ^{15}\text{N estimée}$) $\times \text{N total (kg/ha)}$

Pour tous les calculs, la valeur prise pour l'abondance naturelle du ^{15}N est 0.367.

2.3.5. Développement d'un protocole pour l'analyse du ^{15}N dans les solutions

La détermination des quantités de ^{15}N dans les solutions de sol est complexe, les volumes d'échantillons d'eau prélevés étant limités. Les solutions collectées dans la parcelle multi-marquée servent par ailleurs pour de multiples analyses en plus du ^{15}N et sont peu concentrées en azote.

Un protocole de séparation du N-NH_4 et du N-NO_3 a donc été mis au point pour simplifier des protocoles existants, comme la distillation Kjedahl (basée sur la réduction des nitrates puis une étape d'oxydation) ou encore la microdiffusion (volatilisation de l'ammonium en ammoniac et absorption sur un filtre en fibre de verre).

L'établissement de ce protocole expérimental a été complexe à mettre en place sur les solutions (solution de sol et pluviollessivats) récoltées à Breuil pour différentes raisons :

- Les faibles concentrations en N-NO_3 et N-NH_4 dans les solutions à analyser,
- Les faibles quantités de solutions (les volumes collectés dans la parcelle multi-marquée servant pour de multiples autres analyses),
- Limiter les pertes d'azote durant le protocole,
- Limiter le fractionnement isotopique
- Récupérer N-NO_3 et N-NH_4 sous forme solide (pour l'EA-IRMS cf. Annexe 7).

Les différentes étapes du protocole sont présentées ci-dessous, le protocole complet est en Annexe 8.

a) Préparation de la résine :

La résine doit être placée dans le tuyau flexible TYGON R3603 (Figure 9). Pour se faire il faut aspirer la résine dans le tuyau à l'aide d'une seringue. Il doit y avoir environ 4 cm de résine pour des solutions peu concentrées.

Ensuite il faut couper le tuyau à 0.5 cm d'un côté de la résine et mettre de la laine de quartz à l'aide d'une paire de pinces fines. Ensuite il faut couper l'autre extrémité et faire de même.

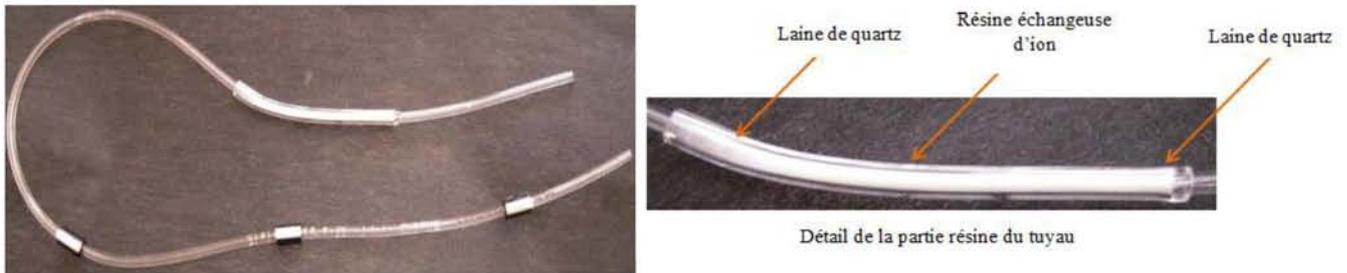


Figure 9 : Montage de la résine cationique sur les manifolds de la pompe péristaltique

b) Installation des résines sur la pompe :

Les résines une fois prêtes, vont être connectées aux manifolds de la pompe Manifolds TYGON R3607 (couper un morceau après la pompe, insérer la résine entre les deux parties coupées – Figure 10). Les résines sont orientées verticalement, de façon à ce que le fluide la traverse en montant ce qui diminue le risque de circulation préférentielle, via les pores présents dans la résine.

Trois passages de la solution à travers la résine cationique sont réalisés. Puis cinq rinçages à l'eau ultra-pure (3mL) sont faits pour rincer les tuyaux et les résines.



Figure 10 : Montage sur la pompe péristaltique

c) Récupération des résines contenant le NH_4^+ :

Le tuyau est coupé après le bouchon de laine de quartz des deux côtés pour récupérer la résine dans un eppendorf dont la masse vide est déterminée auparavant (si la résine ne descend pas toute seule : injecter de l'air dans le tuyau à l'aide de la seringue).

Les résines sont séchées (étuve 60°C pendant 3 jours) pour déterminer la masse sèche de résine. Ensuite les micro-pesées (5 mg de résine) sont réalisées et analysées à l'EA-IRMS (analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse à ratio isotopique).

d) Récupération du résidu sec contenant les NO_3^- :

La solution contenant les anions est évaporée à l'étuve (60°C) dans un bécher en Téflon à fond conique. Le résidu récupéré en totalité est conditionné dans des capsules en étain, pesé et analysé à l'EA-IRMS

2.3.6. Analyses statistiques

Les extractions d'azote minéral et organique du sol ont été comparées entre elles : par profondeur, par date de prélèvement et par traitement (fumigée ou non-fumigée) à l'aide d'une ANOVA et d'un test de Tukey SAS® (SAS-Institute, 2002. The SAS system for Windows 9.0. In. Suny at Stony Brook, Cary, NC, USA).

Les tests de tendances (test de Mann-Kendall) sur l'évolution des concentrations en nitrates des différentes solutions ont été réalisés sous XLstat 2010 (extension pour le tableur Excel qui est développée par Addinsoft). Les relations entre concentrations en nitrates du sol et teneur en azote microbien ont été montrées à l'aide de régressions linéaires sous XLStat 2010 (Addinsoft).

2.3.7. Utilisation d'un modèle : étude du devenir du ^{15}N

Le modèle Dijkstra développé pour suivre l'azote d'une prairie semi-aride, permet de simuler les flux de ^{14}N et de ^{15}N , sous Excel, après apport de ^{15}N , dans les parties aériennes et racinaires des arbres, dans la biomasse microbienne, dans la fraction d'azote inorganique du sol et dans l'azote de la matière organique morte. De plus il tient compte du prélèvement foliaire et racinaire, de la translocation, de la minéralisation, de l'immobilisation microbienne, du pool d'azote libéré par la mort des microorganismes (Dijkstra, 2009).

3. Résultats

3.1. Synthèse des différents flux d'azote de 2002 à 2010

3.1.1. Evolution globale des flux de N-NO_3

Les tendances globales sur 10 ans (Figure 11 - courbe de tendance en noir) des flux de N-NO_3 semblent évoluer légèrement depuis 10 ans mais cependant aucune tendance n'est significative (test de Mann-Kendall, $p > 0.05$, Annexe 9). Les flux peuvent donc être considérés comme constants au cours du temps (car non significativement différents) dans la pluie, les pluviocessivats et les trois profondeurs de solutions de sol.

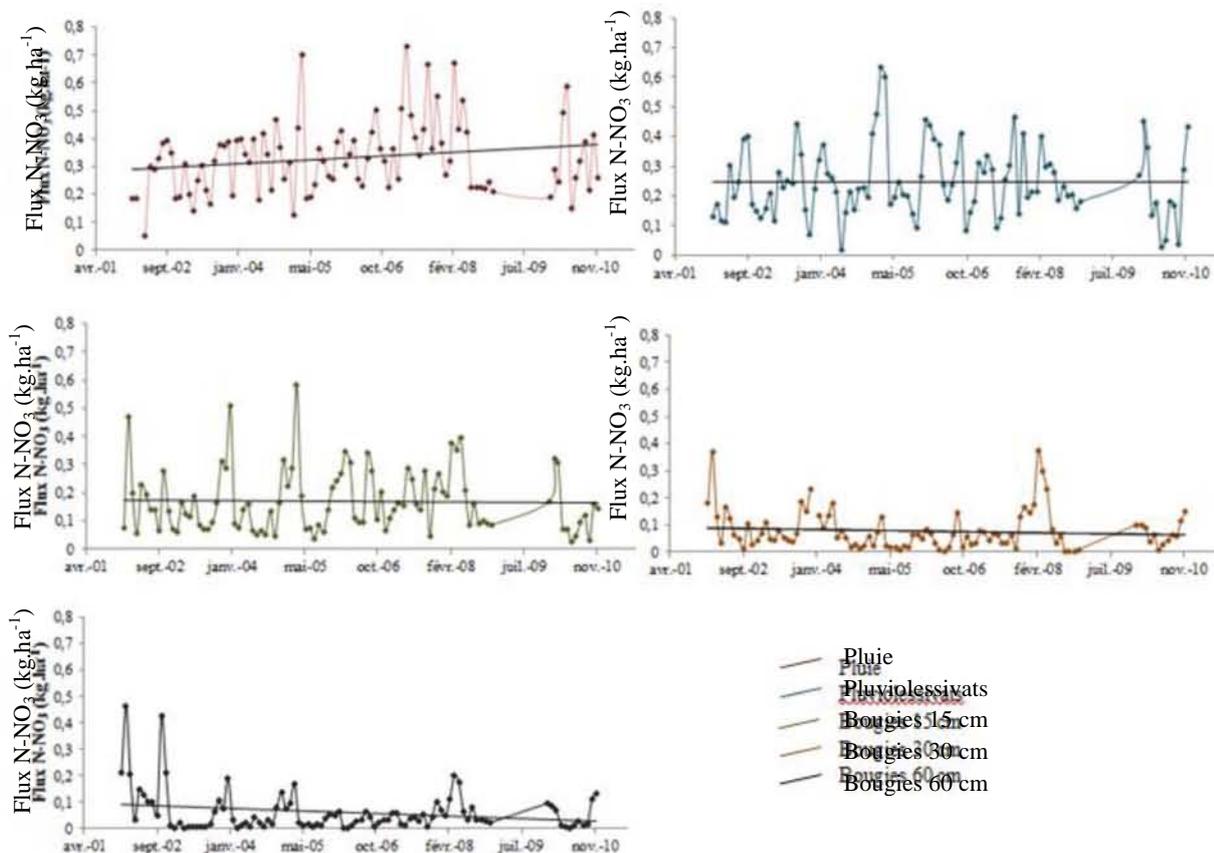


Figure 11 : Evolutions globales des flux de N-NO_3 ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) de 2002 à 2010 – Les points sont des moyennes mensuelles et les droites des courbes de tendances.

3.2.1. Flux de nitrates en détails

3.2.1.1. Flux de N-NO_3 dans les pluies

Les flux de N-NO_3 (Figure 12) dans la pluie varient peu au cours de l'année (environ $0.33 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$). Cette valeur est matérialisée par une ligne rouge et sera ajoutée sur les figures suivantes à titre de comparaison). Seule une légère augmentation est visible en mars, avril et mai ($>0.3 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$). Les dépôts humides et secs en N-NO_3 collectés dans la pluie sont globalement constants tout au long de l'année.

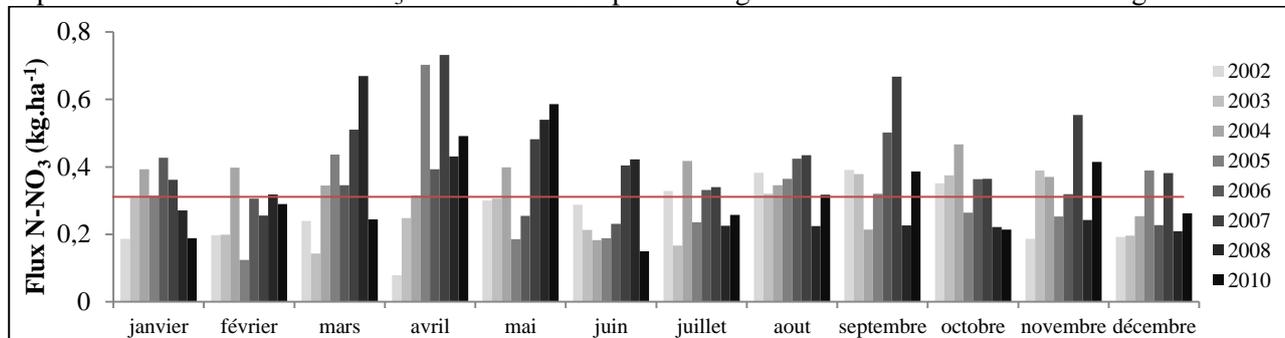


Figure 12 : Flux mensuels de N-NO_3 dans la pluie (hors couvert) - Les barres représentent les valeurs mensuelles moyennes et la ligne rouge la moyenne globale des flux.

3.2.1.2. Flux de N-NO_3 dans les pluviollessivats

Les flux de nitrates (Figure 13), dans les pluviollessivats varient eux aussi peu au cours de l'année et restent autour de $0.25 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$ (la valeur est matérialisée par une ligne verte). Seule une légère augmentation est visible de janvier à avril ($>0.25 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$) chaque année. Les flux moyens de N-NO_3 dans les pluviollessivats (ligne verte) sont inférieurs à ceux dans la pluie (ligne rouge).

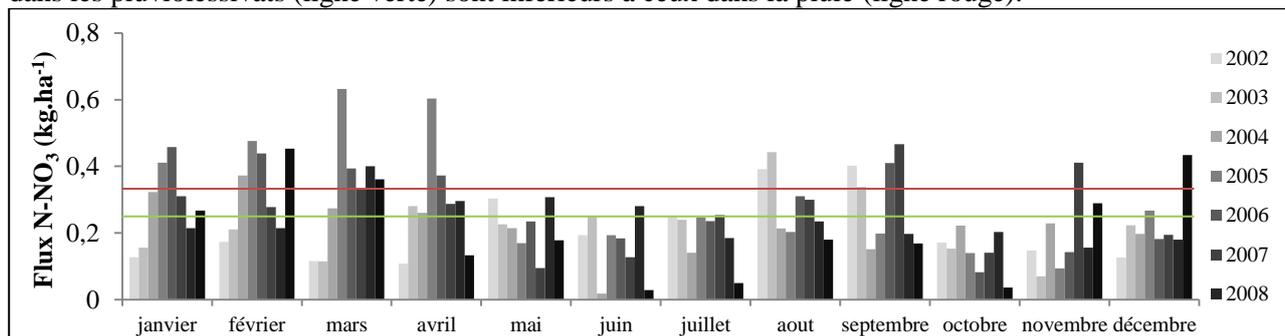


Figure 13 : Flux mensuels de N-NO_3 dans les pluviollessivats - Les barres représentent les valeurs mensuelles moyennes, la ligne verte la ligne la moyenne globale des flux et la ligne rouge la moyenne globale des flux dans la pluie.

3.2.1.3. Flux de N-NO_3 dans les solutions de sol

Les flux de N-NO_3 dans les eaux à 15 cm de profondeur (Figure 14) sont plus faibles en été ($0.07 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$ environ) et plus forts en hiver (du mois de novembre au mois de mai - $0.17 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$ en moyenne, valeur matérialisée par une ligne bleue).

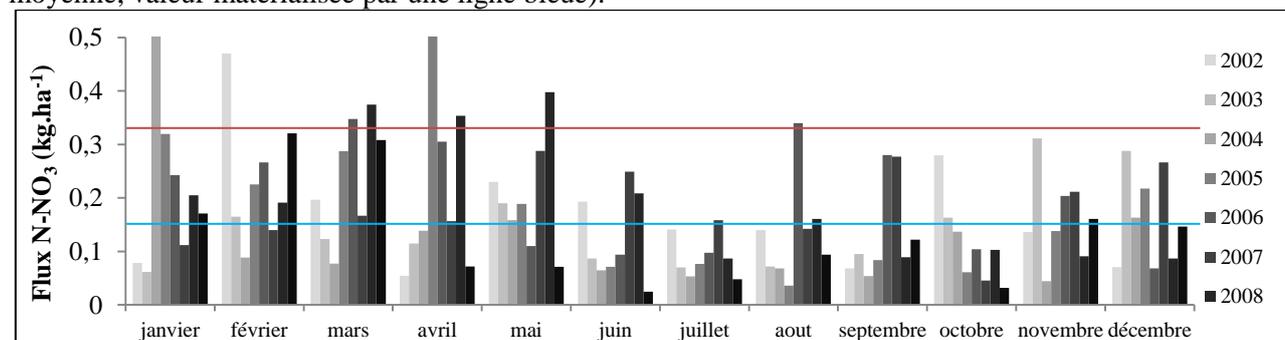


Figure 14 : Flux mensuels de N-NO_3 dans le sol à 15 cm - Les barres représentent les valeurs mensuelles moyennes, la ligne bleue la ligne la moyenne globale des flux et la ligne rouge la moyenne globale des flux dans la pluie.

Les flux de N-NO_3 à 30 cm de profondeur sont inférieurs à ceux à 15 cm (Figure 15). De plus, ces flux à 30 cm sont plus faibles en été ($0.03 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$ environ) et plus forts en hiver (environ $0.07 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$, valeur matérialisée par une ligne bleue) tout comme pour les flux à 15cm.

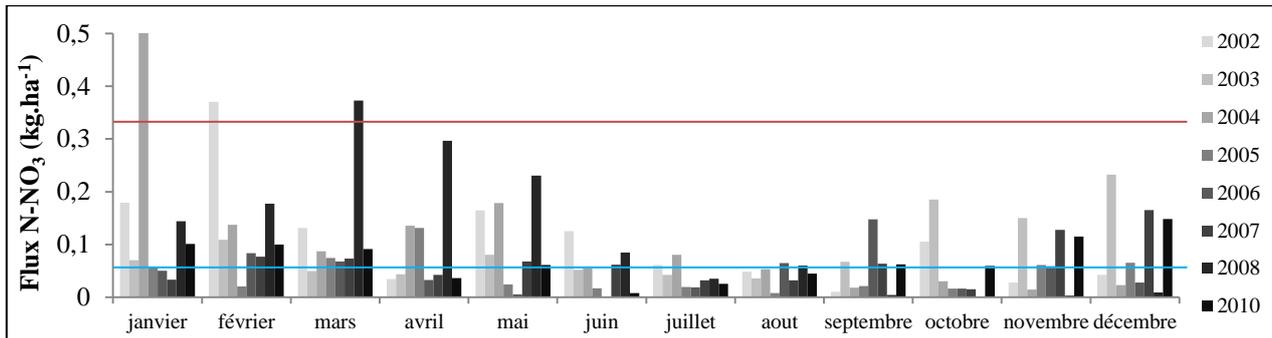


Figure 15 : Flux mensuels de N-NO_3 dans les bougies à 30 cm - Les barres représentent les valeurs mensuelles moyennes, la ligne bleue la ligne la moyenne globale des flux et la ligne rouge la moyenne globale des flux dans la pluie.

