HAL
open science

# Étude de l'impact d'incendies de forêt répétés sur la biodiversité et sur les sols. Recherche d'indicateurs. Rapport final détaillé.

M. Vennetier, L. Cecillon, René Guénon, A. Schaffhauser, A. Vergnoux, J.L. Boichard, J.Y. Bottero, J.J. Brun, M. Carrara, Nathalie Cassagne, et al.

**To cite this version:**

M. Vennetier, L. Cecillon, René Guénon, A. Schaffhauser, A. Vergnoux, et al.. Étude de l'impact d'incendies de forêt répétés sur la biodiversité et sur les sols. Recherche d'indicateurs. Rapport final détaillé.. irstea. 2008, pp.238. hal-02591040

**HAL Id: hal-02591040**

**https://hal.inrae.fr/hal-02591040v1**

Submitted on 15 May 2020

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

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

European Union

# Etude de l'impact d'incendies de forêt répétés sur la biodiversité et sur les sols.

## Recherche d'indicateurs.

Règlement Européen Forest-Focus 2005
Regulation (EC) No 2152/2003 of the European Parliament and of the Council of 17 Nov 2003.

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
Direction générale de la forêt et des Affaires Rurales
Exercice : **2005**
Budget : **Programme 149 – Action 01 – sous-action 12**

**CONVENTION N° FF 2005-9**

## Rapport final

**Aix en Provence le 28 aout 2008**

**Pour l'ensemble des partenaires**

**Michel Vennetier (Coordinateur)**
**avec 49 co-auteurs**

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Claude Bernard

## Noms des co-auteurs et organismes de rattachement

Ce rapport fait la synthèse des travaux d'un consortium de 10 équipes de recherche rattachées à 9 laboratoires, 4 organismes de recherche et 3 universités. Les personnes ayant contribué de façon significative à ce travail et considérées comme co-auteur sont citées dans l'ordre de leur laboratoires.

## Laboratoires partenaires (ordre alphabétique)


**CEREGE** : Laboratoire physico-chimie des interfaces, (UMR 6635 et IFR 112 PMSE*), Université Paul Cézanne / CNRS Europôle de l'Arbois, BP 80, 13545 Aix-en-Provence Cedex 04.

**CSE** : Maintenant **EMMAH** = Environnement Méditerranéen et Modélisation des Agro-Hydrosystèmes INRA Avignon, (IFR 112 PMSE*), site Agroparc, 84914 Avignon Cedex).

**EMAX (coordination)** : Unité de Recherche "Ecosystèmes Méditerranéens et Risques" (IFR 112 PMSE*), Cemagref, BP 31, 13612 Aix en Provence Cedex 1.

**EPGR** : Unité de recherches Ecosystèmes et Paysages, Cemagref, Domaine universitaire, 2 rue de la Papeterie, BP 76, 38402 Saint Martin d'Hères Cedex

**IMEP** : Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie (UMR 6116 et IFR 112 PMSE*), Université Paul Cézanne et Université de Provence / CNRS, Faculté des Sciences et Techniques St Jérôme, 13397 Marseille Cedex20.

**LCAE** : Laboratoire de Chimie Analytique de l'Environnement (UMR 6171 et IFR 112 PMSE*), Université Paul Cézanne / CNRS, Europôle de l'Arbois, Bâtiment Villemin BP 80, 13545 Aix-en-Provence Cedex 04.

**LCE** : maintenant Laboratoire Chimie Provence (LCP) Equipe Chimie de l'Environnement Continental (EA 2678 et IFR 112 PMSE*), Université de Provence, 3 place V. Hugo, 13331 Marseille Cedex 3.

**LEM** : Laboratoire d'Ecologie Microbienne (UMR 5557), Université Lyon 1/CNRS, 43 Bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne cedex.

**Medias France** : GIP Medias France, CNES, BPi 2102, 18, avenue E. Belin, 31401 Toulouse Cedex 4


* IFR 112 = Pôle Méditerranéen des Sciences de l'Environnement. Depuis 2008, Fédération de Recherche "ECCOREV" (Ecosystèmes Continentaux et Risques Environnementaux)

| Laboratoire | Auteurs / contributeurs |
|---|---|
| CEREGE | Armand Masion, Jean-Yves Bottéro; |
| CSE | Stéphane Ruy, Claude Doussan, Jean Claude Gaudu, Dominique Renard; |
| EMAX | Michel Vennetier, Alice Schaffhauser, Thomas Curt, Nicolas Faivre, Christian Ripert, Olivier Chandioux, Roland Estève, Willy Martin, Camille Mas, Denis Morge |
| EPGR | Jean-Jacques Brun, Bernard Juvy, Nathalie Cassagne, Lauric Cecillon, Eric Mermin, Pascal Tardif, Gilles Favier, Sébastien De Danieli; |
| IMEP 1 + 2 | Raphaël Gros, René Guénon, Thierry Tatoni, Carrara M; |
| LCAE | Pierre Doumenq, Michel Guiliano, G. Mille, Aurore Vergnoux, L. Malleret, S. Lebarriller, L. Asia; |
| LCE | Mariane Domeizel, Laurent Vassalo, Catherine Massiani, Frédéric Théraulaz, Aurore Vergnoux, Robert Di Rocco; |
| LEM | Sonia Czarnes, Annie Clays-Josserand, C. Commeaux, V. Degrange, Nadine. Guillaumaud, Xavier Le Roux, F. Poly; |
| Médias-France | Michel Hoepffner, Jean-Luc Boichard, Vincent Pignot. |

## Référence de la convention


MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
DIRECTION GENERALE DE LA FORET ET DES AFFAIRES RURALES
Exercice : **2005**
Budget : **Programme 149 – Action 01 – sous-action 12**
Bénéficiaire : **Centre national du machinisme agricole du génie rural des eaux et des forêts (Cemagref)**
THEME : **Forest Focus :**
**Etude de l'impact d'incendies de forêt répétés sur la biodiversité et sur les sols. Recherche d'indicateurs.**
**CONVENTION N° FF 2005-9**


**Nom générique du projet : IRISE (I**mpact de la **R**épétition des **I**ncendies **S**ur l'**E**nvironnement**)**

Table des matières

**1 RAPPEL DES OBJECTIFS DU PROJET, MISE EN ŒUVRE, DISPOSITIF EXPERIMENTAL ..... 9**

1.1 OBJECTIFS INITIAUX ..... 9
1.2 PREPARATION DES TRAVAUX ..... 10
1.3 MISE EN PLACE DU DISPOSITIF ..... 10
*1.3.1 Choix des sites ..... 10*
*1.3.2 Les modalités initiales ..... 10*
*1.3.3 Les modalités complémentaires ..... 11*
1.4 DESCRIPTION DE LA ZONE D'ETUDE ..... 14
*1.4.1 Situation géographique et climat ..... 14*
*1.4.2 Caractéristiques géologiques et pédologiques de la zone d'étude et des placettes IRISE ..... 15*
*1.4.3 Végétation ..... 16*

**2 SYNTHESE GENERALE ..... 17**

2.1 AVANT PROPOS : ETAT DE REFERENCE ..... 17
2.2 SYNTHESE FONCTIONNELLE ..... 18
2.3 SEUILS DE TEMPS ..... 20
*2.3.1 Sur le long terme : 150-200 ans ..... 20*
*2.3.2 Sur le moyen terme : 50 ans ..... 20*
*2.3.3 Sur le court terme : 15 -25 ans ..... 21*
*2.3.4 Sur le très court terme : 1-3-5 ans ..... 21*
2.4 SEUILS DE FREQUENCE ET DE NOMBRE DE FEUX ..... 22
2.5 INTERACTION INCENDIE - SECHERESSE ..... 24
2.6 AIDE A LA RECONSTITUTION APRES FEU ..... 26
2.7 INDICATEURS ..... 26
*2.7.1 Structure de la végétation ..... 26*
*2.7.2 Vers de terre ..... 26*
*2.7.3 Analyse par spectrographie proche et moyen infrarouge (SPIR et SMIR) ..... 26*
*2.7.4 La matière organique : quantité et qualité ..... 27*
*2.7.5 La macroporosité et son spectre. ..... 27*
*2.7.6 Autres indicateurs ..... 28*
2.8 PERSPECTIVES ..... 28

**3 CONCLUSION ..... 29**

**4 RAPPORTS ET PUBLICATIONS REALISES OU PREVUS A COURT TERME ..... 31**

**5 ANNEXES : RAPPORTS DETAILLES DES EQUIPES PAR THEME ..... 33**

# RESUME

***Mots clefs:*** *Incendie de forêt; biodiversité; sol; indicateurs; flore; physique du sol; chimie du sol; structure de végétation; dépérissement des forêts; vers de terre; bactéries; cycle de l'azote; cycle du carbone; nitrification; dénitrification; activité enzymatique; respiration basale; ciste; compost; courbe de rétention; conductivité hydraulique; perméabilité; stabilité structurale; pores; agrégats; hydrophobicité; matière organique; carbone organique total; molécule aromatique; substances humiques; résonnance magnétique nucléaire; spectroscopie infrarouge; spectroscopie ultra-violet; hydrocarbure aromatique polycyclique; naphtalène; rétène; éléments nutritifs; azote ammoniacal*

**Objectifs** :
Ce projet avait pour objectif d'évaluer l'impact de la répétition des feux de forêt sur le sol et la végétation en termes de biodiversité, de bilan de carbone et de dégradation générale des potentialités de l'écosystème. La zone d'étude se situe dans le massif des Maures (zone méditerranéenne au Sud-Est de la France, écosystème développés sur roches cristallines. Nous avons simultanément étudié l'interaction entre récurrence des feux et récurrence des sécheresses, en raison de la sécheresse persistante durant toute la durée du projet.

**Protocoles :**
Le plan d'échantillonnage comprend 3 régimes d'incendies au cours des 50 dernières années (nombreux = 3-5 feux, peu nombreux = 1-2 feux, témoin) et 3 modalités de date du dernier feu (très récent = 9 mois -1 an, récent =3 ans, ancien = 15-25 ans), les témoins n'ayant pas brûlé depuis soit 50 ans, soit 200 ans ou plus. Il y a 5 placettes par modalité sauf témoin très ancien, soit au total 31 placettes. Le suivi sur plusieurs années des mêmes placettes a permis de plus d'étudier la dynamique à court terme du milieu après le feu.
Nous avons étudié les relations fonctionnelles entre différents compartiments aériens et souterrains à plusieurs niveaux des échelles spatiale et temporelle de l'écosystème, en combinant des facteurs physiques, chimiques et biologiques, afin d'identifier des processus et espèces clefs de la résilience du milieu ou de sa résistance aux perturbations. Les mêmes échantillons prélevés sur le terrain ont été partagés entre toutes les équipes afin d'assurer la cohérence des résultats et leur comparabilité. Certaines expériences en microbiologie ont été réalisées en conditions contrôlées en laboratoire à partir des échantillons prélevés sur le terrain.

**Résutats** :
Globalement, le temps depuis le dernier feu, donc la dynamique de reconstitution de l'écosystème, influence plus les paramètres mesurés que le nombre ou la fréquence des feux, mais ces derniers jouent cependant un rôle souvent significatif et fonctionnellement important, plus rarement dominant.

L'absence de feux durant 150 à 200 ans permet une spectaculaire remontée biologique et du potentiel de l'écosystème, marquée par la reconstitution d'un stock significatif de carbone dans les horizons superficiels du sol (0 à 15 cm) et une modification importante de la structure et composition floristique.
Une fréquence moyenne d'incendie de l'ordre d'un feu tous les 25 à 50 ans permet une bonne résilience globale de l'écosystème, de sa flore et de son fonctionnement, mais à un niveau faible de potentialités et en limite de la rupture. L'essentiel du stock de matière organique est limité aux premiers centimètres du sol (0-5cm) où se concentre l'activité biologique. La plupart des paramètres qui sont modifiés par le feu récupèrent quantitativement au bout de 15 à 25 ans. Mais il faut en général 50 ans pour les aspects qualitatifs, notamment au niveau de la matière organique, des cycles biogéochimiques, du fonctionnement microbiologique du sol et de la biodiversité végétale.
Avec des fréquences plus élevées, aboutissant à 4 feux ou plus en 50 ans ou à quelques feux très rapprochés (5-10 ans), de nombreux paramètres chimiques et biologiques sont durablement altérés, et marquent une dégradation globale des potentialités du système. On note un changement durable de la composition et de la structure de la végétation et une perte significative de matière organique et sa transformation qualitative, responsables d'une baisse sensible de l'activité, de la résistance et de la résilience microbiologique. Le cycle de l'azote est particulièrement touché.

Pour les fonctions de séquestration de carbone : dans un régime moyen d'incendie de l'ordre d'un feu tous les 25 à 50 ans, ces forêts ne stockent pas ni ne perdent significativement de carbone dans les horizons superficiels du sol et dans la biomasse vivante ; elles en perdent par contre en cas de feux répétés plus souvent. Elles possèdent un grand potentiel de stockage (effet puits de CO2) en cas ne non-brûlage sur des durées de 150 à 200 ans.

La conjonction de nombreux feux et de sécheresses répétées conduit à un effondrement du fonctionnement biologique de l'écosystème dans ses parties aérienne comme souterraine. Chacune des perturbations (feu et sécheresse) amplifie les effets néfastes de l'autre. La sécheresse persistante a non seulement totalement arrêté la dynamique normalement rapide de l'écosystème entre la 3$^{ème}$ et la 5$^{ème}$ année après le feu, mais a fait largement régresser certains paramètres biologiques. Les placettes les plus impactées par le feu (incendies récents ou nombreux) ont été les plus touchées. L'effet préalable de la sécheresse a aussi considérablement aggravé l'impact d'un feu survenu en 2007.
Un seuil de 4 années successives de sécheresse marquée semble constituer un seuil critique pour l'écosystème, de la même manière que 4 feux seraient un seuil critique pour le nombre de feux en 50 ans.

Le changement climatique ne peut donc que le fragiliser d'avantage ces écosystèmes, en accentuant les effets néfastes des incendies et en les multipliant.

**Indicateurs** :
Un certains nombre d'indicateurs ont été sélectionnés, permettant de différencier les régimes de feu, le temps depuis le dernier feu ou la capacité de résilience de l'écosystème, et pouvant être utilisés pour des évaluations spatiales ou des suivis temporels de l'état de l'écosystème.

La densité du couvert arboré (notamment du chêne liège) joue un rôle important dans la résilience du système, notamment à cause de la composition floristique qui en découle, qui contrôle partiellement l'activité biologique du sol par la qualité et la quantité de la matière organique apportée. Des feux trop fréquents ou la conjonction d'incendies et de sécheresses récurrentes diminuent cette densité.
La présence ou l'abondance de certaines plantes, et la dominance relative des chênes verts et blancs sont caractéristiques de forêts anciennes ou très anciennes.

L'activité des vers de terre est un facteur clef de la résilience du fonctionnement biologique et des paramètres physiques du sol. Elle permet de différencier les forêts non brûlées depuis plus de 15 ans de celles brûlées récemment. La distribution spatiale de cette activité sépare également les forêts brûlées depuis respectivement 15-25 ans de celles non brûlées depuis 50 ans. Cette activité est fortement altérée quantitativement, spatialement et qualitativement par la conjonction de feux et sécheresses répétés.

Les teneurs en matière organique dans les horizons superficiels (0-5 et 5-15 cm) sont de bons indicateurs des régimes extrêmes d'incendie : témoins très anciens et incendies fréquents et récents.
La qualité de la matière organique différencie les témoins non brûlés depuis longtemps (50 ans), grâce à une transformation des substances humiques, que le feu rend durablement plus récalcitrantes à la biodégradation et qui reste détectable significativement 25 ans après un incendie. Cette qualité dépend aussi de la composition floristique, en partie déterminée par le régime d'incendie. Ces différences qualitatives sont détectables par différentes méthodes de spectroscopie proche et moyen infra-rouge (PIR, MIR), ultra-violet (UV) et résonance magnétique nucléaire (RMN).

La spectroscopie infra-rouge, technique facile et rapide à mettre en œuvre permet en plus de détecter d'autres paramètres physico-chimiques du sol (richesse minérale). L'analyse SPIR comparée de l'horizon 0-5 cm du sol et des turricules de vers de terre est un bon indicateur du temps écoulé depuis le dernier feu et en partie du régime d'incendie, les vers concentrant la matière organique et amplifiant l'activité biologique.

La porosité du sol, et particulièrement la macroporosité et son spectre à l'échelle de l'activité biologique (microbiologie et microfaune) semble pouvoir différencier à la fois des classes de temps après l'incendie et le régime passé de feu. Cet indicateur demande cependant à être validé sur un plus large échantillonnage.

La teneur en azote ammoniacal sépare clairement les zones non brûlées depuis 50 ans ou plus de toutes les modalités brûlées, en lien avec la perturbation durable par le feu du cycle de l'azote.

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) : Le rétène est un HAP caractéristique des sols fréquemment incendiés dans le passé qui peut être mis en évidence par analyse HPLC, technique bien rôdée mais demandant des manipulations spécialisées pour la préparation des échantillons. Avec les mêmes techniques, le spectre des principaux HAP (une quinzaine) présents dans le sol permet de séparer les zones non brûlées depuis 50 ans et de celles brûlées plus récemment, et la quantité totale de HAP, qui décroît très vite après le feu, de séparer les incendies anciens, récents et très récents.

La résistance et la résilience de la respiration basale microbienne à un stress hydrique différencient très bien les sols incendiés récemment mais aussi, dans les sols anciennement incendiés, ceux qui l'ont été fréquemment de ceux qui n'ont que peu brûlé. Certaines activités enzymatiques microbiennes sont aussi de bons indicateurs de forêts anciennes.

**Implication pour les gestionnaires** :
Pour une gestion durable de ces écosystèmes, il semble important de protéger prioritairement:

- les zones déjà très souvent brûlées, et dont la végétation et le sol sont dégradés, où un feu supplémentaire peut dépasser les capacités de résistance et de résilience de l'écosystème, d'un point de vue structurel et fonctionnel.
- les zones de forêt anciennes (50-200 ans):

* les plus anciennes (150-200 ans) parce qu'elles sont très rares et très morcelées et parce qu'elles contiennent des espèces spécifiques qui risquent de disparaître localement. D'autre part, même si leur capacité de résilience fonctionnelle à moyen terme est probablement forte, en raison du gros stock de matière organique dans le sol, le feu les dégraderait à long terme car elles ont perdu en partie leur résistance (peu d'espèces pyrophiles) et beaucoup leur résilience structurelle à cause de la rareté du chêne liège.

* celles qui ont atteint 50 ans ou un peu plus, en raison de leur relative rareté, de leur fragmentation spatiale limitant la dispersion possible des espèces spécifiques et de la dynamique rapide d'enrichissement chimique et biologique qui s'y produit.

Les forêts n'ayant pas brûlé depuis quelques dizaines d'années et présentant une densité suffisante de chêne-liège, ou un maquis dense d'arbousier et de bruyères, seraient donc moins prioritaires que certaines zones de maquis dégradés, car beaucoup plus à même de résister à un incendie et de s'en remettre. Cette conclusion est à nuancer en fonction des problèmes de sécheresse, les suberaies étant plus sensibles au feu en cas de sécheresse prolongée.

La reconstitution de la fertilité et de la dynamique du milieu par apports de composts semble une voie prometteuse pour les zones que l'excès de feu et de sécheresse menace ou a déjà conduit à une situation critique de dégradation.

# ABSTRACT

***Keywords:*** *forest fire; biodiversity; soil; indicators; flora; soil physics; soil chemistry; vegetation structure; forest die-back; earth worm; bacteria; nitrogen cycle; carbon cycle; nitrification; denitrification; enzymatic activity; basal respiration; Cistus; compost; retention curve; hydraulic conductivity; permeability; structural stability; poral spectrum; aggregate; hydrophobicity; organic mater; total organic carbon; aromaticity; humic substances; nuclear magnetic resonance; NIRS; UV spectroscopy; PAH; naphthalene; retene; nutrients; ammoniacal nitrogen; soil quality index*

**Goals:**
This project aimed at assessing the impact of forest fire repetition on vegetation and the soil, in terms of biodiversity, carbon balance and the global ecosystem potential. The study area is the Maures massif (Mediterranean area in the Southeast of France), an ecosystem developed on crystalline rocks. Because of the persistent drought during all the project, we studied the interaction between of fire recurrence and drought recurrence.

**Protocols:**
The sampling design includes 3 fire regimes during the last 50 years (many fires = 3-5, medium = 1-2 fires, control = no fire) and 3 time spans since the last fire (very recent = 9-12 months, recent = 3-5 years, old = 15-25 years). Control plots did not burn since either 50 years, or 200 years. 31 plots were laid out, five by treatment except for the old growth control forest (1 plot). The follow-up of the same plots during 3 years allowed furthermore studying the short-term dynamics of the environment after fire.
We studied the functional relations between various aerial and soil compartments of the ecosystem at several spatial and temporal scales, combining physical, chemical and biologic factors, to identify key processes and species controlling the resilience of the environment or its resistance to disturbances. All the teams shared the same soil samples to guarantee the comparability and coherence of the results. Some experiences in microbiology were realized in controlled conditions in laboratory from samples taken in the field.

**Results:**
Globally, the time since the last fire, thus the ecosystem resilience dynamics, were more influent on most of the measured parameters than the number or the frequency of fires. However, these last ones often play a functionally significant role, their relative importance increasing with the number of fires.

The absence of fires for 150 - 200 years allowed a dramatic recovery of the fertility and biological activity. The repletion of the carbon stock in the superficial soil horizons (0 15 cm) and important modifications in flora structure and composition were particularly significant.
With a mean fire frequency of one fire every 25 to 50 years, a good global resilience of the ecosystem, its flora and its functioning was observed, but at a low level of potential and at the shrinkage limit: most of the organic matter was limited to the first centimeters of the topsoil (0-5cm) where the biologic activity concentrated at fire's mercy. Most of the parameters which are modified by the fire recovered quantitatively in 15 to 25 years. But 50 years were generally necessary for the resilience of qualitative aspects, notably for the organic matter, biogeochemical cycles, microbiologic functioning of the soil and plant diversity.
With higher fire frequencies (4 fires or more in 50 years, or fires occurring at less than 10 years interval), many parameters are durably altered, showing a global degradation of the ecosystem potential: it was particularly true for vegetation composition and structure, soil fauna and the loss of organic matter and its qualitative transformation. This last change led to drop in the activity, the resistance and the resilience of microbial communities. The nitrogen cycle was particularly disturbed.

With one to 3 fires in 50 years, these forests do not store nor lose significantly carbon in the superficial soil horizons nor in the living biomass; a higher frequency led the forest to be a carbon source. With no fires over 50 years, and particularly after more than 150 years, these forests become a good carbon sink.

The conjunction of numerous fires and repeated droughts led to a collapse of the biological functioning of the ecosystem. Fire and drought amplified mutually their deleterious impact. The persistent drought from 2003 to 2007 stopped the normally fast recovery dynamics in the first year after the fire of year 2003, and even made some biologic parameters decline. Plots with the higher fire frequency up to 2003 were the most impacted by drought. The preliminary effect of drought also dramatically increased the impact of the fires of year 2007.
A threshold of 4 successive years of severe drought seems to be a critical threshold for the ecosystem, as well as 4 fires would be a critical threshold for the number of fires in 50 years.

## Indicators:

Several indicators were selected, allowing the assessment of past fire regimes, the time since the last fire or the resilience potential of the ecosystem. They could be used for spatial assessments or temporal follow-up of the ecosystem status.

The density of the tree cover (particularly of cork oak) plays an important role in the resilience of the system: it is essential for forest structure recovery, and drives the flora composition, which controls partially soil biological activity by the quality and quantity of organic matter input. Frequent fires or combined fires and repeated droughts decrease this density.
The dominance of Quercus ilex and Q. pubescens are characteristic of old or very old forests, as well as the presence or abundance of some plants of the undergrowth like ferns, Ilex, Taxus, etc…

Earthworm's activity is a key factor of the resilience of the biologic functioning and the physical parameters of the soil. Its density and spatial distribution evolves with time after fire differentiating recent, medium and old fires. This activity is strongly limited quantitatively, spatially and qualitatively by combined fires and repeated droughts.

Organic matter contents in superficial horizons (0-5 and 5-15 cm) are good indicators of the extreme fire regimes.
The quality of the organic matter and particularly humic substances differentiates old forests Fire transforms it durably, making it more resistant to biodegradation, this transformations remaining detectable 25 years after a fire. This quality also depends on the flora composition, partially determined by the fire regime. These qualitative differences are detectable by various methods of spectroscopy with near and mean infrared (NIR, MIR), ultraviolet ( UV) and Magnetic Nuclear Resonance (MNR).

Infrared spectroscopy, which is easy and fast to implement, allows detecting other physico-chemical parameters of the soil (nutriments). Compared NIR spectrum of the top soil and of earthworm piles are good indicators of the time since the last fire and partially of the fire regime, the earthworms concentrating the organic matter and amplifying the biological activity.

Soil porosity, and particularly macroporosity and its spectrum at the scale of biological activity (bacteria and microfauna) seem to be good indicators of both the time after a fire and past fire regimes. It has however to be validated on a wider sampling.

Ammoniacal nitrogen rate separates clearly old forests over 50 years from all forest burned more recently, due to the durable disturbance of the nitrogen cycle by fire.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH): the retene is a PAH characteristic of soils frequently burned in the past, which can be highlighted by HPLC analysis. With the same analysis, the spectrum of the main PAH (about fifteen) found in burned soil separates forests over 50 years from those more recently burned, and the total quantity of PAH, which decreases fast after a fire, separates the ancient, recent and very recent fires.

The resistance of the microbial basic respiration to a water stress and its resilience differentiate recently burned soils but also, in soils anciently burned, different fire frequency. Microbial enzymatic activities are good indicators of old forests.

## Outputs for managers:

For a sustainable management of these ecosystems, it seems important to protect firstly:
- The already very often burned areas, where vegetation and the soil are degraded, and where one more fire could pass the threshold of resistance and resilience, from the structural and functional point of view.
- The old forest ( 50-200 years):

* the old-growth forest (aver 150 years) because they are very rare, fragmented and scattered and because they contain specific species locally at risk. On the other hand, even if their capacity of medium-term functional resilience is probably strong, because of the large reserve of organic matter in the soil, the fire would degrade them in the long term because they lost partially their resistance (few pyrophitic species) and a lot their structural resilience because of the disappearance of cork oak.

* old forest over 50 years, because of their relative rarity, their spatial fragmentation limiting the possible dispersal of the specific species, their fast chemical and biological dynamics and their fast increasing positive carbon balance.

Forests with a medium fire regime, between 25 and 50 years old, with a sufficient density of cork oak or a dense undergrowth of Arbustus and heath, should thus be given less priority than degraded areas, because they can much more resist to a fire and recover from it. This conclusion is to qualify according to the problems of drought, cork-oak stands being more sensitive to the fire in case of prolonged drought.

Rebuilding the fertility and the dynamics of the environment with significant compost spreading seems a promising way for areas where a high fire frequency and drought already led to a critical situation.

# 1 Rappel des objectifs du projet, mise en œuvre, dispositif expérimental

## *1.1 Objectifs initiaux*

Le projet IRISE (Impact de la Répétition des Incendies Sur l'Environnement) avait pour objectifs principaux :

1 - d'évaluer dans le massif des Maures (zone méditerranéenne, écosystèmes développés sur substrats géologique acides), l'impact de la répétition des feux de forêt sur le sol et la végétation en termes de biodiversité, de bilan de carbone et de dégradation générale des potentialités de l'écosystème.

2 - de mesurer la vitesse de reconstitution (résilience) de l'écosystème à court, moyen et long termes, grâce à un protocole associant des placettes de différents âges depuis le dernier feu.

3 - d'évaluer les relations fonctionnelles entre différents compartiments aériens et souterrains à plusieurs niveaux des échelles spatiale et temporelle de l'écosystème, en combinant les facteurs physiques, chimiques et biologiques, afin d'identifier les processus ou espèces clefs de la résilience du milieu ou de sa résistance aux perturbations,

4 - à partir de l'ensemble des points ci-dessus, de choisir avec un maximum d'objectivité des indicateurs pertinents de l'état global de l'écosystème, combinant facilité de mise en œuvre et représentativité pour des évaluations spatiales ou des suivis temporels.

Avec la sécheresse exceptionnelle qui a sévi durant la réalisation du projet, un objectif supplémentaire a été ajouté au projet en cours de réalisation :

5 - évaluer l'interaction entre récurrence des sécheresses et récurrence des feux, et le rôle de cette interaction dans la résistance et la résilience de l'écosystème, en anticipation de l'impact probable du changement climatique.

## *1.2 Préparation des travaux*

Avec l'annonce d'une probable notification prochaine de la convention, une première série de reconnaissances pour repérer les sites a été effectuée par le Cemagref au printemps 2005, et un séminaire de lancement réunissant toutes les équipes s'est tenu le 10 mai 2005 au Cemagref d'Aix en Provence. Au cours de ce séminaire, ont été mis au point l'ensemble des protocoles partagés de prélèvement. Un des objectifs du projet est en effet de permettre la comparaison objective de l'ensemble des résultats, ce qui rend nécessaire la mutualisation d'un maximum d'échantillons.
L'ensemble des processus a été interrompu au cours de l'été 2005 faute de notification de convention, qui interdisait la prise en compte des frais engagés dans le projet.
Une première campagne de prélèvement sur 2 sites en novembre 2005 a cependant permis de vérifier la pertinence de certains protocoles de prélèvements de sol par rapport à la réalité du terrain. Ces prélèvements ont fait l'objet d'analyses à titre exploratoire, pour valider certaines hypothèses, mettre au point les protocoles de laboratoires afin d'accélérer les analyses futures, et permettre le déroulement de stages d'étudiants (mastères) programmés.

Après notification orale au cours de l'hiver 2005-2006, toutes les équipes du projet se sont réunies sur le terrain les 2 et 9 mars 2006 pour tester et valider ensemble les protocoles de prélèvement d'échantillons définis précédemment, à la lumière des premières analyses. Ces prélèvements ont permis à toutes les équipes qui le souhaitaient de tester la chaîne de traitement des échantillons.

Le Cemagref a procédé entre mars et mai 2006 à la reconnaissance et au choix définitif des placettes du dispositif commun.

Des séminaires réunissant tous les partenaires, pour la restitution des travaux en cours, la mise au point et suivi des protocoles partagés et la programmation des relevés de terrain ont été tenus chaque année en décembre ou janvier, et un séminaire de synthèse finale au mois de juin 2008.

Les équipes se sont par ailleurs réunies régulièrement par 2 ou 3 pour analyser et interpréter les résultats.

## *1.3 Mise en place du dispositif*

### 1.3.1 Choix des sites

Pour limiter l'influence d'autres paramètres que le régime de feux sur la variabilité des peuplements étudiés, nous avons choisi des placettes très homogènes sur le plan des facteurs de l'environnement :

- une zone d'étude réduite, située à l'est du massif des Maures (
*Figure* 1), une gamme d'altitudes peu étendue (100-450m) pour bénéficier de conditions climatiques homogènes;
- un seul type de roche mère et un seul type de sol;
- des sites exposés très majoritairement à l'Est ou à l'ouest, pour un bilan radiatif neutre et homogène. Seules 3 placettes ont une orientation plus chaude;
- des situations de pentes moyennes représentatives de ce type de relief, seules 2 placettes témoins étant en terrain plat ou peu pentu car nous n'avions pas un grand choix pour cette modalité.