Les flux de N-NO_3 à 60 cm de profondeur sont encore inférieurs aux précédents (Figure 16). Les flux de N-NO_3 à 60 cm sont plus faibles en été ($0.03 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$ environ) et plus forts en hiver (environ $0.07 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{mois}^{-1}$, valeur matérialisée par une ligne bleue) comme pour les deux autres profondeurs étudiées.

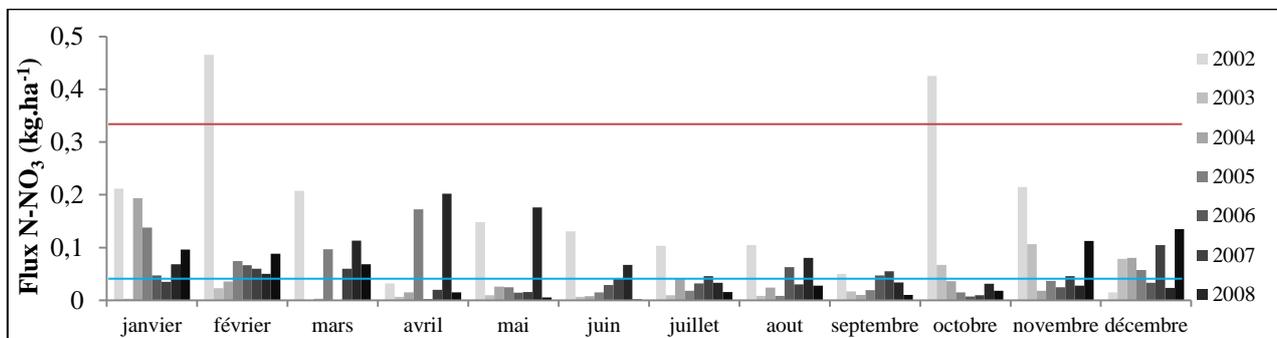


Figure 16 : Flux mensuels de N-NO_3 dans les bougies à 60 cm - Les barres représentent les valeurs mensuelles moyennes, la ligne bleue la ligne la moyenne globale des flux et la ligne rouge la moyenne globale des flux dans la pluie.

Les flux de nitrates diminuent avec la profondeur (Figures 14 à 16).

3.2.1.4. Drainage : couplage des cycles du nitrate et de l'eau

Les nitrates sont peu retenus par le sol et s'ils ne sont pas immobilisés dans un des compartiments de l'écosystème, leurs mouvements dans le profil doivent être liés aux mouvements d'eau dans le sol. Pour suivre la dynamique de l'eau à travers le profil, le deutérium (^2H) est utilisé ici comme traceur de l'eau et il permet une évaluation des voies de circulation de l'eau. La figure 17 illustre les dynamiques de l'eau et des nitrates dans le sol.

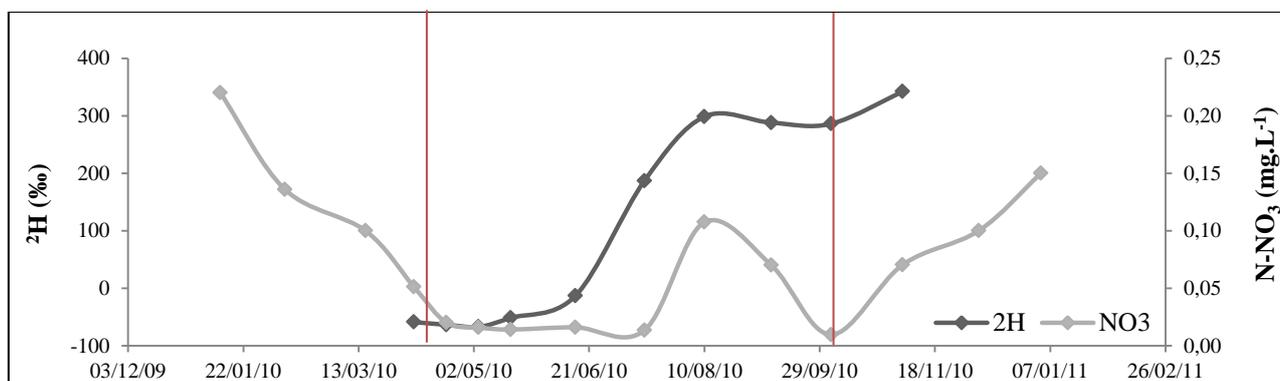


Figure 17 : Dynamiques comparées N-NO_3 et ^2H à 60 cm - Les points sont des valeurs issues des prélèvements, les lignes rouges marquent les changements de saison et de concentration en nitrates

L'arrivée rapide de deutérium à 60 cm indique un transfert vertical préférentiel. Les nitrates peuvent se déplacer en suivant ce flux préférentiel, mais aussi plus lentement car ils sont transitoirement retenus par les microorganismes et prélevés par la végétation.

Les concentrations en nitrates varient en fonction des saisons. En hiver, les concentrations en nitrates sont plus élevées qu'en été, la végétation et la microfaune du sol étant peu actives, le prélèvement est faible. En été par contre, les concentrations en nitrates sont faibles à cette profondeur, la végétation et la microfaune étant actives la quantité de nitrate prélevée est importante.

3.1.2. Bilans des flux azotés de la parcelle

Les flux d'azote (tableau de valeurs en annexe 10) sont observés à différents niveaux dans l'écosystème (dépôts atmosphériques – cf. 2.3.4., pluviolessivats et solutions de sol) et des flux moyens annuels sur la période 2002-10 sont représentés sur les figures 18 (flux de N-NO_3) et 19 (flux $\text{N-NH}_4 + \text{N-NO}_3$). La figure 18 montre que les flux de nitrates des pluviolessivats sont inférieurs à ceux des dépôts atmosphériques et que les flux de nitrates dans le sol diminuent avec la profondeur. La figure 19 montre que les flux d'azote minéral des pluviolessivats sont inférieurs à ceux des dépôts atmosphériques ; que les flux d'azote minéral diminuent avec la profondeur et que la quantité d'azote immobilisé dans la biomasse végétale est proche de la quantité d'azote apportée par les dépôts atmosphériques.

Les valeurs sont proches de celles trouvées par Andrianarisoa, 2009 (Figure 1) pour l'azote total de la pluie et des pluviolessivats.

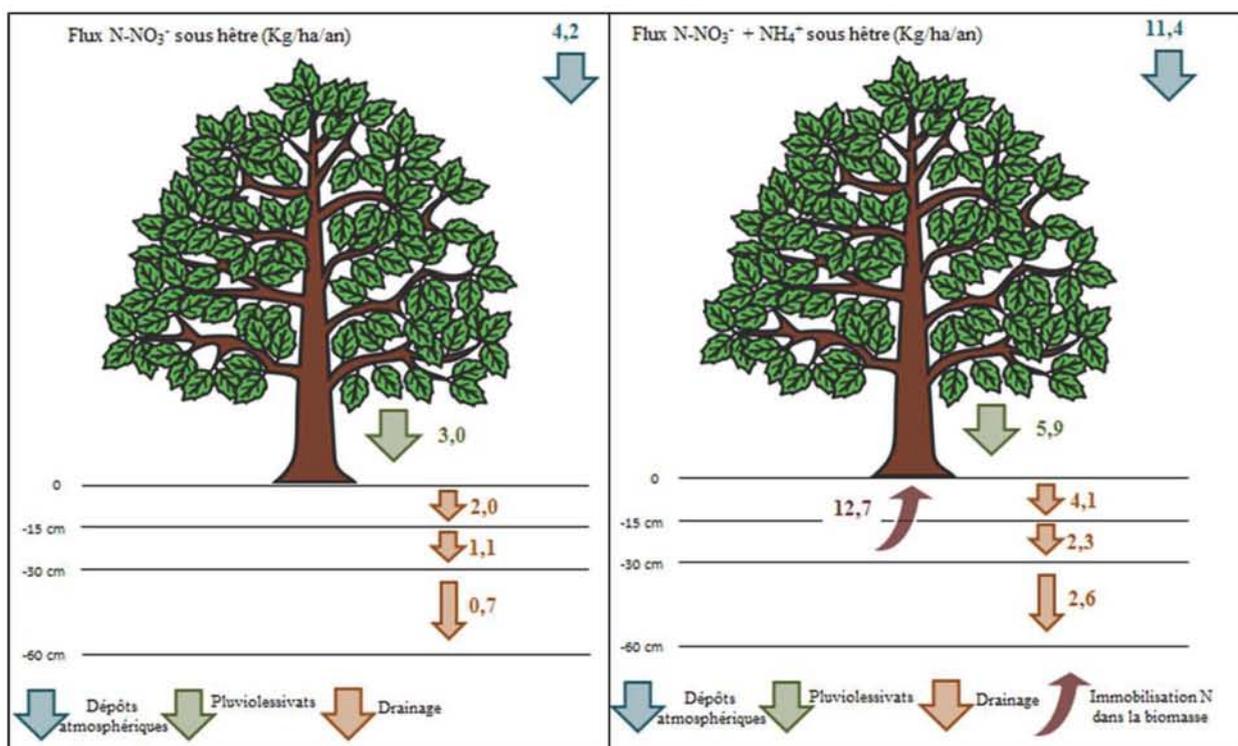


Figure 18 : Bilan des flux de N-NO_3 sous hêtre

Figure 19 : Bilan des flux d'azote minéral sous hêtre

Flux des dépôts atmosphériques, pluvioléssivats et solutions de sol à 15, 30 et 60 cm (en $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$)

Le bilan de flux moyens (2002-10) d'azote de l'écosystème est négatif ($-4 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$), l'azote ne s'accumule donc pas dans l'écosystème. Les bilans de flux annuels sur cette période restent tous négatifs mais varient d'une année à l'autre (tableau 5).

	Flux N (kg/ha/an)			
	Dépôts atmosphériques $\text{NO}_3 + \text{NH}_4$	Drainage à 60cm $\text{NO}_3 + \text{NH}_4$	Biomasse végétale N_{total}	Bilans de flux
2002	10,69	2,99	12,70	-5,01
2003	10,28	0,80	12,70	-3,22
2004	11,27	2,40	12,70	-3,83
2005	11,13	1,93	12,70	-3,50
2006	12,05	3,23	12,70	-3,88
2007	14,10	4,22	12,70	-2,82
2008	10,50	3,87	12,70	-6,07
2010	11,07	1,47	12,70	-3,10
2002-10	11,39	2,61	12,70	-3,93

Tableau5 : Bilans annuels de flux d'azote de l'écosystème de 2002 à 2010 et bilan de flux moyen sur la période 2002 à 2010 – Le prélèvement végétal est estimé, la valeur présentée est une moyenne représentative.

3.2. Etude de l'azote de la biomasse microbienne

3.2.1. Dynamique annuelle comparée de N-NO_3 et N microbien

L'évolution en profondeur et dans le temps de la concentration en nitrates du sol est représentée sur la figure 20. Les concentrations en nitrates diminuent avec le temps pour chaque profondeur. Un pic de nitrate est visible le 18 juin qui proviendrait d'un problème de correction du facteur humidité du sol. Les teneurs en nitrates diminuent avec la profondeur aux huit dates étudiées.

Les concentrations en N microbien diminuent avec le temps pour chaque profondeur (Figure 21). Un pic est visible le 18 juin qui proviendrait d'un problème de correction du facteur humidité du sol. Les teneurs en N microbien diminuent avec la profondeur aux huit dates étudiées.

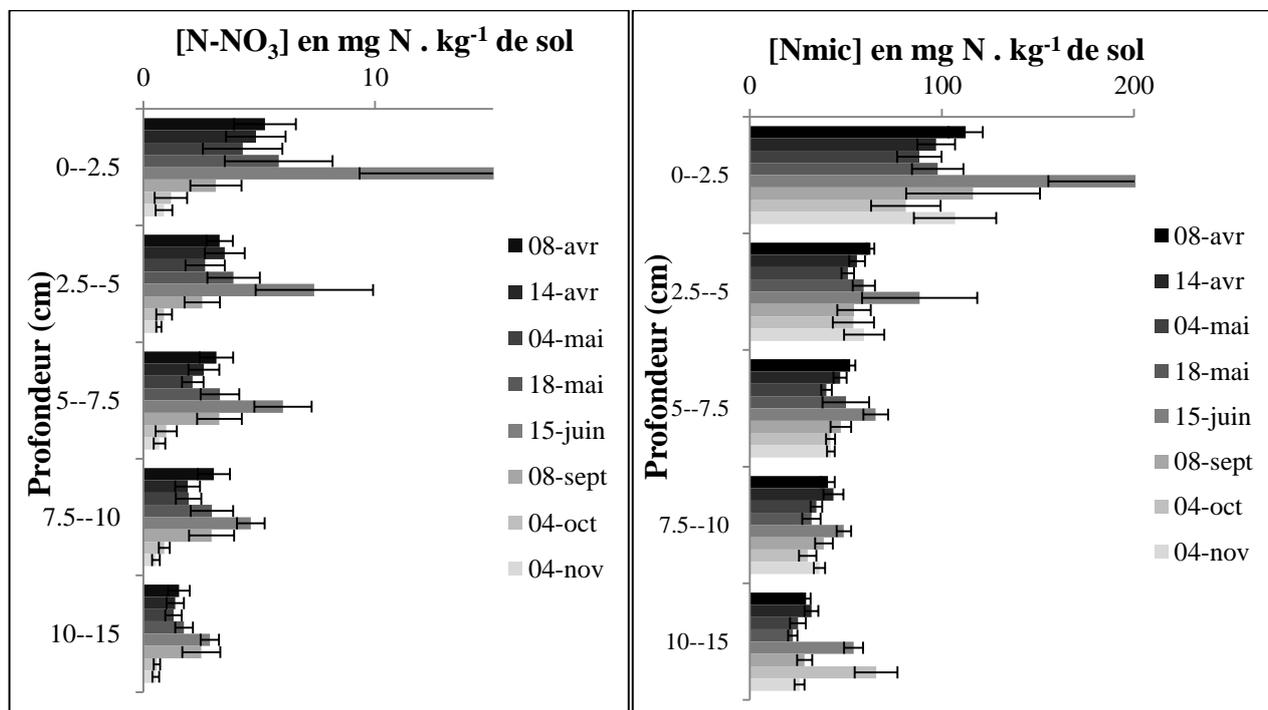


Figure 20 : $[\text{N-NO}_3]$ en fonction de la profondeur

Figure 21 : N microbien en fonction de la profondeur

Les valeurs sont des moyennes et les barres des erreurs standards

Les teneurs en N-NO_3 diminuent avec la profondeur (Figure 20) et varient au cours de l'année.

La dynamique de l'azote microbien (Figure 21) est semblable à celle des nitrates tant au niveau de l'évolution avec la profondeur que dans le temps.

Les teneurs en azote microbien sont fortement corrélées à la teneur en nitrates du sol (Figure 22 – résultats des régressions linéaires en annexe 11).

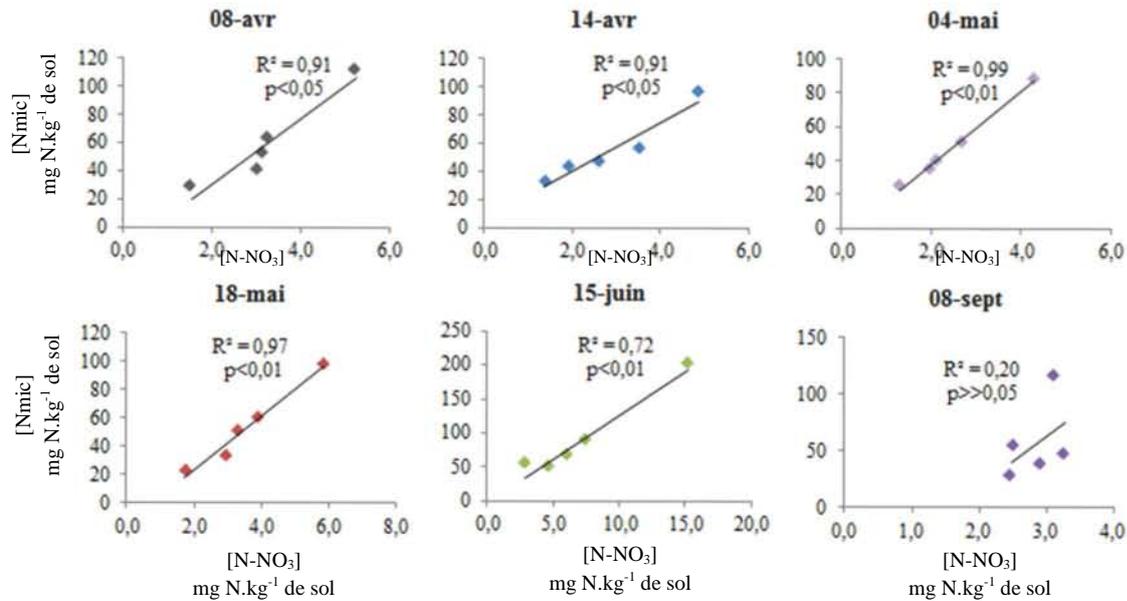


Figure 22 : Relations positives entre la concentration en nitrates (mg N.kg^{-1} de sol) et l'azote de la biomasse microbienne (mg N.kg^{-1} de sol) dans le profil de sol – Relations testées par régressions linéaires.