### 1.3.2 Les modalités initiales

Le dispositif expérimental principal a été mis en place durant la semaine du 15 au 19 mai 2006 en prenant en compte 5 modalités de régimes d'incendies, suivant précisément le protocole proposé dans le projet (*cf. Tableau 1*)

**NR** = Nombreux-Récent : 3 ou 4 feux depuis 50 ans dont le dernier en 2003,
**NA** = Nombreux-Ancien : 3 ou 4 feux depuis 50 ans dont le dernier au plus tard en 1990,
**PR** = Peu-Récent : 1 ou 2 feux depuis 50 ans dont le dernier en 2003,
**PA** = Peu-Ancien : 1 ou 2 feux depuis 50 ans dont le dernier au plus tard en 1990.
**T** = Témoin non brûlé depuis 50 ans,

Par rapport au projet initial qui prévoyait 3 répétitions, il a été jugé utile par la majorité des équipes de faire 5 répétitions. Nous disposions donc de 25 placettes au total.

Un plan topographique (précis au 1/10$^{ème}$ de mètre) a été réalisé pour chaque placette, comprenant l'ensemble des prélèvements et des principaux repères (arbres, rochers, autres repères naturels fixes). Sur chaque placette, plusieurs des sites de prélèvement et repères ont été relevés au GPS de précision (+/- 1m). Ce plan est destiné à éviter de faire dans le futur des mesures ou analyses sur les zones qui ont été perturbées par des travaux précédents (*exemple en annexe*).

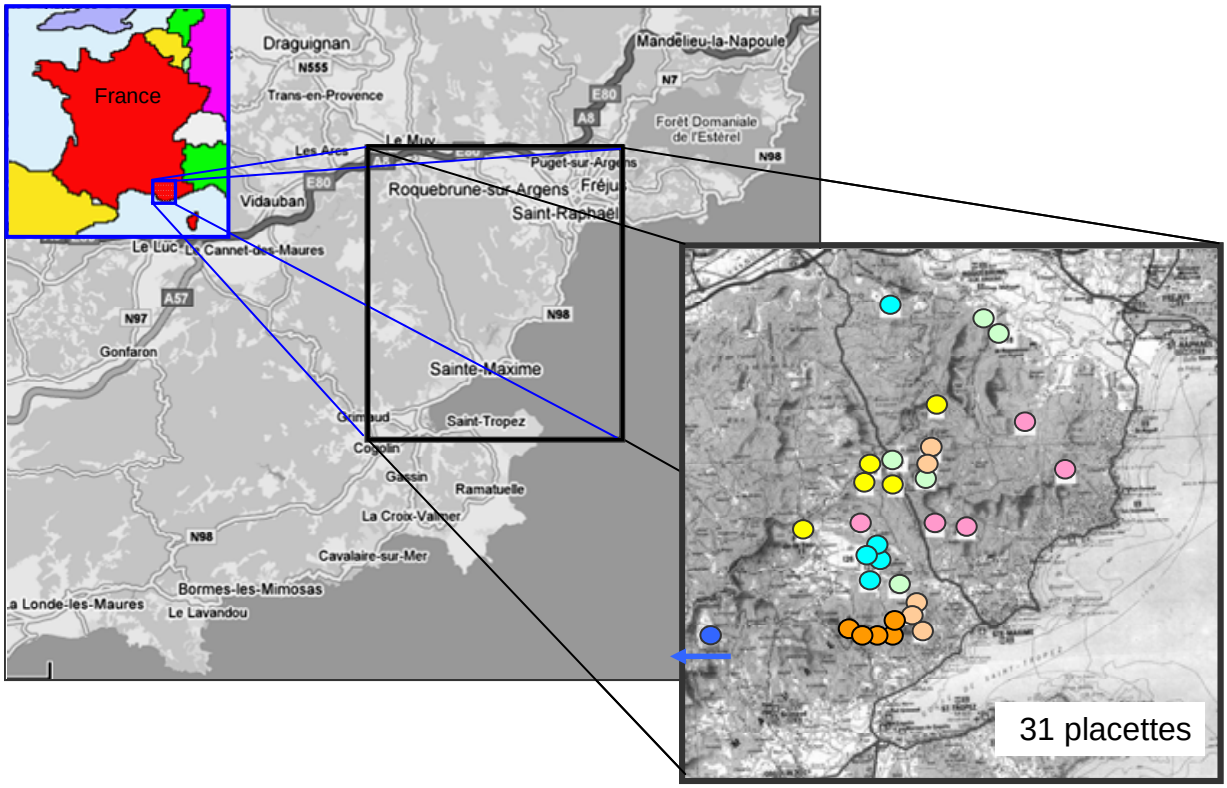



*Figure 1 : localisation de la zone d'étude et des placettes. Les couleurs des points correspondent aux différents régimes de feu étudiés: Cf. tableau 1.*

Les échantillons de sols ont été récoltés en commun et partagés au cours de cette semaine par toutes les équipes concernées. Ils comprennent 5 prélèvements aléatoires dans chaque placette, dont le contenu a été soit mélangé pour une analyse globale, soit gardé séparé pour mesurer la variabilité intra-placette. Trois horizons ont été différenciés : 0-5 cm, 5-15 cm + un horizon de turricules de vers de terre qui forme une couche irrégulière mais parfois très couvrante en surface. La litière a été prélevée et est traitée séparément par certaines équipes. Tous les échantillons de sols qui ne devaient pas être conservés intacts ont été tamisés à 2 mm. Suivant les analyses prévues, les laboratoires ont traité les échantillons immédiatement, sinon les ont réfrigérés, congelés ou séché à l'étuve.
Les autres travaux programmés ont été réalisés simultanément ou ultérieurement : tests relevant de la physique du sol et prélèvements biologiques.

Certaines mesures de physique du sol et les prélèvements de vers de terre ont du être reportés à l'automne en raison de l'extrême sécheresse qui a régné dans la zone d'étude durant le printemps 2006.

Spécifiquement pour la microbiologie, une campagne de prélèvement sur l'ensemble des placettes a été effectuée en mars 2007, suivie de plusieurs phases d'expérimentation jusqu'en Août 2008, qui seront suivies jusqu'en 2009.

### 1.3.3 Les modalités complémentaires

Le projet IRISE avait initialement été conçu pour étudier l'impact immédiat des feux de 2003. L'acceptation tardive du projet n'a pas permis cette approche immédiate, indispensable pour certains paramètres qui évoluent très vite derrière le feu: chimie du sol, activité bactérienne, végétation.

Un dispositif complémentaire a donc été prévu pour suivre un feu très récent. Sa mise en place n'a pas été possible en 2007 : d'une part il n'y a pas eu de grand feu en 2006 dans la zone d'étude, d'autre part l'année 2007 a été l'une des plus sèches depuis 100 ans, avec environ 300 mm pour l'année et quasiment pas de pluies de mars à septembre (*cf. 1.4.1*) Cette intense sécheresse, outre le dépérissement massif des végétaux, a supprimé toute activité biologique dans les horizons superficiels du sol, empêchant les mesures et prélèvement prévus. Elle s'est poursuivie jusqu'au début d'avril 2008 (1/3 de la pluviométrie normale sur le premier trimestre 2008).

Parallèlement, il est apparu dans les premiers résultats que les placettes "témoins" non brûlées depuis 50 ans étaient très hétérogènes. Cette hétérogénéité pouvait venir de l'histoire sans doute très variée de ces témoins dont la date du dernier feu était inconnue. D'autre part, si elles se différenciaient des autres modalités pour la majorité des paramètres, elles n'en étaient pas toujours très loin, montrant que le feu les avait impactées dans un passé pas très lointain. Elles ne donnaient donc pas une idée précise de l'évolution à long terme de l'écosystème, et il était difficile de situer les différences observées entre modalités dans une fourchette de référence des variations possibles. Il était nécessaire de chercher un témoin beaucoup plus ancien qui pouvait servir de référence pour l'évolution à long terme. Cette placette de référence a été installée dans un site non brûlé depuis au moins 200 ans, un peu en dehors de la zone d'étude initiale où elle était introuvable. Elle respecte l'ensemble des contraintes de l'échantillonnage : même type de roche mère et de sol, même exposition et pente, même distance à la mer. Le climat local y est très proche de celui de la zone d'étude, validé par un poste météo situé seulement à quelques centaines de mètres.

Les relevés et mesures dans les placettes complémentaires ont été effectués en mai 2008, après les premières pluies significatives et le redémarrage de l'activité biologique. Les protocoles de prélèvement sont strictement identiques à ceux des années précédentes. Outre le témoin très ancien, elles portent sur un feu de 2007 (9 mois plus tôt) qui a rebrûlé une placette du dispositif initial (n°7). Leur analyse n'est pas totalement terminée au moment de la rédaction de ce rapport mais certaines conclusions sont disponibles.

Une des difficultés de l'échantillonnage a été l'imprécision des cartes anciennes et les divergences importantes sur les limites des feux entre différentes sources. L'analyse de photos aériennes et de cartes réunies en fin de projet, plus précises que celles utilisées initialement, a validé la position de la plupart des placettes dans les modalités, tout en apportant quelques doutes sur le nombre exact de feux dans certaines, notamment celles qui se situent en limite de l'enveloppe des feux ou pour lesquelles les cartes sont contradictoires.

Tableau 1 : Plan d'échantillonnage commun à toutes les équipes du projet IRISE

| Modalité | Sigle | n° placette | date des feux |
|---|---|---|---|
| Nombreux très récents | NTR | 7bis | 07 / (90?) / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux très récents | NTR | 28 | 07 / 85 / (78?) /70 / 64 |
| Nombreux très récents | NTR | 29 | 07 / 85 / 70 / 64 |
| Nombreux très récents | NTR | 30 | 07 / 85 / 70 / 64 |
| Nombreux très récents | NTR | 31 | 07 / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux - Récent | NR | 1 | 2003 / 90 / 82 / 59 |
| Nombreux - Récent | NR | 2 | 2003 / 90 / 82 / 59 |
| Nombreux - Récent | NR | 3 | 2003 / 90 / 82 / 59 |
| Nombreux - Récent | NR | 4 | 2003 / 90 / 62 |
| Nombreux - Récent | NR | 5 | 2003 / 90 / 70 |
| Nombreux - Ancien | NA | 6 | 90 / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux - Ancien | NA | 7 | (90?) / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux - Ancien | NA | 8 | (90?) / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux - Ancien | NA | 9 | 90 / 82 / 78 / 62 |
| Nombreux - Ancien | NA | 10 | 90 / 82 / 78 / 62 |
| Peu - Récent | PR | 11 | 2003 / (90?) / 62 |
| Peu - Récent | PR | 12 | 2003 / 82 |
| Peu - Récent | PR | 13 | 2003 / 82 |
| Peu - Récent | PR | 14 | 2003 / 70 |
| Peu - Récent | PR | 15 | 2003 / 62 |
| Peu - Ancien | PA | 16 | 90 / 64 |
| Peu - Ancien | PA | 17 | 82 / 59 |
| Peu - Ancien | PA | 18 | 90 / 62 |
| Peu - Ancien | PA | 20 | 90 |
| Peu - Ancien | PA | 24 | 82 |
| Témoin | T | 21 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin | T | 22 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin | T | 23 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin | T | 26 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin | T | 27 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin très ancien | TT | 33 | non brûlé depuis 1800 |

| | | |
|---|---|---|
| Nombreux - Très Récent | NTR | 4 à 5 feux : dernier en 2007 |
| Nombreux - Récent | NR | 3 ou 4 feux : dernier en 2003 |
| Nombreux - Ancien | NA | 3 feux : dernier en 1990 ou 85 |
| Peu - Récent | PR | 2 feux : dernier en 2003 |
| Peu - Ancien | PA | 1 ou 2 feux : dernier en 90 ou 82 |
| Témoin | T | Pas de feu depuis 1950. |
| Témoin très ancien | TT | Pas de feu depuis 1800 |

Le feu de 1970 est passé très près des placettes 2 et 3, et pas loin de la 1 ;
La 6 est en limite du feu de 1990. Les 7 et 8 loin hors de l'enveloppe ;
La 11 est dans l'enveloppe du feu de 1990 ;
La 27 est dans l'enveloppe du feu de 62 (mais près de route/pare-feu) ;
La 28 est en limite du feu de 1978 ;
La 14 a été détruite en 2007 par un débroussaillement (proximité de nouvelles constructions).

## *1.4 Description de la zone d'étude*

### 1.4.1 Situation géographique et climat

La zone d'étude se situe dans l'est du massif des Maures, au sud-est de la France, dans le département du Var (*Figure* 1). Ce massif de petite montagne bordant la mer méditerranéenne présente une série de 3 crêtes culminant entre 400 et 750m, orientées est-ouest, séparées par des vallées encaissées présentant des versants en pente forte.

*Photo 1: paysage typique des Maures dans la zone d'étude, prise de la placette n°2 vers l'ouest.*

Le climat est de type méditerranéen, caractérisé par des hivers doux et humides, des étés chauds et très secs (1 à 3 mois secs), et des maximums de pluies en automne et printemps.
La température moyenne annuelle va de 14.5°C au niveau de la côte à 12°C dans le cœur du massif en altitude. La pluviométrie moyenne dans le massif est de 900 mm/an mais sa variabilité interannuelle est très forte (300 à 1800 mm). On observe aussi des séries pluriannuelles de l'ordre de 7 à 10 ans alternativement plus humides et plus sèches de 20 à 30%.

Le climat de ces dernières années a été particulièrement sec et chaud (*Figure 2*).
Durant la canicule de 2003, les températures maximales et moyennes ont été dépassées de 4 à 6°C au cours de l'été, pratiquement sans pluies de mi-mai à fin-août ou fin-septembre suivant les zones.
Les années 2004 à 2007 bien que moins extrêmes pour les températures ont toutes présenté en fin de printemps des niveaux proches ou supérieurs aux maximums observés au cours des décennies précédentes. Elles ont poursuivi la série de sécheresses, avec des déficits annuels de 20 à 50%, et des déficits de 40 à 60% sur le premier semestre.

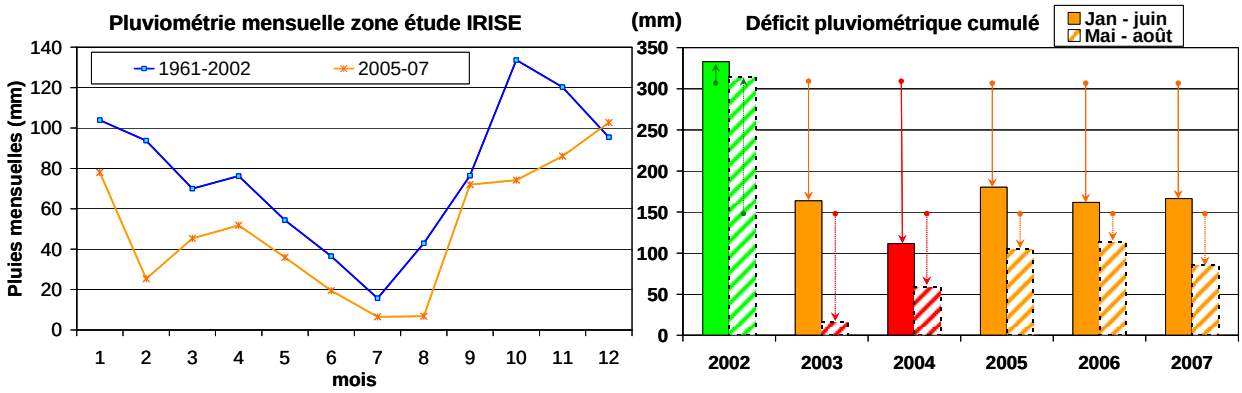



*Figure 2 : Déficit de pluviométrie entre 2003 et 2007 et sur la période du projet (2005-2007). Valeurs mensuelles sur l'année, et déficit (flèches rouges et oranges) sur le premier semestre et l'été.*

### 1.4.2 Caractéristiques géologiques et pédologiques de la zone d'étude et des placettes IRISE

#### *1.4.2.1 Géologie*

L'ensemble des placettes est situé sur des gneiss. A une exception près (33), elles reposent sur des gneiss de type migmatitique, c'est-à-dire dont le métamorphisme très poussé a provoqué la fusion partielle des roches d'origine, leur donnant une forte ressemblance avec un granite. Le grain de ces gneiss est moyen à grossier, alternant des lits sombres riches en minéraux ferromagnésiens (mica, amphiboles) et des lits plus clairs dominés par le quartz et le feldspath, ces derniers nombreux et visibles à l'œil nu. La placette 33 est située sur un gneiss plus classique, moins métamorphique, lui ayant permis de conserver une foliation bien visible, mais de composition chimique très proche et donnant des sols de texture semblable.

#### *1.4.2.2 Pédologie*

***Pour la placette 33* (témoin très ancien) :**

Sol altéritique développé sur substrat cristallin, présente un profil de type A,B, CR. Litière épaisse (3 à 10 cm), s'imbriquant fréquemment et irrégulièrement avec l'horizon A sur plusieurs centimètres. Horizon A très organique, brun sombre, épaisseur 5 à 10 cm, à faible teneur en éléments grossiers (5-15%). Horizon B net, épaisseur de 10 à 15 cm, faible teneur en éléments grossiers (10-20%). Horizon C rocheux altéré, d'une épaisseur de 20-30 cm à forte teneur en éléments grossiers (30-60%), passage progressif à la roche mère.

***Pour les placettes témoins récents* (I21 à 27, non brulées depuis 1950) :**

Sol altéritique développé sur substrat cristallin, présente un profil de type A,(B), CR. (pH 6 à 6,5). Litière faible (1-3 cm), généralement bien différentiée de l'horizon A. Horizon A de 5 cm, a teneur variable en éléments grossiers (10-30%), légèrement brunifié. Horizon B peu marqué, 10 à 15 cm d'épaisseur, très peu organique, forte teneur en éléments grossiers (20-40%). Horizon C rocheux altéré, 15 à 25 cm de profondeur, à dominante d'éléments grossiers (50-80%), passage progressif à la roche mère.
Les sols des témoins peuvent être caractéristiques des sols dénommés ainsi :
- Sols bruns acides (classification française =CPCS) ;
- Brunisol acides (Référentiel pédologique) ;
- Dystric Cambisol (classification WRB) ;
- Typic Dystroxerept (Soil Taxonomy).

***Pour toutes les placettes incendiées au moins une fois depuis 1950 :***

Sol altéritique développé sur substrat cristallin , présente un profil de type A, CR. (pH 6-6 .5). Litière faible (1-3 cm), généralement bien différentiée de l'horizon A. Horizon A de 2 à 5 cm, a teneur variable en éléments grossiers (20-50%), peu ou pas brunifié. Horizon C rocheux altéré, 20 à 35cm de profondeur, à forte dominante d'éléments grossiers (70-80%), passage progressif à la roche mère, avec une transition parfois plus rapide que dans les témoins.
Ces sols incendiés peuvent être classés dans les
- Xero-rankers (classification française =CPCS).
- Rankosols (Référentiel pédologique)
- Dystric Leptosol (WRB)
- Lithic Dystroxerept (Soil Taxonomy)

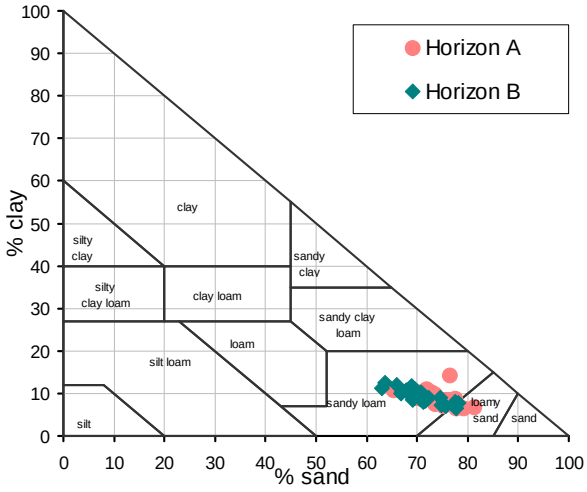
***Autres caractéristiques communes à l'ensemble des placettes :***

Aucune des placettes ne présente de strate colluviale significative en surface.

Des affleurements rocheux non ou peu altérés sont présents (5 à 10%) dans la plupart des placettes, notamment les zones les plus incendiées. Ils sont cependant fortement fracturés et se débitent généralement en blocs de 5 à 30 cm de diamètre, permettant la pénétration racinaire.

Les horizons A et B comportent un mélange d'éléments grossiers partiellement altérés, parfois un peu friables, et d'éléments non altérés. Les éléments grossiers de l'horizon C sont moins altérés et donc

majoritairement durs. Des poches d'altérite plus profonde (30-50cm) sont fréquentes dans la majorité des placettes, mais leur surface dépasse rarement quelques mètres carrés.




La texture est homogène dans l'échantillonnage, sablo-limoneuse à forte dominante sableuse (60-80%).

*Figure 3 : texture des sols échantillons*

Pour l'ensemble des placettes, on note un horizon superficiel irrégulier en épaisseur (0.3 à 3 cm) et de fort recouvrement (40-100%) très structuré en granulés d'ordre millimétrique à centimétrique, issu du démembrement ou de l'érosion des turricules de vers de terre. Cela nous a incité à analyser spécifiquement les turricules comme un horizon à part. Cet horizon est mélangé à la litière qu'il recouvre en partie lorsque le sol n'a pas été retourné par l'activité des grands animaux fouisseurs. Les turricules frais peuvent recouvrir près de 30% de la surface du sol au moment des pics d'activité des lombrics, et contribuent largement à enfouir la litière. Cette activité est plus intense dans les témoins et forêts non brûlées depuis assez longtemps. Elle a fortement diminué avec la sécheresse récurrente durant le projet.
Le labour du sol par les sangliers (5 à 20 cm de profondeur, jusqu'à 70% de la surface totale d'une placette certaines années) contribue à mélanger et homogénéiser les horizons superficiels, et explique en partie l'absence d'horizon B distinct sur certaines zones et la faible épaisseur de litière accumulée en surface. Cette activité est plus intense sur les zone non brûlées depuis longtemps.
L'activité biologique est donc un des éléments majeurs du fonctionnement de ces sols.

Le niveau de potentialité forestière est faible, ce que traduit la hauteur limitée des chênes-lièges dominants, comprise entre 5 et 8 m pour les placettes ayant brûlé au moins une fois depuis 50 ans. Dans certaines placettes témoins non brûlée depuis au moins 50 ans, quelques arbres peuvent dépasser 10m. Les fosses pédologiques ne révèlent aucune différence de profondeur ou de structure du sol.
Dans le catalogue des stations de la Provence cristalline (Ladier et al., 1996), toutes les placettes se classent dans le type EC1, à la limite parfois de la classe EF1, soit un niveau de potentialités de 2 à 2.5 sur une échelle allant de 0 à 6. Les différences de hauteur, densité et composition des peuplements sont donc entièrement dus au régime des feux passés et à l'évolution des peuplements avec l'âge.

### 1.4.3 Végétation

La zone d'étude présente une végétation évoluant avec la durée depuis le dernier feu, globalement homogène dans sa composition pour un régime de feu donné. Un étage dominant de chêne liège de 5 à 10 m de haut, de densité variable (10-70% de couvert), domine un maquis dense de 3 à 7 m. Dans les zones non brûlées depuis longtemps, ce maquis est composé majoritairement de bruyère arborescente et par endroits d'arbousier. Dans les zones récemment brûlées, ces mêmes espèces réduites à des rejets de faible hauteur sont accompagnées par des cistes et du calycotome épineux qui peuvent largement dominer le sous-bois.
Le chêne vert et le chêne blanc sont présents de façon disséminée, sous forme de rejets ne dépassant que rarement 10% du couvert dans les zones brûlées récemment, plus présents dans les zones de feux anciens sans dominer le chêne liège sauf exception dans de rares forêts anciennes (jusqu'à 70% de couvert). Le pin maritime, jadis dominant dans le massif et formant un étage de futaie au dessus des chênes, a aujourd'hui presque disparu en raison des attaques de la cochenille *Matsucoccus feytaudi* et des incendies récurrents. Il reste disséminé sous forme de petits peuplements dépassant rarement quelques ares, d'arbres isolés et de jeunes régénérations.

La structure et la composition des peuplements sont étudiées en détail dans les chapitres suivants.
Références:
Ladier J., Ripert C., 1996. Les stations forestières de la Provence cristalline (cap Sicié, îles d'Hyères, Maures, Tanneron). Number of 107 p.

# 2 Synthèse générale

## *2.1 Avant propos : état de référence*

Une des premières questions qui se posent pour l'évaluation de l'état des forêts étudiées, comme dans la plupart des écosystèmes perturbés ou en évolution, est celle de l'état de référence.
Nous avons choisi des témoins non brûlés depuis 50 ans ou plus comme référence dans ce travail, sachant qu'ils ne représentent qu'une très faible proportion de la zone d'étude. Si on exclu le fait que les derniers grands feux de 2003 sont encore récents, l'état "normal" ou "habituel" des forêts de cette zone serait plutôt la modalité PA, 2 feux en 50 ans dont le dernier datant de 15 à 25 ans, ce qui correspondrait au régime moyen d'incendie sur le dernier siècle. L'ouest des Maures a un régime similaire à celui de la zone d'étude. On trouve cependant des surfaces significatives de peuplements âgés de 50 à 100 ans dans le centre du massif des Maures où les feux non contrôlés ont été beaucoup moins fréquents au 20$^{ème}$ siècle. On y trouve aussi de très rares reliques (quelques hectares chacune) de forêts âgées de 200 ans ou plus, localisées majoritairement dans des vallons encaissés sur pente forte et ne pouvant donc servir de référence. L'un des sites, situé en pente moyenne et sur versant, a tout de même été utilisé dans le projet pour situer le niveau des témoins IRISE dans un référentiel plus large de dynamique de sol et de structure végétale.

Aucune de ces forêts ne représente un état d'équilibre de l'écosystème ni même un état proche de la stabilité, puisqu'on constate une évolution encore rapide dans nos témoins de 50 ans. Nous avons cependant mis en évidence que l'âge de 50 ans semble être un optimum de maturité pour la suberaie, puisque son évolution ultérieure conduit à un affaiblissement puis à la disparition du chêne liège au profit d'autres espèces comme les chênes blanc et vert, naturellement dominants dans ce milieu. En effet, la suberaie (habitat prioritaire dans les directives de l'UE), accompagnée ou pas de pin maritime, est un écosystème artificiel, un anthroposystème façonné par l'activité humaine qui y a favorisé les espèces les plus utiles économiquement au cours des siècles précédents. A long terme, son avenir sous la forme actuelle est compromis en absence d'incendie ou d'intervention humaine forte.

Un des problèmes rencontrés par l'ensemble des équipes avec les placettes témoins de 50 ans au moins est que l'on ignore à la fois la date du dernier grand feu et les traitements humains subis par ces parcelles avant 1950. Si les dimensions des arbres permettent d'affirmer que le peuplement dominant ne dépasse sans doute pas 70 ans, excepté pour quelques très gros chênes-lièges isolés, certaines ont pu être traitées en pare-feu, pâturées, écobuées ou exploitées pour le bois. Cette variété d'histoire, non homogénéisée par le feu récemment, explique la grande variabilité de cette modalité pour la plupart des paramètres, que ce soit la structure de la végétation ou les caractéristiques physico-chimiques. Cette variabilité a souvent rendu non significatives les différences avec d'autres modalités, alors que la moyenne en différait considérablement.

Le changement climatique doit être pris en compte dans cette réflexion. Le chêne liège, très rare dans la forêt d'origine, a été artificiellement étendu dans des zones largement en dessous de son optimum écologique, profitant notamment de l'abri procuré par le pin maritime cultivé avec lui. La disparition presque totale des pins adultes dans les années 50 à 80, attaqués par la cochenille "Matsucoccus", a déjà provoqué des dépérissements ou dans le meilleur des cas un mauvais état sanitaire des chênes lièges sur les sols peu profonds et les expositions les plus chaudes. Le réchauffement climatique va accentuer ce déséquilibre : les sécheresses répétées et canicules des années 2003 à 2008 le démontrent avec des taux de mortalité élevés dans la suberaie en absence de feux récent, plus forts dans les zones brûlées en 2003 et encore plus dans les zones brûlées en 2007, après 5 ans de sécheresse. La forêt de référence dans ces milieux pourrait à l'avenir ne plus être la suberaie mais une forêt de chêne vert, accompagnée de chêne blanc dans les meilleures stations. La résistance et la résilience structurelle de ces nouvelles forêts à l'incendie n'est pas du tout la même, car il n'y a plus conservation d'une étage arboré dominant après le feu.

Dans cette étude, perturbée par les sécheresses récurrentes, nous avons choisi de ne pas étudier seulement l'impact des incendies sur la forêt, mais aussi de façon prospective l'interaction entre incendie et sécheresse, en anticipation de ce que devrait être le climat des décennies à venir.

## *2.2 Synthèse fonctionnelle*

Sauf exception signalée, les résultats concernant le sol se réfèrent à l'horizon superficiel (0-5 cm), les horizons plus profonds n'étant que rarement altérés par le feu et ne se différenciant entre les modalités de régime de feu que par un nombre très restreint de paramètres. La faible teneur en matière organique des horizons situés en dessous de 5 cm de profondeur, liée à une histoire commune à toute la région marquée par les incendies récurrents, la surexploitation et l'érosion, contribue à leur faible différentiation, à l'exception des rarissimes forêts très anciennes. On peut remarquer cependant que 200 ans (l'âge de ces dernières) sont suffisants pour restaurer significativement une fertilité de ces horizons profonds malgré des milliers d'années de dégradation. La résilience de ces écosystèmes méditerranéens, et leur capacité à stocker du carbone dans le sol, n'est donc pas négligeable en cas de contrôle des incendies.

De façon globale, il y a une relation directe fonctionnelle (et pas seulement une corrélation) entre les ressources en matière organique et l'activité biologique du sol. Tout ce qui contribue à accroître les apports ou quantités présentes de matière organique (forte densité ou bonne croissance de la végétation, temps passant après un incendie, faible érosion), ou à réduire les pertes de matière organique (réduction du nombre ou de la fréquence des feux, faible érosion), participe à une augmentation de l'activité biologique en générale et bactérienne en particulier et à une accélération des cycles biogéochimiques. Une augmentation de la ressource en matière organique et en azote rend aussi les communautés du sol plus résilientes aux stress successifs.

La Capacité d'Echange Cationique (CEC) est aussi directement reliée au taux de Carbone organique ($R^2$=0.98). Ceci s'explique par le fait que parmi les deux principaux complexes d'échanges présents dans le sol (l'argile et la matière organique), seul le taux de matière organique varie en fonction du traitement, alors que le taux d'argile est très homogène (9%).
Le taux d'hydrophobicité du sol suit tout aussi fidèlement le taux de MO, et augmente quand le nombre de feux diminue ou quand le temps après le feu augmente.

Dans les zones brûlées, de nombreux arbres morts restent debout pendant quelques années avant de se coucher au sol. De même, il faut plusieurs années pour que les souches mortes se décomposent. S'il était possible sur les feux récents d'éviter de situer les prélèvements juste au niveau de tels zones particulières, il est beaucoup plus difficile de les éviter dans les feux plus anciens où elles ne sont plus détectables. Cela peut avoir contribué à accroître la variabilité des prélèvements au sein des modalités de feux anciens et des témoins, car les concentrations de matière organique dans quelques prélèvements y sont beaucoup plus élevées que dans la moyenne de ces sites.

La qualité de la matière organique joue un rôle moins important que sa quantité, mais significatif, particulièrement dans le cycle de l'azote. Cette qualité est modulée par les feux, qui conduisent à une augmentation des composés organiques récalcitrants à la décomposition par les microorganismes, notamment des composés aromatiques dont certains inhibent le fonctionnement bactérien. L'accumulation de ces substances lors de feux successifs contribue au ralentissement de l'activité du sol. Les composés organiques extractibles à l'eau, mobiles dans le sol, ainsi que les acides fulviques étant peu touchés qualitativement par les feux, ce sont surtout les substances humiques, et particulièrement les acides humiques, qui subissent des transformations qualitatives, se traduisant par une condensation, une complexification et un plus haut degré d'aromaticité.
Des substances toxiques (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques [HAP], goudrons, suies, ...) sont aussi produites en grand nombre lors des incendies et se retrouvent dans le sol et notamment en surface pour les plus légers d'entre eux : le taux des principaux HAP, dont le naphtalène qui est le plus abondant, décroît rapidement mais reste élevé trois ans après le feu, avec des effets potentiels sur l'activité biologique. 16 ans après le dernier feu, les sols brûlés ont une distribution en HAP encore différente de celle des témoins, bien qu'avec des teneurs totales très faibles et équivalente. Le rétène, composé aromatique généré par la combustion du bois, probablement résistant à la biodégradation car détectable à des taux significatifs même 16 ans après le dernier feu, semble un bon marqueur des sols brûlés fréquemment dans le passé, notamment parce qu'il est produit en abondance par la combustion du bois des résineux qui étaient bien plus abondants jadis. Ce point reste à confirmer par un échantillonnage plus large.
Dans les zones fréquemment brûlées, les charbons inertes peuvent représenter une part importante de la matière organique du sol, l'immobilisation de carbone par le feu sous cette forme stable privant les cycles

biologiques d'une partie de la production de biomasse végétale. Ces charbons jouent sans doute un rôle actif dans d'adsorption de nombreux composés chimiques et organiques, qui n'a pas été étudié dans ce projet.

La végétation joue aussi un rôle direct dans la qualité de la matière organique: par rapport aux espèces des stades évolués de la forêt, les végétaux des stades pionniers après incendie contiennent des proportions supérieures de composés récalcitrants à la biodégradation ou même inhibiteurs de l'activité microbienne, particulièrement efficaces sur le cycle de l'azote. Ces composés sont apportés aussi bien par les feuilles que par les racines. Dans les milieux brûlés où l'azote s'est majoritairement volatilisé, certaines plantes se prémunissent ainsi d'une trop forte concurrence avec les bactéries pour l'azote.

Dans la zone d'étude, les vers de terre semblent jouer un rôle clef à tous les stades de la dynamique végétale. Leur activité contribue très significativement à l'enfouissement et à la décomposition de la litière. Leurs déjections sont le siège privilégié de l'activité bactérienne et des cycles biogéochimiques. L'intensité et la distribution spatiale de leur activité dépend à la fois de la date depuis le dernier feu et du nombre de feux, et elle est très corrélée à la quantité de matière organique disponible, ce qui n'est pas surprenant puisque c'est leur nourriture exclusive. Elle dépend aussi principalement de l'humidité du sol.
En surface du sol dans les milieux brûlés récemment, le taux de matière organique tombe rapidement à des niveaux faibles et les substances toxiques et récalcitrantes sont abondantes. En remontant de la matière organique plus favorable puisée en profondeur, et des bactéries associées, les vers relancent l'activité bactérienne et les cycles biogéochimiques en surface, palliant à la faible présence de litière. Cet apport bien que faible dans l'absolu est significatif comparé à l'activité du sol lui-même. Cette activité contribue aussi à rendre aux sols incendiés une bonne porosité favorisant l'infiltration, et à reconstituer en surface une couche d'agrégats cohérents qui limite l'évaporation et l'érosion. Au fur et à mesure que le milieu se reconstitue, que la litière et le taux de matière organique dans l'horizon A du sol s'accroissent, l'activité des vers contribue plus significativement à l'ensemble des processus biologiques, au point que la taille des populations et l'activité potentielle des bactéries ainsi que la concentration des éléments nutritifs dans leurs déjections, deviennent très supérieure à celle des sols. Les déjections fraîches des vers peuvent couvrir jusqu'à 30% de la surface du sol en période de forte activité, et les agrégats qui en sont issus, récents et anciens cumulés, couvrent la plupart des sols de la zone d'étude d'une couche continue de plusieurs millimètres d'épaisseur, y compris dans certaines zones fréquemment incendiées. Très marqués par la répétition de la sécheresse, en interaction avec la répétition des feux, les vers semblent de bons indicateurs de l'état de l'écosystème.
L'étude montre aussi qu'après une série de sécheresses combinée à de nombreux feux, cette fonction essentielle jouée par les vers de terre est actuellement menacée car elle n'est plus assurée que par 2 espèces (1 par groupe fonctionnel présent), réduites à peu d'individus mal répartis spatialement.

Les communautés bactériennes sont fortement affectées par les incendies, et dès le premier feu. La taille des communautés diminue et leur structure change. Le feu sélectionne des communautés à faible efficacité métaboliques, capables de se multiplier rapidement dans un milieu appauvri mais moins résistantes et moins résilientes aux stress hydriques. La structure des communautés, qui dépend en partie des ressources disponibles, n'est pas restaurée 15 ans après le feu, puisqu'elles sont encore moins résistantes que celles des témoins. Les cycles biogéochimiques auxquels ces bactéries contribuent considérablement peuvent en être affectés.

Parmi l'ensemble des éléments nutritifs, seul l'azote ammoniacal est significativement affecté par le feu. Ces éléments n'ont cependant pas encore été dosés sur le témoin très ancien.
L'azote est l'élément le plus volatilisé par les incendies. La dynamique des acticités microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote est également affectée par le feu. Pour les autres éléments, un régime moyen de perturbation, dont le feu, commun à l'ensemble de la zone d'étude au cours des dernières centaines ou milliers d'années a homogénéisé la fertilité du sol sur un milieu qui est déjà choisi pour être très homogène géologiquement et pédologiquement. Ce qui fait la différence entre les zones les plus brûlées et celles qui le sont moins, où qui l'ont moins été, est l'épaisseur du sol liée à l'érosion cumulée. Si la teneur moyenne par cm de sol est identique entre modalités, les placettes très anciennes et, dans une moindre mesure, celles qui n'ont pas brûlé depuis 50 ans disposent d'une épaisseur légèrement supérieure de sol, donc d'un réservoir de plus grande capacité.

Les courbes de rétention en eau réalisées au laboratoire distinguent, d'un point de vue qualitatif, les modalités « Nombreux-Récents », puis les modalités « Nombreux-Anciens », « Peu-Récents » et « Peu-Anciens » et enfin la modalité « témoin », les deux extrêmes étant significativement différent des 3 intermédiaires. Ces différences identifiées sur les courbes de rétention ne se retrouvent pas pour la réserve utile du sol. L'effet des modalités sur la courbe de rétention concerne une diminution de la méso et/ou de la macroporosité, sans modification du spectre poral de la microporosité.

La macroporosité et son spectre ont pu être obtenus sur une parcelle au sein de chaque modalité. Il semble, qu'**elle puisse être utilisée comme un indicateur de dégradation du milieu**, car elle est sensible d'une part à la date du dernier feu et d'autre part à la répétition des incendies. La diminution de macroporosité sous l'effet de l'incendie, réversible rapidement dans le cas d'une faible fréquence mais irréversible ou très lentement réversible dans le cas d'occurrences fréquentes, peut être attribuée à la disparition des pores les plus fins de cette macroporosité (limité entre méso- et macroporosité), et donc potentiellement à l'activité biologique. Un affaiblissement ou une modification fonctionnelle importante des communautés biologiques (bactéries, microfaune) par la répétition trop fréquente des incendies pourrait être en cause dans ce phénomène.

## *2.3 Seuils de temps*

Le temps écoulé depuis le dernier feu a globalement, sur l'ensemble des analyses, plus de poids que le nombre ou la fréquence de feux des 50 dernières années dans les variations des paramètres mesurés. Nos placettes ont été choisies pour faire varier la date du dernier feu dans une large fourchette et permet ainsi de situer un certain nombre de seuils de temps dans cette dynamique temporelle. Cependant, le nombre ou la fréquence des feux modulent souvent la réponse temporelle des paramètres et se montrent parfois plus significatifs. Les seuils qui s'y rapportent sont traités dans le paragraphe suivant.

### 2.3.1 Sur le long terme : 150-200 ans

Il faut de l'ordre de 150 à 200 ans pour retrouver une structure de vielle forêt ressemblant à ce que devaient être les forêts naturelles dans ces milieux, dominées par le chêne vert et le chêne blanc, accompagné sur les sols bons ou moyens par d'autres arbres et arbustes de forêt évoluée (grands érables, if, houx), et possédant des strates basses denses de lierre, fougères, ronce, fragon, garance, ...
C'est aussi le temps qu'il faut pour retrouver une quantité significative de matière organique et une forte activité biologique dans l'horizon B (5-15 cm). Même si certaines analyses montrent un début de ré-enrichissement de l'horizon B à 50 ans, soit en quantité soit par quelques marqueurs fonctionnels, la différence avec les modalités brûlées récemment ou anciennement est très rarement significative, et la quantité dans tous les cas très faible. La quantité de matière organique dans l'horizon A de ces très vieilles forêts est 2 à 3 fois supérieure à celle des témoins de 50 ans, montrant que l'on a passé un seuil significatif de ressource, car la différence entre témoins de 50 ans et modalités brûlées est plutôt de l'ordre de 20 à 40%.

Le temps de reconstitution d'une teneur significative en carbone dans le sol au-delà de l'humus et de l'horizon A du sol en surface se situe donc très au-dessus du temps de récurrence moyen des incendies dans les Maures. Ce point est à considérer dans le bilan "effet de serre" des incendies.

### 2.3.2 Sur le moyen terme : 50 ans

L'optimum de la suberaie en tant que peuplement se situe autour de 40 à 50 ans, âge où s'établi l'équilibre dans l'étage dominant entre chêne liège et chênes vert/blanc lorsque ces derniers étaient présents dans le peuplement brûlé et ont pu rejeter en nombre significatif. S'ils ne l'étaient pas, leur installation significative en sous-étage des suberaies vieillissantes prend aussi 50 ans, ce qui retarde leur passage dans l'étage dominant. Dans tous les cas, le chêne liège cède la place à ces autres chênes dès qu'ils passent dans l'étage dominant. Dans les autres cas, l'arbousier s'il est dense initialement en sous-bois peut aussi étouffer le chêne liège en montant dans la canopée à partir de 50 ans.
50 ans est aussi le moment où la reconstitution des houppiers de chêne liège et la croissance des rejets des autres arbres permet au couvert de devenir dense dans la strate 6-10 m (80%), constituant une véritable ambiance forestière. Le couvert total toutes strates confondue qui s'accroissait très vite jusque là marque une inflexion, montrant qu'en termes de production de biomasse on atteint des niveaux élevés qui vont s'accroître ensuite plus lentement.

Quasiment tous les paramètres qui varient après l'incendie se retrouvent à 50 ans au niveau le plus favorable par rapport aux dates antérieures, 3-5-15 ou 25 ans.

La limite de 50 ans ne constitue cependant pas un seuil critique directement mesurable ou une asymptote pour la résilience des paramètres physico-chimiques et biologiques du sol :

- d'une part la marge de progression est encore énorme par comparaison avec les forêts très anciennes, notamment en termes de teneur en matière organique et des paramètres qui y sont corrélés,
- d'autre part, le fait que les valeurs de nombreux paramètres biologiques ou physico-chimiques sont, à 50 ans, significativement supérieures par rapport à toutes les modalités brûlées même anciennes montre qu'une dynamique de résilience est engagée depuis assez longtemps sans qu'on sache à quel stade elle se trouve ni quel profil d'évolution elle suit.
- enfin la variabilité entre témoins de 50 ans est grande, montrant que l'histoire des placettes et les variations de composition et structure végétale laissent des traces très significatives au-delà de 50 ans sans perturbation.

Cependant, pour atteindre les niveaux observés sur les peuplements très anciens, ces paramètres et notamment les teneurs et qualités de matière organique doivent marquer une accélération qui pourrait se situer vers 50 ans, au moment où les peuplements se ferment et où la productivité végétale atteint des valeurs élevées.

### 2.3.3 Sur le court terme : 15 -25 ans

A court terme, les variations de densité du peuplement de chêne liège jouent un rôle important dans la dynamique de l'écosystème.
15 ans sont nécessaires, si le peuplement de chêne liège est dense, pour que la reconstitution du couvert à partir des houppiers élimine les espèces pyrophiles principales (cistes, calycotome). S'il ne l'est pas mais que le maquis est suffisamment dense (arbousier, bruyères), il faut de 20 à 25 ans pour arriver au même résultat. Cela retarde du même coup la résilience des fonctions biologiques qui dépendent de la qualité des apports de la litière, notamment celles qui peuvent être inhibées par les cistes.

Le seuil de 15 ans est important pour la résilience de certaines fonctions biologiques et paramètres physico-chimiques, qui retrouvent à ce stade des niveaux quantitatifs comparables aux témoins de 50 ans. La diversité des populations de vers de terre fait partie des paramètres dont la résilience est atteinte à ce stade en absence de sécheresse exceptionnelle. La quantité de carbone organique total et la respiration basale des bactéries, qui sont très corrélées, ainsi que le taux de HAP, qui tombe à des niveaux très faibles, sont également rétablis entre 15 et 25 ans. On note cependant que, sans exception pour les paramètres modifiés par le feu, seul l'aspect quantitatif est rétabli à ce stade, les données qualitatives (pourcentages des types et aromaticité de la MO, ses teneurs en groupements oxygénés et alkyle et réponse en fluorescence ou aux UV, spectre des HAP, fonctions bactériennes dont cycle de l'azote, azote ammoniacal, distribution spatiale des vers,...) différent encore du témoin, souvent de façon significative.

La plupart des paramètres qui n'ont pas atteint quantitativement ou qualitativement les valeurs des témoins à 15 ans évoluent nettement entre 15 et 25 ans en se rapprochant de la valeur atteinte à 50 ans, ce qui montre que 25 ans pourrait être un seuil intermédiaire de résilience, y compris pour certains aspect qualitatifs, ou du moins pour l'état global de l'écosystème. Les deux placettes PA dont le dernier feu remonte à 1982 ou 85 se distinguent en analyses multivariées des placettes PA brûlées en 90, en étant plus proches des témoins. Bien que le phénomène soit net, le nombre de placettes concernées est trop faible pour conclure.

### 2.3.4 Sur le très court terme : 1-3-5 ans

1 an après le feu, la structure de végétation est totalement modifiée, la couverture au sol faible, la litière inexistante, la matière organique des horizons superficiels fortement carbonisée, et l'importante couche de cendre restant en surface ou mélangée au premier centimètre de sol rend celui-ci pulvérulent et hydrophobe.
La quantité de matière organique de l'horizon superficiel est élevée, équivalente a celle trouvée dans les témoins. Cela montre l'enrichissement transitoire de cet horizon par une partie de la matière organique de la végétation brûlée par le feu (dont en partie par les cendres), puisque le niveau initial de matière organique dans cet horizon était 20 à 40% inférieur à celui des témoins avant le feu, et qu'une partie a été volatilisée

ou s'est échappé en fumées. Ces valeurs sont très homogènes entre placettes NTR. Une placette PA échantillonnée en 2006 (PA n°7) et que le feu de 2007 a rebrûlé (NTR 7bis) confirme totalement en valeurs relatives les faibles différences mesurées entre l'ensemble de la modalité NTR et les témoins. Les teneurs en HAP, et notamment en HAP légers, sont beaucoup plus élevées sur ces sols que dans les phases ultérieures.
La respiration microbienne potentielle est élevée, en rapport avec la teneur en matière organique, montrant que certaines communautés ont soit résisté soit recolonisé rapidement l'horizon superficiel, et sont très actives après humectation. Les échantillons ayant été récoltés en mai 2008, les analyses ne sont pas complètes et ne permettent pas d'aller plus loin dans l'interprétation de ces résultats.

La très grande sécheresse régnant ces dernières années a impacté la résistance ou la résilience de l'ensemble des communautés animales du sol, se traduisant un an après le feu par l'absence quasi-totale d'invertébrés (cf. 2.5), sans qu'on puisse affecter précisément un poids relatif au feu ou à la sécheresse dans ce phénomène.

3 ou 5 ans après le feu, la quasi-totalité des paramètres biologiques et physico-chimiques (en dehors des éléments nutritifs) sont à des niveaux quantitatifs ou qualitatifs significativement différents de ceux des témoins, et la plupart sont différents aussi des niveaux atteints 15 ans après le feu. La résilience n'est donc jamais atteinte à ce stade pour les paramètres que le feu a modifiés. Les teneurs en HAP ont cependant fortement diminué, montrant que la contamination de surface est de courte durée.
Dans notre cas, une évolution aurait pu être mise en évidence entre 3 et 5 ans: la végétation pionnière, qui occupe densément le terrain et atteint son apogée vers 3 ans, et le couvert de chêne liège qui s'est partiellement reconstitué au même âge, auraient pu commencer à reconstituer la litière et l'ambiance forestière, certaines fonctions biologiques en profitant pour évoluer rapidement. Malheureusement, la sécheresse récurrente a plutôt fait régresser la végétation, et a arrêté les processus biologiques durant la plus grandes partie des années 2006 et 2007 et jusqu'à avril 2008.
Le projet ne permet donc pas de discerner cette évolution à très court terme, mais mets plutôt en évidence l'interaction forte entre sécheresse et incendie.
Le fait que la quantité de matière organique de l'horizon A ait chuté de 40% entre 1 et 3 ans montre que ces apports transitoires de MO comprenaient une majorité de molécules facilement mobilisables, soit par l'activité biologique (d'où le pic d'activité bactérienne à 1 an) soit par d'autres processus physiques (lessivage, érosion, ...). Les analyses en cours donneront plus d'indications sur ce phénomène.

## *2.4 Seuils de fréquence et de nombre de feux*

L'impact de la répétition des incendies peut être abordé par deux paramètres : le nombre total de feux dans la période de référence de 50 ans, ou un indice de fréquence des feux (cf. formule ci-dessous). Bien que très corrélé au nombre de feux, l'indice de fréquence tient compte du temps écoulé entre deux incendies, et est d'autant plus élevé que les feux se sont produit dans un court intervalle de temps. On peut en effet penser qu'en raison du temps nécessaire à la résilience de certaines fonctions biologiques et paramètres physico-chimiques, et de la structure et composition de la végétation, deux feux rapprochés auront un effet plus important que deux feux respectant le temps de résilience d'une majorité de paramètres. C'est particulièrement vrai pour les végétaux dont la maturité sexuelle se produit à un âge élevé, et que deux feux rapprochés peuvent définitivement éliminer de vastes zones. C'est aussi le cas pour les aspects qualitatifs et quantitatifs de la matière organique.

L'IMEP a défini un indice composite de fréquence d'incendie (FGI) combinant plusieurs approches issues de la littérature. Il est donné par la formule suivante:

$$FGI = Ni / Log\ ([I_p - I_{F1}] \times [I_{F1} - I_{F2}] \times \ldots \times [I_{Fi} - I_{Fa}])$$

*avec (Ni) = nombre de feux et un indice de temps calculé par le produit des intervalles de temps séparant les incendies ($I_p$ est l'instant en année du prélèvement, $I_{Fi}$ est l'instant du $i^{ème}$ feux, $I_{Fa}$ est l'instant du feu le plus ancien).*

Cet indice permet de considérer l'ensemble des placettes comme des entités individuelles, et de travailler en régression pour chaque paramètre et non en comparaison par modalité, ce qui s'avère parfois plus robuste en raison du faible nombre de répétition (5) et de la variabilité de la date des feux par modalité, mais du nombre élevé de placettes (25 à 32 suivant les paramètres).

Pour les données microbiologiques, cet indice de fréquence donne en général des coefficients de régression un peu meilleurs que le nombre de feux. Son inconvénient est qu'on ne connait pas précisément sa valeur pour les témoins de 50 ans et plus, dont la date des derniers feux est inconnue. Elle a été fixée à il y a 50 ans arbitrairement, en attente de données plus fiable.

Quelle que soit la méthode utilisée, on remarque que lorsqu'un paramètre est influencé par le nombre ou la fréquence des feux, ce sont surtout les valeurs extrêmes du régime de feu qui ont un impact significatif sur ce paramètre (Figure 4). Les différences entre 1, 2 et 3 feux sont peu marquées.
Dans les régressions liées à la fréquence des feux, la pente des courbe est généralement forte aux extrémités Les courbes de régression et la distribution des valeurs moyennes par modalité sont rarement linéaires.

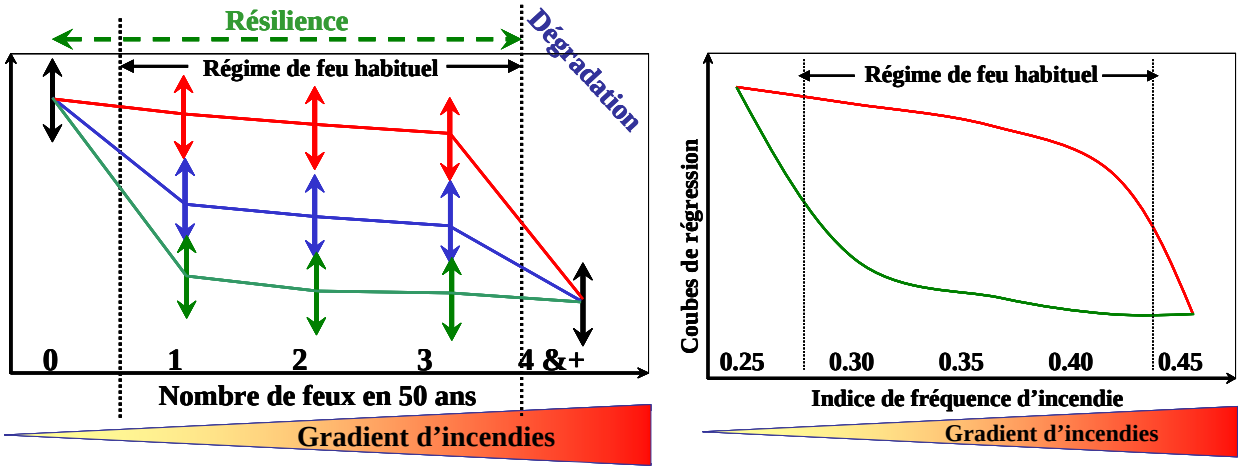



*Figure 4: Distribution des classes ou courbes de régression de la majorité des paramètres étudiés en fonction du nombre de feux.*

Il semble donc ressortir dans les fréquences intermédiaires un régime d'incendies moyen avec lequel la majorité des paramètres biologiques et physico-chimiques sont en pseudo-équilibre, c'est-à-dire pour lequel une bonne résilience globale est possible.
Par contre au niveau des extrêmes :

- une amélioration sensible de l'état général de l'écosystème est observée au bout de 50 ans minimum sans feu, qui s'accélère ensuite pour atteindre des niveaux très élevés entre 150 et 200 ans.
- une dégradation nette de l'ensemble des paramètres se produit à partir de 4 feux en 50 ans, ou d'une fréquence élevée d'incendies se traduisant par plusieurs feux successifs à 15 ans ou moins d'intervalle avec au moins 3 feux en 50 ans. Le niveau de dégradation ainsi atteint traduit une diminution de la résistance de l'écosystème est puisqu'on constate des pertes d'espèces et de fonctions par rapport aux niveaux atteints avec des régimes de feux moins violents. Il semble pouvoir retarder ou empêcher la résilience de l'écosystème, notamment en modifiant durablement la structure de végétation et les niveaux de potentialités du sol (teneur en carbone et qualité de la matière organique), ce qui se traduit par la dégradation de fonctions clefs (microclimat, activité et diversité des vers, cycle de l'azote).

Ces résultats synthétiques ont des implications pratiques pour les gestionnaires. Pour une gestion durable de ces écosystèmes, il semble important de protéger prioritairement:

- les zones déjà très souvent brûlées, et dont la végétation et le sol sont dégradés, où un feu supplémentaire peut dépasser les capacités de résistance et de résilience de l'écosystème, d'un point de vue structurel et fonctionnel.
- les zones de forêt anciennes (50-200 ans):

* les plus anciennes (150-200 ans) parce qu'elles sont très rares et très morcelées et parce qu'elles contiennent des espèces spécifiques qui risquent de disparaître localement. D'autre part, même si leur capacité de résilience fonctionnelle à moyen terme est probablement forte, en raison du gros stock de matière organique dans le sol, le feu les dégraderait à long terme car elles ont perdu en partie leur résistance (peu d'espèces pyrophiles) et beaucoup leur résilience structurelle à cause de la rareté du chêne liège.

* celles qui ont atteint 50 ans ou un peu plus, en raison de leur relative rareté (au moins dans l'est et l'ouest du massif des Maures), de leur fragmentation spatiale limitant la dispersion possible des espèces spécifiques et de la dynamique rapide d'enrichissement chimique et biologique qui s'y produit.

Les forêts n'ayant pas brûlé depuis quelques dizaines d'années et présentant une densité suffisante de chêne-liège, ou un maquis dense d'arbousier et de bruyères, seraient donc moins prioritaires que certaines zones de maquis dégradés, car beaucoup plus à même de résister à un incendie et de s'en remettre. Cette conclusion est à nuancer en fonction des problèmes de sécheresse (cf. 2.5), les suberaies étant plus sensibles au feu en cas de sécheresse prolongée.

## *2.5 Interaction incendie - sécheresse*

Bien que la sécheresse fasse partie du fonctionnement normal des milieux méditerranéens, ainsi que les feux qui y sont liés, les effets conjugués du feu et de grandes sécheresses répétées sur l'écosystème actuel de la zone d'étude sont dévastateurs.

La mortalité anormalement élevée du chêne-liège après 4 ans de sécheresse dans les parcelles brûlées en 2003, et celle encore plus forte qui a suivi le feu de 2007 qui s'est produit après 5 ans de déficit hydrique continu, montrent que chacune des perturbations accroît l'impact de l'autre. La résistance et la résilience de la structure et de la composition végétale, habituellement bonnes avec le régime moyen d'incendie ou de sécheresse, sont éprouvées par la combinaison des deux perturbations à forte fréquence.
Au-delà d'une limite qui ferait disparaître la dominance du chêne liège, un nouvel équilibre autour d'autres espèces s'établirait sans doute, avec ses niveaux propres de résistance et une résilience relative au nouveau régime, mais dans une structure moins forestière.
L'inhibition de la flore herbacée derrière les feux de 2003 et 2007, diminuant la biodiversité à une période où elle devrait être maximale, est une autre démonstration de l'interaction entre les deux perturbations: elle ralentit aussi la reconstitution du couvert, de la litière et de la fertilité après incendie, laissant le sol plus longtemps exposé à l'érosion. La vitesse de résilience est donc diminuée. A l'opposé, la sécheresse a favorisé ou au moins n'a pas diminué la biodiversité dans les placettes de forêt ancienne.

Ce qui est facilement observable sur la structure et sur la composition végétale l'est aussi sur certaines communautés animales. Alors que la tendance observée au début du projet était une reconstitution progressive et assez rapide des communautés de vers de terre avec le temps derrière incendie (résilience) sauf en cas de feux trop répétés), les sécheresses de 2005 à 2007 ont progressivement décimé ces populations, et cela d'autant plus que le régime de feu passé était sévère et la date du dernier feu récente (hors feu de 2007 pour lequel d'autres phénomènes sont en jeu). En 2007 et 2008, seules 2 espèces, subsistant par peu d'individus et n'occupant plus toute la surface étaient présentes dans les parcelles fréquemment brûlées et leur activité était réduite dans les parcelles brûlées plus anciennement par rapport aux témoins. Il y a donc eu perte de résistance et de résilience.
Après le feu de 2003, ou d'autres feux anciens, les invertébrés du sol étaient nombreux à la surface du sol ou dans l'horizon A dès les premiers mois après le feu, ou au pire au bout d'un an, notamment au printemps: fourmis, iules, cloportes, araignées, myriapodes, etc... Bien que non relevées de façon méthodique, la présence et l'abondance de ces espèces se traduisaient pas la nécessité de trier certains prélèvements de sol, au moment du tamisage, ou de les situer à distance de nids de fourmis qui étaient très abondants. Chaque pierre soulevée révélait des colonies ou individus de plusieurs espèces. Lors des relevés de mai et juin 2008, quasiment aucun invertébré (notamment aucun myriapode, ni araignée, ni iule) n'a été trouvé dans l'ensemble des prélèvements NTR du feu de 2007 ni dans ceux de la modalité NR brûlée en 2003, et ce malgré des pluies abondantes entre mi-avril et début juin 2008. Une telle absence de vie n'avait jamais été notée dans cette région. Les nids de fourmis ont été comptés lors des relevés de turricules en avril et mai 2008: il n'y en avait pas plus de 2 à 3 par placette, représentant 1 ou 2 espèces, ce qui est très inférieur aux observations empiriques de 2005 et aux données habituelles de la littérature.

Sur les communautés microbiennes, l'interaction incendies-sécheresse a été testée de façon rigoureuse en laboratoire. Des échantillons de sols issus des modalités IRISE ont été soumis à un nombre variable de cycles dessiccation/réhumectation (1 ou 4) après une période d'incubation destiné à les mettre tous au même niveau d'humidité et d'activité potentielle. Le même test a été réalisé en ajoutant une quantité suffisante de matière organique et d'azote pour que les ressources ne soient pas limitantes, afin de tester le rôle ces ressources dans les mécanismes de résistance et résilience des communautés présentes.