Les régressions linéaires sur réalisées sur la période allant du mois d'avril au mois de juin. La relation donne $P < 0.05$, ce qui indique que la relation est significative sur cette période (l'augmentation de la concentration en nitrates explique 95% de l'augmentation de l'azote microbien). Par contre, la relation n'est plus significative à partir du mois de septembre.

L'azote microbien est lié à la concentration en nitrates du sol durant la période d'activité des microorganismes.

3.2.2. ^{15}N de la biomasse microbienne

Des tests statistiques (Anova réalisées sous SAS - cf. 2.2.3.), ont permis de déterminer quel(s) élément(s) étaient significativement retenus par la biomasse microbienne (parmi TOC, TON, N-NO_3 , N-NH_4 , Mg, Ca et K – Annexe 1). De plus, ils ont permis de déterminer si la biomasse microbienne variait significativement avec la profondeur et avec la saison (Annexe 11).

Parmi les éléments analysés sur cette parcelle, le carbone et l'azote sont les plus importants (la différence est toujours significative entre l'échantillon non fumigé NF et le fumigé F) et leur immobilisation varie significativement avec la saison.

Le ^{15}N venant des microorganismes est la différence entre les échantillons fumigés F et les non fumigés NF (Figure 23). Le ^{15}N des microorganismes varie de 485 ± 150 à $230 \pm 130 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de sol avec la profondeur le 8 avril ; de 260 ± 60 à $60 \pm 30 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de sol avec la profondeur le 14 avril et de 135 ± 75 à $50 \pm 35 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de sol avec la profondeur le 15 juin.

Le ^{15}N apporté est en partie immobilisé dans la biomasse microbienne. En effet, le ^{15}N est significativement plus abondant dans les échantillons fumigés que dans les échantillons non fumigés ($p < 0.0001$ – Annexe 12). De plus, pour les deux traitements, la quantité de ^{15}N diminue avec la profondeur.

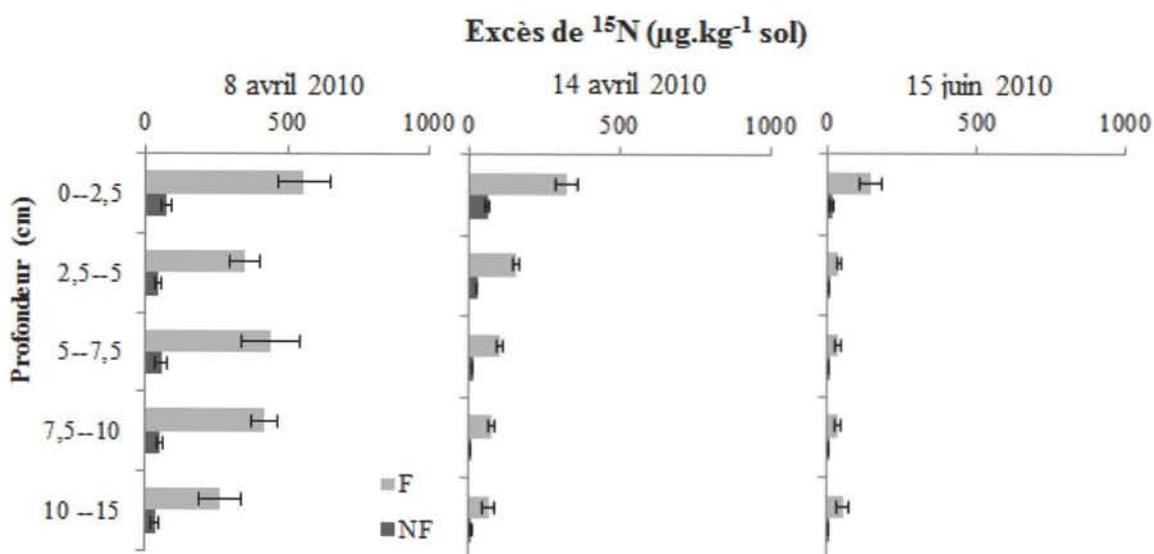


Figure 23 : ^{15}N en excès dans le sol (NF) et dans sol et dans la biomasse microbienne (F)
Les barres sont des moyennes et les barres des erreurs standards

3.2.3. ^{15}N microbien : Bilan

En avril 2010, 100mg de $^{15}\text{N}\text{-NO}_3$ ont été appliqués sur la parcelle. Le 8 avril, le lendemain du marquage, plus de la moitié du ^{15}N apporté est dans le sol sous forme soluble - Nminéral et organique - ou dans la biomasse microbienne (52% = 45%±8 mg/m² dans la biomasse microbienne et 7%±2 mg/m² soluble) ; une semaine après moins d'un quart (17%) et après 70 jours moins d'un dixième (8% - Figure 24 – Le ^{15}N restant correspond à la part de ^{15}N apporté non retrouvée dans la biomasse microbienne ni dans l'azote soluble - Calculs cf.2.3.4.). L'azote est donc rapidement immobilisé dans la biomasse microbienne mais n'y reste pas longtemps, le turnover de l'azote des microorganismes semble rapide.

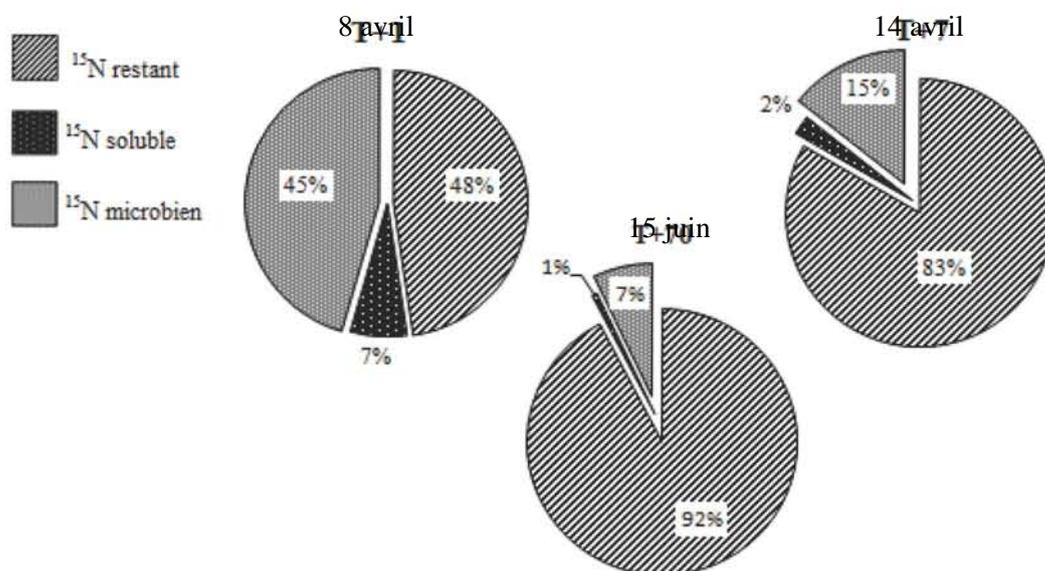


Figure 24 : Proportion de l'excès de ^{15}N de la biomasse microbienne ; du ^{15}N soluble ($\text{NO}_3 + \text{NH}_4$) et du ^{15}N restant dans le sol au cours du temps [0-15 cm]

La part de ^{15}N restant, qui augmente de plus en plus avec le temps, doit se trouver dans la biomasse végétale au niveau des parties aériennes (cf.3.3) ou drainée.

3.3. ^{15}N de la biomasse végétale

Le ^{15}N dans les branches et dans les feuilles a été déterminé pour trois dates, le 4 mai, le 15 juin et le 9 septembre afin de déterminer quelle part du ^{15}N appliqué est prélevé par l'arbre. La figure 25 présente les quantités de ^{15}N retrouvées dans les feuilles et les branches aux trois dates, exprimées en pourcentage du ^{15}N appliqué sur la parcelle. En mai, 40% du traceur appliqué se trouve dans les feuilles et les branches des hêtres et cette valeur semble rester stable dans le temps. Donc le prélèvement se passe essentiellement entre le 7 avril (date du traçage) et le 4 mai et représente une part importante du ^{15}N restant de la figure 18. De mai à septembre le prélèvement est nul.

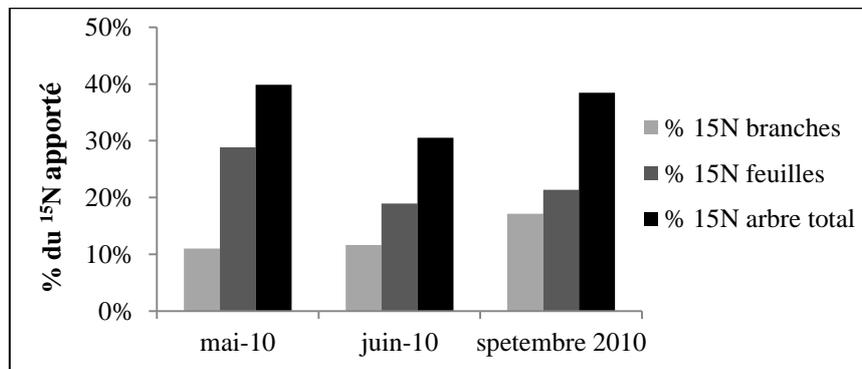


Figure 25 : Pourcentage du ^{15}N apporté dans la biomasse végétale
Les barres sont moyennes

3.4. $^{15}\text{N}\text{-NO}_3$ dans les solutions du sol

Cette partie est issue du protocole développé durant ce stage et a pour but de quantifier le ^{15}N soluble minéral (N-NO_3 et N-NH_4) présent dans les solutions de sol pour évaluer le drainage et dans les pluviollessivats pour évaluer la récrétion. A ce jour, les échantillons sont préparés pour l'analyse mais ils sont en attente.

4. Discussion

Dynamique de l'azote dans la hêtraie

Le Morvan, est une région où les activités industrielles et agricoles (élevage intensif) sont peu développées, les apports d'azote viennent donc principalement des grandes agglomérations comme Lyon ou Paris et du transport routier. Les sources ne varient pas et les dépôts azotés sur le site sont stables sur la période 2002-2010 et de l'ordre de 10 à 15 $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$ (Figures 5 et 13). La quantité d'azote apportée par les dépôts atmosphériques est très proche de celle prélevée par la végétation (Figure 13). Les dépôts permettent une fertilisation de l'écosystème mais ils interagissent avec la canopée.

En effet la végétation peut absorber directement par les feuilles une partie de l'azote des dépôts atmosphériques.

Les nitrates, après absorption, sont stockés directement dans la vacuole (Clarkson, 1986) et peuvent être disponibles pour l'assimilation servant comme réservoir pour soutenir les processus de croissance durant les périodes où l'azote devient limitant (Jackson et Volk, 1981; MacDuff et al., 1989). La voie d'assimilation du nitrate comprend la réduction du nitrate en nitrite (Kleinhofs et Warner, 1990) puis la réduction du nitrite en ammonium.

Les taux d'absorption d'ammonium par les feuilles ne sont évalués qu'avec une large incertitude. La valeur moyenne pour l'absorption foliaire atteint 5 $\text{kg ha}^{-1}\text{an}^{-1}$ pour la France (Ineris 2004). L'ammonium est toxique pour la plante il ne sera pas accumulé mais transformé tout de suite (coûteux en énergie).

Dans cet écosystème, l'absorption foliaire de nitrate est nulle en hiver (saison sans feuillage où les flux de nitrates des pluies et des pluviollessivats sont égaux) et varie du mois de mai à octobre (saison avec feuillage où les flux de nitrates dans les pluviollessivats sont inférieurs à ceux dans la pluie – Figure 26).

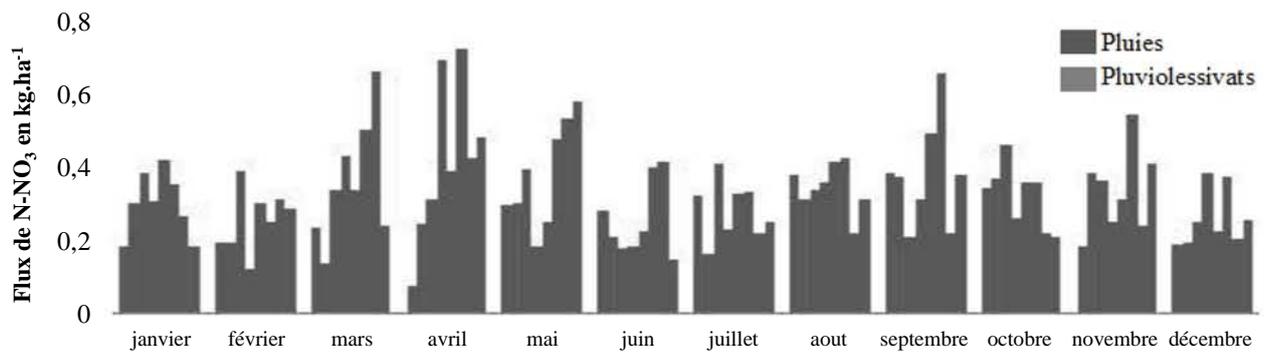


Figure 26 : Différences de flux de N-NO₃ dans les pluies et les pluiolessivats

L'azote arrivant au sol provient donc des dépôts atmosphériques après échanges avec la canopée. Cet échange diminue le flux d'azote (absorption foliaire) dans cet écosystème. L'analyse des solutions de sols constitue un bon indicateur de la quantité d'azote disponible pour l'arbre. Elles permettent d'évaluer les proportions des différentes formes d'azote présentes dont les nitrates qui sont mobiles dans le sol.

Les flux de nitrates dans le sol sont fonction des apports atmosphériques, de la minéralisation et de la nitrification, du prélèvement racinaire et de l'activité microbienne.

Les nitrates produits par les microorganismes peuvent être consommés par l'arbre, transformés par d'autres microorganismes ou lixiviés (rappel modèle conceptuel figure 3). La lixiviation des nitrates peut impacter la fertilité (perte de cations simultanée avec les nitrates) et être le moteur de l'acidification.

Les activités microbienne et végétale sont faibles en hiver (flux de nitrates diminuent peu avec la profondeur) ce qui explique les flux de nitrates plus importants dans le sol à 60cm à cette saison qu'au printemps où ces flux diminuent les nitrates étant prélevés (Forte diminution de ces flux avec la profondeur - Figure 27). Les nitrates sont donc peu perdus en profondeur durant la saison où la végétation et la microfaune du sol sont actives. Malgré un potentiel de nitrification et minéralisation très fort sous hêtre (Zeller *et al.*, 2007 ; Andrianarisoa, 2009 ; Bédel, 2010), les flux de N-NO₃ dans les solutions recueillies par les bougies poreuses restent faibles, ce qui indique un drainage des ions NO₃⁻ faible.

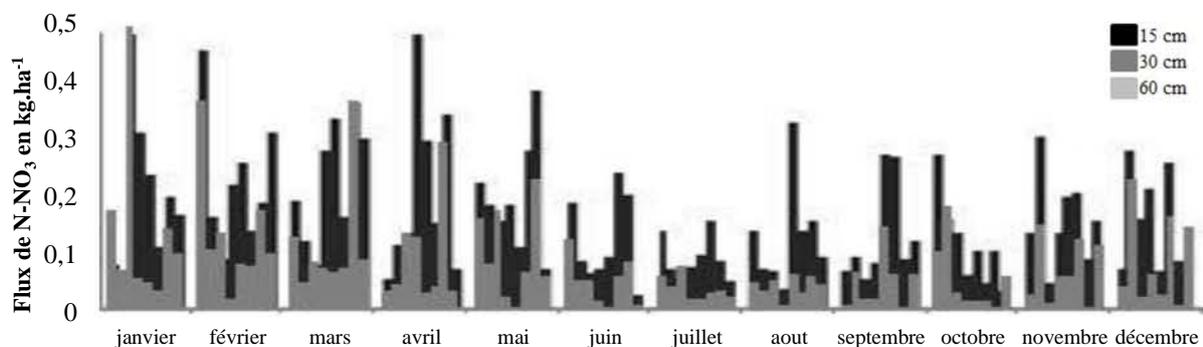


Figure 27 : Différences de flux de N-NO₃ dans les solutions de sol à 15, 30 et 60 cm

La minéralisation et la nitrification sont deux processus sensibles aux conditions climatiques (température et d'humidité du sol) et varient avec le type de sol et le type d'essence forestière. En effet, sur ce site la nitrification est forte sous peuplement de hêtre, pin et douglas, intermédiaire sous chêne et faible sous sapin de Nordmann et épicéa (Andrianarisoa, 2009). La comparaison de deux essences dont le taux de minéralisation et de nitrification sont similaires (hêtre et douglas) a apporté des conclusions inattendues. A taux de minéralisation et de nitrification équivalents, les pertes de nitrates par drainage sont trente fois plus élevées sous douglas ($34 \text{ mg N-NO}_3\text{.L}^{-1}$ à 30 cm – Andrianarisoa, 2009) que sous hêtre ($0.9 \text{ mg N-NO}_3\text{.L}^{-1}$ à 30 cm – Andrianarisoa, 2009). Malgré de faibles pertes, le bilan azote de l'écosystème est tout de même négatif. Cependant, les calculs de répartition du traceur appliqué ont été faits en estimant l'abondance naturelle de ^{15}N dans les différents compartiments. En toute rigueur, il aurait fallu prélever des témoins en dehors de la parcelle marquée à chaque date de prélèvement afin de connaître exactement l'abondance naturelle de ^{15}N . Cependant les teneurs en ^{15}N trouvées dépassent largement l'abondance naturelle donc l'erreur induite reste faible.

La forte nitrification et le faible drainage sous hêtre ont soulevés de nombreuses interrogations. C'est donc pour y répondre que la parcelle de hêtre présente sur ce site a été marquée au $^{15}\text{N}\text{-NO}_3$ le 7 avril 2010.