Quelque soit leur fréquence, les incendies modifient à court terme et durablement la composition microbienne des sols, sélectionnant des communautés de faible efficacité métabolique, moins résistantes et moins résilientes aux stress hydriques. Ces modifications sont d'autant plus importantes que la fréquence des incendies est élevée. Les communautés contribuant à la résistance se reconstituent avec le temps puisqu'elles retrouvent un niveau équivalent ou supérieur aux témoins après 15 ans, quel que soit le nombre d'incendies. La résilience reste très inférieure à celle des témoins à 15 ans si les feux passés ont été nombreux. Une meilleure résilience de l'ensemble des modalités avec ajout de ressources va dans le même sens que la meilleure résilience des modalités où les feux sont anciens, et où les ressources du sol en matière organique sont plus élevées.
Lorsqu'on multiplie les stress hydriques, la résistance diminue beaucoup et la résilience augmente légèrement pour toutes les modalités brûlées, les feux récents conservant les moins bonnes performances. Le nombre de feux n'a plus d'effet significatif, montrant que la répétition des sécheresses opère sa propre sélection dans les communautés bactériennes.
Dans notre contexte écologique, la diminution de la résistance et de la résilience au stress hydrique après un incendie récent serait donc induite par une réduction de la biomasse microbienne et par une modification de la structure de la communauté, cette modification étant très durable.
La diversité fonctionnelle et le quotient métabolique (traduisant l'efficacité de l'utilisation des ressources) sont significativement impliqués dans la résistance des fonctions (activités enzymatiques) et des propriétés de taille (biomasse microbienne totale) et de statut métabolique des communautés microbiennes à la sécheresse. Nos résultats valideraient ainsi l'hypothèse de la nécessité d'une importante redondance fonctionnelle pour la conservation d'une résistance élevée.

Globalement, l'interaction entre gradient d'incendies et gradient de sécheresse peut se résumer dans la Figure 5.

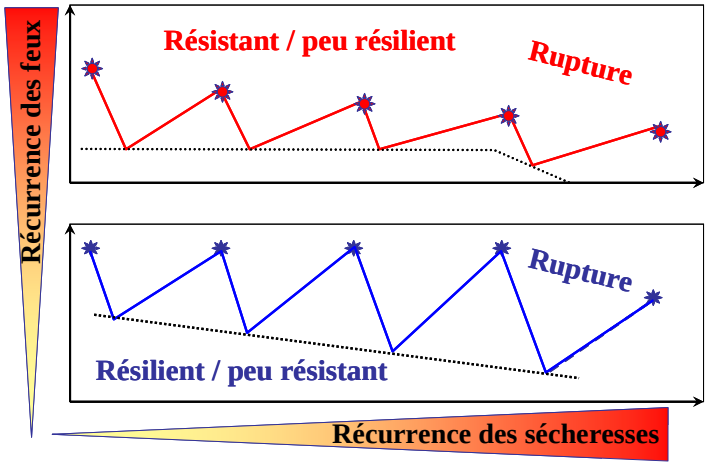



*Figure 5 : Interaction entre récurrence des feux et récurrence de la sécheresse*

Les communautés des milieux fortement incendiés, ouverts, chauds et secs, sont déjà sélectionnées pour leur adaptation globale au stress, et en particulier aux stress hydriques et thermiques. Leur état se situe nettement au-dessous de celui des témoins, mais les communautés vont peu souffrir à court terme d'un stress supplémentaire (résistance relative). Par contre, le manque de ressources dans ces milieux appauvris rend la résilience des communautés assez lente. Rétroactivement, la faible activité et croissance des communautés ne permet pas la reconstitution des ressources et des caractéristiques physico-chimiques du sol, d'où un niveau de résilience de plus en plus faible. Au-delà d'un seuil de répétition des stress hydriques, une rupture est observée même au sein des espèces stress-tolérantes et une dégradation irréversible se produit.

Dans les milieux faiblement impactés par le feu, la sécheresse provoque des pertes d'espèces, les communautés étant peu habituées aux stress. Il n'y a donc perte de résistance, mais la diversité spécifique et fonctionnelle des communautés, ainsi que le bon niveau de ressource du milieu, permet une bonne résilience. Là encore, le dépassement d'un seuil de répétition du stress hydrique provoque une rupture quand certaines fonctions ne sont plus assurées et que les pertes de structure ou de diversité des communautés sont trop importantes.

Les seuils de rupture varient d'une communauté à l'autre. En considérant la répétition des sécheresses entre 2003 et 2007, il semblerait que 4 années successives constituent un seuil critique pour les écosystèmes étudiés. Il correspond au seuil critique du nombre d'incendies. Bien que l'expérience sur les bactéries ne permette pas de fixer le seuil critique de répétition des sécheresses, et que l'on soit à une autre échelle spatiale et temporelle, 4 cycles de dessiccation/humidification ont beaucoup plus profondément modifié les caractéristiques des communautés bactériennes qu'un seul cylcle.

## *2.6 Aide à la reconstitution après feu*

Comme le soulignent tous les chapitres précédents, les ressources du sol, et particulièrement celles en matière organique jouent un rôle clef dans la résilience de l'écosystème. Du point de vue fonctionnel, le cycle de l'azote est l'un des plus perturbés par les incendies. L'apport de ressources par épandage de composts (purement végétaux ou boues compostées de station d'épuration pourrait donc être envisagé comme un moyen efficace pour accélérer et améliorer la reconstitution du milieu après incendie, et notamment :

- dans les milieux déjà très dégradés ou très fréquemment incendiés où le couvert forestier est menacé de disparition,
- dans les zones sensibles, touristiques ou périurbaines, mais aussi à plus large échelle dans les zones érodées qui méritent une attention particulière,
- lorsque la sécheresse précédant ou suivant un incendie risque d'aggraver la mortalité des arbres.

Les composts peuvent avoir des caractéristiques très différentes suivant leur degré de maturité, apportant des composés organiques et minéraux plus ou moins facilement et rapidement utilisables par les différentes communautés vivantes du sol. Ils jouent aussi un rôle de paillage qui améliore considérablement le cycle de l'eau : plus d'infiltration, moins d'évaporation. Le choix des meilleurs dosages et des meilleurs types de composts en fonction de l'état du milieu, des stress encourus et des objectifs recherchés à court et à moyen terme demande une recherche bibliographique étendue et des tests et études grandeur nature dans le milieu étudié.

## *2.7 Indicateurs*

Un des objectifs du projet était la recherche d'indicateurs et d'outils pour caractériser ou suivre l'évolution de l'état de l'écosystème. De l'ensemble des travaux, il ressort plusieurs indicateurs capables de différencier soit le temps écoulé depuis le dernier feu, soit le nombre ou la fréquence des feux passés. Quelques uns semblent fiables, intégrant l'état des communautés vivantes, les caractéristiques physico-chimiques (matière organique et éléments nutritifs) et le niveau de fragilité global du système.

### 2.7.1 Structure de la végétation

La densité du couvert arboré et notamment celle du chêne liège est un bon indicateur de la résistance et de la résilience potentielle du milieu forestiers aux incendies comme à la sécheresse, en termes de structure comme en termes de diversité spécifique. La présence d'une forte proportion de chêne vert et de chêne blanc dans l'étage dominant indique une forêt ayant évolué très longtemps sans incendies et qui mérite d'être protégée en priorité.

Les milieux peu arborés présentent généralement des caractéristiques moins favorables à l'activité biologique du sol. Leur dynamique de résilience est plus lente et plus gravement compromise à chaque feu supplémentaire. Même s'ils peuvent évoluer vers un niveau d'équilibre non forestier, ils sont beaucoup moins aptes à fixer et conserver durablement du carbone dans le sol.

Les maquis bas dominés par les cistes et le calycotome, avec une faible proportion d'espèces arborées sont le témoin de milieux fréquemment et sévèrement incendiés qui méritent également une protection renforcée pour ne pas basculer dans une dégradation irréversible.

### 2.7.2 Vers de terre

L'activité et la diversité des vers de terre sont fortement corrélés à l'ensemble des paramètres biologiques et physico-chimiques de cet écosystème. Facilement mesurable par prélèvements ou par comptage des turricules, cette activité traduit à la fois le régime d'incendie et les ressources du milieu. Une très faible activité indique des milieux en péril par manque de ressource, excès de récurrence d'incendie ou excès de sécheresse. La relativement forte variabilité spatiale de cette activité, sans doute liée à des paramètres historiques non pris en compte, mériterait une investigation plus poussée. La composition chimique de ces turricules est également un très bon indicateur des ressources du milieux, notamment quand elle est comparée à celle du sol (cf. paragraphe suivant).

### 2.7.3 Analyse par spectrographie proche et moyen infrarouge (SPIR et SMIR)

Trois équipes ont procédé, avec des outils équivalents mais des protocoles différents, à des analyses par spectres infrarouges.

Ces approches ont donné des résultats concluants, qui permettent de différencier les différentes modalités de régime d'incendie, le nombre de feu ou les ressources du sol, et plus globalement l'état de

l'écosystème : en effet, les spectres SPIR et SMIR permettent de caractériser la matière organique, sur le plan quantitatif et qualitatif, et la richesse en différents éléments nutritifs (azote, phosphore, potasse, calcium, …). Des modèles associés permettent la prédiction fiable de certains de ces paramètres quantitatifs ou qualitatifs.

Ces analyses sont faciles et rapides à mettre en œuvre avec de faibles quantités d'échantillons. Moyennant une phase d'intercalibration et de validation pour d'autres zones, elles se prêteraient particulièrement bien à des évaluations sur de vastes surfaces et à des suivis temporels. Même si à ce stade expérimental elles ne permettent pas de différencier finement toutes les modalités du protocole IRISE, en raison de la variabilité au sein de ces dernières, elles séparent très clairement les modalités extrêmes et de façon globale classent les placettes correctement dans le gradient d'incendie, de potentialité et de résilience.
L'analyse SPIR comparée de l'horizon superficiel du sol et des turricules de vers de terre est notamment un très bon indicateur du gradient d'incendie et de la date du dernier feu, la différence relative entre les deux étant proportionnelle à ce gradient, ce qui permet de s'affranchir en partie d'une calibration en valeur absolue si l'on souhaite étendre la méthode dans d'autres zones.

### 2.7.4 La matière organique : quantité et qualité

*Qualité de la Matière Organique*
La qualité de la matière organique différencie très bien les témoins non brûlés depuis longtemps (50 ans), grâce à une transformation des substances humiques par le feu. Le feu complexifie et condense les substances humiques en leur donnant un plus haut degré d'aromaticité, qui reste détectable significativement 25 ans après le feu, avec aussi une diminution des teneurs en groupements oxygénés et en groupements alkyle. C'est en partie ces différences qualitatives qui sont détectables par les différentes méthodes de spectroscopie (PIR, MIR , UV et RMN).

*Quantité de Carbone Organique*
Les teneurs en matière organique des horizons superficiels sont de bons indicateurs des régimes extrêmes d'incendie : témoins très anciens et incendies fréquents et récents.
Une teneur élevée en MO de l'horizon B (5-15 cm), et même l'existence d'un réel horizon B, sont de bons indicateurs de témoins très anciens. Dans ce cas, les teneurs en MO de l'horizon A sont également beaucoup plus élevées que dans les échantillons qui ont brûlé régulièrement, même une seule fois tous les 50 ans.
Après un feu récent (3-5 ans) dans une zone déjà incendiée fréquemment dans le passé, les teneurs en carbone organique total tombent à un niveau très bas et significativement différent (30-50% de moins) de toutes les modalités épargnées par le feu depuis 15 ans ou plus ou les feux récents mais sur des peuplements peu brûlés dans le passé. La teneur en carbone extractible à l'eau quand à elle permet de différencier les feux datant 15 ans et plus des feux récents.
Les valeurs de carbone organique total sont un peu inférieures dans les placettes brûlées anciennement (15-25 ans) que dans les témoins, même si ces différences ne sont pas significatives. Un seul feu en 50 ans suffit à les faire redescendre à des niveaux équivalents à ceux de zones brûlées plus souvent.
Actuellement, ces forêts ne stockent donc pas ni ne perdent significativement de carbone dans un régime moyen d'incendie de l'ordre d'un feu tous les 25 à 50 ans, en perdent lentement en cas de feux répétés 2 à jusqu'à 3 fois en 50 ans et peuvent en perdre beaucoup si la fréquence des feux est encore plus forte (4 à 5 feux/50 ans).
Elles possèdent par contre, quand le peuplement arboré est encore suffisamment dense, un grand potentiel de stockage (effet puits de CO2) en cas de non-brûlage sur des durées de 150 à 200 ans.

### 2.7.5 La macroporosité et son spectre.

Cette macroporosité semble répondre d'une part à la date du dernier feu et d'autre part à la répétition des incendies. La diminution de macroporosité sous l'effet de l'incendie, réversible rapidement dans le cas d'une faible fréquence mais irréversible ou très lentement réversible dans le cas d'occurrences fréquentes, peut être attribuée à la disparition des pores les plus fins de cette macroporosité (limité entre méso- et macroporosité), et donc potentiellement à l'activité biologique et son effet sur la structure du sol (aggrégats). Un affaiblissement ou une modification fonctionnelle importante des communautés biologiques (bactéries, microfaune) par la répétition trop fréquente des incendies pourrait être en cause dans ce phénomène.

### 2.7.6 Autres indicateurs

Chaque équipe a mis en évidence d'autres indicateurs du régime d'incendie ou de la date du dernier feu, qui peuvent être utilisés en complément des précédents suivant les moyens analytiques dont on dispose et du nombre d'échantillons disponibles. Certains sont très simples à mesurer par des analyses ou observations de routine, d'autres demandent des manipulations complexes et sont envisageables si la chaîne de traitement est utilisée à d'autres fins.

L'azote ammoniacal est deux fois plus abondant dans les parcelles témoins que dans tous les sols incendiés même depuis 25 ans. Il pourrait être un bon indicateur de forêt ancienne, de même que les spectres qualitatifs (réflectivité en Ultraviolet et spectres RMN) des acides humiques, bien que ces derniers demandent des manipulations plus complexes.

Le rétène est un HAP caractéristique des sols fréquemment incendiés dans le passé qui peut être mis en évidence par analyse HPLC, technique bien rôdée mais demandant également des manipulations spécialisées pour la préparation des échantillons. Avec les mêmes techniques, le spectre des principaux HAP présents dans le sol permet de séparer les zones non brûlées depuis 50 ans et de celles brûlées plus récemment, et la quantité totale de HAP qui décroît très vite après le feu de séparer les incendies anciens, récents et très récents.

Dans une caractérisation biologique, la résistance et la résilience de la respiration basale à un stress hydrique différencient très bien les sols incendiés récemment mais aussi, dans les sols anciennement incendiés, ceux qui l'ont été fréquemment de ceux qui n'ont que peu brûlé. Certaines activités enzymatiques microbiennes sont aussi de bons indicateurs de forêts anciennes.

## *2.8 Perspectives*

Plusieurs groupes très importants en termes de biodiversité (insectes et notamment xylophages, lichens) ou de rôle fonctionnels (champignons, symbiotes fixateurs d'azote) n'ont pas été pris en compte dans cette étude, en raison de la taille modérée du projet initial et faute de succès des réponses à appels d'offres soumises en cours de réalisation. La microfaune n'a pu être étudiée à cause de la sécheresse récurrente. Tous ces groupes mériteraient d'être repris dans une étude ultérieure, de même que la très riche faune du sol, visiblement très affectée par la combinaison feux-sécheresse. Les xylophages devraient être particulièrement sensibles au régime d'incendie qui produit de grandes quantités de bois mort de diverses espèces.

Des discussions avec des généticiens, ressort l'idée qu'une hybridation entre le chêne-liège et le chêne vert serait assez courante dans les peuplements, aboutissant à une certaine proportion de gènes de chêne vert dans le génome du chêne-liège. Il serait intéressant de vérifier cette hypothèse et de rechercher en cas de vérification si cette introgression génétique joue un rôle dans la résistance du chêne liège à la sécheresse, ce qui ne serait pas sans intérêt en termes de gestion ou de sélection de peuplements.

Les suberaies ont la particularité de porter des micro-écosystèmes originaux au niveau de la canopée : il s'agit des espaces enfermés dans les manchons de liège imputrescible que laisse la disparition du bois sur les branches mortes après incendies, lorsqu'elles restent en place dans les houppiers. Souvent dressés vers le ciel, se remplissant d'eau à chaque pluie, bénéficiant de la richesse du bois en décomposition et attaqué par de nombreux insectes, ces microcosmes méritent sans doute une étude particulière en termes de biodiversité, car ils risquent de porter une communauté très originale. Les incendies multiplient ces niches, au moins pendant les 15 à 20 ans suivant le feu.

L'utilisation de compost de boues de station d'épuration pour la réhabilitation de zones dégradées et incendiées est une idée avancée par certaines collectivités et groupes scientifiques depuis des années, qui se développe et fait l'objet d'expérimentations à petite échelle en en laboratoire. Elle demanderait des études plus complètes et des tests grandeur nature avant application à grande échelle, et particulièrement une adaptation des types de compost à chaque type de milieu et chaque niveau de dégradation en fonction des objectifs fixés. Elle semble donner des résultats spectaculaires sur la survie et la croissance des chênes-lièges soumis à la conjonction de nombreux feux et d'une sécheresse prolongée. Elle pourrait compenser les pertes de stocks de carbone constatées en cas de forte fréquence des feux et contribuer à un effet de stockage plus rapide par une dynamisation de la végétation et des processus microbiologiques.

# 3 Conclusion

Le feu, associé au pâturage et à une exploitation intensive des ressources végétales, a modulé ces écosystèmes depuis plusieurs milliers d'années. Un pic d'utilisation et de brûlage plus ou moins dirigé s'est produit entre le 17ème et le début du 20ème siècle. Le sol y est fortement érodé et caillouteux, dépassant rarement 30 cm d'épaisseur, même si les roches fracturées permettent la pénétration racinaire à plus grande profondeur. La récurrence des incendies anciens et récents n'a pas permis la reconstitution d'un stock de matière organique dans le sol, l'essentiel de cette matière organique se trouvant dans les cinq premiers centimètres, même dans les témoins de 50 ans. C'est donc dans cet horizon superficiel que se concentre l'activité biologique. C'est aussi cet horizon qui est le plus sensible aux incendies. L'activité biologique du sol est donc d'autant plus sensible aux incendies que ceux-ci ont été plus nombreux depuis plus longtemps.

Actuellement, ces forêts ne stockent pas de carbone dans un régime moyen d'incendie de l'ordre d'un feu tous les 25 à 50 ans, et en perdent en cas de feux répétés plus souvent. Elles possèdent par contre un grand potentiel de stockage (effet puits de CO2) en cas ne non-brûlage sur des durées de 150 à 200 ans.

En même temps qu'il exploitait intensivement l'écosystème l'homme a étendu le chêne-liège à l'ensemble du massif. La capacité du chêne liège à rejeter du houppier après le feu constitue une chance et l'un des atouts majeurs de cet écosystème en termes de résistance et résilience au feu. Or l'abandon de l'entretien de ces forêts, la répétition des incendies, le vieillissement des suberaies et les sécheresses de ces dernières années contribuent à réduire le couvert et la densité du chêne-liège.

Avec le régime actuel moyen d'incendie, et sur une période de 50 ans, l'écosystème est résilient sur le plan biologique et sur le plan physico-chimique mais à un niveau faible de ressources, un sol pauvre et fragile et une diminution progressive du couvert arboré de chêne liège, qui l'exposent à une dégradation rapide et irréversible en cas d'accroissement même faible de la fréquence des feux.
Le changement climatique ne peut que le fragiliser d'avantage, en accentuant les effets néfastes des incendies et en les multipliant.

Plus généralement, le changement climatique menace clairement l'équilibre établi entre le feu et les écosystèmes méditerranéens, feux et sécheresses répétées accroissant mutuellement leurs effets respectifs: cette interaction fait disparaître certaines espèces végétales et animales considérées comme des espèces clefs du fonctionnement de l'écosystème, et rend les communautés microbiennes moins résistantes et moins résilientes à une perturbation supplémentaire. La transformation des forêts en maquis et garrigues en est la conséquence la plus probable, ainsi que la dégradation des sols.

Ce projet a abouti à la caractérisation quantitative, qualitative et fonctionnelle de différents paramètres représentatifs de l'état bon ou mauvais de l'écosystème, et du régime passé d'incendie. Il propose des outils analytiques et des indicateurs (biologiques et physico-chimiques) permettant d'en assurer la mesure et le suivi.

# 4 Rapports et publications réalisés ou prévus à court terme

**4.1 : Végétation**

*Réalisé*

Alice Schaffhauser, Thomas Curt, Errol Vela, Thierry Tatoni - 2008. Effets de feux récurrents sur les communautés végétales siliceuses. Présentation orale, résumé et article écrit dans les actes du colloque ECOVEG4 *("Ecologie des Communautés Végétales". EcoVeg 4. Du 12 au 14 mars 2008. Université de Rennes 1).*

Schaffhauser, A., Curt, T., Véla, E., Tatoni, T. (soumis sept 2008) Fire recurrence and vegetation patterns in Mediterranean Quercus suber woodlands Article scientifique soumis à la revue Acta Oecologica.

Mas Camille - 2008. *Contribution à l'étude de l'impact des incendies de forêt sur la végétation et le sol*. Mémoire de Mastère, Université de Paris 12. Soutenance septembre 2008.

*En préparation* :Article scientifique et Thèses

Schaffhauser, A., Curt, T., Véla, E., Tatoni, T. *Diversity patterns of Plant Functional Types in relation to fire recurrence in Mediterranean Quercus suber woodlands*.

Faivre Nicolas. *Rôle du feu en tant que facteur de contrainte de la biodiversité au niveau du paysage : quelle pyrodiversité pour quelle biodiversité*. Thèse de doctorat. 2007-2010

Schaffhauser Alice: *Impact des régimes d'incendie sur la dynamique des structures végétales et leur inflammabilité. Application à la Provence Cristalline*; thèse de doctorat. Soutenance prévue en 2009.

**4.2 Faune du sol et microbiologie**

*Réalisé*

Cecillon Lauric, Cassagne Nathalie, Czarnes Sonia, Gros Raphaël, Vennetier Michel, Brun Jean-Jacques **- 2008.** *Predicting soil quality indices with near infrared analysis in a wildfire chronosequence*. Science of the Total Environment (sous presse) Article scientifique

Cécillon Lauric, Cassagne Nathalie, Czarnes Sonia, Gros Raphaël, Brun Jean-Jacques - 2008. *Variable selection in near infrared spectra for the biological characterization of soil and earthworm casts.* Soil Biology and Biochemistry, Volume 40, Issue 7, July 2008, Pages 1975-1979 article scientifique

Guénon R., Ruaudel F., Bourguiba A., Carrara M., Vennetier M., Gros R. - 2007. Récurrence des incendies: Facteur clé du fonctionnement microbien des écosystèmes Méditerranéens. Colloque d'écologie microbienne 2007, La Grande Motte. Poster.

Gros R., Guenon R., Cecillon L., Vennetier M. - 2008. 'Fire history and ecosystem properties: from impacts to soil restoration strategies'. Erasmus collaboration workshop, Democritus University of Thrace, Orestiada (Greece), 19-20 may 2008. Communication orale.

*En préparation :* 6 articles scientifiques

Guénon et al. Fire history controls relationships between resource quality and microbial activities of Mediterranean soils. En preparation pour Soil Biology and Biochemistry

Guénon et al. Breakdown of equilibrium between fire frequency and soil microbial functioning in a Mediterranean ecosystem. En preparation pour Oikos

Guénon et al. Recurrent fire and drought control soil microbial stability through the resource availability. En preparation pour Global Change Biology

Guénon et al. Does fire-prone vegetation have a negative feedback on soil microbial properties? En preparation pour Plant and Soil

Guénon et al. Does restoration efficiency of different Mediterranean burnt soils depend of composted sewage sludge quality? En preparation pour Applied Soil Ecology

Czarnès Sonia, Clays Annie et al. : Impact of repeated fires on nitrogen cycle through bacterial activity

**4.3 Matière organique et substances toxiques**

*Réalisé* **:**Article scientifique et congrès

Vergnoux, A.; Malleret, L.; Domeizel, M.; Theraulaz, F.; Doumenq, P. 2008. *Effect of forest fires on water extractable organic matter and polycylic aromatic hydrocarbons in soils.* Progress in Environmental Science and Technology, Proceedings of the International Symposium on Environmental Science and Technology, Beijing, China, Nov. 13-16, 2007 (2007), 344-354. CODEN: 69KHLH AN 2008:34958 CAPLUS

A. Vergnoux - 2007. Effect of Forest Fires on the WEOM and PAHs in the Soils. Présentation orale à 2007 International Symposium Environnemental Science and Technology (2007 ISEST), Pékin (13 au 16 novembre 2007)

A. Vergnoux, L. Asia, F. Michaud, L. Malleret, F. Théraulaz et P. Doumenq - 2007. *Effet des feux de forêt sur la teneur en carbone organique et en HAP des sols.* Poster à la Société Française de Chimie (SFC), Avignon (24 mai 2007)

A. Vergnoux, L. Malleret, L. Asia, F. Théraulaz et P. Doumenq - 2007. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as indicators of forest fire: comparison of levels and distributions between burned and unburned soils. Poster au congrès ISPAC, Norvège (Août 2007)

A. Vergnoux - 2007. Effect of Forest Fires on the WEOM and PAHs in the Soils. Présentation orale à IX International Symposium on Analytical Methodology in the Environmental Field (IX ISAMEF), Majorque (Octobre 2007)

A. Vergnoux, M. Domeizel, S. Inogamdjanova et F. Théraulaz - 2007 Etude de l'impact d'un feu de forêt sur la matière organique extractible à l'eau, le carbone organique total du sol et les éléments nutritifs.

Poster au congrès de l'International Humic Substances Society (IHSS), Lyon (Novembre 2007)

A. Vergnoux, L. Malleret, M. Domeizel, F. Théraulaz et P. Doumenq - 2008. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques indicateurs de feux de forêt: teneurs et distributions dans des sols brûlés et témoins. Poster au congrès des doctorants, CEREGE Arbois (18-19 mars 2008).

A. Vergnoux - 2008. Quantitative and qualitative impact of forest fires on soil organic matter. Présentation orale à International Conference on Environmental Science and Technology (2008 ICEST) à Houston (28 au 31 juillet 2008).

A. Vergnoux - 2008. Modification of soils PAHs level and distribution profiles by forest fires. Présentation orale à International Conference on Environmental Science and Technology (2008 ICEST) à Houston (28 au 31 juillet 2008)

**Stages:**

Aurore Vergnoux - 2006; Effet des feux de forêt sur la teneur en carbone organique et en HAP des sols. Stage de Master 2 Sciences de l'Environnement Terrestre (Janvier-juin 2006).

François Micheau - 2006 Analyse de HAP dans des sols brûlés. Stage de Master 1 (Juillet-septembre 2006).

*En préparation*

**Articles scientifiques**

Vergnoux et al. - 2009. Effects of forest fires on the level and distribution of PAHs in soils

Vergnoux et al. - 2009. Effects of forest fires on WEOM and Humic Substances: UV-Vis and Fluorescence spectroscopy approaches.

Vergnoux et al. - 2009. COT and Infrared changes of Humic Substances from burned soils

Vergnoux et al. - 2009. Fire impact on forest soils evaluated using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration

**Thèse**

Aurore Vergnoux. *Composés organiques et éléments nutritifs du sol : impact d'incendies répétés*. Thèse de doctorat (Novembre 2006-novembre 2009).

**4.4 Physique du sol**

Baussaron Annie - 2007. *Caractérisation physique et hydrodynamique d'un sol sous forêt : influence de la répétition et de la fréquence des incendies de forêts sur ces propriétés*. Mémoire de mastère GERE.

**4.4 Synthèse du projet**

*Réalisé*

Vennetier et al. - 2007. IRISE. An experimental multidisciplinary research project to assess the Impact of Repeated Wildfires on Biodiversity and the Soil. Alter-net IP all parties meeting. Palma de Mayorque, Espagne 5-9 Février 07.

Vennetier M. et al. - 2007. *Programme européen IRISE (Impact de la Répétition des Incendies Sur l'Environnementforestier méditerranéen)*. Séminaire de clôture de l'Institut Fédératif de Recherche PMSE (Pôle Méditerranéen des Sciences de l'Environnement) 25 septembre 2007.

Vennetier M, Vila B. - 2007. *Interactions entre changement climatique et incendies dans les sols méditerranéens*. 9th International meeting on soils with a mediterranean type of climate, 22-25 octobre 2007, Aix en Provence

Vennetier M. et al. - 2008. *Repeated fires and droughts threaten functional biodiversity in Mediterranean ecosystems*. IUFRO Conference on Biodiversity in Forest Ecosystems and Landscapes, Kamloops, Canada 5-8 août 2008

*En préparation*

Vennnetier et al. : *Impact of repeated forest fires on a mediterranean ecosystem: functional synthesis*.

Vennnetier et al. : *Resistance and resilience of mediterranean forest ecosystems in the context of repeated fires and increasing drought. Time and frequency thresholds*.

Vennnetier et al. : *A set of indicators to assess the health status of Mediterranean forest ecosystem submitted to repeated forest fires*.

Vennnetier et al.: *Impact de la répétition des feux sur l'environnement forestier méditerranéen.* Pour la Revue Forêt Méditerranéenne

Vennnetier et al.: *La conjonction de feu répétés et de sécheresses récurrentes menace la biodiversité fonctionnelle des forêts méditerranéennes* . Pour la Revue Forestière Française

D'autres articles de vulgarisation seront écrits par les différentes équipes sur des points particuliers ou la synthèse du projet.

# 5 Annexes : rapports détaillés des équipes par thème

Ces annexes contenant des résultats scientifiques non encore publiés dans des revues spécialisées à la date de remise du rapport final ne sont pas en accès libre durant les 2 ans suivant la fin du projet (juin 2008). L'ensemble des données, protocoles et résultats sont décrits dans la base de métadonnées consultable sur le site WEB du projet IRISE :
http://irise.mediasfrance.org
On peut les obtenir en contactant les laboratoires concernés et responsables du projet dont les coordonnées figurent dans cette base de métadonnées.

5.0 - Rappel du protocole commun à toutes les équipes

5.1 - Végétation (Cemagref-EMAX et IMEP)

5.2 - Faune du sol, vers de terre (Cemagref-EPGR et EMAX [ex. EMGR et AFAX])

5.3 - Microbiologie (LEM et IMEP)

5.4 - Matière organique et éléments nutritifs (Laboratoire Chimie Provence - LCP [ex. LCE])

5.5 - Substances toxiques dans le sol et matière organique (LCAE)

5.6 - Matière organique: analyse qualité par RMN (CEREGE)

5.7 - Physique du sol (INRA-EMMAH [ex. CSE])

5.8 - Site Web et Bases de données (Médias-France)

# Annexe 5.0 - PLAN D'ECHANTILLONNAGE COMMUN AUX EQUIPES IRISE

| Modalité | Sigle | n° placette | date des feux |
|---|---|---|---|
| Nombreux très récents | NTR | 7bis | 07 / (90?) / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux très récents | NTR | 28 | 07 / 85 / (78?) /70 / 64 |
| Nombreux très récents | NTR | 29 | 07 / 85 / 70 / 64 |
| Nombreux très récents | NTR | 30 | 07 / 85 / 70 / 64 |
| Nombreux très récents | NTR | 31 | 07 / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux - Récent | NR | 1 | 2003 / 90 / 82 / 59 |
| Nombreux - Récent | NR | 2 | 2003 / 90 / 82 / 59 |
| Nombreux - Récent | NR | 3 | 2003 / 90 / 82 / 59 |
| Nombreux - Récent | NR | 4 | 2003 / 90 / 62 |
| Nombreux - Récent | NR | 5 | 2003 / 90 / 70 |
| Nombreux - Ancien | NA | 6 | 90 / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux - Ancien | NA | 7 | (90?) / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux - Ancien | NA | 8 | (90?) / 85 / 78 / 64 |
| Nombreux - Ancien | NA | 9 | 90 / 82 / 78 / 62 |
| Nombreux - Ancien | NA | 10 | 90 / 82 / 78 / 62 |
| Peu - Récent | PR | 11 | 2003 / (90?) / 62 |
| Peu - Récent | PR | 12 | 2003 / 82 |
| Peu - Récent | PR | 13 | 2003 / 82 |
| Peu - Récent | PR | 14 | 2003 / 70 |
| Peu - Récent | PR | 15 | 2003 / 62 |
| Peu - Ancien | PA | 16 | 90 / 64 |
| Peu - Ancien | PA | 17 | 82 / 59 |
| Peu - Ancien | PA | 18 | 90 / 62 |
| Peu - Ancien | PA | 20 | 90 |
| Peu - Ancien | PA | 24 | 82 |
| Témoin | T (NB) | 21 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin | T (NB) | 22 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin | T (NB) | 23 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin | T (NB) | 26 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin | T (NB) | 27 | non brûlé depuis 1950 |
| Témoin très ancien | TT | 33 | non brûlé depuis 1800 |

| | | |
|---|---|---|
| Nombreux - Très Récent | NTR | 4 à 5 feux : dernier en 2007 |
| Nombreux - Récent | NR | 3 ou 4 feux : dernier en 2003 |
| Nombreux - Ancien | NA | 3 feux : dernier en 1990 ou 85 |
| Peu - Récent | PR | 2 feux : dernier en 2003 |
| Peu - Ancien | PA | 1 ou 2 feux : dernier en 90 ou 82 |
| Témoin | T | Pas de feu depuis 1950. |
| Témoin très ancien | TT | Pas de feu depuis 1800 |

(a) le feu de 1970 est passé très près des placettes 2 et 3, et pas loin de la 1
(b) la 6 est en limite du feu de 1990. Les 7 et 8 loin hors de l'enveloppe
(c) la 11 est dans l'enveloppe du feu de 1990
(d) la 27 est dans l'enveloppe du feu de 62 (mais près de route/pare-feu)
(e) la 28 est en limite du feu de 1978

# Annexe 5.1 - ANALYSE DE LA VEGETATION

## RESUME

### A - Structure de la végétation

Le chêne liège est l'élément structurant de la forêt de la zone d'étude. Sa capacité de régénération du houppier après incendie est primordiale pour la résilience du couvert. La suberaie est cependant dans les Maures un écosystème artificiel entièrement façonné par l'activité humaine, et qui ne peut survivre à long terme que grâce à l'action conjuguée de l'homme et des feux. Son optimum est atteint 40 à 50 ans après un incendie. En absence d'incendie durant plus de 50 à 100 ans, le chêne liège est progressivement supplanté par les espèces considérées comme dominantes avant la révolution néolithique : chêne blanc et chêne vert.

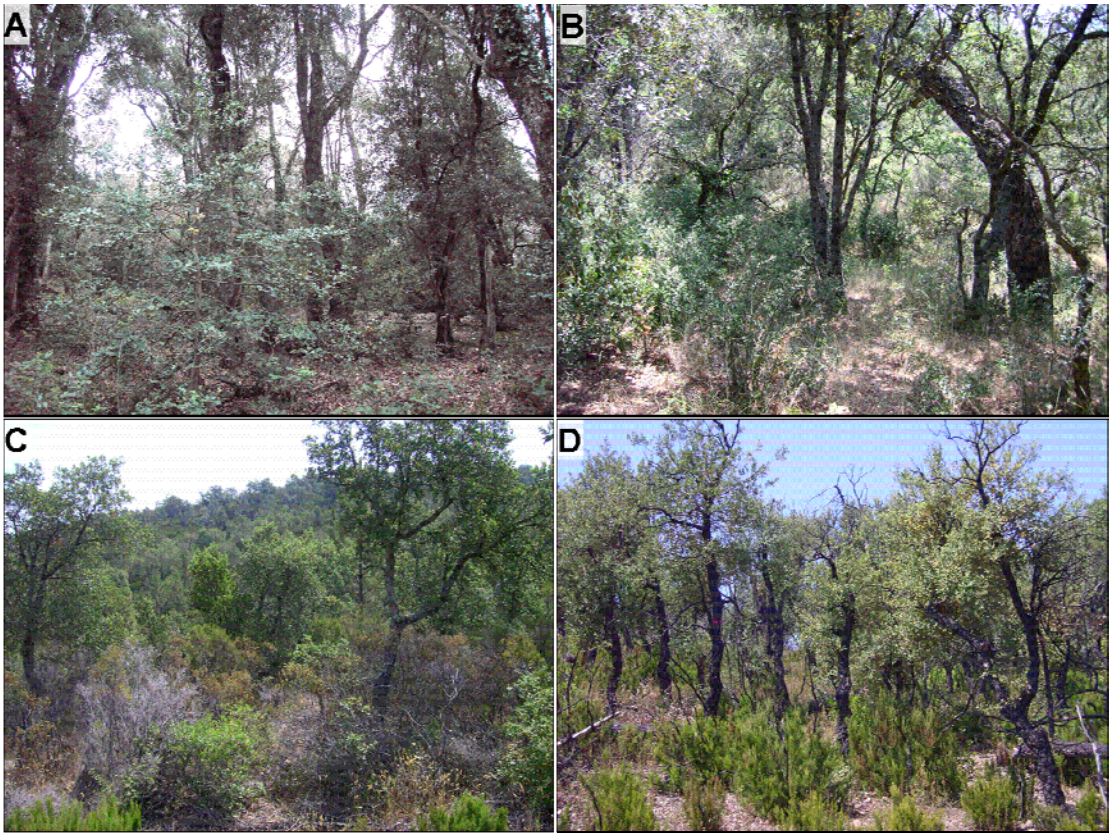



*Photo 1. **2- A** : forêt très ancienne. Chênes vert et blanc, le chêne liège a quasi-disparu. **2-B** : forêt témoin (50 ans sans feu). Vieux chênes lièges rejoints dans l'étage dominant par les chênes blanc et vert. Sous bois varié. **2-C** : Suberaie sur maquis de 15 ans. Houppier des chênes lièges reconstitué, maquis de bruyère arborescente et arbousier d'où émergent les rejets de chênes blanc et vert, avec encore une proportion de cistes et calycotomes en zones ouvertes. **2-D** : Suberaie 3 ans après incendie. Début de reconstitution des houppiers de chêne liège. Rejets de bruyère, semis de cistes et calycotome.*

La densité du chêne liège et le temps écoulé depuis le dernier feu sont les deux facteurs principaux expliquant la structure de la végétation et sa dynamique, même si la fréquence des feux (voir plus loin) y contribue significativement.
La densité du chêne liège avant feu joue un rôle important car:

- une forte densité contribue à recréer une ambiance forestière et son microclimat plus frais et humide, favorable à l'activité biologique du sol et décomposition de la litière.
- les plus fortes densités de chêne liège correspondent aussi aux plus forts taux de recouvrement total toutes strates confondues, la production de biomasse étant proportionnelle à ce couvert. Une plus forte production de biomasse permet la reconstitution plus rapide de la fertilité et de

l'activité du sol après incendie, puisque cette activité mesurée sur la faune comme sur les bactéries (cf. chapitre suivants) est très corrélée aux quantités disponibles de matière organique.

- un couvert plus dense permet une disparition plus rapide après incendie des espèces héliophiles et notamment des cistes qui semblent jouer un rôle important (limitant et sélectif) dans l'activité bactérienne, notamment dans le cycle de l'azote.

La sécheresse combinée aux feux fréquents, en éliminant un nombre important de chênes-lièges, risque de contribuer à rompre la résistance et la résilience du couvert et donc celles de l'écosystème. On s'orienterait vers un milieu moins forestier.

Les légumineuses semblent particulièrement sensibles à la sécheresse. Leur diminution limite la reconstitution des stocks d'azote dans un contexte de compétition accrue entre bactéries et végétation pour cet élément.

La fréquence des incendies a joué un rôle important dans la structure et la composition des peuplements, en éliminant le pin maritime de vastes secteurs lorsque plusieurs incendies se sont succédés à moins de 15-20 ans d'intervalle. Dans les zones actuellement dominées par le chêne liège, le nombre de feux joue un rôle plus secondaire (bien que mesurable) sur la structure de la végétation que la durée depuis le dernier feu, mais son effet est nettement visible sur la composition: à densité d'arbres égale, quand il y a eu moins de feux, le couvert de chêne liège est plus dense et un peu plus haut et il y a une moindre proportion de cistes et calycotomes dans le sous-étage, avec les conséquences décrites précédemment.

La structure de la végétation semble résiliente pour l'ensemble de ses composantes (arborée, arbustive et herbacée avec une fréquence de retour d'incendie de l'ordre de 20 ans et plus, en absence d'affaiblissement par d'autres perturbations. Par contre, une fréquence de 4 feux ou plus en 50 ans semble dépasser les limites de résilience et de résistance de la structure forestière.

## B - Composition et biodiversité végétale

Au niveau de la composition spécifique, le maximum de diversité, de richesse et d'équitabilité est obtenu pour la modalité témoin (non brûlé depuis 50 ans) et le minimum pour la modalité brûlée souvent et dernièrement en 2003 (Figure 1). Les modalités intermédiaires présentent un niveau intermédiaire de richesse et de diversité, ce qui ne correspond pas à la théorie de la perturbation intermédiaire qui prédit une augmentation de la richesse spécifique pour des régimes de perturbations moyens et récurrents. Cependant, les placettes ayant subi peu de feu, dont le dernier il y a 15 à 25 ans, présentent une biodiversité inférieure à celles qui ont subi des feux plus nombreux pour une même date du dernier feu, ce qui va dans le sens de cette théorie.

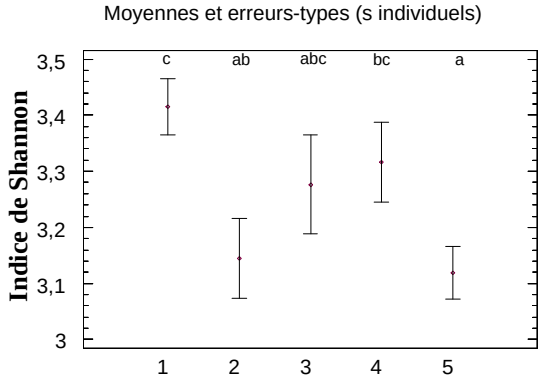



*Figure 1: Indice de diversité spécifique de Shannon en fonction de l'intensité de la perturbation par le feu. Une lettre commune au dessus des barres indique les groupes non-différents statistiquement.*

*1 = témoin sans feu depuis 1959,*
*2 =1 seul feu en1990,*
*3 = 2-3 feux : feux en 1990 + feux anciens (avant 1964),*
*4 = 2-3 feux : feu en 1990 + feux plus récents (1964-1985),*
*5 = 3-4 feux dont les derniers en 1990 et 2003.*

En lien avec l'analyse de la structure de la végétation, ceci suggère:

- que les relevés entre 2006 et 2008 sur les feux de 2003 ont pu être effectués après le pic de rudéralité, celui-ci ne durant généralement que quelques années,

- que les placettes témoins présentent un plus fort degré de maturité avec de plus grandes richesse et diversité (« irrégularisation ») de la structure du couvert arboré et arborescent,

- que la modalité peu brûlée dont le dernier feu date de 15 à 25 ans a parfois une structure plus régulière et un couvert plus dense que les modalités ayant la même ancienneté mais fréquemment perturbées par les feux, ce qui limite le développement de la flore en sous-étage,

- enfin, que la récurrence des sécheresses interfèrerait avec la récurrence des incendies: elle limiterait l'expression d'herbacées héliophiles dans les milieux très ouverts brûlés récemment qui amplifient la xéricité; à l'inverse, elle la favoriserait dans les forêts anciennes en éclaircissant le couvert, dans une ambiance qui reste assez forestière pour tamponner le microclimat du sous-bois et limiter la xéricité.

Ce dernier point serait confirmé par l'analyse fonctionnelle, qui oppose les espèces tolérantes au stress et rudérales, annuelles de milieux secs plus ou moins perturbés, à des espèces forestières sciaphiles et mésophiles, indiquant un double gradient de feu et de mésophilie inversement corrélés.

Toujours au niveau fonctionnel, parmi les formations ressemblant physionomiquement à des forêts, seuls les faciès de végétation non brulés depuis 50 ans (chênaie-suberaie mixte) s'en rapprochent. Elles sont caractérisées par la présence conjointe de zoochores, en particulier d'ornithochores, également compétitrices.

Les analyses ont montré qu'il existe un « Fond Floristique Commun » constitué d'espèces présentes dans plus d'un tiers des relevés, dont l'autoécologie correspond à des milieux de maquis tantôt ouverts, tantôt fermés.

La faible biodiversité des milieux les plus fréquemment brûlés semble indiquer une limite à la résilience de l'écosystème, mais la composition floristique dans son ensemble semble pouvoir récupérer en une cinquantaine d'années, même si quelques espèces n'ont été trouvées que dans les forêts très anciennes (if, houx, grands érables). Le risque vient de la raréfaction et de l'isolement des forêts anciennes et très anciennes, limitant le potentiel de dissémination de ces espèces et compromettant leur avenir à moyen terme dans de vastes zones en cas de destruction de ces rares refuges.

Les analyses statistiques sont en cours pour déterminer si les effets de la récurrence des feux sont plus significatifs sur la diversité fonctionnelle de la communauté végétale, comme c'est le cas pour d'autres perturbations telles que le pâturage ou le débroussaillement.

**C - Etat de santé et mortalité du chêne liège**

Depuis 2006, on observe dans la zone d'étude une forte mortalité du chêne liège, qui s'est accentuée en 2007 et début 2008. La sécheresse récurrente de mai 2003 à avril 2008 en est très probablement responsable. Les pluies d'avril et mai 2008 ont permis à certains arbres qui étaient secs de repartir, mais globalement le taux de mortalité est important dans les placettes IRISE.

*Photo 2: dépérissement en 2006 de rejets de chêne liège apparus après le feu de 2003.*

Cette mortalité est plus importante sur les zones brûlées en 2003 que dans les zones non brûlées depuis longtemps : les rejets vigoureux qui étaient apparus dans le houppier des chênes-lièges juste après le feu de 2003 sont morts sur près de 30% des arbres, ainsi souvent que les rejets du pied de ces arbres. Dans une grille d'état sanitaire allant de 5 pour les arbres bien portants à 0 pour les arbres morts, la majorité des arbres survivants des modalités brûlées en 2003 ont été notés 1 ou 2 en mai 2008.

Dans la modalité NTR (nombreux feux dont le dernier en 2007), moins de 10% des arbres avaient rejeté significativement du houppier en automne 2007, alors qu'une majorité des arbres avaient rejeté dès l'automne suivant le feu de 2003 dans des situations écologiques semblables et malgré la canicule de l'été 2003. Le taux de mortalité des cimes après le feu de 2003 avait été inférieur à 5% sur les placettes NR et PR, alors que le taux de non-rejet dans la modalité NTR était supérieur à 50% 9 mois après le feu de 2007 (mai 2008), et y varie de 15 à 40% fin août 2008. La densité des rejets de houppier est aussi beaucoup plus faible en 2008 qu'elle était en 2003. Le nombre de rejets de souche de chêne liège en 2008 était aussi très limité, et les rejets de très petite taille, alors que la quasi-totalité des souches équivalentes avaient rejeté vigoureusement dès fin 2003 et début 2004. Un suivi sur l'ensemble de l'année 2008 et au-delà est nécessaire pour confirmer les taux de mortalité sur les placettes IRISE, mais il est clair que le très mauvais état sanitaire des arbres avant l'incendie et l'absence de pluies significatives après le feu durant plusieurs mois ont contribué à retarder ou empêcher l'apparition des rejets.

L'interaction entre incendie et sécheresse est donc forte : les taux de mortalité sont plus élevés dans les placettes soumises à une forte sécheresse après incendie, ou à un incendie après une forte sécheresse, que lorsqu'une seule perturbation est en cause.

## D - Impact d'un épandage de compost

Il faut noter qu'un épandage massif de compost de boues de station d'épuration (5 à 10 cm d'épaisseur après tassement) a été effectué par un opérateur public sur plusieurs hectares à proximité immédiate des placettes 1 à 3, indépendamment du projet IRISE. Le taux de mortalité des chênes lièges sur cette zone d'épandage est nul, et l'état sanitaire moyen des arbres y est excellent (note 4 et 5 majoritaire).
L'épandage de compost, avec toutes les réserves et études nécessaires, pourrait donc être envisagé comme un moyen efficace pour accélérer et améliorer la reconstitution du couvert après incendie, notamment :

- dans les milieux déjà très dégradés ou très fréquemment incendiés où le couvert forestier est menacé de disparition.
- dans les zones sensibles, touristiques ou périurbaines, mais aussi à plus large échelle dans les zones érodées qui méritent une attention particulière,
- lorsque la sécheresse précédant ou suivant un incendie risque d'aggraver la mortalité.

L'impact d'apports de compost sur le sol et les bactéries dans les placettes IRISE fait l'objet d'études préliminaires, dans une thèse liée à IRISE mais financées indépendamment (Cf. **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). L'utilisation à plus grande échelle demanderait des études plus complètes et des tests grandeur nature.

# ANALYSE DE LA VEGETATION

**Première partie (Cemagref)**
***Analyse de la structure de la végétation des placettes communes du projet IRISE***

Sur les 31 placettes du projet IRISE, la végétation a été mesurée en pourcentage de recouvrement, par espèces ou groupes d'espèces les plus représentatives, et pour 6 strates de hauteur délimitées par les valeurs en mètres: 0 - 0,5 - 1,5 - 3 - 6 - 10m - et plus.

### *A - Analyse globale exploratoire*

Ces données ont été analysées de façon exploratoire par une Analyse en Composantes Principales (ACP) avec:

- en observation les 31 placettes IRISE en 7 modalités, 5 répétitions par modalité sauf pour la dernière
- en variables le taux de recouvrement de toutes les espèces ou groupes d'espèces significatives par strate de hauteur. Il y a 50 variables. On ne retient par espèce que les strates où elles sont présentes au moins 2 fois.

*Tableau 1 : Code des modalités, n° placettes et code couleur des graphiques*

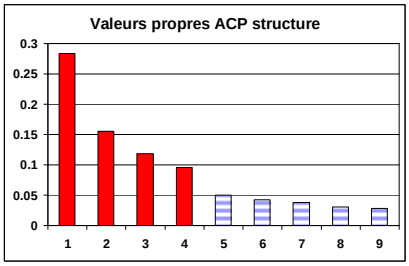
| Type | Modalité régime de feux | n° placette | Couleur |
|---|---|---|---|
| NTR | nombreux feux (3 à 4) le dernier en 2007. | 7bis, 28-29-30-31 | Rouge |
| NR | nombreux feux (3 à 4) le dernier en 2003. | 1-2-3-4-5 | Orangé |
| NA | nombreux feux (3 à 4) le dernier il y a 15 ans. | 6-7-8-9-10 | Violet |
| PR | peu de feux (maxi 2) le dernier en 2003. | 11-12-13-14-15 | Vert clair |
| PA | peu de feux (maxi 2) le dernier il y a 15 ans (25 ans n°24). | 16-17-18-20-24 | Vert foncé |
| T | pas de feu depuis 50 ans | 21-22-23-26-27 | Bleu clair |
| TT | témoin très ancien | 33 | Bleu foncé |

*Espèces et groupes utilisés*: **All** = recouvrement toutes espèces, **QS** = Quercus suber, **Qip** = Quercus ilex et Q. pubescens, **tree** = autres arbres (châtaignier, érables, …), **Ea** =Erica arborea, **Ci** = Cistus sp, **Cal** = calycotome, **Poa** = graminées et carex, **herb** = autres herbacées, **Ru** = rubus sp, **Lav** = lavandes et immortelles (Hélychrysum), **LFF** = lierre+fougères+fragon, **Rp** = Rubia peregrina = garance voyageuse.
Nous n'avons pas pris en compte certaines espèces habituellement importantes dans ces milieux mais qui ne sont représentées que sporadiquement dans les placettes IRISE et ne pouvaient être significatives: Arbousier, pin maritime, pistachier, philaires et nerprun.

*Strates de végétation* : pour chaque espèce ou groupe d'espèces, le code du nom est suivi du code de la classe de hauteur:
**~0** = 0-0.5m ; **~0.5** = 0.5-1.5m ; ~**1.5** = 1.5-3m ; ~**3** = **3**-6m ; ~**6** = 6-10m ; **~10** = > 10m ; **Tot** = toutes strates confondues

#### A-1 Première analyse avec toutes les placettes

*Figure 1 : Valeurs propres de l'ACP avec toutes les placettes*




Lorsque le témoin très ancien est introduit dans l'anayse, il se différencie totalement de tous les autres relevés (*fig. 2*). La forte densité du couvert des chênes vert et blanc au dessus de 10m, la rareté du chêne liège, la présence d'espèces de forêt évoluée dans la strate arborée (erables, if) et dans le sous-bois (lierre, fougère, fragon) et un gros tapis de ronces l'oppose aux peuplements plus bas encore dominés majoritairement par le chêne liège.

Le plan ½ distingue aussi nettement la modalité T, accompagnée de 2 placettes PA dont la 24 assez ancienne (dernier feu en 82), grâce à la forte présence des 3 chênes entre 6 et 10m et en régénération, et l'apparition des espèces de forêt évoluée. Elle s'oppose à toutes les autres modalités dans lesquelles le couvert est plus bas, moins dense, et comporte de nombreuses espèces arbustives pyrophiles (cistes, calycotome).
Dans le plan des axes 3 et 4 (non représenté), la modalité NTR se distingue nettement de toutes les autres par son absence de couvert haut, le tapis herbacé dense et les rejets ou semis ligneux encore petits (<0.5m).

Globalement dans l'analyse, les modalités NR et PR sont très groupées mais séparées, NA encore homogène bien que plus étalée, PA très dispersée en raison de la placette n°20, très particulière.

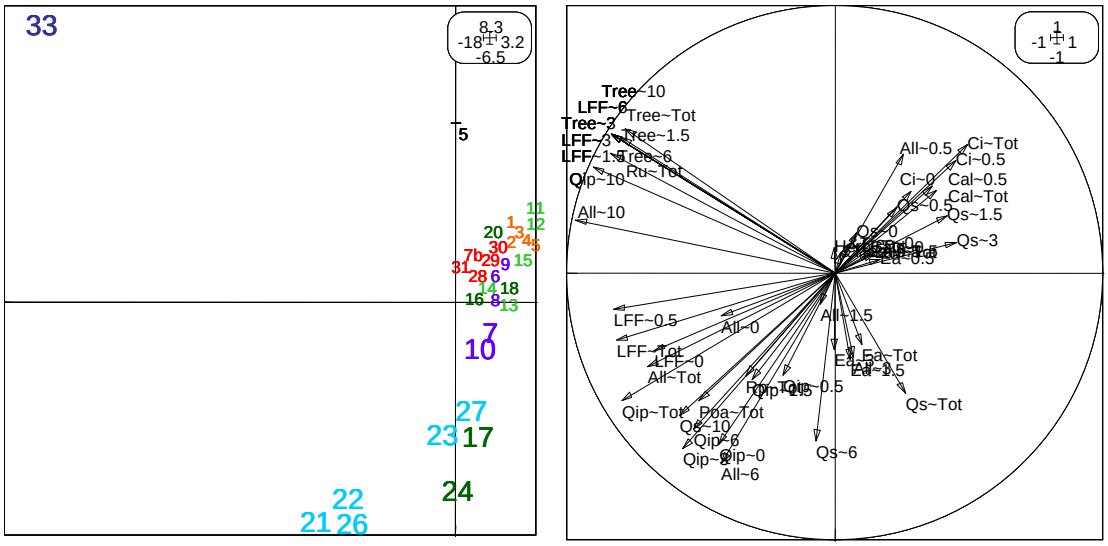
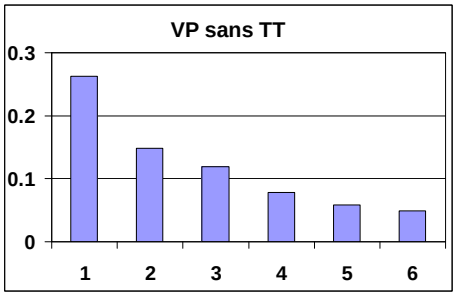



*Figure 2 : ACP avec la modalité TT : plan des axes ½ de l'ACP et cercle de corrélation des variables.*

A-2 Deuxième analyse sans témoin très ancien

L'analyse est refaite en éliminant la modalité TT qui écrase les deux premiers axes.

*Figure 3 : Valeurs propres de l'ACP sans le témoin très ancien*




L'axe 1 est dominant, 3 axes sont retenus.

L'axe 1 (*fig. 4*) est un axe de structure forestière croissante, avec :

- coté positif les forts couverts arborés et recouvrement total, l'abondance des chênes vert et blanc, des plantes de milieu évolués (lierre, fragon, fougère) et des graminées,
- et coté négatif les forts courverts arbustif (cistes et calycotome) avec faible recouvrement total.

Il sépare les témoins des autres modalités, les zones brûlées récemment se trouvant à l'extréminté inférieure de cet axe.

L'axe 2 traduit

- coté négatif les maximums observés juste après après feu de présence et de densité dans les strates basses des rejets de chêne liège et des arbres divers (<3m), des cistes et calycotome (<0.5m), un gros tapis d'herbacées,
- et coté positif de fortes densités de couvert en général et de chêne liège et bruyère en particulier dans les strates intermédiaires (1.5-6m).

Il différencie surtout les zones brûlées très récemment (NTR) et les oppose à quelques placettes brûlées anciennement (7-17-24) qui s'écartent de la moyenne de leur modalité par leur forte proportion de bruyère en sous bois ou leur couvert plus dense.

L'axe 3 sépare les forts couverts de cistes et calycotomes coté positif des forts couverts de bruyère arborescentes, chêne liège entre 6 et 10m et couvert des autres arbres.

Il différencie le groupe compact NR/PR des groupes NA et NTR qui sont bien compact, et du groupe PA très éclaté dont la placette 20 encore une fois se distingue par sa position proche des feux récents.

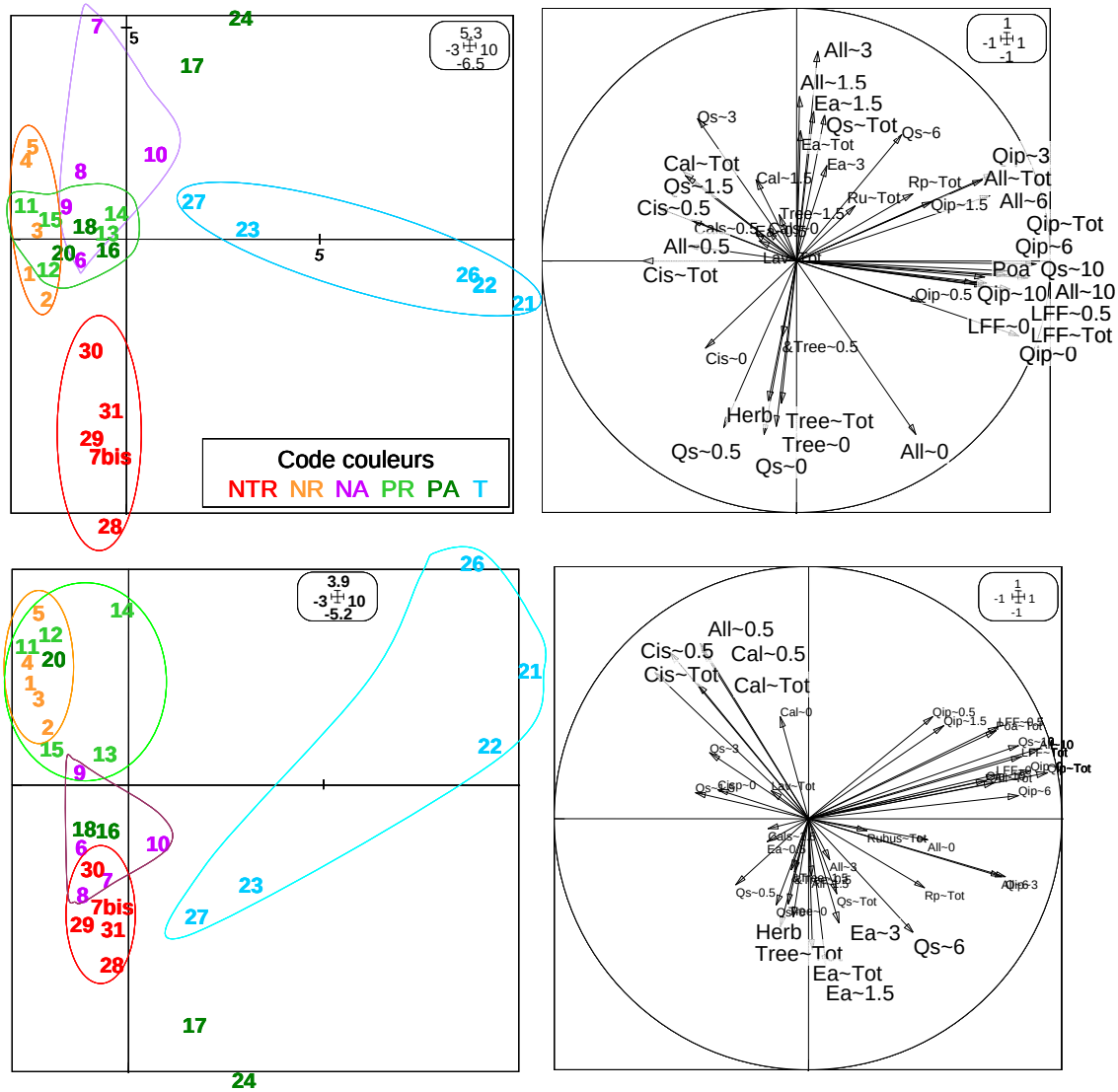



*Figure 4 : ACP sans la modalité TT : plan des axes ½ de l'ACP et cercle de corrélation des variables.*

Sur la base de leur structure végétale et en combinant les trois axes de l'ACP, on peut différencier la modalité T toujours à part, le groupe NR+PR toujours imbriqué, NTR sur l'axe 2, NA et PA très variables, se différenciant pour certains critères de NTR, pour d'autres de NR+PR, sauf les placettes 9 (NA) et 20 (PA) qui ne se différencient jamais du groupe NR+TR, en raison de leur faible couvert arboré ayant permis le maintien d'une forte population de cistes et calycotomes.