Répartition du ^{15}N dans l'écosystème pour comprendre la dynamique des nitrates

Les microorganismes assimilent très vite le ^{15}N apporté (sous forme $^{15}\text{N}\text{-NO}_3$). Le ^{15}N est très abondant dans les échantillons fumigés (beaucoup plus faible dans les échantillons non fumigés) et diminuent avec la profondeur et dans le temps après l'application (Figure 17). En effet, le lendemain du marquage de la parcelle, 45% de l'azote appliqué se trouve déjà dans la biomasse microbienne. Cependant cet azote ne reste pas longtemps dans la biomasse microbienne (une semaine après le traçage il ne reste plus que 15% de l'azote appliqué et deux mois après seulement 7% - Figure 18), il est donc recyclé rapidement et envoyé vers un autre compartiment. En se basant sur le modèle conceptuel (Figure 3), les nitrates seraient essentiellement transformés en azote organique et/ou en ammonium, le drainage et la dénitrification ne joueraient que des rôles mineurs. Les nitrates dans le sol ont donc un turn-over très rapide : immobilisés, transformés et recyclés par les microorganismes.

Le modèle Dijkstra a été développé pour un écosystème différent et sous un climat très différent mais il montre cependant une tendance d'évolution du pool d'azote microbien dans le temps après le traçage similaire. En effet, le ^{15}N microbien augmente très rapidement après traçage et diminue dans un premier temps très rapidement puis, dans un deuxième temps de moins en moins vite (Figure 28 – Positionnement des données de Breuil sur le modèle Dijkstra).

L'assimilation et la transformation rapide d'azote par les microorganismes du sol dans cette hêtraie n'est donc pas un cas isolé, puisque la modélisation des données avec un modèle non adapté fonctionne.

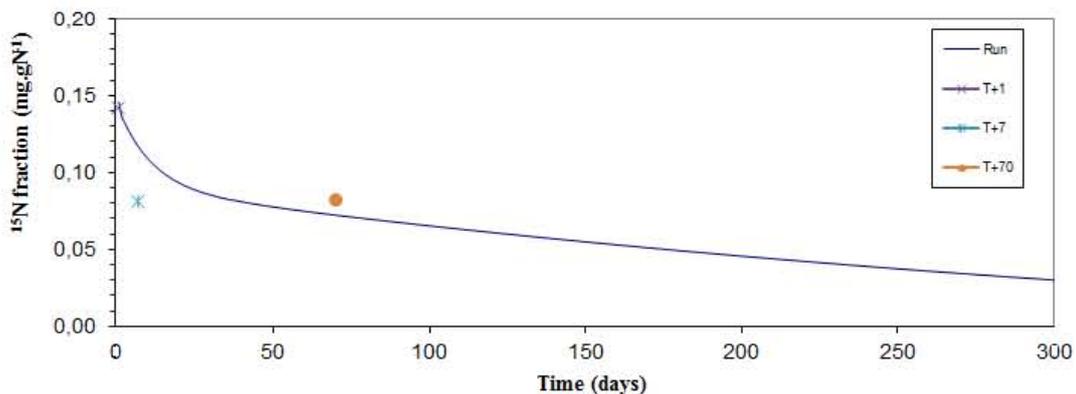


Figure 28 : Modélisation du devenir du ^{15}N microbien à Breuil d'après Dijkstra – T+1 : 8 avril : T+7 : 14 avril et T+70 : 15 juin

En revanche, l'azote soluble du sol non fumigé (N-NH_4 , N-NO_3 et N organique hors microorganismes) ne contient que très peu de ce ^{15}N apporté (de 7% le lendemain du traçage à 1% après deux mois – Figure 18).

L'azote restant (= ^{15}N apporté – ^{15}N microbien – ^{15}N soluble) variant de 48% du produit appliqué au lendemain du traçage à 92% après deux mois (Figure 18) se trouve en partie dans la biomasse végétale (feuilles + branches: 40% du produit appliqué en mai). En effet le suivi du ^{15}N dans les parties aériennes montre que celui-ci s'accumule très rapidement dans les feuilles et les branches (Figure 21), mais cette accumulation reste stable entre un et cinq mois après le marquage. D'autres études ont montrées un prélèvement d'azote très rapide chez des arbres de mangroves (Léopold et *al.*, 2011). El Zein et *al.* (2011) montre que l'azote est très vite assimilé au printemps au moment du débourrement chez le chêne sessile – En 6 jours, au moment du débourrement, la concentration en azote total des feuilles passe de 0 à 4%).

Après traçage, l'arbre prélève rapidement le $^{15}\text{NO}_3$ car il est disponible dans le sol. Les teneurs en ^{15}N des branches et des feuilles augmentent donc rapidement du mois de mai au mois de juin. Puis le ^{15}N foliaire (fraction N foliaire structural) reste constant jusqu'au mois de septembre car la biomasse de la feuille en varie plus.

La teneur en ^{15}N des feuilles reflète la disponibilité de $^{15}\text{N}\text{-NO}_3$ du sol qui diminue rapidement avec le temps. Cette diminution est associée à des processus microbiens qui préservent le ^{15}N sous une autre

forme, probablement sous forme organique (acides aminés ou protéines). Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait voir si le ^{15}N bulk sol augmente entre le mois de mai et le mois de juin. Pendant l'été, l'arbre continue à prélever de l'azote mais plus de ^{15}N (peut être sous forme ammonium, à partir du mois de mai la minéralisation de la matière organique étant bien en place). Les feuilles métabolisent l'azote et l'utilisent pour leur fonctionnement et le transfèrent vers les réserves à partir de septembre.

Dans un premier temps l'arbre a prélevé le $^{15}\text{N-NO}_3$ disponible (environ 45% retrouvé dans les branches et les feuilles), les microorganismes aussi (environ 45%) et la partie soluble (environ 10%) est probablement drainée. Le nitrate apporté est donc réparti en quasi-totalité dans la biomasse végétale et microbienne. La quantité de ^{15}N dans la biomasse microbienne diminue avec le temps car les microorganismes le transforment et le rejettent dans le sol. Ce rejet d'azote se fait sous une forme d'azote que l'arbre assimile peu c'est pourquoi le prélèvement de ^{15}N reste constant dans le temps.

Le ^{15}N peut aussi se trouver en quantité négligeables dans les pluviollessivats (car la récrétion foliaire est très limitée dans cet écosystème) et en proportion plus importante dans les solutions du sol (drainage des nitrates ou après relargage par les bactéries sous une forme azotée autre que le nitrate comme l'azote organique).

Pour répondre à cette dernière hypothèse, un protocole de séparation N-NO_3 et N-NH_4 a été mis au point afin de définir la part de $^{15}\text{N-NO}_3$ et $^{15}\text{N-NH}_4$ récrétée et de pouvoir quantifier le drainage et la transformation bactérienne de nitrate en ammonium et en azote organique sachant que le ^{15}N apporté était sous forme $^{15}\text{N-NO}_3$.

5. Conclusion et perspectives

Dans cette hêtraie, les entrées (dépôts atmosphériques) de nitrates et les sorties (drainage) restent constants depuis 2001 et le bilan global annuel d'azote reste négatif depuis 2002 ($-4\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$ en moyenne sur 2002-10). La forte minéralisation de l'azote et le faible drainage qui existe dans cet écosystème pose donc des questions sur la dynamique de l'azote qui trouvent une réponse grâce au traçage isotopique réalisé en avril 2010.

Le ^{15}N apporté ayant été apporté sous forme de $^{15}\text{N-NO}_3$ à $100\text{mg}/\text{m}^2$, le marquage a forcément entraîné une augmentation de la concentration en nitrates dans le sol. Les microorganismes du sol ont immobilisé 45% de l'apport en 24h ce qui montre qu'ils sont adaptés à stocker cette forme d'azote sinon le processus aurait été plus long. La biomasse végétale en a assimilé 48% en un mois, elle a prélevé ce qui restait disponible dans le sol.

Le ^{15}N microbien diminuant très vite avec le temps et le ^{15}N végétal restant constant, les microorganismes assimilent et transformeraient le nitrate en azote organique et/ou en ammonium dans le sol rapidement, forme d'azote non prélevée par le hêtre. Le turn-over microbien du nitrate dans le sol est rapide.

Pour poursuivre cette étude, l'étude du ^{15}N des solutions de sol apporteront de nouveaux éléments sur le drainage et la transformation microbienne. De plus, une étude de l'activité DNRA (de la même manière que dans l'étude réalisée par Rütting et *al.*, 2008) et/ou de dénitrification (en se basant sur les techniques développées par Chmura et *al.*, 2009 ou celles de Isobe et *al.*, 2011) serait intéressante pour connaître et quantifier les activités microbiennes permettant la transformation du nitrate en ammonium, en azote organique ou en diazote.

6. Références Bibliographiques

- Andreux F. et Ranger J., "Effet des substitutions d'essence sur le fonctionnement organo-minéral de l'écosystème forestier, sur les communautés microbiennes et sur la diversité des communautés fongiques mycorhyziennes et saprophytes" Support de présentation (Power point), GIP ECOFOR [En ligne] Disponible sur www.gip-ecofor.org/docs/biodiversite/...04/13Ranger.ppt. Consulté le 29 avril 2011.
- Andrianarisoa K.S., (2009) "Minéralisation de l'azote et nitrification dans les écosystèmes forestiers : effet du type de sol et de l'essence forestière". Mémoire de thèse, Université Henri Poincaré, Nancy, pp 250.
- Baize D., Girard M.C., (1998) A sound reference base for soils: the "Référentiel Pédologique". INRA, Paris.
- Bédél L., (2010) "Effet de jeunes essences forestières sur la minéralisation de l'azote". Mémoire de Master 1, Université Henri Poincaré, Nancy, pp 30.
- Binkley D., Hart S.C., 1989. "The components of nitrogen availability assessments in forest soils". *Advances of Soil Science*.
- Bonneau M., Dambrine E. and Aschan C., (1992) "Apport de pollution et de nutriments aux peuplements forestiers par l'atmosphère: intensité et variations dans le Massif vosgien". Courrier de la Cellule Environnement **16** : 27-34.
- Buchmann, N., Schulze E.D. and Gebauer G., (1995) " ^{15}N -ammonium and ^{15}N -nitrate uptake of a 15 year old *Picea abies* plantation". Oecologia, **102**(3):361-370.
- Chmura W.M., Róžański K., Kuc T., Gorczyca Z., (2009) "Comparaison of two methods for the determination of nitrogen and oxygen isotope composition of dissolved nitrates". Nukleonika, **54**(1): 17-23.
- Clarkson D. T., (1986) "Regulation of the absorption and release of nitrate by plant cells: a review of current ideas and methodology" *Physiological, ecological and applied aspects of nitrogen metabolism in higher plants*, pp. 3-27.
- Dambrine, E., "Application des isotopes stables à quelques questions écologiques" Support pour communication orale. Pdf, pp 9.
- Dannenmann M., Simon J., Gasche R., Holst J., Naumann P., Kögel-Knaber I., Knicher H., Mayer H., Schloter M., Pena R., Polle A., Rennenberg H., Papen H. (2009) "Tree girdling provides insight on the role of labile carbon in nitrogen partitioning between soil microorganisms and adult European beech". *Soil biology and Biochemistry* **41**: 1622-1631.
- De Vries W., Reinds G.J., Gundersen P. and Sterba H. (2006) "The impact of nitrogen deposition on carbon sequestration in European forests and forest soils". Global Change Biology, **12**(7):1151-1173.
- Dijkstra F.A. (2009) "Modeling the flow of ^{15}N after a ^{15}N pulse to study long-term N dynamics in a semiarid grassland". Ecology **90** (8) : 2171–2182.
- El Zein R., Breda N., Gerant D., Zeller B., Maillard P., (2011) "N sources for current-year shoot growth in 50-year-old sessile oak trees: an *in situ* ^{15}N labeling approach". Manuscrit (article en revision), pp 30.
- Epron D., Ngao J., Dannoura M., Bakker M.R., Zeller B., Bazot S., Bosc A., Plain C., Lata J.C., Priault P., Barthes L. and Loustau D., (2011) "Seasonal variations of belowground carbon transfer assessed by *in situ* $^{13}\text{CO}_2$ pulse labeling of trees" Biogeosciences, **8** : 1153-1168.
- Granier A., Breda N., Biron P., Vilette S., (1999) "A lumped water balance model to evaluate duration and intensity of drought constraints in forest stands". Ecological Modelling, **116** : 269–283.
- Gundersen P., Emmett B.A., Kjonaas O.J., Koopmans C.J., Tietema A., (1998) "Impact of nitrogen deposition on nitrogen cycling in forests: a synthesis of NITREX data". Forest Ecology and Management **101**: 37-55.
- Ineris (2004) "Effets des dépôts atmosphériques de soufre et d'azote sur les sols et les eaux douces en France" pdf, pp 116.

- Isoke K., Suwa Y., Ikutani J., Kuroiwa M., Makita T., Takebayashi Y., Yoh M., Otsuka S., Senoo K., Ohmori M., Koba K., (2011) "Analytical Techniques for Quantifying $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ of Nitrate, Nitrites, Total Dissolved Nitrogen and Ammonium in Environment Samples Using a Gas Chromatograph Equipped with a Quadrupole Mass Spectrometer". *Microbes Environ.* **26** (1): 46-53
- Jackson W. A., Volk R. J., (1981) "Nitrate transport processes and compartmentation in root systems" In: Lyons, J. M., Valentine, R. C., Phillips, D. A., Rains, D. W., Huffaker, R. C., (Eds), Genetic engineering of symbiotic nitrogen fixation and conservation of fixed nitrogen. Plenum Press, New York, pp. 517-532.
- Jussy J.H. (1998) "Minéralisation de l'azote, nitrification et prélèvement racinaire dans différents écosystèmes forestiers sur sol acide". Mémoire de thèse, Université Henri Poincaré, Nancy, pp 270.
- Jussy J.H., Colin-Belgrand M., Ranger J., (2000) "Production and root uptake of mineral nitrogen in a chronosequence of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) in the Beaujolais Mounts". *Forest Ecology and Management* **128** : 197-209.
- Kaiser C., Fuchslueger L., Koranda M., Gorfer M., Stange C.F., Kitzler B., Rasche F., Strauss J., Sessitsch A., Zechmeister-Boltenstern S., and Richter A. *In press*. "Plants control the seasonal dynamic of microbial N cycling in a beech forest soil by belowground C allocation". *Ecology*. [doi:10.1890/10-1011.1].
- Kleinhofs A. and Warner R. L., (1990) "Advances in nitrate assimilation. The Biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Intermediary nitrogen metabolism. Vol.16. Academic Press, pp. 89-120.
- Lapeyrie F. (2005) Présentation de l'INRA, [En ligne] Disponible sur http://www.nancy.inra.fr/1_inra_en_lorraine. Consulté le 10 février 2011.
- Léopold A., Lambs L., Zeller B., Herteman M., Fromard F. (2011) "Tracing sewage water by ^{15}N in a mangrove ecosystem to test its bioremediation ability" (accepted, Rapid Commun. Mass Spectrom).
- MacDuff J. H., Jarvis S. C., Mosquera A., (1989) "Nitrate nutrition of grasses from steady-state supplies in flowing solution culture following nitrate deprivation and/or defoliation" *J. Exp. Bot.* **40**, 977-984.
- Mareschal L. (2008) "Effet des substitutions d'essences forestières sur l'évolution des sols et de leur minéralogie : bilan après 28 ans dans le site expérimental de Breuil (Morvan)" Mémoire de thèse, Université Henri Poincaré, Nancy, pp 332.
- Mayer B., Bollwerk S., Mansfeld T., Hütter B., Veizer J. (2001) "The oxygen isotope composition of nitrate generated by nitrification in acid forest floors" *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **65** (16) : 2743-2746.
- Mission de communication (2005) Présentation de l'INRA en Lorraine, [En ligne] Disponible sur http://www.nancy.inra.fr/1_inra_un_institut_national. Consulté le 10 février 2011.
- Nannipieri P., Eldor P. (2009) "The chemical and functional characterization of soil N and its abiotic components". *Soil Biology and Biochemistry* **41** (2009): 2357-2369.
- Office National des Forêts. Direction technique et commerciale bois. 2008. "15 ans de suivi des écosystèmes forestiers. Résultats, acquis et perspectives du RENECOFOR". In Rendez-vous techniques de l'ONF, hors-série n°4. 166 p.
- Peuke A.D. and Jeschke W.D. (1998) "The effects of light on induction, time courses, and kinetic patterns of net nitrate uptake in barley". *Plant Cell and Environment*, **21**(8):765-774.
- Poszwa A., (2010) Cours de Master 2 "Utilisation des isotopes pour étudier la dynamique de l'eau et des éléments dans l'environnement". Université Henri Poincaré, Pdf, pp 20.
- Puech J., (2009) Rapport de mission "Mise en valeur de la forêt française et développement de la filière bois" [En ligne] Pdf disponible sur http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/rapport-Puech___foretfran%C3%A7aise-developpement_filiere_bois.pdf. Consulté le 01/06/2011
- Richter A., Burrows J.P., Nuss H., Granier C. and Niemeier U. (2005) "Increase in tropospheric nitrogen dioxide over China observed from space". *Nature*, **437**(7055):129-132.
- Rothstein D.E. (2009) "Soil amino-acid availability across a temperate-forest fertility gradient". *Biogeochemistry*, **92**(3):201-215.