### *B - Evolution de la structure végétale par strates après le feu: lien avec la biodiversité*

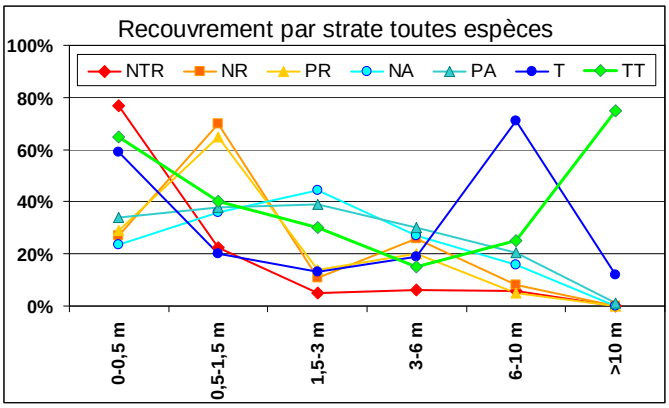



*Figure 5 : Recouvrement de la végétation par strate toutes espèces confondues, pour chaque modalité IRISE. Les maximums de densité de végétation gagnent en hauteur avec le temps. La strate basse et herbacée connait deux pics de densité, au tout début et en fin d'évolution des peuplements. Les modalités NR et PR ainsi que respectivement NA et PA sont très ressemblantes. Les modalités extrêmes (NTR, T et TT sont très distinctes entre elles et distinctes des groupes précédents).*

| | ttes placettes | NTR | NR | NA | PR | PA | T | TT |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **TOTAL** | **152.1%** | **116.6%** | **140.0%** | **146.8%** | **133.2%** | **162%** | **194%** | **250%** |
| **Chêne liège** | 39.6% | **28.6%** | **44.6%** | **52.4%** | **31.2%** | **41.0%** | **46.5%** | 5% |
| **Chêne blanc** | 10.1% | 1.6% | 2.0% | 3.8% | 8.2% | 8.6% | **32.1%** | **30%** |
| **Chêne vert** | 13.2% | 4.0% | 0.2% | 4.0% | 2.0% | 4.8% | **53.6%** | **65%** |
| **Chataîgnier, érables, divers** | 2.3% | 5.4% | 0.0% | 1.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | **39%** |
| Pin maritime | 0.6% | 0.0% | 0.0% | 2.6% | 0.0% | 0.2% | 1.0% | 0% |
| **Arbousier** | 3.5% | 2.0% | 0.2% | **13.0%** | 4.0% | 2.0% | 0.4% | 0% |
| **Bruyère arborescente** | 12.3% | 1.4% | 0.1% | **15.5%** | 8.6% | **49.0%** | 1.6% | 0% |
| Filaire à feuilles étroites | 1.2% | 0.0% | 0.1% | 0.5% | 1.0% | 5.6% | 0.0% | 0% |
| Filaire à feuilles large | 0.3% | 1.0% | 0.0% | 0.0% | 0.4% | 0.0% | 0.4% | 0% |
| **Cistes à feuilles de sauge** | 11.5% | **13.0%** | **45.2%** | 3.0% | **9.6%** | 0.2% | 0.0% | 0% |
| **Cistes de Montpellier** | 14.6% | 3.0% | **32.4%** | **11.9%** | **20.4%** | **22.4%** | 0.5% | 0% |
| Ciste blanc | 4.6% | 0.0% | 8.0% | 4.0% | **15.8%** | 0.0% | 0.5% | 0% |
| **Total cistes** | 30.6% | **16.0%** | **85.6%** | **18.9%** | **45.8%** | **22.6%** | 1.0% | 0% |
| **Calycotome** | 6.3% | 2.0% | 7.4% | 9.4% | **13.6%** | 5.6% | 0.8% | 0% |
| **Graminées et carex** | 6.8% | 1.0% | 0.6% | 3.4% | 5.4% | 5.0% | **24.0%** | **15%** |
| **Autres herbacées** | 16.3% | **45.6%** | 4.0% | **10.2%** | 7.8% | **18.2%** | **12.4%** | **15%** |
| Asperges | 0.2% | 0.8% | 0.3% | 0.0% | 0.4% | 0.0% | 0.0% | 0% |
| Salsepareille | 1.1% | 5.0% | 0.0% | 1.0% | 1.0% | 0.0% | 0.0% | 0% |
| Clématite+Autres lianes | 0.7% | 1.8% | 0.0% | 1.0% | 0.6% | 0.0% | 0.2% | 5% |
| **Ronce** | 2.2% | 0.6% | 0.0% | 3.7% | 0.2% | 0.0% | 1.2% | **40%** |
| Lavande | 0.6% | 0.0% | 0.1% | 1.7% | 0.6% | 1.0% | 0.0% | 0% |
| Immortelle (Helychrysum stoechas) | 0.4% | 0.0% | 0.0% | 1.2% | 1.0% | 0.0% | 0.0% | 0% |
| Euphorbes | 0.9% | 3.0% | 0.6% | 0.4% | 1.8% | 0.0% | 0.0% | 0% |
| Daphne gnidium | 0.7% | 0.4% | 0.0% | 1.0% | 2.6% | 0.0% | 0.0% | 0% |
| Pistachier | 0.1% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.6% | 0.0% | 0.2% | 0% |
| Cytise | 1.8% | 0.0% | 0.0% | 11.0% | 0.2% | 0.0% | 0.0% | 0% |
| **Lierre** | 4.1% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | **18.0%** | **36%** |
| **Fougère** | 0.7% | 0.0% | 0.0% | 0.4% | 0.0% | 0.0% | 3.0% | 5% |
| **Fragon** | 1.4% | 0.0% | 0.0% | 0.1% | 0.0% | 0.0% | 6.8% | **10%** |
| Nerprun | 0.2% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 1.0% | 0% |
| **Garance** | 2.0% | 1.0% | 0.0% | 2.4% | 0.3% | 4.0% | 3.8% | 5% |
| **Tot_par_classeH** | **160.1%** | **121.2%** | **145.9%** | **158.6%** | **137.3%** | **168%** | **208%** | **270%** |

*Tableau 2: Composition du peuplement pour les espèces dominantes. Les plus structurantes sont en gras et surlignées en jaune et vert par ordre décroissant d'importance, celles dont l'abondance ou la présence témoignent de l'évolution avancée des placettes sont surlignées en bleu.*
*Les chiffres en rouge et en bleu indiquent les valeurs des espèces les plus représentées dans une modalité donnée, par ordre décroissant d'importance.*

B-1 Feux très récents TT (<1 an)

Le couvert est très faible dans les étages >1.5 m décimés par le feu, où il ne reste que la structure principale des chênes-lièges qui forment quasiment tout le restant du couvert par les rejets de houppier encore peu développés. La végétation herbacée rudérale et opportuniste (graminées, petites légumineuses, euphorbes, fumetère, etc.) forme une couverture généralement dense au sol (50-80%) mais jamais totalement couvrante, accompagnée par les rejets de lianes encore herbacés à ce stade (liseron, clématite, salsepareille, chèvrefeuille) qui peuvent représenter quelques pourcents de couverture. Les rejets de souche des ligneux (chênes, arbousier, bruyère, filaire, châtaigner, etc.) commencent à se développer sans être étouffants pour les herbacées (h<1.5m en général, couvert <10-20%). Les semis de cistes et de calycotome sont nombreux (<0.5m) mais sont encore loin d'être dominants (<20%). Ce stade devrait correspondre au début du pic de diversité des espèces rudérales et héliophiles opportunistes, généralement observé et bien décrit dans la littérature, et qui n'est pas analysé en détail dans notre étude où les relevés précis de flore sont intervenus 3 ans après le feu (cf. 2ème partie). Cependant, la sécheresse semble avoir largement minimisé la dynamique de ces espèces et leur nombre (voir aussi paragraphe suivant).

B-2 Feux récents NR - PR (3-5 ans)

La strate 3-6 m se reconstitue en partie grâce aux rejets des branches principales et troncs du chêne liège. La strate 6-10m ne se reconstitue pas encore car les branches les plus fines du haut du houppier ont été tuées, les rejets apparaissant plus bas. Les semis de cistes et calycotome envahissent la strate 0.5 - 1.5m tout en restant en partie présents entre 0 et 0.5m (notamment ciste à feuille de sauge qui est moins grand que les 2 autres et nouveaux semis de ces derniers). Cistes et calycotome sont nettement moins abondants dans les zone peu brûlées (PR ➔ 35-80%, moyenne 59%) que dans les zones fréquemment brûlées dans un passé récent (NR ➔ 70-100%, moyenne 93%). Cette différence peut s'expliquer par la moins grande abondance initiale des cistes dans les peuplements moins brûlés, une banque de graines moins abondante dans le sol et à plus faible capacité germinative car plus ancienne. Les rejets de souche des autres ligneux et parfois les lianes complètent cette strate ligneuse basse et dense qui élimine une partie de la strate herbacée, celle-ci ne couvrant plus que 5 à 20% du sol. On note à ce stade le développement ou l'apparition de semi-ligneux plus pérennes comme l'immortelle et la lavande, et le maintien ou la multiplication d'euphorbes de petite taille.

L'interprétation en termes de dynamique de la biodiversité est compliquée par la conjonction de plusieurs phénomènes: normalement, l'apparition des semi-ligneux ne devrait pas compenser la perte de biodiversité liée à la variété des héliophiles fugaces apparues l'année du feu et qui disparaissent progressivement à ce stade à cause de la densification du couvert. Mais à cause de la sécheresse, le couvert de cistes et calycotome est relativement clair, avec de forts taux de mortalité et une faible surface foliaire. La lumière pénètre donc largement au sol et permettrait de maintenir les herbacées, ce que montre d'une part la multiplication des plus résistantes à la sécheresse, notamment les petites euphorbes, et d'autre part la régénération abondante des cistes et du calycotome sous eux-mêmes. Cependant, une partie importante des petites herbacées ne s'est pas exprimée de 2005 à 2008 dans les zones brûlées en 2003 à cause de cette forte sécheresse. Le couvert global des strates basses est donc plus faible que la normale, laissant le sol peu protégé du soleil et de la pluie, et le pic de biodiversité généralement montré dans la littérature ne s'est pas produit.

B-3 Feux anciens (15-25 ans)

La densité des strates se décale d'un cran vers le haut après environ 15 ans. Les survivants des cistes et calycotomes passent dans la strate 1.5 - 3m, tout en perdant beaucoup en importance (10-30%) à cause de la concurrence des rejets ligneux dans cette même strate (20-50%) et de l'ombre portée par les chênes-lièges. Ceux-ci ont reconstitué leur houppier dans la strate 3 - 6m principalement et commencent juste à regagner la strate 6 - 10m. Dans notre échantillon, les placettes NA ont le même taux de recouvrement que les NR dans la strate 3-6m, alors que leur houppier s'est pourtant développé de nombreuses années. C'est du en partie au hasard de l'échantillonnage qui a trouvé pour la modalité NA des placettes majoritairement peu denses, cette modalité peu représentée en surface dans la zone d'étude ne laissant pas un grand choix. Les feux anciens y ont aussi tué une proportion non négligeable des parties aériennes des chênes-lièges dans cet étage, les rejets de souche étant nombreux. Le dépérissement récent du chêne-liège dans la modalité NA est important et accentue le déficit de la

strate 3 - 6 m. Les placettes PA ont plus de recouvrement que les PR entre 3 et 6 m, ce qui est plus logique puisque les houppiers se sont développés à partir d'une densité d'arbres identique. Elles ont aussi un plus fort recouvrement que les NA à densité égale: on pourrait y voir une meilleure dynamique du couvert dans les zones moins souvent incendiées, les arbres repartant plus haut grâce à des branches plus vieilles et plus grosses avec un liège épais, donc plus résistantes au feu au dessus de 3 et 6 m.

Dans la strate 0.5-1.5 m, les cistes et Calycotomes sont remplacés progressivement par des semis de chêne blanc et vert et des arbousiers. La strate herbacée est faible en lien avec la forte densité cumulée des strates entre 0.5 et 6m, particulièrement dans la modalité PA. Par contre certaines placettes présentent un très fort recouvrement de la strate de lichens et mousses au sol (>50%). La relative homogénéité du couvert arboré et arbustif des placettes brûlées depuis 15 à 25 ans, notamment quand la densité de chêne liège est importante, pourrait expliquer la faible biodiversité attachée à ce type de peuplement, comparée à celle des peuplements plus anciens (paragraphe suivant) où la plus grande variété des espèces dominantes et le vieillissement rendent ce couvert hétérogène. Dans les peuplements les plus anciens un peu ouverts (25 ans), on note une certaine diversification de la flore au sol et le début d'un développement abondant de la garance voyageuse, qui se poursuit dans certaines placettes témoin.

B-4 Pas de feu depuis au moins 50 ans

On note le décalage vers le haut de la densité du couvert arboré, avec:

- un très fort développement de l'étage 6-10m qui passe de 10-30 à 30-80%, marquant le développement en hauteur et en diamètre des houppiers de chêne liège, mais aussi l'arrivée massive dans cet étage des chênes blanc et vert qui comblent les vides entre les chênes-lièges et parfois deviennent majoritaires en nombre. Dans les peuplements les plus anciens, le chêne liège est dominé et progressivement éliminé par les autres chênes. La strate >10m est encore très faible à 50 ans.
- une réduction forte des strates ligneuses 0.5 à 3m, où la plupart des héliophiles post-feu sont éliminées. Il reste parfois encore des bruyères dans la strate 1.5-3m, mais elles sont souvent passées au dessus de 3m.
- un redéveloppement de la strate herbacée si que le couvert n'est pas exagérément dense, notamment à cause du dépérissement des vieux chênes-lièges et grâce à l'étagement des houppiers qui crée des ouvertures. Les peuplements riches en chêne blanc ont plus de strate herbacée que ceux dominés par chêne vert et chêne-liège, en raison de la chute des feuilles en hiver et, ces dernières années, de la mortalité de nombreuses branches du chêne blanc lors de la canicule 2003 puis à cause des sécheresses répétées. En plus du retour d'espèces herbacées ou semi-ligneuse héliophiles habituelles de peuplements brûlés, on note le développement en sous-bois de plantes spécifiques de forêts âgées (fragon abondant, lierre envahissant, fougères,...) et de graminées et carex globalement rares ou absent dans les forêts plus jeunes. La garance voyageuse et la ronce, présentes dès la première année après le feu mais qui étaient restées discrètes, se développent abondamment avant 50 ans et peuvent atteindre un recouvrement important près du sol (5-15%). Ce développement du sous-bois en herbacées et ligneux explique l'optimum de biodiversité observé dans ces témoins par l'inventaire floristique détaillé (cf. plus loin). L'impact de la sécheresse sur la strate herbacée est ici limité par l'ambiance forestière, contrairement à ce qui a été observé dans les forêts récemment brûlées.

La totalité des rares zones épargnées par le feu depuis 50 ans dans la zone d'étude (moins de 1% de la surface) sont situées à proximité immédiate et généralement du coté est ou sud-est de zones agricoles ou urbaines, qui leur ont servi de pare-feux vis-à-vis de la direction habituelle des grands feux. Certaines étaient sans doute traitées jadis en pare-feu pour protéger ces zones urbaines et agricoles et le feu (écobuage contrôlé ou incendie) a pu les parcourir au sol sans faire de dégâts dans l'étage dominant. Leurs passés sans doute très différents, notamment la date inconnue du dernier feu total, se traduisent par une structure variée en composition et âge et une variabilité plus forte que les autres modalités. La proportion de chêne liège y est sans doute liée (1) au régime des feux passés qui est inconnu, celles qui ont le moins brûlé étant plus riche en chêne blanc et vert dominants, (2) au mode de gestion qui y était pratiqué, (3) à la densité du peuplement ancien de pin maritime (cf. plus loin).

B-5 Témoin très ancien (>200 ans sans grand feu)

Le peuplement dominant est passé majoritairement dans la strate >10m. Les strates 3 - 6 et 6 - 10 m jadis occupées par les houppiers sont claires. Presque tous les chênes-lièges ont disparu, remplacés par des chênes verts et blancs. L'étagement et la grande hauteur des houppiers crée des ouvertures favorisant une forte couverture au sol de ronces, herbacées diverses dont fougères, et l'envahissement au sol du lierre qui monte aussi dans les arbres jusqu'à 10m de haut. Le fragon occupe une place importante dans le sous-bois où il atteint une bonne taille, et a été rejoint par d'autres espèces de forêts évoluées comme le houx (1.5 à 6 m) et l'if. Des grands érables commencent à pointer dans l'étage dominant et se régénèrent en sous-bois. Ces nouveaux arrivants remontent la densité du couvert entre 0.5 et 3m.

## *C - Synthèse de l'évolution de la structure et de la composition*

C-1 Recouvrement total

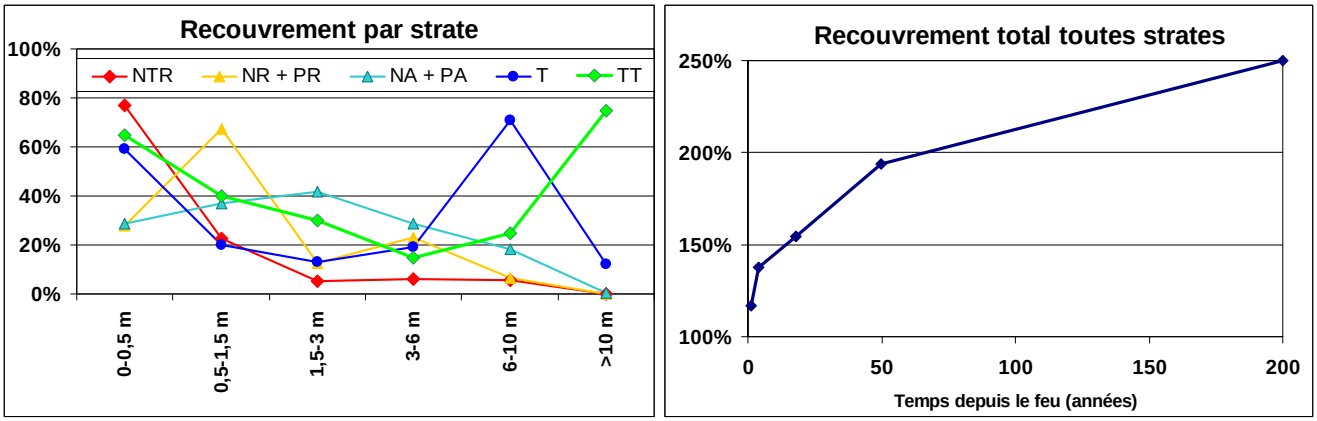



*Figure 6 : Recouvrement de la végétation par strate et par modalités ou groupes de modalités d'âge croissant, et évolution temporelle du couvert total toutes strates et toutes espèces confondues.*

Le recouvrement cumulé toutes strates confondues évolue rapidement les premières années: la strate herbacée très couvrante la première année est rapidement (3-5 ans) réduite par reconstitution de houppiers et développement des ligneux héliophiles. Puis régulièrement mais lentement pendant 50 ans après le feu, les strates hautes se densifient, se substituant d'abord progressivement aux strates basses avant que ces dernières ne regagnent en densité dans les peuplements vieillissants dont la canopée monte et s'éclaircit. La superposition des différentes strates de végétation conduit à des couverts cumulés atteignant 200% vers 50 ans et 250% à 200 ans. Les couvert cumulés dépassant 120% à 1 an et 130% à 3 ans montent que la reconstitution de la couverture végétale est très rapide, et le sol protégé de l'érosion dès la fin de la première année lorsqu'il n'est pas trop rocheux.

C-2 Recouvrement du chêne liège

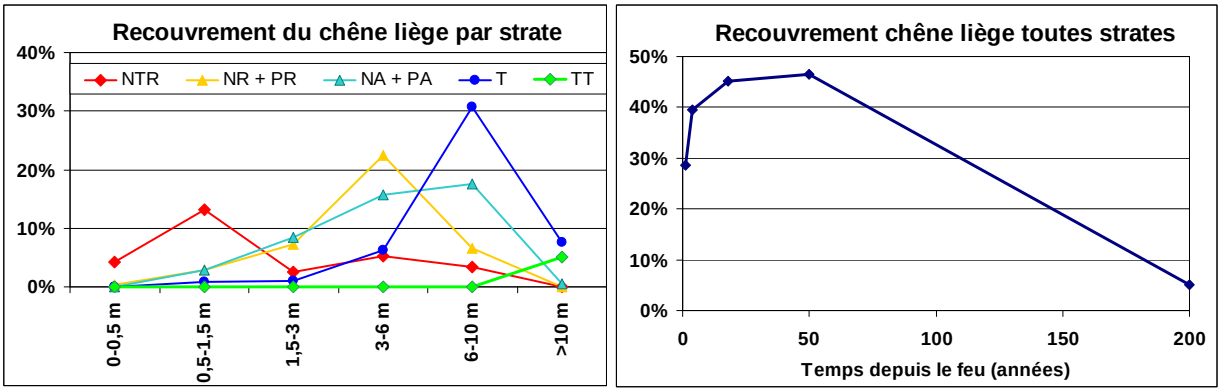



*Figure 7 : Evolution de la couverture du chêne liège par strate et toutes strates confondues.*

Le chêne liège est l'espèce structurante du peuplement forestier mais ne doit sa survie qu'au feu. On voit son pic de recouvrement monter les étages avec le temps. Il atteint un maximum dans la strate 6-10m entre 40 et 50 ans, car dans les témoins de 50 ans et plus il est déjà en partie dominé et commence à être éliminé par les autres chênes. Il disparaît presque entièrement au profit des autres arbres dans le témoin très ancien.
Par ailleurs, un certain nombre de chênes-lièges ayant les houppiers détruits par le feu, et rejetant de souche, les feux trop fréquents l'empêchent de dominer totalement en ramenant ces rejets jeunes au niveau du sol à chaque passage. Le chêne liège drageonne également après le feu.
Ces drageons comme les rejets de souche sont en concurrence avec le maquis, et ne peuvent survivre à moyen terme que si un feu les dégage, mais ils doivent attendre une période sans feux suffisamment longue (plus de 30 ans) pour que leurs branches hautes résistent au feu grâce à un liège épais, et passer durablement dans l'étage dominant.

C-3 Recouvrement des chênes blanc et vert, et arbres divers

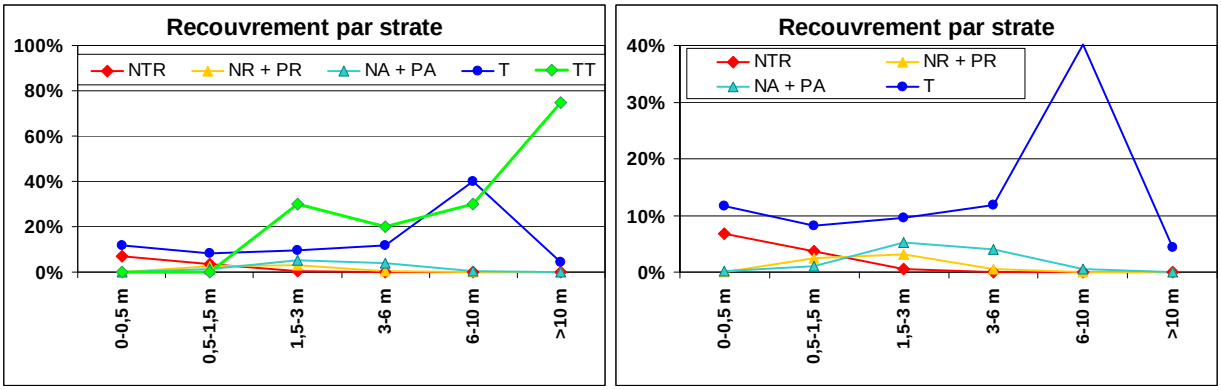



*Figure 8 : Evolution de la couverture des chênes vert et blanc et des arbres divers par strate et toutes strates confondues.*

Les chênes blanc et vert accroissent leur influence avec le temps en gagnant d'abord lentement dans les étages bas à partir des rejets de souche, dominés par les chênes-lièges et en concurrence avec le maquis. Le pic de recouvrement gagne la strate 3 - 6 m vers 15 ans, âge auquel ils échappent partiellement à la concurrence de la plupart des espèces du maquis, et accélèrent leur développement. Ils passent entre 6 et 10 m entre 30 et 40 ans. Ils peuvent être déjà dominants dans les strates hautes vers 50 ans, âge où ils ont commencé à se régénérer en sous-bois. Dans le témoin très ancien, ces régénérations ont largement gagné les étages inférieurs entre 3 et 10 m, accompagnés d'autres espèces typiques de forêts anciennes (iff, érables, houx, ...) apparues plus tardivement.

C-4 Autres éléments de la structure

Une des grandes inconnues de l'histoire de ces peuplements est la proportion du pin maritime avant sa disparition ou exploitation dans les années 50 à 60 à cause de la cochenille. Ce paramètre contribue sans doute à la diversité des structures actuelles et du sol. Le chêne liège était en effet le plus souvent dominé jusque dans les années 50 par une futaie de pin maritime plus ou moins claire, dont la densité devait fortement influencer celle des chênes.
Le couvert du pin maritime protégeait les chênes lièges et a permis leur développement dans des zones où ils sont en limite écologique sur les mauvais sols. La disparition des pins explique en partie le dépérissement des chênes-lièges sur les mauvaises stations, phénomène qui s'est accentué à partir de 2003 mais avait été observé dès les années 80.

Pour éviter les variations de chimie du sol qui pourraient être liées à la présence actuelle du pin, nous avons évité les placettes qui en contenaient plus de quelques individus adultes.
Le pin maritime se régénère par graines après le feu. Il est présent sous forme de semis dispersés dans plusieurs placettes. Il faut environ 20 ans pour que les pins deviennent des semenciers efficaces. Deux feux rapprochés éliminent donc cette espèce, et c'est pourquoi il est devenu rare dans la zone d'étude où la fréquence des feux est élevée.

L'arbousier est peu représenté dans les placettes IRISE, mais il peut localement occuper une place plus importante, dominant le sous-bois et imposant une concurrence forte aux rejets de chêne dès les premières années après feu. Dans les parcelles de plus de 40 ans sur les stations de faible fertilité, il peut atteindre la même hauteur que le chêne-liège, contribuant à son élimination en absence de feu.

***Deuxième partie (Cemagref et IMEP)***
***Analyse de la composition phytoécologique***

## Introduction

Le feu possède différents impacts, directs et indirects, immédiats et différés, sur les communautés végétales. Ils ont particulièrement été étudiés sous climat méditerranéen, sur un pas de temps de quelques années à une dizaine d'années (Trabaud and Lepart 1980, Milberg and Lamont 1995, Caturla et al. 2000, Bonnet 2001, Bonnet et al. 2002, Perula 2003), les connaissances à une échelle de temps plus importante et sur substrat siliceux étant moins fréquentes. Aussi, peu d'études comportent une différenciation dans l'échantillonnage en fonction des régimes de feux antérieurs (Trabaud 1992, Lloret 2003, Delitti et al. 2005, Buhk et al. 2006), notamment du fait des difficultés pour connaître précisément l'histoire de ces régimes.
On se propose ici d'étudier les impacts d'une composante de ces régimes, la récurrence des incendies, connue sur une cinquantaine d'années par une analyse diachronique d'images et de photographies aériennes, sur des formations arbustives et arborées dominées par *Quercus suber* en Provence siliceuse.

Ces impacts sont supposés affecter la **résilience** des communautés végétales (Trabaud and Lepart 1980, Westman 1986, Holling 1996, Mitchell 2000, Jacquet and Prodon 2007), notion pouvant être étendue à celle d'**auto-succession** (Egler 1954, Trabaud 1990) dans le sens où une communauté revient à un état quasi-initial après perturbation. Il est question de mieux appréhender le lien entre la résilience et le régime de feux, et plus particulièrement la récurrence : un régime de feux croissant affaiblit-il la résilience ? Ou observons-nous un système répondant à la **théorie de la perturbation intermédiaire** ou *Intermediate Disturbance Hypothesis* (IDH) pour laquelle la diversité globale serait maximale (Connel 1978, Wilson 1994) ?

## 1. Matériels et méthodes

### *1.1 Echantillonnage*

Le site d'étude, localisé dans le Var (massif des Maures), présente de forts enjeux écologiques et patrimoniaux (Loisel 1971, Ladier and Ripert 1996, Amandier and Santelli 2004). Il est essentiellement constitué de suberaies et de maquis à *Erica* et *Cistus*. Les modalités de cette étude intègrent celles qui sont communes à l'ensemble du projet IRISE, mais en diffèrent légèrement par leur classement. Cinq modalités ont été construites selon un gradient de récurrence des feux (fréquence des feux et intervalle de temps entre les feux) croissant, sur la base d'une étude du régime des feux qui a été menée depuis 1959, date à partir de laquelle un recensement complet a pu être effectué. On distingue deux modalités extrêmes (1, 5) et trois modalités intermédiaires (2, 3 et 4) :

Modalité 1 = témoin sans feu depuis 1959
Modalité 2 = feu 1990 seul
Modalité 3 = 2-3 feux : feux anciens (avant 1964) + feu 1990
Modalité 4 = 2-3 feux : feux récents (avant 1985) + feu 1990
Modalité 5 = 3-4 feux dont les derniers en 1990 et 2003.

La modalité 1 sera comparée aux autres modalités de placettes, brûlées au moins une fois à plusieurs fois par des feux récurrents. En outre, les modalités 3 et 4 ont été utilisées pour tester l'hypothèse de l'intervalle de temps entre les feux mais aussi l'IDH dans le sens d'un régime moyen dans notre échantillonnage. La modalité 3 est supposée convenir à l'intervalle de temps nécessaire à la reconstitution de la végétation en terme de hauteur, biomasse, couverture/fermeture (moyenne de 15 ans (voire moins), selon l'intervalle généralement constaté en basse Provence (Trabaud 1994)) alors que la modalité 4 montre deux derniers feux successifs beaucoup plus rapprochés dans le temps.

Le protocole de relevés phytoécologiques est basé sur les travaux de Godron et al. (Godron et al. 1983). Nous avons effectué 51 relevés en 2006 puis 51 relevés en 2007 pour un total de 20 répétitions par modalité (22 pour la modalité témoin). Pour chaque relevé d'une surface de 400m², nous avons étudié les facteurs mésologiques (altitude, pente, exposition, abondance en cryptogames non vasculaires, litière, cailloux, …) et la végétation exprimée selon cinq strates de végétation et pour chaque espèce en présence/absence et abondance (d'après le coefficient d'abondance-dominance adapté de Braun-Blanquet (Braun-Blanquet 1952). Tous les relevés se situent dans la partie Est du massif, sur un même substrat et avec un niveau de fertilité moyen.

### *1. 2 Analyses des données*

Les indices de diversité et d'équitabilité (Shannon and Weaver 1949, Piélou 1966) ont été calculés sur l'ensemble des relevés, ensuite regroupés par modalité de récurrence des feux.
Deux types d'analyses ont été effectués : des analyses exploratoires (Analyse Factorielle des Correspondances) et des analyses multivariées de type ANOVA avec le test non paramétrique de Kruskal-Wallis suivi du test SNK lorsque l'hypothèse nulle était rejetée (Ter Braak 1986, Legendre and Legendre 1998) à l'aide des logiciels R (2.4.1., R Development Core Team) et Statgraphics (Centurion XV, version 15.2.06, Statpoint, Inc.).

## 2. Composition, richesse et diversité spécifiques

Nos résultats montrent des différences de végétation en fonction des modalités de feu, avec un maximum de diversité, de richesse et d'équitabilité pour la modalité témoin (1) et un minimum pour la modalité brûlée en 2003 (modalité 5) (cf. Figure 1).
Ceci nous suggère d'une part que les relevés concernant la dernière modalité ont été effectués après le pic de rudéralité qui survient immédiatement après un feu (Trabaud et al. 1997, Bonnet 2001, Bonnet et al. 2002, Buhk et al. 2006) et, d'autre part, que les placettes témoins présentent un plus fort degré de maturité, sous un angle de richesse et de structure, que les modalités régulièrement perturbées par les feux.
Les modalités intermédiaires (3 et 4) présentent un niveau moyen de richesse et de diversité ; ce qui ne correspond pas à la théorie de la perturbation intermédiaire qui prédit une augmentation de la richesse spécifique pour des régimes de perturbations moyens et récurrents (IDH ; (Connel 1978, Wilson 1994)).

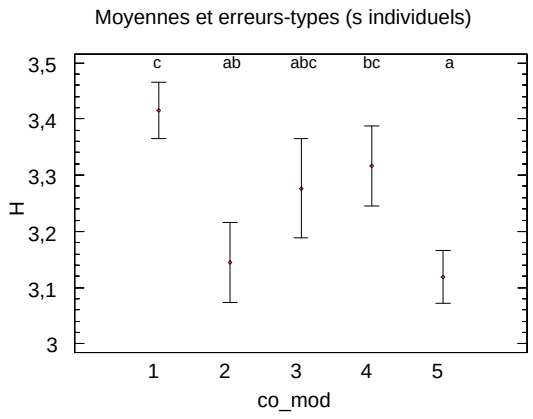



Figure 1 : Moyennes et écarts-types de l'indice de diversité spécifique de Shannon pour les placettes regroupées selon un gradient croissant de récurrence des feux, Kruskal-Wallis p=0,0064 (**) ; la significativité des différences entre les 5 modalités est représentée par des lettres montrant l'appartenance à des groupes.

## 3. Distribution des espèces et notion de Fond Floristique Commun

Une analyse de la distribution des espèces et des relevés par AFC (cf. Figure 2) révèle un patron peu influencé par le feu, du fait de la faible distinction de groupes et de la faible inertie (total de l'inertie expliquée par les deux premiers axes : 8,8%).

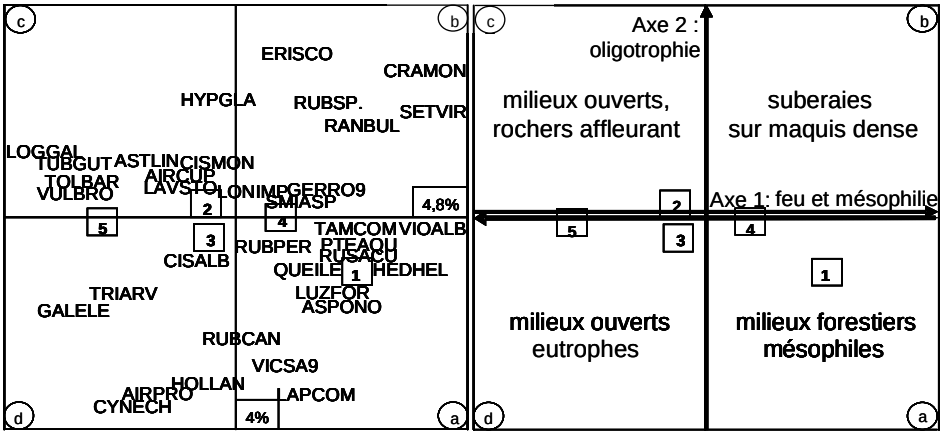



Figure 2 : Plan factoriel 1/2 de l'AFC où seules les espèces rencontrées une seule fois n'ont pas été considérées dans le calcul. Les données incluent 102 relevés, 191 espèces (ici seules les espèces les plus contributives ont été représentées ; les placettes sont figurées par le barycentre des modalités pour facilité de lecture).

Codes des espèces en Annexe.

La localisation des barycentres des modalités montre un gradient opposant les modalités les plus contrastées (1 et 5) mais il n'est pas linéaire.

L'axe 1 oppose des espèces SR, tolérantes aux Stress et Rudérales, annuelles de milieux secs plus ou moins perturbés, à des espèces forestières sciaphiles et mésophiles, indiquant un double gradient de feu et de mésophilie inversement corrélés.

L'axe 2 est plus délicat à interpréter et rassemble :

- coté positif : espèces annuelles oligotrophes de milieux temporaires intra-maquis et (nano)phanérophytes de maquis « secs »,
- coté négatif : espèces plutôt forestières et quelques espèces annuelles rudérales.

On retrouve donc un double gradient, comme pour l'axe 1, mais positivement corrélé cette fois, d'espèces de milieux non perturbés mais pauvres en nutriments (côté positif) et d'espèces de milieux eutrophes éventuellement perturbés par le feu (côté négatif).

Le résultat du plan 1/2 semble alors intéressant :

- quadrant Bas Droite (a) : espèces de milieux forestiers mésophiles (forêt non perturbée par le feu depuis au moins 1959),
- quadrant Haut Droite (b) : espèces de milieux fermés correspondant aux maquis denses,
- quadrant Haut Gauche (c) : espèces de maquis ouverts, rochers affleurant (présence d'espèces héliophiles oligotrophes),
- quadrant Bas Gauche (d) ; espèces de milieux ouverts eutrophes (présence d'espèces plus ou moins fortement rudérales).

Les analyses ont montré qu'il existe un « Fond Floristique Commun » constitué d'espèces présentes dans plus d'un tiers des relevés. Ces espèces sont très représentées sur l'ensemble des relevés, avec une aire de distribution très large.

Leur autoécologie montre qu'elles correspondent à des milieux de maquis tantôt ouverts, tantôt fermés. Elles présentent les caractéristiques suivantes (d'après la base de données écologiques et floristiques Baseco (Gachet et al. 2005) et notre expertise) :

- Espèces de fourrés sclérophylles (*Quercus ilex, Arbutus unedo, Smilax aspera, Rubia peregrina, Asparagus acutifolius, Erica arborea*),
- Espèces pyrophiles/héliophiles des maquis bas (*Cistus monspeliensis, Calicotome spinosa, Cistus albidus, Cistus salvofolius, Lavandula stoechas*),
- Herbacées plus ou moins fortement rudérales (*Bituminaria bituminosa, Andryala integrifolia, Vicia disperma, Urospermum dalechampii, Carduus nigrescens, Euphorbia segetalis*),

- Herbacées semi-forestières des milieux humifères ou sciaphiles (*Hieracium murorum, Geranium robertianum purpureum*),
- *Quercus pubescens* : espèce dont la dynamique indique une certaine stabilisation du milieu,
- *Quercus suber* : espèce permanente dans nos relevés, son abondance est liée pour partie à la subériculture passée, au débroussaillage ainsi qu'au feu mais est confirmée indigène sur le massif (Bergaglio et al. 2006).

Parmi les formations ressemblant physionomiquement à des forêts, seuls les faciès de végétation non brulés depuis 1959 (chênaie-suberaie mixte) s'en rapprochent au sens fonctionnel. Elles sont caractérisées par la présence conjointe de zoochores, en particulier d'ornithochores, également compétitrices *sensu* Grime (Grime 1974).

## 4. Discussion et perspectives

Nos résultats vont dans le sens d'une résilience des systèmes étudiés, d'auto-succession, ce qui est observé dans la majorité des cas d'études de communautés végétales post-feu (Trabaud 1983, Bonnet 2001, Buhk et al. 2006). En effet, on observe une forte similarité floristique, confirmant un retour à l'état initial après perturbation. Mais l'auto-succession observée peut ne pas se restreindre à la force sélective du feu (Buhk et al. 2006).

Cependant, l'observation d'un pic de rudéralité (Bonnet 2001) n'a pu se faire pour la modalité 5, montrant certainement une dynamique assez rapide en Provence siliceuse. Notons que les processus de succession directe et ce flush de plantes à courte durée de vie peuvent être intégrés dans le concept d'auto-succession accrue proposé par Buhk et al. (Buhk et al. 2006).

Aussi, la maturité des communautés végétales observées en modalité 1 n'a pas un lien direct avec la richesse spécifique, une communauté mature n'étant pas forcément plus riche en espèces, mais plus intimement liée à leur âge depuis le dernier feu (1959) et les traits de vie des espèces présentes.

Les cas présentant une plus faible résilience concernent en général des milieux à fort particularisme ou des systèmes fortement perturbés (Bonnet 2001, Baeza et al. 2007, Duguy and Vallejo 2008). Cela a été le cas dans nos résultats avec une plus faible richesse spécifique de la modalité à plus forte récurrence de feu et une richesse moyenne pour les modalités intermédiaires. En raison d'une forte similarité floristique, un Fond Floristique Commun a été identifié. Peu de différences floristiques ont également été observées dans une étude récente en Provence calcaire (Capitanio and Carcaillet 2008). Ceci est notamment lié à l'histoire des écosystèmes méditerranéens façonnés par le feu depuis au moins le Néolithique (Bergaglio et al. 2006) et va dans le sens du concept de perturbation endogène au sens de Rykiel (Rykiel 1985). Aussi, si la perturbation devient partie intégrante du système considéré, ce qui est notamment le cas à l'échelle locale ou régionale, dans les milieux fréquemment soumis à une perturbation récurrente comme le pâturage par exemple (Milchunas et al. 1988), la perturbation peut quelquefois être perçue comme un stress, ce qui peut également être observé à l'inverse, un stress trop violent et inhabituel pouvant devenir une perturbation (Allen and Starr 1982, Véla 2002).

Enfin, si les effets de la récurrence des feux sur la végétation sont faibles au niveau spécifique, d'autres analyses en cours (Schaffhauser et al., données non publiées) nous montreront éventuellement s'ils sont plus significatifs sur la diversité fonctionnelle, comme c'est aussi le cas pour d'autres perturbations telles que le pâturage ou le débroussaillage pour les communautés végétales herbacées méditerranéennes (Véla 2002).

*Remerciements*

*Ce travail provient d'une collaboration entre plusieurs projets (IRISE Forest-Focus, DNP, CR PACA) et a bénéficié d'un financement région PACA-Cemagref. Nous remercions notamment Olivier Deguerry et Sami Youssef pour leur aide sur le logiciel R ainsi que tous ceux qui, à un moment donné ou à un autre, nous ont aidé sur le terrain ou au laboratoire (Véronique Bonnet, Clémentine Coiffait, Daniel Pavon, Arne Saatkamp, Mathieu Santonja).*

Annexe : Codes des espèces citées (nomenclature conforme à (Brisse and Kerguelen 1994)

| IDE : genre espèce sous-espèce | IDE : genre espèce sous-espèce | IDE : genre espèce sous-espèce |
|---|---|---|
| AIRCUP : Aira cupaniana | HOLLAN : Holcus lanatus | RUSACU : Ruscus aculeatus |
| AIRPRO : Aira provincialis | HYPGLA : Hypochoeris glabra | RUBSP. : Rubus sp. |
| ASPONO : Asplenium onopteris | LAPCOM : Lapsana communis | SETVIR : Setaria viridis |
| ASTLIN : Asterolinon linum-stellatum | LAVSTO : Lavandula stoechas | SMIASP : Smilax aspera |
| CISALB : Cistus albidus | LOGGAL : Logfia gallica | TAMCOM : Tamus communis |
| CISMON : Cistus monspeliensis | LONIMP : Lonicera implexa | TOLBAR : Tolpis barbata |
| CRAMON : Crataegus monogyna | LUZFOR : Luzula forsteri | TRIARV : Trifolium arvense |
| CYNECH : Cynosurus echinatus | PTEAQU : Pteridium aquilinum | TUBGUT : Tuberaria guttata |
| ERISCO : Erica scoparia | QUEILE : Quercus ilex s.l. | VICSA9 : Vicia sativa nigra |
| GALELE : Galactites elegans | RANBUL : Ranunculus bulbosus | VIOALB : Viola alba |
| GERRO9 : Geranium robertianum purpureum | RUBCAN : Rubus canescens | VULBRO : Vulpia bromoides |
| HEDHEL : Hedera helix s.l. | RUBPER : Rubia peregrina s.l. | |

REFERENCES


Allen, T. F. H., and T. B. Starr. 1982. Hierarchy. Perspectives for Ecological Complexity. The University of Chicago Press, Chicago and London:310.

Amandier, L., and J. Santelli. 2004. Typologie des suberaies varoises. Rapport scientifique.

Baeza, M. J., A. Valdecantos, J. A. Alloza, and R. Vallejo. 2007. Human disturbance and environmental factors as drivers of long-term post-fire regeneration patterns in Mediterranean forests. Journal of Vegetation Science **18**:243-252.

Bergaglio, M., B. Talon, and F. Médail. 2006. Histoire et dynamique des forêts de l'ubac du massif des Maures au cours des derniers 8000 ans. Forêt méditerranéenne **t. XXVII, n° 1**.

Bonnet, V. 2001. Analyse spatiale et fonctionnelle de la réponse des communautés végétales après incendie en Basse Provence calcaire. Thèse de Doctorat en Sciences, Univ. Aix-Marseille III, Marseille.

Bonnet, V., T. Dutoit, and T. Tatoni. 2002. Spatial gradients of vegetation and soil after fire in the calcareous Provence (France). Pages 303-314 *in* Fire and Biological Processes. Trabaud, L. & Prodon, R. Backhuys publishers.

Braun-Blanquet, J. 1952. Les groupements végétaux de la France méditerranéenne. CNRS.

Brisse, H., and M. Kerguelen. 1994. Code informatisé de la flore de France. Bulletin de l'Association d'Informatique Appliquée à la Botanique, Marseille.

Buhk, C., L. Gotzenberger, K. Wesche, P. S. Gomez, and I. Hensen. 2006. Post-fire regeneration in a Mediterranean pine forest with historically low fire frequency. Acta Oecologica **30**:288-298.

Capitanio, R., and C. Carcaillet. 2008. Post-fire Mediterranean vegetation dynamics and diversity: a discussion of succession models. Forest Ecology and Management **255**:431-439.

Caturla, R. N., J. Raventos, R. Guardia, and V. R. Vallejo. 2000. Early post-fire regeneration dynamics of Brachypodium retusum Pers. (Beauv.) in old fields of the Valencia region (eastern Spain). Acta Oecologica **21**:1-12.

Connel, J. H. 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. Science **199**:1302-1310.

Delitti, W., A. Ferran, L. Trabaud, and V. R. Vallejo. 2005. Effects of fire recurrence in Quercus coccifera L. shrublands of the Valencia Region (Spain): I. plant composition and productivity. Plant Ecology **177**:57-70.

Duguy, B., and R. Vallejo. 2008. Land-use and fire history effects on post-fire vegetation dynamics in eastern Spain. Journal of Vegetation Science **19**:97-108.

Egler, F. E. 1954. Vegetation science concepts I initial floristic composition, a factor in old-field vegetation development. Vegetatio **4**:412-417.

Gachet, S., E. Véla, and T. Tatoni. 2005. BASECO : a floristic and ecological database of Mediterranean French flora. Biodiversity and Conservation **14**:1023-1034.

Godron, M., P. Daget, L. Emberger, G. Long, E. Le Floch, J. Poissonet, C. Sauvage, and J. Wacquant. 1983. Code pour le relevé méthodique de la végétation et du milieu, Paris.

Grime, J. P. 1974. Vegetation classification by reference to strategies. Nature **250**:26-31.

Holling, C. S. 1996. Engineering resilience versus ecological resilience. Engineering within ecological constraints. Washington, National Academy.

Jacquet, K., and R. Prodon. 2007. Résilience comparée des peuplements de Chêne vert et de Chêne liège après incendie. Rev. For. Fr. **LIX**:31-44.

Ladier, J., and C. Ripert. 1996. Les stations forestières de la Provence cristalline (Cap Sicié, îles d'Hyères, Maures, Tanneron), Typologie des stations forestières. Rapport du CEMAGREF, Aix-en-Provence.

Legendre, P., and L. Legendre. 1998. Numerical Ecology. Developments in Environmental Modelling. Ed. Elsevier.

Lloret, F., Vila, M. 2003. Diversity patterns of plant functional types in relation to fire regime and previous land use in Mediterranean woodlands. J. Veg. Sci. **14**:387-398.

Loisel, R. 1971. Séries de végétation propres, en Provence, aux massifs des Maures et de l'Esterel (ripisilves exclues). Bull. Soc. bot. Fr. **118**:203-236.

Milberg, P., and B. B. Lamont. 1995. Fire enhances weed invasion of roadside vegetation in southwestern Australia. Biological Conservation **73**:45-49.

Milchunas, D. G., O. E. Sala, and W. R. Lauenroth. 1988. A generalized model of the effects of grazing by large herbivores on grassland community structure. Am. Nat. **132**:87-106.

Mitchell, R. J. 2000. Ecosystem stability and resilience. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics **3**:142-160.

Perula, V., Cerrillo RMN, Rebolloo PF, Murillo GV. 2003. Postfire regeneration in *Pinus pinea* L. and *Pinus pinaster* Aiton in Andalucia (Spain). Environm. Management **31**:86-99.

Piélou, E. C. 1966. Species-Diversity and Pattern-Diversity in the Study of Ecological Succession. J. Theoretical Biology **10**:370-383.

Rykiel, E. J. 1985. Towards a definition of ecological disturbance. Austral. J. Ecol. **10** 361-366.

Shannon, C., and W. Weaver. 1949. The Mathematical Theory of Communication. University of Illinois Press, Urbana.

Ter Braak, C. J. F. 1986. Canonical Correspondence Analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. Ecology **67**:1167-1179.

Trabaud, L. 1983. Evolution après incendie de la structure de quelques phytocénoses méditerranéennes du Bas-Languedoc (Sud de la France). Ann. Sci. Forest. **40 (2)**:177-196.

Trabaud, L. 1990. Fire resistence of Quercus coccifera L. Garrigue. Fire in ecosystem dynamics. . Pages 21-32 *in* J. a. J. Goldammer, M., editor. Proceedings of the Third Inter. Symp. on the fire ecology, Freibourg, May 1989.

Trabaud, L. 1992. Influence du régime des feux sur les modifications à court terme et la stabilité à long terme de la flore d'une garrigue de *Quercus coccifera*. Rev. Ecol. (Terre Vie) **47**:209-230.

Trabaud, L. 1994. Wildlife fire cycles and history in Central Southern France. *in*.

Trabaud, L., and J. Lepart. 1980. Diversity and stability in garrigue ecosystems after fire. Vegetatio **43 (1/2)**:49-57.

Trabaud, L., J. J. Martinez-Sanchez, P. Ferrandis, A. I. Gonzales-Ochoa, and J. M. Herranz. 1997. Végétation épigée et banque de semences du sol : leur contribution à la stabilité cyclique des pinèdes mixtes de Pinus halepensis et Pinus pinaster. Canadian Journal Botany **75 (6)**:1012-1021.

Véla, E. 2002. Biodiversité des milieux ouverts en région méditerranéenne. Le cas des pelouses sèches du Luberon (Provence calcaire). PhD thesis. University Aix-Marseille III.

Westman, W. E. 1986. Resilience : concepts and measures. *in* L. B. A.H.B Dell, editor. Resilience in Mediterranean-type ecosystems. Dordrecht, DR W Junk publishers.

Wilson, J. B. 1994. The 'intermediate disturbance hypothesis' of species coexistence is based on patch dynamics. New Zealand Journal of Ecology **18 (2)**:176-181.

## Annexe 5.2 : FAUNE DU SOL

# *Communautés lombriciennes*

**Responsable du projet**: Jean-Jacques **BRUN,** Directeur de recherche
Tel: +33 4-76-76-27-79
E-mail: jean-jacques.brun@cemagref.fr

**Coordinateur du projet:** Nathalie **CASSAGNE**, Chercheur
Tel: +33 4-76-76-27-79
E-mail: nathalie.cassagne@cemagref.fr

**Laboratoires**: Unité de recherche Ecosystèmes Montagnards
***Cemagref***, groupement de Grenoble
Campus Universitaire,
2 rue de la Papeterie, B P. 76,
F- 38402 Saint Martin d'Hères

U R Ecosystèmes Méditerranéens et Risques, Cemagref Aix en Provence

**Collaborateurs**:

**Nathalie Cassagne, Chercheur** (Cemagref Grenoble, France) : coordination du projet, conception des protocoles expérimentaux, échantillonnage et analyse de la faune lombricienne, traitement des données.

**Jean-Jacques Brun, Directeur de Recherche** (Cemagref Grenoble, France) : échantillonnage vers de terre, analyse des résultats.

**Bernard Juvy, Assistant Ingénieur** (Cemagref Grenoble, France) : échantillonnage et détermination de la faune lombricienne.

**Lauric Cécillon, Doctorant** (Cemagref Grenoble, France) : échantillonnage et analyses des données NIRS.

**Michel Vennetier (IDAE, coordinateur du projet IRISE)**
**et Camile Mas (étudiante)**
Cemagref Aix en Provence**:** Echantillonnages et analyse des données sur les turricules.

**Eric MERMIN, Pascal TARDIF, Gilles FAVIER, Sébastien De Danieli, Techniciens** (Cemagref Grenoble, France) : aide technique terrain pour prélèvements de vers de terre.

**Autres collaborations :**

**Sonia Czarnes, Enseignat-Chercheur** (Université Claude Bernard, Lyon I, Laboratoire de microbiologie) : analyses bactériennes et interprétation des données.

**Raphael Gros, Enseignant-Chercheur** (Université Aix Marseille, IMEP) : prélèvements échantillons sols et turricules, analyses microbiennes et interprétation des données.

**Difficultés de réalisation**

L'étude de la faune du sol a été très pénalisée durant tout le projet par la sécheresse récurrente, notamment les déficits pluviométriques printaniers, car le printemps est habituellement la période d'activité maximale. Cette faune est concentrée dans les zones à forte teneur en matière organique, celles-ci étant limitées essentiellement aux 5 premiers centimètres de sol et à la litière: or ces strates superficielles ont subi des périodes de dessiccation intense dès la fin de l'hiver ou le début du printemps, et pouvant durer de 4 à 8 mois chaque année au cours de 5 dernières années.

Outre le problème de la sécheresse, l'étude de la micro-faune s'est heurtée à des problèmes méthodologiques spécifiques aux sols étudiés, notamment :

- le manque de cohérence du sol lié à la texture sableuse et au déficit de matière organique empêchant le prélèvement d'échantillons non-remaniés avec les techniques habituelles,
- ainsi que la forte pierrosité des horizons superficiels, rendant très difficile le carottage d' d'échantillons intacts.

Concernant la récolte d'échantillons de sols non-remaniés, nécessaires à plusieurs analyses de physique du sol et de micro-faune, une technique d'injection directe in-situ de résines dans le sol a été testée à de multiples reprises avec des modalités variées, et finalement couronnée de succès mais trop tardivement pour être utilisée dans les délais impartis. Elle sera mise en œuvre ultérieurement.

La faune a donc été abordée principalement par les vers de terre, qui constituent un des éléments clefs du fonctionnement des sols de la zone d'étude.

Pour compenser l'absence de données directes sur la micro-faune et la structure du sol, les analyses qui ne devaient porter initialement que sur les comparaisons des populations de vers entre modalités ont été étendues au rôle de ces vers dans le fonctionnement biologique et chimique des sols.

D'autre part, tirant parti du climat défavorable, nous avons étudié le rôle de la récurrence de la sécheresse sur les populations de vers et son interaction avec la récurrence des incendies.

# SOMMAIRE

COMMUNAUTES LOMBRICIENNES ..... 23

**1. INTRODUCTION ..... 27**

**2. PRESENTATION DU MILIEU ET DU MODELE ETUDIES ..... 30**

2.1. LE SITE D'ETUDE: LE MASSIF DES MAURES ..... 30
2.2. LE DISPOSITIF EXPERIMENTAL ..... 30
2.3. LES COMMUNAUTES LOMBRICIENNES ..... 32
*2.3.1. Les catégories écologiques ..... 32*
*2.3.2. Les structures biogéniques ..... 35*

**3. ETUDE DE L'IMPACT DES FEUX SUR LES COMMUNAUTES LOMBRICIENNES ..... 36**

3.1. MATERIEL ET METHODES ..... 37
*3.1.1. Le protocole expérimental ..... 37*
*3.1.2. Echantillonnage des vers de terre ..... 38*
*3.1.3. Echantillonnage des turricules ..... 39*
*3.1.4. Analyses statistiques ..... 39*
3.2. RESULTATS ..... 40
*3.2.1. Structure de la communauté ..... 40*
*3.2.2. Impact du nombre de feux sur la communauté ..... 43*
*3.2.3. Nombre, taille et répartition spatiale des turricules ..... 45*
3.3. DISCUSSION & CONCLUSION GENERALE ..... 50
*3.3.1. Structure de la communauté ..... 50*
*3.3.2. Impact du feu sur la communauté lombricienne ..... 51*
*3.3.3. Impact du feu sur la stabilité de l'écosystème ..... 52*

**4. IMPACT DES INCENDIES DE FORET SUR LES STRUCTURES BIOGENIQUES PRODUITES PAR LES VERS DE TERRE ..... 54**

4.1. MATERIELS ET METHODES ..... 55
*4.1.1. La spectroscopie proche infra rouge (SPIR) ..... 55*
*4.1.2. Le protocole expérimental ..... 57*
*4.1.3. Acquisition de spectres SPIR ..... 58*
*4.1.4. Analyses physico-chimiques et microbiologiques ..... 58*
*4.1.6. Analyses statistiques ..... 59*
4.2. RESULTATS ..... 60
*4.2.1. Caractérisation chimique et microbienne des turricules ..... 60*
*4.2.2. Discrimination des turricules par la SPIR ..... 61*
*4.2.3. Prédiction des propriétés chimiques et biologiques ..... 62*
4.3. DISCUSSION & CONCLUSION ..... 66

**5. SYNTHESE ET CONCLUSION GENERALE ..... 68**

**6. REFERENCES ..... 71**

**7. ANNEXES LOMBRICIENS ..... 76**

ANNEXE 1. ..... 76
ANNEXE 2. ..... 77

# 1. Introduction

Les écosystèmes méditerranéens ont fortement été modifiés depuis des millénaires par les activités humaines au cours de période intensive et extensive d'utilisation des terres (Le Houérou, 1990; Perez et al., 2003). Durant ces deux ou trois dernières décennies, principalement dans la partie Nord du basin méditerranéen, beaucoup de terres ont été abandonnées avec la révolution industrielle et l'exode rural qui suivit (Pausas, 2006; Tatoni and Roche, 1994), à l'origine d'importants changements dans la structure du paysage (Perez et al., 2003). Il est reconnu que ces changements d'utilisation des terres, sans négliger l'impact des changements climatiques, ont joué un rôle conséquent dans les changements de régimes de feux (Buhk and Hensen, 2006; Pausas, 2006). En effet, bien que les incendies en forêts méditerranéennes soient des perturbations historiquement ancrées dans la dynamique naturelle des écosystèmes, la superficie des zones brûlées a dramatiquement augmenté ces dernières décennies (Perez et al., 2003). En 2003, les incendies ont parcouru près de 70 000 hectares pour l'ensemble des 15 départements français du littoral méditerranéen, dont 25 367 ha en région PACA. Le feu est donc une des perturbations les plus importantes en régions Méditerranéennes et exerce un rôle décisif dans la dynamique et la structure des plantes et des communautés animales (Arnan et al., 2006; Montes et al., 2004; Sousa, 1984) en fonction de leur capacité de résilience après le feu.

Les écosystèmes méditerranéens sont généralement reconnus comme tolérants aux stress et donc adaptés à la perturbation induite par le feu. La réponse des communautés végétales au feu a fait l'objet de nombreuses études dans les écosystèmes méditerranéens à travers le monde (Buhk and Hensen, 2006; Delitti et al., 2005; Pausas, 2006; Tarrega et al., 2001; Trabaud and Galtie, 1996). La plupart des auteurs ont décrit un processus d'autosuccession, correspondant à une régénération très rapide après le feu avec très peu de changement au niveau de la composition entre les feux (Buhk and Hensen, 2006; Trabaud, 1994). Cependant, des changements importants dans les populations entre les feux peuvent être observés par une augmentation des plantes adaptées au feu avec une inflammabilité plus importante renforçant ainsi l'étendue des feux (Baeza et al., 2006; Pausas and Verdu, 2005; Perez et al., 2003). La répétition des feux et le temps qui les séparent n'ont jamais été aussi élevés depuis les cent dernières années, or suite à des incendies répétés, la capacité de régénération végétale peut être totalement inversée (Diaz-Delgado et al., 2002). Dans les sites fréquemment brûlés, l'érosion et le brûlage appauvrissent progressivement le sol en matière organique. La diversité et la biomasse microbienne s'en trouvent également appauvries par une réduction de la disponibilité de la matière organique et des flux d'éléments minéraux (Hart et al., 2005). La réponse de la faune du sol dans de telles

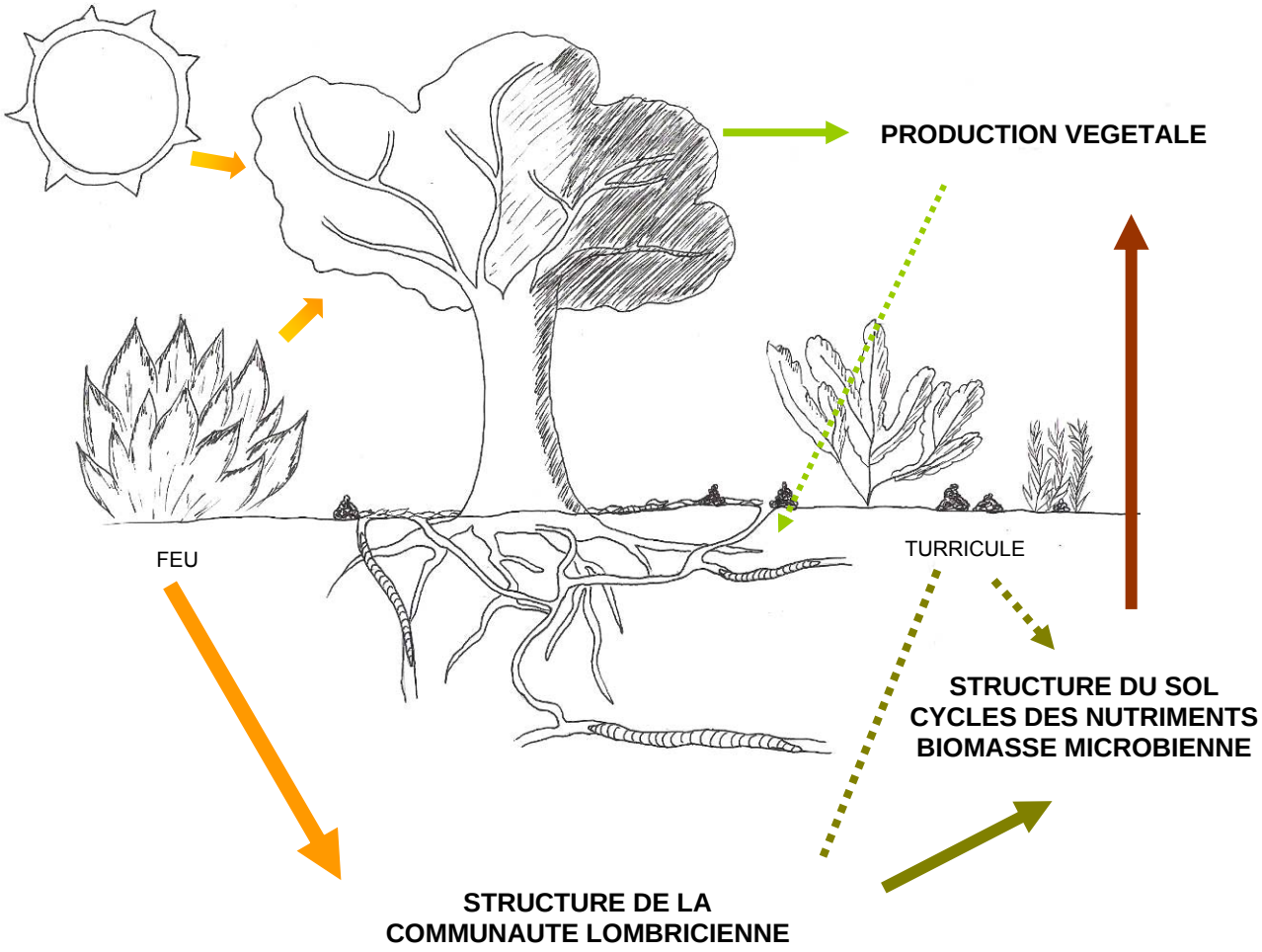
conditions est nettement moins connue (Arnan et al., 2006; Parr et al., 2004) et les études effectuées portent sur un nombre réduit de groupes aux réponses contradictoires. L'impact du feu peut être négatif sur certains groupes d'arthropodes (Isopoda, Formicidae, certaines familles de Coléoptères) mais positif sur d'autres (Araneae, Carabidae).
Il existe très peu de données dans la littérature sur la réponse des vers de terre aux feux de forêt et à leur répétition. Cependant l'importance fonctionnelle de ces animaux dans les écosystèmes est largement reconnue en tant qu'ingénieurs du sol, régulant par leur activité un certain nombre de processus physiques, chimiques et biologiques du sol. Ils sont ainsi souvent considérés comme un signe de santé du sol en influençant la structure et la fertilité du sol à travers leurs activités d'excavation, d'excrétion de macro-agrégats, et d'ingestion de matière organique (Edwars and Bohlen, 1996). Les vers de terre sont aussi importants dans les processus biologiques, tels que les cycles des nutriments et la régulation des communautés de micro-organismes du sol, avec par exemple une augmentation des activités microbiennes et de la minéralisation dans les sols où les lombrics sont présents (Lavelle and Spain, 2001; Scullion and Malik, 2000).