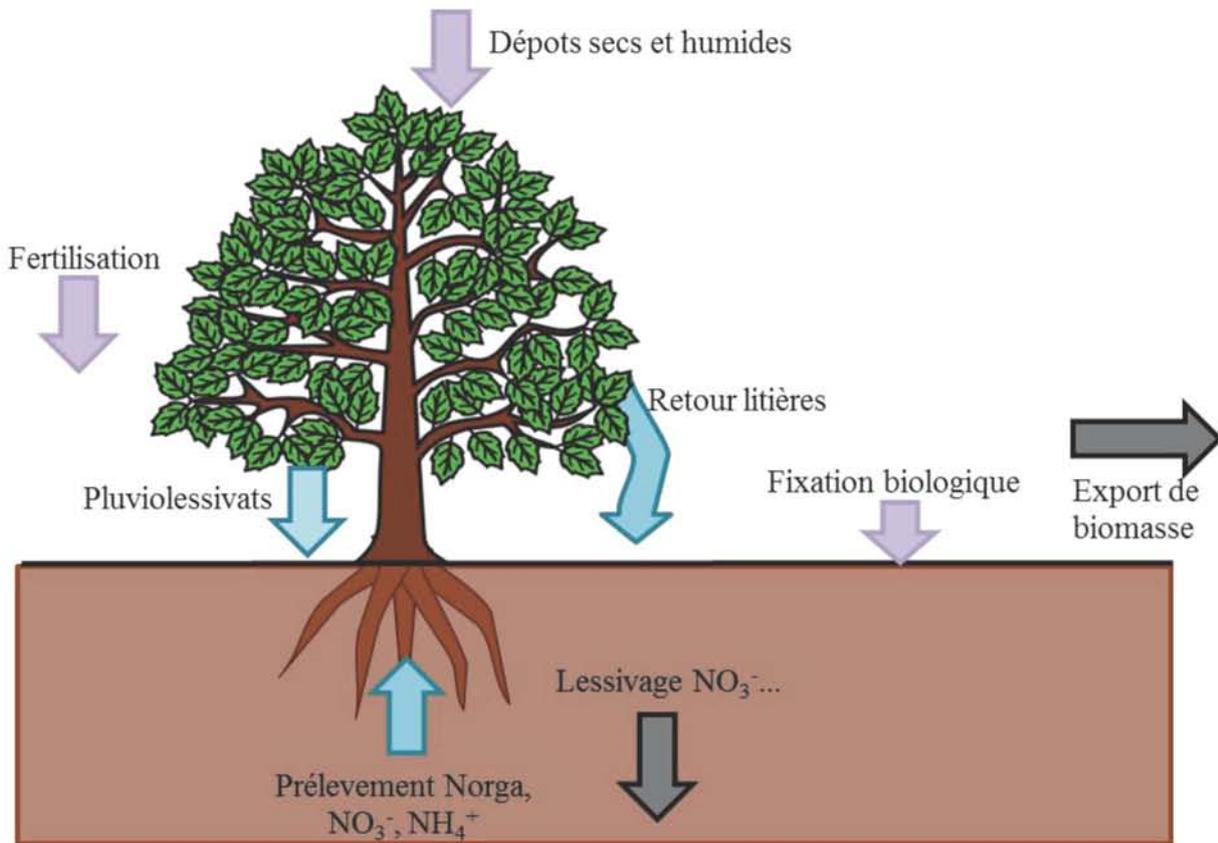
- Rütting T., Huygens D., Müller C., Van Cleemput O., Godoy R., Boeckx P., (2008) "Functional role of DNRA and nitrite reduction in a pristine south Chilean *Nothofagus* forest". Biogeochemistry **90**: 243-258.
- Schimel J.P. and Bennett J. (2004) "Nitrogen mineralization: Challenges of a changing paradigm". Ecology.
- Schulze E.D. 1989. "Air-pollution and forest decline in a spruce (*Picea abies*) forest". Science, **244**(4906):776-783.
- Siegenfuhr H., (2008) Impact de la coupe à blanc sur la minéralisation et la nitrification de l'azote dans le sol et origine de l'azote minéral contenu dans les pluviocessivats. Mémoire de Master 1, Université Henri Poincaré, Nancy.
- Siegenfuhr H., (2009) Traçage isotopique des formes d'azote prélevées par différentes espèces forestières et recyclées par les houppiers. Mémoire de Master 2, Université Henri Poincaré, Nancy, pp 25.
- Tateno R., Takena H. (2010) "Nitrogen uptake and nitrogen use efficiency above and below ground along a topographic gradient of soil nitrogen availability" Oecologia, **163** (3) : 793-804.
- Trum F., Titeux H, Ranger J., Delvaux B., (2011) "Influence of tree species on carbon and nitrogen transformation patterns in forest floor profiles" Annals of Forest Science, **40** (4), pp11.
- Ulrich B., (1983) "Interaction of forest canopies with atmospheric constituents : SO₂, alkali and earth alkali cations and chloride". Dordrecht : Reidel Publishing company, pp. 33-45.
- Wang T.J., Jiang F., Li S. and Liu Q. (2007) "Trends in air pollution during 1996-2003 and cross-border transport in city clusters over the Yangtze river delta region of China". Terrestrial Atmospheric and Oceanic Sciences, **18**(5):995-1009.
- Winchester J.W., Escalona L., Fu J.M. and Furbish D.J. (1995) "Atmospheric deposition and hydrogeologic flow of nitrogen in northern Florida watersheds". Geochimica et Cosmochimica Acta, **59**(11):2215-2222.
- Zinsou C., "Métabolisme de l'azote et de l'ammoniac" [En ligne] Disponible sur <http://cbzinsou.pagesperso-orange.fr/PDFDocuments/Chapitre%2014.pdf>. Consulté le 15 juin 2011.
- Zeller B., Recous S., Kunze M., Moukouri J., Colin-Belgrand M., Bienaimé S., Ranger J. and Dambrine E. (2007) "Influence of tree species on gross and net N transformations in forest soils". Annals of Forest Science, **64**(2):151-158.
- Zeller B., Colin-Belgrand M., Dambrine E., Martin F. (1997) " ^{15}N partitioning and production of ^{15}N labeled litter in beech trees following [^{15}N] urea spray". Annals of Forest Science, **55** (1998) 375-383.
- Zeller B., Colin-Belgrand M., Dambrine E., Martin F. (1999) "Fate of nitrogen release from ^{15}N -labelled litter in European beech forest". Tree Physiology, **21**, 153-162.

7. Annexes

Annexe 1 : Glossaire

- BEF : Unité de Recherche (UR) Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers
BM : Biomasse microbienne $\rightarrow [\text{X}] \text{ F} - [\text{X}] \text{ NF} = [\text{X}] \text{ BM}$, avec X = N ou C
CAAT : Cation alcalino-terreux
EA-IRMS : Analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse isotopique
F : Echantillon fumigé
 ^2H : Deutérium (isotope naturel et stable de l'hydrogène)
INRA : Institut National de Recherche Agronomique
NF : Echantillon non fumigé
N-NH₄ : Azote contenu dans l'ammonium
N-NO₃ : Azote contenu dans les nitrates
PL : Pluiolessivats
TOC : Dosage carbone total
TNM : Dosage azote total
TSF : Taillis sous futaie

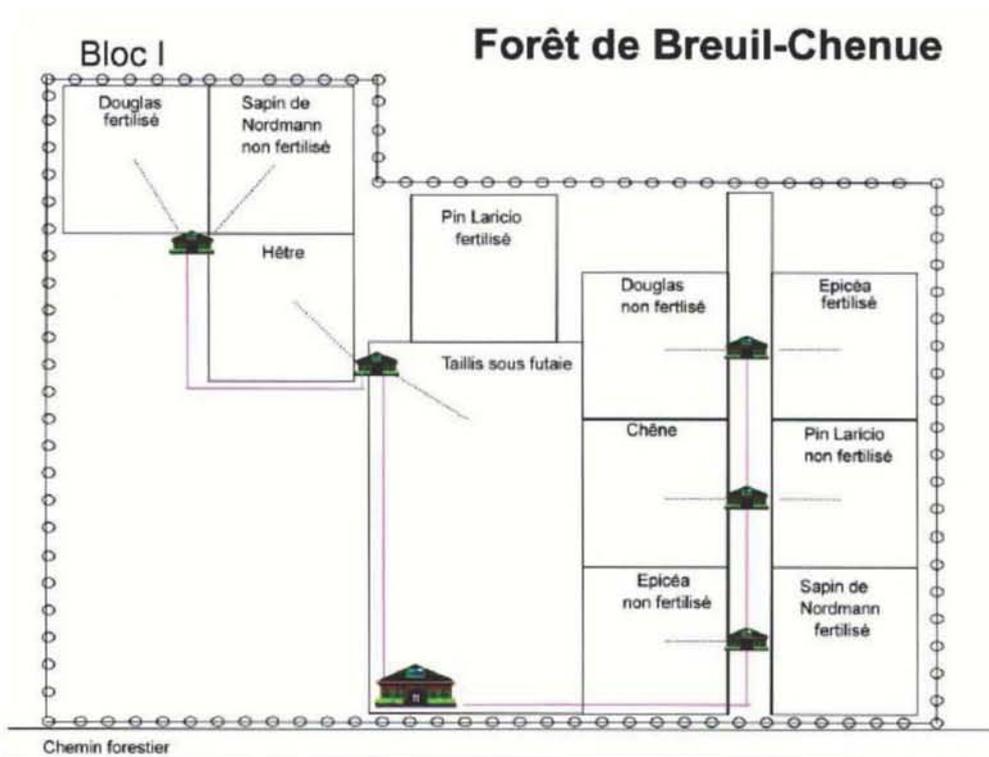
Annexe 2 : Cycle de l'azote simplifié sous forêt



Bédél, 2011



Annexe 3 : Site expérimental en forêt de Breuil-Chenu, Morvan, France



Annexe 4 : Etat des connaissances sur l'azote au niveau de la parcelle de Breuil

	TSF	Hêtre	Chêne	Epicéa	Pin	Sapin	Douglas	Unité	Source
Type humus	Moder	Mull	N.D.	Moder	Mull	Moder	Mull		Andrianarisoa, 2009
Miméralisation nette	0,34	1,22	0,56	0,93	1,07	N.D.	0,85		Andreu et al., 2004
Miméralisation brute	1,33	2,05	7,94	6,43	4,19	N.D.	8,5		Andreu et al., 2004
Nitrification nette	0,02	1,27	0,65	0,18	0,99	N.D.	0,24		Andreu et al., 2004
Nitrification brute	0,4	1,57	2,32	2,17	5,83	N.D.	4,77		Andreu et al., 2004
Stock N dans sol	2800	3100	N.D.	2400	2900	2800	2400	kg N.ha ⁻¹	Andrianarisoa, 2009
N microbien immobilisé	-	+	N.D.	++	-	N.D.	++		Andrianarisoa, 2009
Nitrification humus/ Ah	N.D.	-	++	--	N.D.	N.D.	+		Trum et al., 2011
Stimulation nitrification	-	+/-	N.D.	+/-	+	-	++		Andrianarisoa, 2009
Inhibition nitrification	+	-	N.D.	+/-	-	+/-	-		Andrianarisoa, 2009
Biomasse racinaire	4100	2200	N.D.	2700	850	2700	2600	kg.ha ⁻¹	Andrianarisoa, 2009
Prélèvement nitrate	N.D.	<0,1	<0,1	<0,1 à 0,1	0,1 à 0,2	<0,1 à 0,1	<0,1 à 0,1	μmol NO ₃ .g MS ⁻¹ .h ⁻¹	Sigenfuhr H., 2009
Prélèvement ammonium	N.D.	0,1	0,1	0,1 à 1,0	0,1 à 1,0	0,1 à 0,2	0,1 à 0,8	μmol NO ₃ .g MS ⁻¹ .h ⁻²	Sigenfuhr H., 2009
Retour N par les litières	65	45	N.D.	53	43	42	54,6	kg N.ha ⁻¹	Andrianarisoa, 2009
Nitrate lessivé à 30cm	0,05	0,9	N.D.	1,9	18,2	0,9	34,2	mg N-NO ₃ .l ⁻¹ de solution	Andrianarisoa, 2009
Bilan pertes N	0,33	6	N.D.	12,66	121,33	6	228	% de perte N	Andrianarisoa, 2009

Annexe 5 : Colorimètre a flux continu segmenté (SKALAR)

Principe :

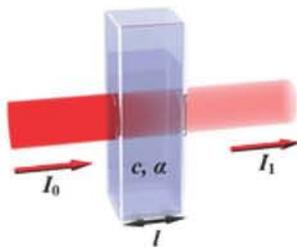
L'absorption d'un faisceau lumineux monochromatique dans un milieu homogène et isotrope est proportionnelle à la longueur du trajet optique suivi par cette radiation et la concentration, en solution, ou la pression partielle, en phase gazeuse, des espèces absorbantes.

La loi de Beer-Lambert : $I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon \ell C}$. ou encore $A_\lambda = -\log_{10} \frac{I}{I_0} = \varepsilon_\lambda \cdot \ell \cdot C$.

Paramètres de l'équation :

- I / I_0 est la transmittance de la solution (sans unité).
- A est l'absorbance ou densité optique à une longueur d'onde λ (sans unité).
- ε est le coefficient d'extinction molaire, exprimée en $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Il dépend de la longueur d'onde, la nature chimique de l'entité et la température.
- ℓ est la longueur du trajet optique dans la solution traversée (en cm).
- C est la concentration molaire de la solution (en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

Cette équation est très utile, si ℓ et ε sont connus, la concentration d'une substance peut être déduite de la quantité de lumière transmise par elle.



I_0 est l'intensité lumineuse venant de la source
 I_1 est l'intensité lumineuse transmise après le passage de la solution de concentration c dans une cuve de largeur l



Source : skalar.com

Schéma illustrant la transmittance I_0/I_1 (Source : Wikipedia) et représentation de l'appareil

Principe du dosage N-NO_3 [azote des nitrates] avec le San⁺⁺ (SKALAR) :

L'échantillon est dilué dans un tampon à pH 8,2, puis passe sur une colonne de grains de cadmium recouverts de noir de cuivre, pour réduire les nitrates en nitrites. Les nitrites résultants (initiaux et issus de la réduction) donnent une réaction de diazotation avec la sulfanilamide, puis un couplage avec le chlorhydrate d' α -naphthyl-ethylenediamine, pour former un complexe rose, dont l'intensité de coloration mesurée à 540nm est proportionnelle à la concentration initiale en nitrates + nitrites dans l'échantillon.

Principe du dosage de N-NH_4 [azote ammoniacal] avec le San⁺⁺ (SKALAR) :

La détermination de l'azote ammoniacal utilise la réaction de Berthelot modifiée : l'ammoniac est coloré en monochloramine ; celle-ci réagit avec le salicylate pour former le 5-aminosalicylate. Après oxydation et couplage, il se forme un complexe coloré vert. L'intensité de sa coloration, mesurée à 660nm, est en relation avec la concentration initiale en ammoniac.

Annexe 6 : TOC-VCSN / TNM-1 de Shimadzu



Analyseur Carbone et azote total

Principe de dosage du carbone (TOC-VCSN de Shimadzu) :

Le dosage du carbone total dans les solutions de sol se fait au moyen d'un analyseur de carbone Shimadzu : le TOC-VCSN (Annexe 6). Le principe du dosage est basé sur la conversion totale des constituants de l'échantillon en dioxyde de carbone (CO_2) en voie sèche : oxydation thermique de l'échantillon. L'échantillon est injecté dans un four chauffé à 680°C (720°C si l'azote total est mesuré simultanément) contenant un catalyseur Platine sur billes d'alumine qui assurent une conversion totale des constituants de l'échantillon en CO_2 . Le CO_2 libéré est entraîné par un flux d'oxygène vers le détecteur NDIR : cellule Infra Rouge qui détecte le CO_2 produit. Le TOC mesure un signal qui est converti en surface de pic. La concentration en carbone est déterminée en utilisant une courbe de calibration.

Principe du dosage de l'azote (TNM-1 de SHIMADZU) :

L'échantillon est introduit dans un tube à combustion contenant de la laine céramique au-dessus d'un catalyseur Platine chauffé à 720°C . L'azote total contenu dans l'échantillon est décomposé puis oxydé par O_2 pour devenir du monoxyde d'azote (NO). Le gaz vecteur, qui contient NO , est refroidi et déshumidifié par le déshumidificateur électronique, puis NO est mélangé à de l'ozone (O_3) pour donner du dioxyde d'azote (NO_2) excité. La réaction d'oxydation qui se produit est la suivante : $\text{NO} + \text{O}_3 \rightarrow \text{NO}_2 + \text{O}_2 + h\nu$. Quand cette molécule excitée se désintègre, il y a émission de lumière à $590\text{-}2500\text{nm}$. L'intensité de cette lumière est proportionnelle à la concentration en NO . La lumière émise est détectée par un photomultiplicateur. Le NO est détecté dans l'analyseur à chimiluminescence. Le détecteur transforme un signal analogique en surface de pic. La concentration en azote est déterminée en utilisant une courbe de calibration.

Annexe 7 : EA-IRMS



Spectromètre de masse (IRMS) Finnigan, Delta S, pour la détermination de la composition en isotopes stables $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$ couplé avec :
- un analyseur élémentaire, CE Instruments, NA 1500
- un Gas Bench II, Finnigan

Principe de l'EA-IRMS (Analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse isotopique):

L'échantillon est introduit dans une capsule d'étain avant passage au couplage EA-IRMS (couplage Analyseur Élémentaire-Spectromètre de Masse Isotopique).

Du gaz est produit (N_2 ou $^{15}\text{N}_2$ venant de l'azote et CO_2 venant du carbone) après la combustion de l'échantillon dans l'analyseur élémentaire. Le gaz est ensuite introduit dans un spectromètre de masse isotopique en flux continu type Optima (Micromass - Schéma de principe de l'EA-IRMS en Annexe 8).

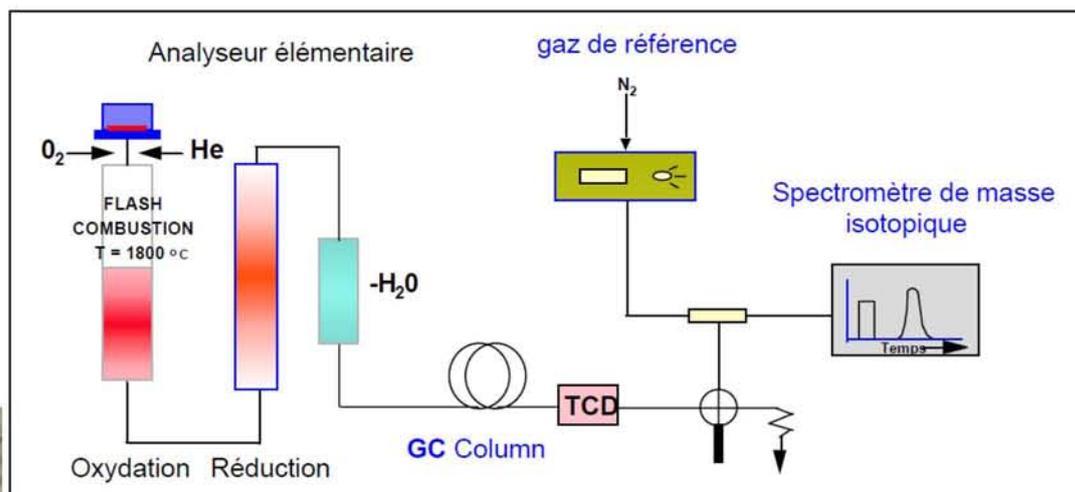


Schéma du couplage analyseur élémentaire – spectromètre de masse isotopique, en flux continu (Source Micromass).



Annexe 8 : Protocole d'extraction de N-NO_3 et N-NH_4 des solutions

Protocole d'extraction de l'azote de solutions II (2011)

Léa Bédel, 2011

Matériels nécessaires par échantillon :

Résines : 1 x Résine cationique : Prefilled Poly-Prep® Bio-Rad AG50W-X8, 100-200mesh

Tuyaux: Manifolds TYGON R3607, wall 0.91mm, ID 0,64mm, color code : orange/white
Tuyau flexible : TYGON R3603, wall 0.8, ID 2.4, OD 4.0

Pompe péristaltique pour automatiser le passage sur résines si les volumes sont importants
Pompe ISMATEC® (a unit of IDEX Corporation), type ISM444
Vitesses pour résines « 050 » à régler sur la pompe

Une seringue (5mL) avec une aiguille ; béchers en Téflon ; scalpel ; laine de Quartz ; ciseaux ; pinces fines ; capsules en étain.

Méthode :

Solutions de sols, pluviolessivats ou eau de pluie seront passées à travers une résine cationique afin de récupérer le N-NH_4^+ sur les résines contenues directement dans les manifolds de la pompe péristaltique, NO_3^- sera récupéré dans un bécher en Téflon.

➤ Préparation de la résine :

La résine doit être placée dans le tuyau flexible TYGON R3603. Pour se faire il faut aspirer la résine dans le tuyau à l'aide d'une seringue. Il doit y avoir environ 4 cm de résine pour des solutions peu concentrées (refaire le calcul des milliéquivalents de charges qui peuvent être fixés).

Ensuite il faut couper le tuyau à 0.5 cm d'un côté de la résine et mettre de la laine de quartz à l'aide d'une paire de pinces fines. Ensuite il faut couper l'autre extrémité et faire de même (illustration page IX).

➤ Installation des résines sur la pompe :

Les résines une fois prêtes, vont être connectées aux manifolds de la pompe Manifolds TYGON R3607 (couper un morceau après la pompe, insérer la résine entre les deux parties coupées). Les résines sont orientées verticalement, de façon à ce que le fluide la traverse en montant ce qui diminue le risque de circulation préférentielle, via les pores présents dans la résine (illustration page IX).

Réaliser trois passages de la solution à travers la résine cationique. Rincer à l'eau ultra pure (5 fois 3mL pour bécher et tuyau).

➤ Récupération des résines contenant le NH_4^+ :

Couper le tuyau après le bouchon de laine de quartz des deux côtés et récupérer la résine dans un eppendorf dont la masse vide est déterminée auparavant (si la résine ne descend pas toute seule : injecter de l'air dans le tuyau à l'aide de la seringue).

Faire sécher les résines (étuve 60°C pendant 3 jours) pour déterminer la masse sèche de résine. Ensuite faire les micro-pesées (5 mg de résine) et passer les résines à l'EA-IRMS (analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse à ratio isotopique).

➤ Récupération du résidu sec contenant les NO_3^- :

Faire évaporer à l'étuve (60°C) la solution contenant les anions dans un bécher en Téflon à fond conique. Le résidu (en totalité) récupéré sera conditionné dans des capsules en étain, pesé et analysé à l'EA-IRMS

Annexe 9 : Tests de Mann-Kendall sur l'évolution des concentrations en nitrates dans les solutions

Pour la pluie :

Test de tendance de Mann-Kendall / Test bilatéral (Série1) :

Tau de Kendall	0,127
S	553,000
p-value (bilatérale)	0,071
alpha	0,05

La p-value exacte n'a pas pu être calculée. Une approximation a été utilisée pour calculer la p-value.

Interprétation du test :

H0 : Il n'y a pas de tendance dans la série

Ha : Il existe une tendance dans la série

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 7,14%.

Pour les pluviollessivats :

Test de tendance de Mann-Kendall / Test bilatéral (Série1) :

Tau de Kendall	0,021
S	98,000
p-value (bilatérale)	0,759
alpha	0,05

La p-value exacte n'a pas pu être calculée. Une approximation a été utilisée pour calculer la p-value.

Interprétation du test :

H0 : Il n'y a pas de tendance dans la série

Ha : Il existe une tendance dans la série

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 75,88%.

Pour les bougies à 15 cm :

Test de tendance de Mann-Kendall / Test bilatéral (Série1) :

Tau de Kendall	0,025
S	116,000
p-value (bilatérale)	0,716
alpha	0,05

La p-value exacte n'a pas pu être calculée. Une approximation a été utilisée pour calculer la p-value.

Interprétation du test :

H0 : Il n'y a pas de tendance dans la série

Ha : Il existe une tendance dans la série

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 71,59%.

Pour les bougies à 30 cm :

Test de tendance de Mann-Kendall / Test bilatéral (Série1) :

Tau de Kendall	-0,070
S	-304,000
p-value (bilatérale)	0,322
alpha	0,05

La p-value exacte n'a pas pu être calculée. Une approximation a été utilisée pour calculer la p-value.

Interprétation du test :

H_0 : Il n'y a pas de tendance dans la série

H_a : Il existe une tendance dans la série

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H_0 .

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H_0 alors qu'elle est vraie est de 32,23%.

Pour les bougies à 60 cm :

Test de tendance de Mann-Kendall / Test bilatéral (Série1) :

Tau de Kendall	-0,018
S	-82,000
p-value (bilatérale)	0,798
alpha	0,05

La p-value exacte n'a pas pu être calculée. Une approximation a été utilisée pour calculer la p-value.

Interprétation du test :

H_0 : Il n'y a pas de tendance dans la série

H_a : Il existe une tendance dans la série

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H_0 .

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H_0 alors qu'elle est vraie est de 79,77%.

Annexe 10 : Tableau de données : concentrations et flux N-NO_3 et N-NH_4

	Pluie (étang)		Dépôts secs		Pluies sivat moy					
	Qté (mm)	FluxN-NO3 (kg/ha)	FluxN-NH4 (kg/ha)	FluxN-NO3 (kg/ha)	FluxN-NH4 (kg/ha)	pH	qté (mm)	FluxN-NO3 (kg/ha)	fluxN-NH4 (kg/ha)	F lux TN (kg/ha)
8 au 29 janvier 2002	57,00	0,12	0,16	0,00	0,00	5,65	44,23	0,11	0,11	N.A.
30 jan au 27 fev	132,49	0,20	0,37	0,00	0,00	6,05	99,88	0,18	0,30	N.A.
28 fev au 26 mars	54,56	0,24	0,46	0,00	0,00	6,01	47,25	0,12	0,32	N.A.
27 mars au 24 avril	3,50	0,02	0,04	0,03	0,02	6,23	109	0,05	0,05	N.A.
25 avril au 22 mai	65,00	0,29	1,76	0,01	0,00	5,91	43,61	0,30	0,40	N.A.
23 mai au 18 juin	110,00	0,21	1,24	0,00	0,00	5,92	73,88	0,21	0,28	N.A.
19 juin au 17 juill	77,00	0,33	0,28	0,00	0,00	5,92	50,09	0,14	0,11	N.A.
18 juill au 21 août	52,00	0,32	0,71	0,01	0,00	5,79	38,20	0,33	0,30	N.A.
22 août au 11 sept	68,00	0,37	0,56	0,03	0,00	5,57	44,68	0,40	0,23	N.A.
12 sept au 8 oct	24,00	0,25	0,44	0,11	0,00	5,72	18,74	0,36	0,08	N.A.
9 oct au 5 nov	165,00	0,33	0,96	0,00	0,00	6,03	106,35	0,08	0,11	N.A.
6 nov au 3 dec	19,53	0,13	0,15	0,01	0,00	5,53	10,64	0,15	0,16	N.A.
4 dec au 7 jan 2003	168,03	0,22	0,27	0,00	0,00	5,52	136,09	0,11	0,17	N.A.
8 jan au 28 jan	67,41	0,23	0,29	0,00	0,00	4,97	32,74	0,14	0,13	N.A.
29 jan au 25 fev	73,69	0,20	0,14	0,03	0,02	5,33	66,06	0,23	0,16	N.A.
26 fev au 26 mars	27,99	0,11	0,19	0,00	0,00	5,90	13,67	0,07	0,12	N.A.
27 mars au 23 avril	17,00	0,21	0,48	0,09	0,00	5,10	13,33	0,29	0,26	N.A.
24 avril au 20 mai	83,00	0,27	0,99	0,00	0,00	5,92	54,41	0,16	0,27	N.A.
21 mai au 18 juin	100,00	0,25	0,91	0,03	0,00	6,09	59,82	0,28	0,26	N.A.
19 juin au 16 juill	27,00	0,12	0,66	0,04	0,00	6,04	18,74	0,16	0,03	N.A.
17 juill au 12 août	72,00	0,16	1,21	0,11	0,00	6,29	58,74	0,28	0,13	N.A.
13 août au 9 sept	64,00	0,35	0,51	0,13	0,00	5,86	45,77	0,48	0,06	N.A.
10 sept au 6 oct	77,00	0,32	0,42	0,00	0,00	6,38	55,50	0,25	0,04	N.A.
7 oct au 4 nov	113,00	0,34	0,42	0,00	0,00	5,96	96,58	0,11	0,19	N.A.
5 nov au 2 dec	165,00	0,35	0,30	0,00	0,00	6,61	79,15	0,06	0,04	N.A.
3 dec au 6 jan 2004	93,85	0,20	0,19	0,01	0,00	5,69	73,95	0,21	0,17	N.A.
7 jan au 27 jan	179,74	0,29	0,09	0,01	0,15	5,91	178,58	0,30	0,24	N.A.
28 jan au 24 fev	42,49	0,39	0,39	0,00	0,00	6,08	44,55	0,39	0,39	N.A.
25 fev au 23 mars	38,26	0,33	0,40	0,00	0,00	5,59	30,69	0,26	0,34	N.A.
24 mars au 20 avril	30,17	0,21	0,25	0,00	0,00	5,86	28,47	0,21	0,22	0,55
21 avril au 18 mai	98,00	0,43	0,89	0,00	0,00	6,51	74,96	0,31	0,23	0,86
19 mai au 15 juin	65,00	0,27	0,74	0,00	0,00	5,28	49,01	0,03	0,00	0,73
16 juin au 6 juill	21,00	0,05	0,53	0,00	0,00	5,73	17,65	0,00	0,01	0,24
7 juill au 10 août	95,00	0,55	0,98	0,00	0,00	6,62	59,82	0,16	0,18	0,56
11 août au 7 sept	110,00	0,24	0,30	0,00	0,00	6,29	94,42	0,21	0,27	0,76
8 sept au 5 oct	35,00	0,18	0,37	0,00	0,00	6,72	26,30	0,12	0,11	0,38
6 oct au 2 nov	150,00	0,45	1,12	0,00	0,00	6,45	106,35	0,22	0,15	0,71
3 nov au 3 dec	91,00	0,36	0,33	0,00	0,00	6,29	61,98	0,21	0,08	0,43
4 dec au 21 dec	57,26	0,09	0,07	0,00	0,01	6,03	52,70	0,08	0,08	0,26
22 dec au 25 jan 2005	133,26	0,40	0,42	0,00	0,00	6,11	119,66	0,35	0,34	0,78

	Pluie (etang)		Dépôts secs		Pluvioléssivats moy					
	Qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	pH	qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	flux N-NH4 (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)	
2005	26 jan au 22 fév	105,66	0,11	0,26	0,36	5,20	93,21	0,47	0,53	1,14
	23 fév au 22 mars	10,27	0,18	0,08	0,23	4,77	24,33	0,49	0,30	0,85
	23 mars au 19 avril	140,00	0,91	1,43	0,00	5,49	104,15	0,77	0,87	1,76
	20 avril au 17 mai	65,00	0,22	0,89	0,00	6,42	53,33	0,20	0,16	0,57
	18 mai au 14 juin	18,00	0,10	0,17	0,00	6,85	10,09	0,09	0,11	0,28
	15 juin au 11 juill	82,00	0,25	0,43	0,00	6,12	59,82	0,26	0,34	0,87
	12 juill au 9 août	40,00	0,19	0,34	0,00	6,17	29,55	0,20	0,15	0,45
	10 août au 6 sept	58,00	0,39	0,68	0,00	6,18	28,47	0,32	0,21	0,67
	7 sept au 4 oct	64,00	0,28	0,49	0,00	6,43	41,44	0,15	0,09	0,33
	5 oct au 2 nov	32,00	0,22	0,40	0,00	6,40	25,22	0,13	0,01	0,29
	3 nov au 28 nov	62,00	0,24	0,26	0,00	6,28	37,12	0,08	0,05	0,22
	29 nov au 20 dec	90,13	0,32	0,30	0,00	5,60	64,26	0,16	0,14	0,34
21 dec au 23 jan 2006	98,73	0,41	0,40	0,00	5,78	79,79	0,39	0,32	0,66	
2006	24 jan au 20 fév	92,05	0,32	0,39	0,17	6,02	93,66	0,49	0,48	1,00
	21 fév au 21 mars	14,86	0,26	0,55	0,05	5,79	136,73	0,31	0,37	0,96
	22 mars au 19 avril	126,59	0,46	1,12	0,00	5,93	100,60	0,44	0,95	1,16
	20 avril ou 15 mai	55,00	0,21	0,47	0,00	6,57	42,51	0,18	0,29	0,53
	16 mai au 13 juin	70,00	0,25	0,52	0,00	6,77	50,19	0,24	0,45	0,52
	14 juin au 11 juill	72,00	0,19	0,80	0,00	6,56	51,73	0,12	0,24	0,52
	12 juill au 8 août	65,00	0,36	0,91	0,00	6,24	41,74	0,26	0,38	0,72
	9 août au 5 sept	120,00	0,39	0,75	0,00	5,53	75,57	0,29	0,30	0,64
	6 sept au 3 oct	105,00	0,48	0,69	0,00	6,01	75,57	0,40	0,36	0,62
	4 oct au 25 oct	110,00	0,31	0,49	0,00	6,21	61,71	0,04	0,15	0,43
	26 oct au 28 nov	115,00	0,31	0,54	0,00	6,46	75,57	0,14	0,18	0,54
	29 nov au 20 dec	38,52	0,12	0,07	0,00	6,31	34,54	0,10	0,06	0,22
21 dec au 21 jan 2007	134,00	0,35	0,41	0,00	5,94	98,60	0,27	0,32	0,75	
2007	22 jan au 20 fév	100,14	0,25	0,29	0,05	6,05	102,45	0,30	0,26	0,88
	21 fév au 20 mars	130,70	0,27	0,51	0,00	6,31	114,14	0,23	0,48	1,57
	21 mars au 17 avril	74,00	0,88	1,22	0,00	6,47	39,03	0,43	0,52	0,49
	18 avril au 15 mai	75,00	0,43	1,22	0,00	6,54	50,96	0,06	0,45	0,52
	16 mai au 12 juin	143,00	0,44	1,04	0,00	6,45	75,57	0,11	0,13	1,02
	13 juin au 10 juill	150,00	0,33	0,87	0,00	6,02	75,57	0,13	0,23	0,92
	11 juill au 7 août	143,00	0,31	0,75	0,00	6,16	77,08	0,28	0,30	1,07
	8 août au 4 sept	92,00	0,42	0,51	0,00	6,22	59,41	0,27	0,18	0,61
	5 sept au 2 oct	125,00	0,66	0,86	0,00	6,46	75,57	0,46	0,32	0,68
	3 oct au 25 oct	62,00	0,20	0,41	0,00	6,15	47,89	0,10	0,09	0,43
	26 oct au 29 nov	68,00	0,52	0,40	0,00	6,67	58,64	0,39	0,12	0,42
	30 nov au 18 dec	162,00	0,38	0,31	0,00	6,19	105,15	0,13	0,22	0,66
19 dec au 22 jan 2008	88,58	0,30	0,27	0,00	6,41	72,86	0,24	0,20	0,45	

	P pluie (etang)		Dépôts secs		P pluielessivat moy					
	Qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	pH	qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	flux N-NH4 (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)
du 23 jan au 19 fev	40,06	0,11	0,14	0,00	0,00	6,15	37,17	0,09	0,11	0,24
20 fev au 17 mars	125,82	0,68	0,64	0,00	0,00	6,58	103,61	0,43	0,53	0,93
18 mars au 8 avril	156,00	0,52	0,69	0,00	0,00	6,32	75,57	0,28	0,31	0,69
9 avril au 13 mai	65,00	0,36	0,53	0,00	0,00	5,68	49,42	0,28	0,23	0,49
14 mai au 10 juin	150,00	0,58	0,84	0,00	0,00	6,16	75,57	0,28	0,14	0,57
11 juin au 11 juill	96,00	0,30	0,81	0,00	0,00	6,42	63,25	0,25	0,20	1,00
2008 12 juill au 5 aout	37,00	0,15	0,81	0,00	0,00	6,28	23,30	0,12	0,21	0,46
6 aout au 2 sept	116,00	0,21	0,56	0,02	0,00	6,49	73,64	0,23	0,24	0,54
3 sept au 29 sept	106,00	0,21	0,35	0,00	0,00	6,33	72,47	0,18	0,22	0,56
30 sept au 28 oct	104,00	0,20	0,55	0,00	0,00	6,50	75,57	0,19	0,20	0,79
29 oct au 25 nov	91,00	0,23	0,39	0,00	0,00	6,27	67,86	0,14	0,11	0,36
26 nov au 16 dec	76,39	0,22	0,14	0,00	0,00	6,26	56,10	0,20	0,13	0,42
17 dec au 20 jan 2009	37,49	0,15	0,06	0,00	0,05	6,17	33,38	0,13	0,11	0,35
1 au 12 jan	7,50	0,01	0,02	0,30	0,16	N.A.	96,35	0,31	0,17	0,68
13 jan au 9 fev	106,60	0,28	0,25	0,08	0,07	N.A.	99,13	0,36	0,32	0,81
10 fev au 16 mars	84,00	0,37	0,42	0,25	0,00	N.A.	82,99	0,62	0,38	0,88
17 mars au 6 avril	93,80	0,11	0,47	0,00	0,00	N.A.	66,30	0,11	0,23	1,09
7 avril au 20 avril	9,70	0,06	0,08	0,00	0,00	N.A.	6,92	0,08	0,06	0,19
21 avril au 4 mai	18,20	0,56	0,51	0,00	0,00	N.A.	2,01	0,03	0,03	0,07
5 mai au 18 mai	49,30	0,42	0,62	0,00	0,00	N.A.	21,99	0,14	0,13	0,32
2010 19 mai au 15 juin	2,40	0,02	0,04	0,04	0,04	N.A.	22,98	0,05	0,08	0,23
16 juin au 15 juill	58,50	0,28	1,50	0,00	0,00	N.A.	15,07	0,00	0,01	0,21
16 juill au 10 aout	55,90	0,19	0,59	0,00	0,00	N.A.	35,13	0,08	0,09	0,45
11 aout au 8 sept	93,60	0,34	0,32	0,00	0,00	N.A.	56,83	0,21	0,16	0,49
9 sept au 4 oct	89,00	0,35	0,53	0,00	0,00	N.A.	65,18	0,13	0,00	0,66
5 oct au 4 nov	52,60	0,18	0,18	0,00	0,00	N.A.	45,15	0,02	0,00	0,19
5 nov au 7 dec	176,70	0,50	0,39	0,00	0,00	N.A.	164,46	0,36	0,19	0,55
8 dec au 3 jan 2011	84,00	0,18	0,39	0,00	0,00	N.A.	95,79	0,40	0,30	0,74

	Bougies 15 cm moy					Bougies 30 cm moy					Bougies 60 cm moy				
	pH	qté (mm)	Flux N-NO ₃ (kg/ha)	Flux N-NH ₄ (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)	pH	qté (mm)	Flux N-NO ₃ (kg/ha)	Flux N-NH ₄ (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)	pH	qté (mm)	Flux N-NO ₃ (kg/ha)	Flux N-NH ₄ (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)
8 au 29 janvier 2002	5.08	52,60	0,04	0,07	N.A.	5.02	52,60	0,15	0,02	N.A.	5.05	52,60	0,17	0,02	N.A.
30 jan au 27 fev	4.83	141,30	0,48	0,02	N.A.	4.83	141,30	0,38	0,02	N.A.	4.91	141,30	0,47	0,04	N.A.
28 fev au 26 mars	4.96	68,80	0,21	0,11	N.A.	4.93	68,80	0,14	0,14	N.A.	4.94	68,80	0,22	0,11	N.A.
27 mars au 24 avril	5.30	2,30	0,01	0,01	N.A.	5.33	1,40	0,00	0,00	N.A.	5.03	1,20	0,00	0,00	N.A.
25 avril au 22 mai	N.A.	47,50	0,20	0,13	N.A.	5.01	38,10	0,14	0,00	N.A.	N.A.	32,30	0,13	0,08	N.A.
23 mai au 18 juin	N.A.	57,80	0,22	0,15	N.A.	4.70	44,10	0,16	0,01	N.A.	N.A.	37,40	0,15	0,09	N.A.
2002	N.A.	33,90	0,12	0,11	N.A.	N.A.	25,70	0,05	0,08	N.A.	N.A.	2,110	0,08	0,06	N.A.
19 juin au 17 juill	N.A.	41,30	0,14	0,10	N.A.	N.A.	31,40	0,06	0,11	N.A.	N.A.	25,70	0,10	0,11	N.A.
18 juill au 21 aout	N.A.	30,00	0,11	0,10	N.A.	5.91	22,50	0,01	0,14	N.A.	N.A.	18,50	0,07	0,04	N.A.
22 aout au 11 sept	N.A.	12,60	0,04	0,04	N.A.	N.A.	9,60	0,01	0,03	N.A.	N.A.	8,00	0,03	0,02	N.A.
12 sept au 8 oct	5.05	151,90	0,33	0,19	N.A.	4.98	131,60	0,13	0,38	N.A.	4.87	111,00	0,51	0,20	N.A.
9 oct au 5 nov	5.27	128,20	0,09	0,18	N.A.	4.73	125,90	0,01	0,13	N.A.	4.91	121,30	0,14	0,13	N.A.
6 nov au 3 dec	5.01	175,50	0,06	0,01	N.A.	4.92	175,50	0,04	0,00	N.A.	5.00	175,50	0,00	0,00	N.A.
4 dec au 7 jan 2003															
8 jan au 28 jan	5.40	51,10	0,04	0,02	N.A.	N.A.	51,10	0,06	0,03	N.A.	5.38	51,10	0,00	0,00	N.A.
29 jan au 25 fev	5.46	59,90	0,17	0,01	N.A.	5.44	59,90	0,12	0,04	N.A.	5.47	59,90	0,03	0,00	N.A.
26 fev au 26 mars	5.31	30,00	0,12	0,04	N.A.	5.21	30,00	0,05	0,04	N.A.	5.31	30,00	0,00	0,03	N.A.
27 mars au 23 avril	5.25	12,10	0,07	0,01	N.A.	4.97	9,60	0,03	0,02	N.A.	5.05	8,10	0,00	0,00	N.A.
24 avril au 20 mai	5.29	47,40	0,23	0,03	N.A.	4.87	37,00	0,09	0,02	N.A.	5.11	31,40	0,01	0,04	N.A.
21 mai au 18 juin	5.33	19,00	0,07	0,01	N.A.	4.78	14,40	0,04	0,01	N.A.	5.07	11,80	0,00	0,01	N.A.
2003	5.86	19,60	0,09	0,09	N.A.	5.17	14,90	0,06	0,05	N.A.	5.64	12,10	0,01	0,05	N.A.
19 juin au 16 juill	N.A.	8,60	0,03	0,03	N.A.	N.A.	6,50	0,02	0,03	N.A.	6.67	5,30	0,00	0,04	N.A.
17 juill au 12 aout	6.15	21,40	0,09	0,10	N.A.	N.A.	16,40	0,04	0,06	N.A.	5.60	15,20	0,01	0,04	N.A.
13 aout au 9 sept	N.A.	35,20	0,09	0,13	N.A.	N.A.	26,90	0,07	0,10	N.A.	N.A.	21,70	0,02	0,06	N.A.
10 sept au 6 oct	5.68	95,50	0,16	0,18	N.A.	5.54	79,60	0,19	0,45	N.A.	5.13	64,60	0,07	0,14	N.A.
7 oct au 4 nov	5.29	100,60	0,31	0,09	N.A.	4.96	96,40	0,13	0,05	N.A.	5.70	82,60	0,10	0,05	N.A.
5 nov au 2 dec	5.16	79,70	0,26	0,01	N.A.	4.96	79,70	0,22	0,02	N.A.	5.11	79,70	0,07	0,01	N.A.
3 dec au 6 jan 2004															
7 jan au 27 jan	5.17	215,40	0,59	0,08	N.A.	4.97	215,40	1,20	0,10	N.A.	5.10	215,40	0,23	0,13	N.A.
28 jan au 24 fev	5.25	31,70	0,09	0,06	N.A.	4.96	31,70	0,15	0,05	N.A.	5.08	31,70	0,04	0,05	N.A.
25 fev au 23 mars	5.29	33,90	0,06	0,02	N.A.	4.99	33,90	0,08	0,00	N.A.	5.09	33,90	0,00	0,02	N.A.
24 mars au 20 avril	5.33	35,40	0,11	0,01	0,24	4.95	34,20	0,08	0,00	0,16	5.19	33,80	0,01	0,00	0,09
21 avril au 18 mai	5.67	69,60	0,17	0,10	0,65	5.23	63,20	0,21	0,04	0,33	N.A.	60,20	0,03	0,16	0,46
19 mai au 15 juin	6.14	35,50	0,11	0,08	0,33	5.17	27,10	0,09	0,00	0,13	5.83	21,80	0,01	0,06	0,16
2004	7.35	9,00	0,01	0,10	0,11	5.38	6,90	0,01	0,02	0,09	6.29	5,50	0,00	0,04	0,06
16 juin au 6 juill	6.52	53,00	0,06	0,65	1,24	6.12	40,60	0,09	0,16	0,55	6.12	32,60	0,05	0,28	0,58
7 juill au 10 aout	6.31	80,50	0,06	0,29	0,69	5.02	61,40	0,03	0,09	0,33	5.30	49,60	0,01	0,17	0,33
11 aout au 7 sept	6.62	21,20	0,05	0,20	0,49	5.86	16,30	0,01	0,05	0,16	5.70	13,00	0,01	0,04	0,12
8 sept au 5 oct	5.63	123,70	0,14	0,27	1,08	5.09	106,20	0,03	0,12	0,53	5.33	88,30	0,04	0,13	0,46
6 oct au 2 nov	5.44	66,40	0,03	0,14	0,47	5.02	62,50	0,01	0,05	0,23	5.26	56,30	0,02	0,07	0,22
3 nov au 3 dec	5.48	67,20	0,08	0,23	0,66	5.08	67,20	0,00	0,11	0,31	N.A.	65,90	0,05	0,12	0,23
4 dec au 21 dec	5.32	126,70	0,29	0,40	0,98	4.94	126,70	0,06	0,20	0,38	5.34	126,70	0,13	0,49	0,80
22 dec au 25 jan 2005															

	Bougies 15 cm moy					Bougies 30 cm moy					Bougies 60 cm moy				
	pH	qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)	pH	qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)	pH	qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)
26 jan au 22 fév	5,18	90,30	0,26	0,19	0,70	5,00	90,30	0,02	0,10	0,31	5,21	90,30	0,09	0,22	0,48
23 fév au 22 mars	5,20	20,10	0,08	0,07	0,22	4,97	20,10	0,02	0,03	0,07	5,32	20,10	0,03	0,06	0,11
23 mars au 19 avril	5,11	111,90	0,70	0,22	1,19	5,04	111,90	0,17	0,09	0,46	5,18	111,90	0,23	0,22	0,58
20 avril au 17 mai	5,44	56,40	0,28	0,14	0,61	5,16	46,10	0,04	0,07	0,21	5,36	40,80	0,04	0,11	0,22
18 mai au 14 juin	6,03	8,60	0,03	0,04	0,13	5,32	6,40	0,00	0,02	0,04	5,58	5,60	0,01	0,02	0,04
15 juin au 11 juill	N.A.	29,90	0,10	0,12	0,38	N.A.	22,60	0,03	0,07	0,27	N.A.	18,50	0,02	0,07	0,11
2005 12 juill au 9 août	N.A.	18,40	0,05	0,06	0,23	N.A.	13,90	0,01	0,05	0,16	N.A.	11,30	0,01	0,06	0,09
10 août au 6 sept	N.A.	13,90	0,04	0,06	0,17	N.A.	10,60	0,01	0,03	0,06	N.A.	8,30	0,01	0,03	0,02
7 sept au 4 oct	N.A.	31,20	0,09	0,12	0,41	N.A.	23,80	0,02	0,06	0,16	N.A.	19,30	0,02	0,06	0,07
5 oct au 2 nov	N.A.	18,00	0,05	0,06	0,14	N.A.	13,50	0,01	0,03	0,05	N.A.	11,00	0,01	0,03	0,02
3 nov au 28 nov	N.A.	44,80	0,13	0,15	0,36	6,62	34,40	0,06	0,56	1,15	N.A.	27,80	0,03	0,06	0,05
29 nov au 20 dec	4,92	78,60	0,19	0,21	0,45	4,79	72,50	0,07	0,24	0,30	4,69	58,80	0,07	0,17	0,07
21 dec au 23 jan 2006	5,28	95,10	0,21	0,37	0,76	4,94	93,10	0,03	0,31	0,48	5,04	87,10	0,03	0,25	0,31
24 jan au 20 fév	5,40	112,30	0,26	0,32	0,85	5,02	112,30	0,09	0,18	0,40	5,21	112,30	0,09	0,22	0,46
21 fév au 21 mars	5,38	146,20	0,29	0,31	1,16	5,00	146,20	0,07	0,22	0,81	5,11	146,20	0,00	0,22	0,49
22 mars au 19 avril	5,27	123,40	0,36	0,67	1,02	4,92	123,40	0,04	0,54	0,55	5,06	123,40	0,00	0,64	0,44
20 avril ou 15 mai	5,85	39,50	0,16	0,28	0,55	5,47	31,70	0,01	0,14	0,19	5,83	27,80	0,01	0,18	0,21
16 mai au 13 juin	5,53	29,30	0,05	0,18	0,26	5,27	26,30	0,00	0,12	0,11	5,75	25,10	0,02	0,15	0,13
14 juin au 11 juill	N.A.	49,50	0,12	0,26	0,63	5,78	37,50	0,00	0,16	0,47	N.A.	30,60	0,03	0,17	0,25
2006 12 juill au 8 août	5,78	38,40	0,07	0,23	0,45	5,41	29,30	0,03	0,14	0,30	N.A.	23,60	0,03	0,16	0,24
9 août au 5 sept	6,01	83,00	0,39	1,13	2,23	4,47	63,30	0,07	0,20	0,38	5,45	51,20	0,07	0,38	0,51
6 sept au 3 oct	N.A.	90,10	0,24	0,62	1,53	5,37	68,90	0,15	0,29	0,58	N.A.	56,00	0,04	0,23	0,30
4 oct au 25 oct	5,69	59,10	0,08	0,36	0,87	4,92	54,90	0,00	0,08	0,32	5,24	44,60	0,00	0,15	0,44
26 oct au 28 nov	5,21	90,20	0,20	0,19	0,71	4,97	85,70	0,06	0,12	0,31	5,35	76,40	0,02	0,16	0,23
29 nov au 20 dec	5,39	32,30	0,05	0,05	0,19	5,04	32,30	0,04	0,02	0,12	5,29	32,30	0,03	0,03	0,11
21 dec au 21 jan 2007	5,03	129,90	0,09	0,20	1,04	4,85	129,90	0,01	0,17	0,58	5,02	129,90	0,02	0,20	0,51
22 jan au 20 fév	5,12	99,60	0,13	0,13	0,75	4,88	99,60	0,08	0,09	0,37	4,94	99,60	0,05	0,11	0,33
21 fév au 20 mars	4,77	144,70	0,18	0,20	1,14	4,86	144,70	0,08	0,24	0,59	4,93	144,70	0,08	0,29	0,48
21 mars au 17 avril	5,04	53,20	0,11	0,05	0,44	5,05	53,00	0,05	0,04	0,22	5,16	53,00	0,02	0,04	0,17
18 avril au 15 mai	5,68	52,80	0,20	0,38	0,73	5,22	40,20	0,03	0,11	0,19	5,41	33,60	0,02	0,12	0,16
16 mai au 12 juin	5,06	109,20	0,32	0,27	0,97	5,29	91,50	0,09	0,18	0,41	5,49	82,70	0,01	0,18	0,37
13 juin au 10 juill	5,08	97,40	0,18	0,11	1,22	4,99	89,40	0,04	0,08	1,07	N.A.	88,10	0,06	0,51	0,65
2007 11 juill au 7 août	5,21	73,80	0,13	0,10	0,87	5,11	56,20	0,03	0,06	0,66	N.A.	45,70	0,03	0,32	0,43
8 août au 4 sept	5,00	61,30	0,13	0,07	1,64	5,09	46,50	0,03	0,03	0,24	N.A.	39,00	0,03	0,21	0,17
5 sept au 2 oct	5,18	139,40	0,28	0,28	1,80	5,24	112,10	0,06	0,20	0,75	N.A.	94,40	0,06	0,47	0,47
3 oct au 25 oct	5,19	1130	0,02	0,02	0,17	5,14	10,00	0,01	0,02	0,07	N.A.	9,00	0,01	0,05	0,04
26 oct au 29 nov	5,09	64,20	0,20	0,39	0,51	5,07	60,30	0,12	0,05	0,22	N.A.	54,20	0,04	0,24	0,16
30 nov au 18 dec	5,06	159,30	0,24	0,28	1,29	5,05	159,30	0,13	0,25	0,58	N.A.	158,20	0,11	0,67	0,53
19 dec au 22 jan 2008	4,98	103,80	0,24	0,18	0,50	5,02	103,80	0,17	0,11	0,38	N.A.	103,80	0,07	0,44	0,41

	Bougies 15 cm moy					Bougies 30 cm moy					Bougies 60 cm moy				
	pH	qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)	pH	qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)	pH	qté (mm)	Flux N-NO3 (kg/ha)	Flux N-NH4 (kg/ha)	Flux TN (kg/ha)
du 23 jan au 19 fev	4,96	49,30	0,06	0,06	0,22	4,97	49,30	0,03	0,06	0,19	N.A.	49,30	0,03	0,21	0,16
20 fev au 17 mars	5,11	100,90	0,42	0,16	0,58	5,04	100,60	0,44	0,16	0,40	N.A.	100,50	0,08	0,50	0,37
18 mars au 8 avril	5,22	112,40	0,24	0,03	0,54	5,15	112,40	0,21	0,03	0,44	7,05	112,40	0,13	1,47	0,35
9 avril au 13 mai	4,93	100,00	0,36	0,10	0,50	4,84	96,60	0,30	0,07	0,39	5,22	95,00	0,21	0,28	0,74
14 mai au 10 juin	4,92	122,20	0,36	0,18	0,81	4,83	95,10	0,14	0,09	0,35	N.A.	79,90	0,12	0,20	0,44
11 juin au 11 juill	5,14	48,70	0,11	0,01	0,66	5,17	38,30	0,05	0,00	0,45	5,14	31,50	0,03	0,01	0,36
12 juill au 5 aout	5,04	23,10	0,06	0,04	0,33	5,45	17,90	0,02	0,07	0,21	5,29	14,40	0,03	0,03	0,18
6 aout au 2 sept	5,81	85,10	0,16	0,24	0,65	5,10	64,80	0,06	0,09	0,32	5,35	52,50	0,08	0,06	0,19
3 sept au 29 sept	5,47	64,00	0,08	0,06	0,44	5,28	49,20	0,00	0,02	0,26	5,18	40,00	0,03	0,05	0,14
30 sept au 28 oct	5,41	94,20	0,09	0,10	0,43	5,17	84,30	0,00	0,09	0,28	5,09	72,70	0,03	0,08	0,17
29 oct au 25 nov	5,00	89,50	0,08	0,08	0,38	5,05	83,40	0,00	0,08	0,21	5,05	76,90	0,02	0,06	0,16
26 nov au 16 dec	4,98	82,50	0,11	0,06	0,37	4,98	82,10	0,02	0,03	0,21	5,08	82,10	0,04	0,05	0,63
17 dec au 20 jan 2009	5,27	43,60	0,05	0,01	0,22	5,00	43,60	0,00	0,03	0,27	5,10	43,60	0,00	0,03	0,26
1 au 12 jan	N.A.	6,60	0,01	0,01	0,05	N.A.	6,60	0,01	0,00	0,02	N.A.	6,60	0,01	0,00	0,03
13 jan au 9 fev	N.A.	102,60	0,25	0,11	0,76	N.A.	102,60	0,15	0,05	0,47	N.A.	102,60	0,14	0,07	0,53
10 fev au 16 mars	N.A.	80,40	0,44	0,27	0,82	N.A.	80,40	0,10	0,06	0,31	N.A.	80,40	0,08	0,09	0,32
17 mars au 6 avril	N.A.	85,50	0,15	0,15	0,64	N.A.	85,50	0,07	0,08	0,36	N.A.	85,50	0,04	0,09	0,35
7 avril au 20 avril	N.A.	7,30	0,01	0,01	0,02	N.A.	7,20	0,01	0,01	0,03	N.A.	7,20	0,00	0,01	0,01
21 avril au 4 mai	N.A.	12,50	0,02	0,01	0,05	N.A.	9,60	0,01	0,00	0,03	N.A.	7,70	0,00	0,01	0,01
5 mai au 18 mai	N.A.	38,10	0,06	0,05	0,20	N.A.	34,70	0,06	0,03	0,12	N.A.	33,70	0,00	0,03	0,03
19 mai au 15 juin	N.A.	0,30	0,00	0,00	0,00	N.A.	0,30	0,00	0,00	0,00	N.A.	0,20	0,00	0,00	0,00
16 juin au 15 juill	N.A.	36,00	0,05	0,03	0,29	N.A.	27,30	0,02	0,02	0,13	N.A.	22,20	0,00	0,02	0,10
16 juill au 10 aout	N.A.	34,50	0,04	0,07	0,36	N.A.	26,20	0,03	0,05	0,32	N.A.	21,10	0,02	0,05	0,18
11 aout au 8 sept	N.A.	60,80	0,11	0,15	0,61	N.A.	46,30	0,05	0,10	0,55	N.A.	37,50	0,03	0,19	0,41
9 sept au 4 oct	N.A.	60,30	0,11	0,11	0,58	N.A.	46,00	0,06	0,05	0,24	N.A.	37,20	0,00	0,15	0,17
5 oct au 4 nov	N.A.	41,40	0,02	0,06	0,12	N.A.	34,30	0,06	0,02	0,11	N.A.	28,30	0,02	0,04	0,06
5 nov au 7 dec	N.A.	159,10	0,20	0,10	0,46	N.A.	151,60	0,14	0,02	0,40	N.A.	139,10	0,14	0,04	0,26
8 dec au 3 jan 2011	N.A.	79,10	0,12	0,06	0,25	N.A.	79,10	0,13	0,06	0,30	N.A.	79,10	0,12	0,06	0,25

Annexe 11 : Statistiques sur la biomasse microbienne

P<F	NF-TOC	NF-TON	NF-NO3	NF-NH4	NF-Mg	NF-Ca	NF-K	F-TOC	F-TON	F-Mg	F-Ca	F-K	BM-TOC	BM-TON	BM-Mg	BM-Ca	BM-K
0-2.5	0.017	0.006	0.001	0.004	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.001	0.001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.000	0.001	<0.0001	0.003	0.000
2.5-5	0.009	0.013	0.003	0.404	<0.0001	0.002	<0.0001	0.121	0.184	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.028	0.264	<0.0001	0.003	<0.0001
5-7.5	<0.0001	0.000	0.032	0.189	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.002	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
7.5-10	0.048	0.000	0.000	0.000	<0.0001	0.000	<0.0001	0.001	0.001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.001	0.002	<0.0001	0.044	0.013
10-15	<0.0001	<0.0001	0.001	<0.0001	<0.0001	0.001	<0.0001	0.000	<0.0001	<0.0001	0.013	<0.0001	0.002	<0.0001	0.001	0.189	0.010
15-20	0.246	0.161	0.349	0.139	0.001	0.001	<0.0001	0.013	0.042	0.027	0.190	<0.0001	0.011	0.034	0.085	0.364	0.368
20-25	0.632	0.520	0.554	0.219	0.000	<0.0001	<0.0001	0.013	0.032	0.005	0.018	<0.0001	0.005	0.025	0.115	0.035	0.149
25-30	0.643	0.730	0.016	0.188	0.056	0.001	<0.0001	0.057	0.429	0.005	0.180	<0.0001	0.002	0.197	0.050	0.298	0.004

P<F	NF-TOC	NF-TON	NF-NO3	NF-NH4	NF-Mg	NF-Ca	NF-K	F-TOC	F-TON	F-Mg	F-Ca	F-K	BM-TOC	BM-TON	BM-Mg	BM-Ca	BM-K
T+1	0.190	0.063	0.074	0.200	-	-	-	<0.0001	<0.0001	-	-	-	<0.0001	<0.0001	-	-	-
T+7	0.202	0.108	0.008	0.410	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.093	0.486	0.307
T+28	0.011	0.006	0.085	0.037	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.014	0.031
T+42	0.001	<0.0001	0.136	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
T+70	0.002	0.001	0.006	0.009	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.000	0.092	<0.0001
t+98	0.043	0.003	0.139	0.024	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.003	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.005	0.000	<0.0001	0.068	<0.0001
t+154	0.026	0.009	0.106	0.159	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.004	0.467	0.820
t+182	0.002	0.005	0.944	0.088	-	-	-	0.001	<0.0001	-	-	-	0.001	<0.0001	-	-	-
t+210	0.069	0.013	0.453	0.003	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.254	0.170

	Pr>F	Toc	TON	Mg	Ca	K
T+1	0--2,5	<0,0001	<0,0001	-	-	-
	2,5--5	<0,0001	<0,0001	-	-	-
	5--7,5	<0,0001	<0,0001	-	-	-
	7,5--10	<0,0001	<0,0001	-	-	-
	10--15	<0,0001	0,0001	-	-	-
	15--20	-	-	-	-	-
	20--25	-	-	-	-	-
	25--30	-	-	-	-	-
T+7	0--2,5	<0,0001	<0,0001	0,0386	0,7476	0,4465
	2,5--5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,7893	0,0158
	5--7,5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0564	0,0010
	7,5--10	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3428	0,0122
	10--15	<0,0001	<0,0001	0,0201	0,269	0,0565
	15--20	-	-	-	-	-
	20--25	-	-	-	-	-
	25--30	-	-	-	-	-
T+28	0--2,5	<0,0001	<0,0001	0,0001	0,5337	0,3072
	2,5--5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0933	0,0051
	5--7,5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0179	0,0006
	7,5--10	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0053	0,1865
	10--15	<0,0001	<0,0001	0,0009	0,0455	0,2049
	15--20	-	-	-	-	-
	20--25	-	-	-	-	-
	25--30	-	-	-	-	-
T+42	0--2,5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3730	0,1029
	2,5--5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,4951	0,0234
	5--7,5	<0,0001	0,0002	<0,0001	0,7127	0,0141
	7,5--10	<0,0001	<0,0001	0,0033	0,3600	0,0377
	10--15	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1317	0,0024
	15--20	-	-	-	-	-
	20--25	-	-	-	-	-
	25--30	-	-	-	-	-
T+70	0--2,5	0,0005	0,0006	0,0069	0,3176	0,1956
	2,5--5	0,0036	0,0052	0,0035	0,3415	0,4212
	5--7,5	<0,0001	<0,0001	0,0027	0,7653	0,1754
	7,5--10	<0,0001	<0,0001	0,0017	0,8048	0,0624
	10--15	<0,0001	<0,0001	0,0517	0,3918	0,1309
	15--20	-	-	-	-	-
	20--25	-	-	-	-	-
	25--30	-	-	-	-	-
T+98	0--2,5	0,0235	0,0137	<0,0001	0,2884	0,128
	2,5--5	0,0028	0,0057	0,0146	0,6983	0,5195
	5--7,5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,8543	0,1129
	7,5--10	<0,0001	<0,0001	0,0004	0,6852	0,1599
	10--15	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,7566	0,0692
	15--20	0,0008	0,0012	0,0557	0,7821	0,6769
	20--25	0,0005	0,0013	0,0109	0,2617	0,6030
	25--30	0,0021	0,0012	0,0024	0,0062	0,1374
T+154	0--2,5	0,0050	0,0046	0,0319	0,0341	0,9203
	2,5--5	<0,0001	<0,0001	0,0897	0,0040	0,6156
	5--7,5	<0,0001	<0,0001	0,7074	0,0002	0,3042
	7,5--10	<0,0001	<0,0001	0,8029	<0,0001	0,0722
	10--15	<0,0001	<0,0001	0,1614	<0,0001	0,0528
	15--20	0,0012	0,0007	-	-	-
	20--25	0,0008	0,0007	-	-	-
	25--30	0,0002	<0,0001	-	-	-
T+182	0--2,5	0,0235	0,0007	-	-	-
	2,5--5	0,0004	0,0001	-	-	-
	5--7,5	<0,0001	<0,0001	-	-	-
	7,5--10	0,0002	<0,0001	-	-	-
	10--15	0,0001	<0,0001	-	-	-
	15--20	0,0091	0,0095	-	-	-
	20--25	0,0446	0,0007	-	-	-
	25--30	0,8400	0,6082	-	-	-
T+210	0--2,5	0,0002	0,0004	0,0135	0,8506	0,0858
	2,5--5	0,0002	<0,0001	<0,0001	0,8993	0,0683
	5--7,5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,2800	0,4493
	7,5--10	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0166	0,2974
	10--15	<0,0001	<0,0001	0,0003	0,0497	0,5026
	15--20	0,0077	0,0057	0,0885	0,4604	0,8866
	20--25	0,0847	0,0382	0,1285	0,1285	0,5576
	25--30	0,0557	0,0023	0,0509	0,3772	0,0981

Annexe 12 : Statistiques associées au ^{15}N microbien

Relation [N-NO₃] et [N microbien]

Le 8 avril :

Analyse de la variance :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	6,398	6,398	31,674	0,011
Erreur	3	0,606	0,202		
Total corrigé	4	7,004			

Le 14 avril

Analyse de la variance :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	6,933	6,933	32,001	0,011
Erreur	3	0,650	0,217		
Total corrigé	4	7,583			

Le 4 mai

Analyse de la variance :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	5,074	5,074	577,313	0,000
Erreur	3	0,026	0,009		
Total corrigé	4	5,100			

Le 18 mai

Analyse de la variance :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	8,766	8,766	93,661	0,002
Erreur	3	0,281	0,094		
Total corrigé	4	9,046			

Le 15 juin

Analyse de la variance :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	86,141	86,141	73,143	0,003
Erreur	3	3,533	1,178		
Total corrigé	4	89,675			

Le 8 septembre :

Analyse de la variance :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	0,099	0,099	0,761	0,447
Erreur	3	0,390	0,130		
Total corrigé	4	0,489			

Différence [N] entre échantillons NF et F :

Tests de comparaisons multiples pour la variable Q :

Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
F ~ NF	429,942	5,671	2,048	< 0,0001	Oui

Valeur critique du d de Tukey : 2,897

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
F	508,488	A
NF	78,546	B

Monitoring of nitrogen in a temperate beech forest before and after isotope tracing $^{15}\text{N-NO}_3$ (Morvan, France)

Abstract:

In forest ecosystems, nitrogen cycling is complex because it involves many processes closely related to the turnover of microbial metabolites and to plant uptake (Dannenmann et al., 2009).

In the Morvan area (France) an experimental site had been dedicated to compare the effect of different trees species on the main biogeochemical cycles. All experimental plots had been equipped to monitor the different nutrient fluxes in the whole soil-plant system. According to nitrogen, previous studies have shown that nitrification was strong in the upper mineral soil in beech, pine and Douglas fir, intermediate in oak and low in Nordmann fir and spruce (Zeller et al., 2007). However, despite a strong mineralization and nitrification in the beech stand, nitrates are not found in the drainage water contrary to those observed in Douglas (Andrianarisoa, 2009).

To understand the dynamics of nitrate on this plot, an isotope tracing was performed with ^{15}N (application of $^{15}\text{N-NO}_3$ 100 mg / m²). In the upper mineral soil [0-15cm], applied ^{15}N was assimilated immediately by soil microorganisms. One day after tracer application about 45% of ^{15}N had been incorporated into the microbial biomass. But this percentage of applied ^{15}N into the microbial biomass decreased rapidly with time. A week after tracing, microorganisms contain only 15% of the ^{15}N and 7% after two months. In addition, the amount of ^{15}N decreased with depth, indicating that the vertical transfer was slow and that microorganisms acted as efficient competitors for nitrate. The ^{15}N that is not recovered in the microbial biomass can be found in the aerial plant biomass or stabilized as soil organic N in aggregates of different sizes. At least some ^{15}N was probably transferred vertically in the soil profile. Tree uptake of applied ^{15}N was rapid and high, one month after tracing, 40% of ^{15}N was in the leaves and branches of beech trees and this amount remained fairly constant during the whole growing season. Spring uptake of nitrate seems to be an important source for structural compounds of the leaves. Nitrate leaching is low under this species; however ^{15}N data are not yet available.

Microorganisms play a major role in the retention and conversion of nitrates (organization process). Much of the nitrates are converted into immobile organic nitrogen (probably amino acids, amino sugars and proteins), which partly explains the poor drainage of nitrates in such a beech soil.

Keys words: N cycling, NO_3^- leaching, ^{15}N , Microbial immobilization, Forest, Beech.

Suivi de l'azote dans une hêtraie tempérée avant et après traçage isotopique $^{15}\text{N-NO}_3$ (Morvan, France)

Résumé :

Le cycle de l'azote dans les écosystèmes forestiers est complexe car il implique des processus étroitement liés entre l'absorption par les plantes et le turn-over microbien de métabolites de l'azote (Dannenmann et al., 2009).

Une parcelle expérimentale dans le Morvan (France) est instrumentée pour suivre les différents flux d'azote sous différentes essences forestières. Des études sur la comparaison d'essences forestières sur ce site, ont montré que la nitrification est forte sous peuplement de hêtre, pin et douglas, intermédiaire sous chêne et faible sous sapin de Nordmann et épicéa (Zeller et al., 2007) ; cependant, malgré une nitrification et une minéralisation forte sous hêtre, les nitrates ne se retrouvent pas dans les eaux de drainage contrairement à celles sous peuplement de douglas (Andrianarisoa, 2009).

Afin de comprendre la dynamique du nitrate sur cette parcelle, un traçage isotopique a été réalisé avec du ^{15}N (application de $^{15}\text{N-NO}_3$ à 100mg/m²). Le ^{15}N apporté est très rapidement assimilé par les microorganismes du sol [0-15cm]. En effet, 45% du ^{15}N se trouve dans la biomasse microbienne le lendemain du traçage. Cette immobilisation de ^{15}N diminue rapidement avec le temps. Une semaine après le traçage, les microorganismes ne contiennent plus que 15% du ^{15}N et 7% après deux mois. De plus, le ^{15}N diminue avec la profondeur, ce qui indique qu'il est retenu en partie dans le profil, puis rapidement transformé. Le ^{15}N qui n'est pas dans la biomasse microbienne peut donc se trouver dans la biomasse végétale ; ou être contenu dans d'autres fractions du sol après transformation biologique, comme dans les agrégats ; ou encore être transféré verticalement dans le profil de sol. En effet, un mois après le traçage, 40% du ^{15}N apporté se trouve dans les feuilles et les branches des hêtres et semble rester stable jusqu'à la chute des feuilles. Les teneurs constantes en ^{15}N dans les parties aériennes de hêtre semblent indiquer un prélèvement constant. La lixiviation des nitrates est faible sous cette essence, cependant les données ^{15}N ne sont pas encore disponibles.

Les microorganismes jouent un rôle majeur dans la rétention et la transformation des nitrates (processus d'organisation). Une grande partie des nitrates sont transformés en azote organique (probablement acides aminés, sucres aminés et protéines) non mobile, ce qui explique en partie le faible drainage de nitrates en profondeur sous cette essence.

Mots clés : Cycle N, Lixiviation NO_3^- , ^{15}N , Immobilisation microbienne, Forêt, Hêtre.