De récents travaux théoriques et expérimentaux ont clairement mis en évidence que la perte de biodiversité impactait profondément les biens et services des écosystèmes (production primaire, fertilité des sols, séquestration du carbone, etc. …) et plus généralement leur fonctionnement (Hooper et al., 2005; Loreau, 2000; Rixen and Mulder, 2005; Thébault and Loreau, 2006; Tilman, 2000). De nombreuses études ont été menées sur la biodiversité végétale et leur effet sur le fonctionnement de l'écosystème (Callaway et al., 2002; Diaz and Cabido, 2001; Hooper and Vitousek, 1997; Petchey and Gaston, 2006) alors que la biodiversité des sols reste étonnamment peu connue (Ettema and Wardle, 2002). Actuellement, l'intérêt porté à la diversité biologique des sols est largement du à la reconnaissance du rôle majeur des organismes dans les processus clés de l'écosystème (biens et services) (Balvanera et al., 2006; Lavelle et al., 2006; Wardle et al., 2004) et aux interactions (feedbacks) avec les organismes du compartiment aérien (e.g. Bardgett et al., 2005; De Deyn and Van der Putten, 2005; Wolters et al., 2000). Cependant, les mécanismes qui gouvernent les réponses de ces écosystèmes restent à préciser.

Dans ce contexte, l'objectif de la présente recherche est d'étudier l'impact de la répétition de feux dans le Massif des Maures (Var, France) sur les communautés lombriciennes. L'abondance de déjections de vers de terre (turricules), au sein des peuplements de Chêne liège et de Pin d'Alep plus ou moins dégradés, permet de supposer une influence importante de ces organismes dans les processus du sol de ces écosystèmes forestiers méditerranéens. Les questions associées à ce travail sont les suivantes :

a) La diversité lombricienne est-elle sensible à la fréquence des feux ?
b) Quel groupe fonctionnel (endogé, anécique, épigé) est le plus touché par le feu ?
c) Quel rôle jouent les structures biogéniques (turricules) des vers de terre dans ces écosystèmes perturbés ?
d) Peut-on définir une fréquence de feu au delà de laquelle la stabilité de l'écosystème est menacée ?

**Synthèse schématique de la problématique de l'étude présentée**



## 2. Présentation du milieu et du modèle étudiés

### 2.1. Le site d'étude: le Massif des Maures

Le massif des Maures est une petite chaîne de montagne du sud de la France, située dans le département du Var, entre Hyères et Fréjus, s'étendant sur environs 135000 hectares. Il s'ordonne selon trois principales lignes de crête, orientées Ouest/Sud Ouest -Est/Nord Est, et dont le point culminant est le sommet de la Sauvette (780 m).

Unité cristalline au sein d'une Provence essentiellement calcaire, le massif se divise en 2 zones principales : la zone littorale, et la zone intérieure, plus vaste. Cette dernière reste, malgré les incendies catastrophiques des dernières décennies, une zone forestière dont l'arbre emblématique est le Chêne liège (Q*uercus suber*). Le Chêne vert (*Quercus ilex*) et le Chêne pubescent (*Quercus pubescens*) se mêlent à cette espèce, et on compte aussi (souvent à proximité des crêtes) des pinèdes (pin d'Alep et pin maritime), plus vulnérables à l'incendie qui y laisse durablement ses stigmates.

**Subéraie dégradée du Massif des Maures**

### 2.2. Le dispositif expérimental

L'écosystème forestier du Massif des Maures a subit depuis 50 ans plusieurs feux conduisant à une mosaïque paysagère constituée de zones plus ou moins impactées par les incendies de forêt. Cet écosystème est aujourd'hui bien connu du fait d'un suivi régulier durant les 15 dernières années, permettant au Cemagref d'Aix en Provence (coordinateur du programme IRISE) de définir différentes zones homogènes constituant le dispositif expérimental. Ainsi, le dispositif de terrain (Fig.1), dans lequel s'inscrit la présente étude, est constitué de 25 placettes au sein du Massif des Maures considérant **5 modalités d'incendies** :

- Milieu témoin (T) : pas de feux depuis 1950
- Milieu ayant subi peu de feux anciens (P-A) : 1 à 2 feux dont le dernier en 1990
- Milieu ayant subi peu de feux récents (P-R) : 2 feux dont le dernier en 2003
- Milieu avec de nombreux feux anciens (N-A) : 3 feux dont le dernier en 1990
- Milieu avec de nombreux feux récents (N-R) : 3 à 4 feux dont le dernier en 2003

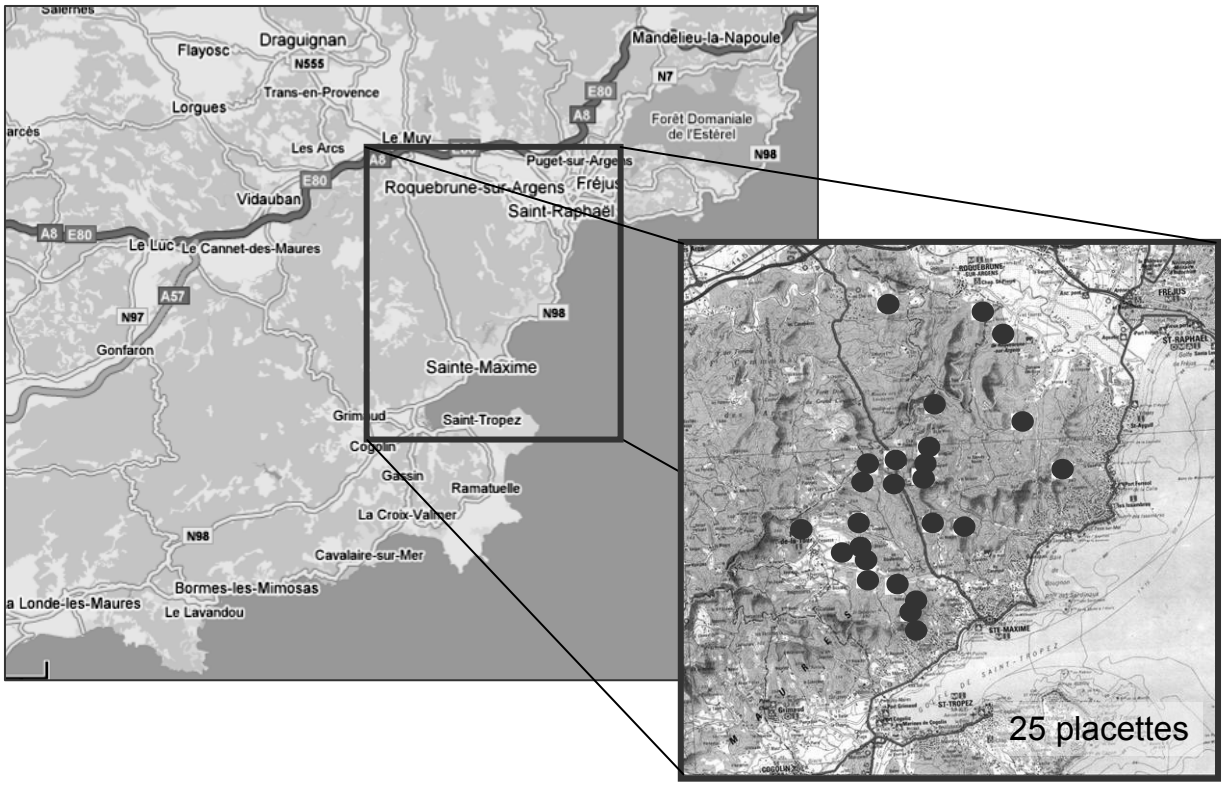



**Figure 1**. Localisation des 25 placettes du dispositif expérimental IRISE

Ce dispositif expérimental, permet d'étudier l'impact de la répétition des feux à plus ou moins court terme (3 ans après les incendies de 2003) et à moyen terme (plus de 16 ans après les feux). Cinq placettes (5 répétitions) ont été sélectionnées pour chaque modalité de feux et qui peuvent être décrites de la façon suivante :

1. **Placettes Témoin (pas de feux en 50 ans)**: la canopée du peuplement forestier est dominée par des chênes lièges accompagnés en strate supérieure ou inférieure de chênes verts et chênes pubescents, ainsi qu'en sous-bois de l'arbousier, de la bruyère arborescente et diverses espèces de forêts évoluées (fougères, fragon abondant, ronces, lierre). Le travail du sol par des sangliers entraîne toutefois au niveau de certaines placettes un sous-bois très pauvre et un sol nu.

2. **Placettes 1 - 2 feux dont le dernier en 1990**: peuplement de chênes lièges dense ou clairsemé avec des chênes pubescents et verts, des arbousiers et bruyères arborescentes repoussant de souche (3-6m) au sein d'un maquis où subsistent, quand le peuplement est clair, le calycotome, les cistes blancs et de Montpellier avec cependant de faibles recouvrements.

3. **Placettes 3 - 4 feux dont le dernier en 1990**: même type de peuplement que précédemment, mais dans le sous-bois le calycotome et les cistes blancs et cistes de Montpellier sont parfois encore très présents quand le peuplement de chêne-liège est clair.

4. **Placettes 3 - 4 feux dont le dernier en 2003**: peuplement de chêne-liège avec quelques chênes verts et pubescents en rejets jeunes. Le milieu ouvert par les feux est envahit par le calycotome et 3 cistes : ciste blanc, ciste de Montpellier et ciste à feuille de sauge. Bruyère arborescente et arbousiers rejettent aussi de souche.

### 2.3. Les communautés lombriciennes

#### *2.3.1. Les catégories écologiques*

Les vers de terre, occupant une large étendue de milieux compris entre la litière et les compartiments profonds du sol, doivent faire face à trois contraintes majeures, incluant le besoin de :

1) Vivre dans des conditions de ressources parfois pauvres ;
2) Survivre occasionnellement à des conditions microclimatiques défavorables ;
3) Etre capable de se déplacer dans un environnement parfois compact.

Au cours des temps, les espèces se sont ainsi adaptées à ces contraintes en développant des particularités morphologiques, dans leur comportement et nourriture, et leur localisation dans le sol (Bouché, 1972; Lavelle, 1983). Une grande variété de stratégies adaptatives se sont développées et qui sont regroupées dans 3 grandes catégories écologiques basées sur la stratégie d'exploitation des ressources par les vers de terre au sein d'un volume de sol (Tab.1 et Fig.2) :

(i) les **épigés** vivent et se nourrissent exclusivement dans la litière à la surface du sol, où ils sont sujets à la sécheresse, à des températures extrêmes et à une forte prédation. Les épigés compensent une forte mortalité en se nourrissant d'une alimentation riche (feuilles de la litière et matière organique de l'horizon superficiel du sol) ce qui leur permet une croissance rapide et une forte fécondité. Ils sont typiquement des espèces de stratégie r;

(ii) les **anéciques** se nourrissent de la litière de surface qu'ils mélangent au sol en les enfouissant dans leurs galeries plus ou moins verticales où ils passent la majorité de leur temps. Ce sont des stratèges K avec une vie longue, une croissance relativement lente et un faible taux de mortalité ;

(iii) les **endogés** se nourrissent exclusivement de l'humus du sol qu'ils ingèrent sur leur passage, sans jamais remonter à la surface. Leurs nourritures, telles que les racines en décomposition et la matière organique du sol, sont généralement moins riches que les feuilles de la litière et sont concentrées dans les premiers 10cm du sol et autour des systèmes racinaires des plantes. Les endogés ont développé différentes façons d'exploiter ces ressources (Lavelle and Spain, 2001) :

- les endogés polyhumiques exploitent les sources de matière organique en étant par exemple de petite taille et en ingérant de façon sélective les particules de matière organique, principalement dans la rhizosphère, ou en se nourrissant au niveau de l'interface litière-sol ;
- les endogés mésohumiques sont de taille moyenne et ingèrent le sol compris entre 10-15cm sans sélection particulière de matière organique ;
- les endogés oligohumiques sont larges, se déplacent lentement et vivent au niveau des horizons profonds du sol dans un environnement stable et pauvre en matière organique.

Les espèces endogées passent d'une stratégie de type r à une stratégie de type K plus ils vivent en profondeur dans le sol ou qu'ils atteignent de grandes tailles.

**Tableau 1**. Catégories écologiques, habitat, nourriture et caractéristiques morphologiques des vers de terre (d'après Coleman et al., 2004)

| *Catégorie* | *Sous-catégorie* | *Habitat* | *Nourriture* | *Taille et pigmentation* |
|---|---|---|---|---|
| **Epigé** | Epigé | Litière | Feuilles, microorganismes | <10cm, fortement pigmenté |
| **Endogé** | Polyhumique | Près de surface du sol et cavités racinaires | Sol fortement organique | <15cm, filiforme et non pigmenté |
| | Mésohumique | Sol entre 0 et 20cm | Sol de 0 à 10cm | 10-20cm, non pigmenté |
| | Oligohumique | Sol entre 15 et 80cm | Sol de 20 à 40cm | >20cm, non pigmenté |
| **Anécique** | Anécique | Vit dans les cavités du sol qu'il crée | Litière et sol | >15cm, pigmentation antéro-dorsale |

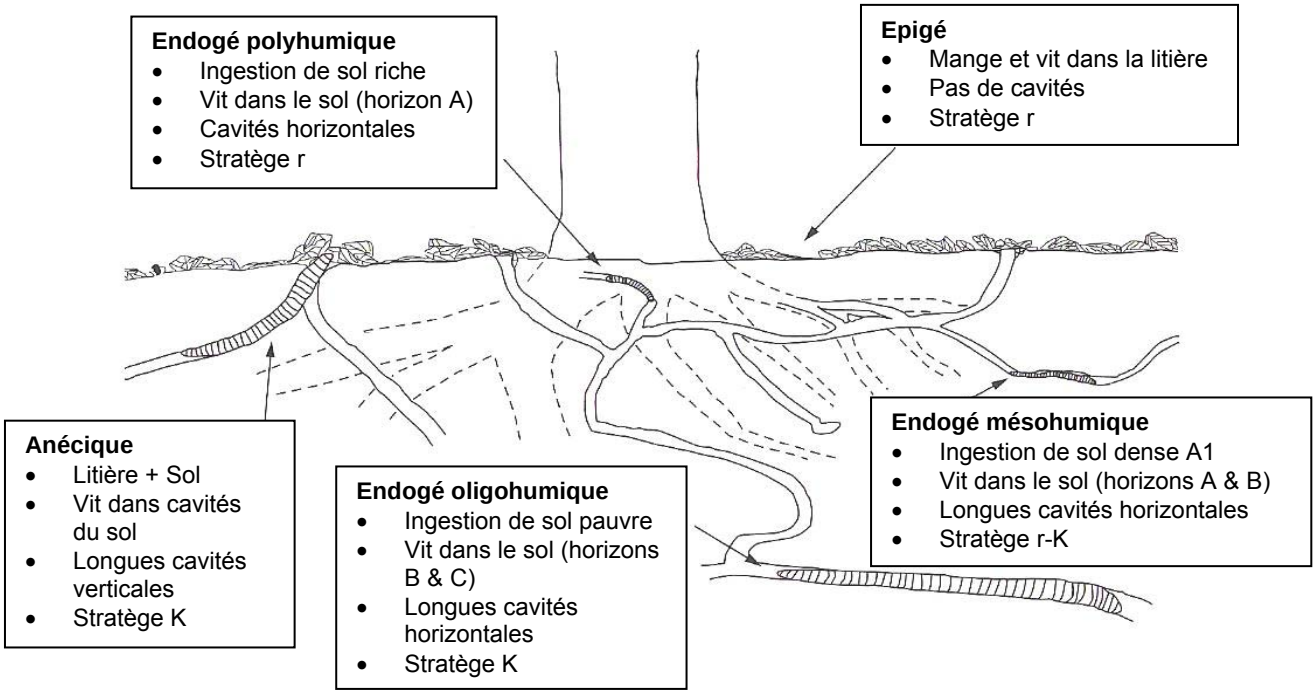



**Figure 2**. Catégories écologiques des vers de terre
(d'après Coleman et al, 2004 et Lavelle & Spain, 2001)

Du fait de cette variété d'adaptations, les vers de terre ont une grande diversité de fonctions dans le sol. Les épigés sont efficaces dans la fabrication de compost mais n'ont aucun impact sur la structure du sol. Les anéciques fabriquent d'importantes galeries semi-permanentes, déposent des déjections à la surface du sol et transportent une importante quantité de litière dans le sol. Enfin, les endogés sont les principaux agents de l'agrégation

du sol (surtout dans les sols tropicaux où ils prédominent) et de la stabilisation de la matière organique ; ils peuvent également déposer de grandes quantités de déjections à la surface en réponse à la compaction du sol.

### *2.3.2. Les structures biogéniques*

Les vers de terre, en tant qu'ingénieur de l'écosystème, influencent donc fortement la structure des sols par leur activité fouisseuse, leur ingestion de sol ou encore la fabrication de structures biogéniques (déjections dans le sol, ou déjections à la surface du sol [turricules]) (Curry and Schmidt, 2007; Lavelle and Spain, 2001; Scullion and Malik, 2000).

Les structures biogéniques sont produites après que les vers de terre aient ingéré du sol minéral et des particules organiques, ainsi mélangés et enrichis avec des sécrétions organiques dans leur tube digestif. Les vers de terre rejettent alors le matériel au sein du sol ou à la surface du sol suivant les espèces. Pendant leur formation dans le tube digestif, ces structures sont colonisées par des microorganismes qui commencent à casser les liaisons de la matière organique. Une fois dans le sol, la colonisation et l'activité microbienne continue jusqu'à ce que le matériel décomposable soit réduit.

Les structures biogéniques peuvent se stabiliser sous forme d'agrégats constitués de matière organique liée par des polymères sécrétés par les vers de terre et les microorganismes et stabilisée par des fibres végétales et des mycéliums de champignons ainsi que les cycles d'humidité et de sécheresse et l'effet de durcissement avec le temps.

**Turricule de vers de terre du Massif des Maures englobant les feuilles de litière de chêne.**

Les déjections de vers de terre sont habituellement enrichis en nutriments disponibles pour les plantes et ainsi peuvent augmenter la fertilité du sol ; la présence dans les déjections de substances favorables à la croissance des plantes a aussi été soulignée.

## 3. Etude de l'impact des feux sur les communautés lombriciennes

L'abondance des vers de terre et l'importance relative des différentes catégories écologiques sont fortement influencées par les conditions climatiques, température et humidité (pluie, humidité du sol). Les vers de terre sont ainsi plus abondants en forêts et prairies des régions tempérées et tropicales, et moins abondants dans des environnements arides ou froids (désert, tundra, régions polaires). Toutefois, même dans des conditions défavorables, les vers de terre peuvent être localisés au niveau de microsites aux conditions plus favorables. Pendant les périodes de stress, beaucoup d'espèces également entrent en phase de repos (diapause) ou s'enkystent en produisant un cocon résistant qui éclot lorsque les conditions s'améliorent (Edwars and Bohlen, 1996).

Dans ce contexte et face aux conditions inhérentes au climat méditerranéen, le choix de la période d'échantillonnage s'est naturellement porté sur les périodes les plus favorables à savoir au printemps et à l'automne, après si possible une période de pluie.

Cependant malgré ces précautions, les conditions de sécheresse présentent dans le Massif des Maures sur toute la période de l'étude (Fig.3) ont posé problème pour notre évaluation biologique du Massif et expliquent en partie les résultats présentés ci-après.

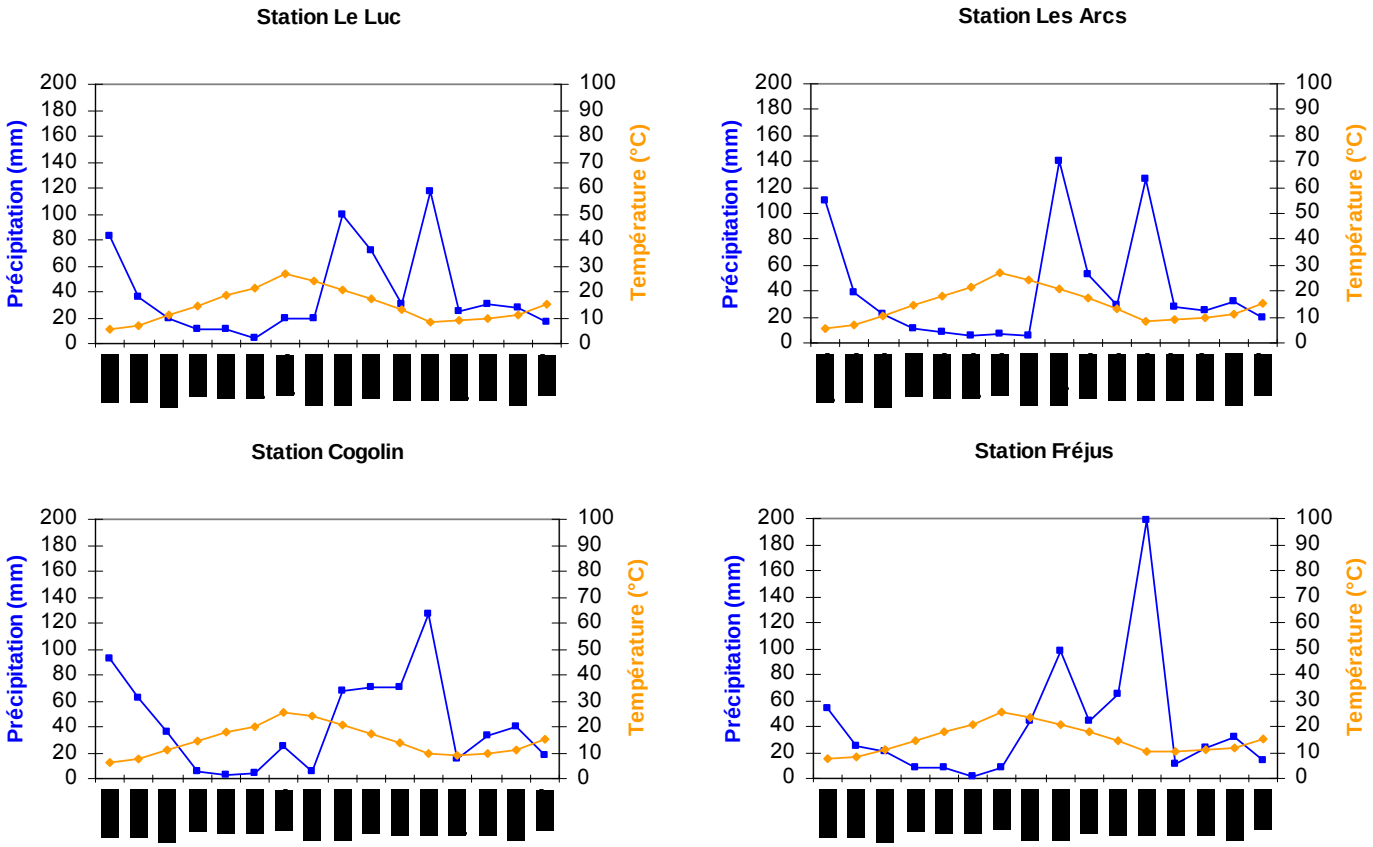



**Figure 3**. Diagrammes ombrothermiques de 4 stations météorologiques proche du site d'étude.

Données Météo France concernant la période de janvier 2006 à avril 2007

2T > P : conditions sèches ; 2T < P : conditions humides

Alors qu'une importante quantité de turricules mesurée début mars 2006 présageait d'une forte activité des vers de terre sur les sites, la campagne de terrain programmée en avril 2006 (19/04/2006) a été annulée du fait de l'absence des vers de terre au niveau des placettes échantillonnées, mais la récolte des turricules s'est effectuée normalement avec l'ensemble des prélèvements de sol en mai 2006. Les conditions de sécheresse, visibles sur les diagrammes ombrothermiques, dès le mois d'avril nous ont conduit à repousser nos prélèvements à l'automne (novembre 2006) et programmer une seconde campagne au printemps (mois de mars) 2007. Une dernière campagne était prévue en avril-mai 2008, mais a aussi été infructueuse pour la récolte de vers en raison de la sécheresse persistante jusque mi-avril 2008. Par contre, de courtes périodes d'activité des vers à des date indéterminées fin 2007 et début 2008 ont permis en mai 2008 le comptage des turricules récents.

### 3.1. Matériel et méthodes

#### *3.1.1. Le protocole expérimental*

Une partie des 25 placettes du dispositif expérimental du programme IRISE ont été échantillonnées pour l'extraction des vers de terre. Dans chaque placette les vers de terre ont été extraits au niveau de 6 points d'échantillonnage (Fig.4), à proximité des prélèvements de sol effectués en avril 2006 pour des analyses physico-chimiques et microbiennes réalisées par les autres équipes intervenant dans le programme.

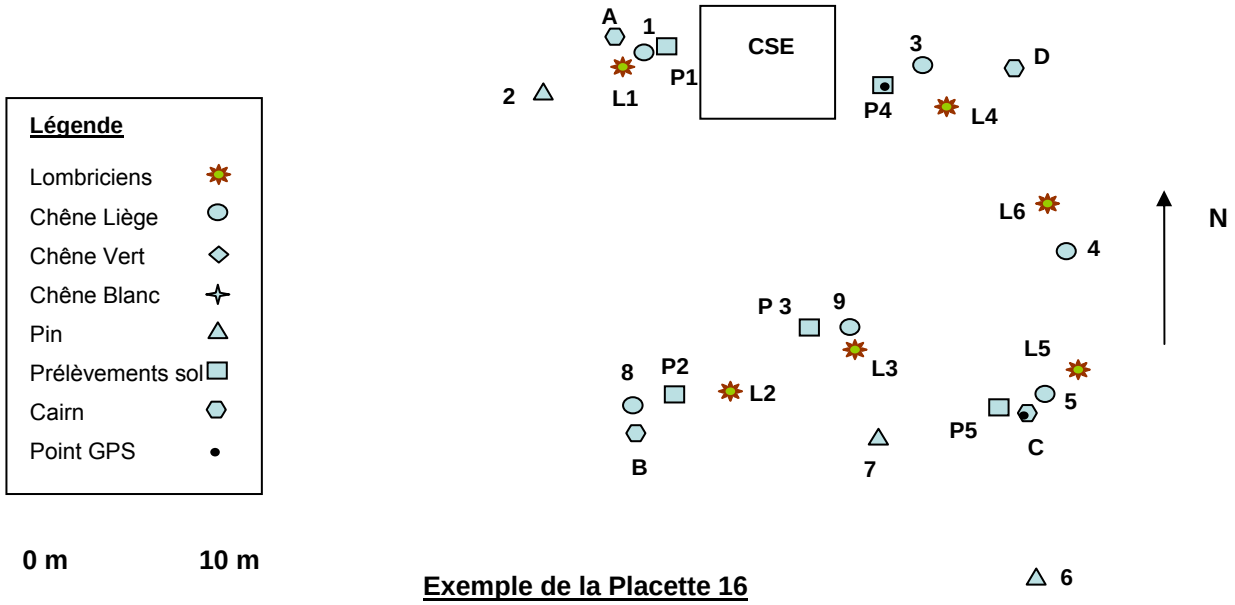



**Figure 4**. Exemple de plan d'une placette de la modalité P-A où sont indiqués les points de prélèvements des vers de terre à proximité des prélèvements de sol

En novembre 2006, 10 placettes avec 2 réplicats par modalité ont été échantillonnées ce qui correspond à 60 échantillons (5 modalités x 2 réplicats x 6 sous-échantillons) et 15 placettes soit 3 réplicats par modalité en mars 2007 soit 90 échantillons (5 modalités x 3 réplicats x 6 sous-échantillons) (Tab.2).

**Tableau 2**. Liste des placettes (indiquées par leur numéro) associées aux modalités de feux. Les placettes échantillonnées par l'équipe EMGR pour l'étude des vers de terre lors des campagnes de terrain de novembre 2006 et de mars 2007sont indiquées par le jeu de couleur et correspondent à un nombre de feux croissant :

- Témoin (T)
- 1 feu (P-A)
- 2 feux (P-R)
- 3 feux (N-A)
- 4 feux (N-R)

| Modalité | date des feux | novembre 2006 | mars 2007 |
|---|---|---|---|
| Témoin | non brûlé depuis 1950 | 27 | 27 |
| Témoin | non brûlé depuis 1950 | 26 | 26 |
| Témoin | non brûlé depuis 1950 | 23 | 23 |
| Témoin | non brûlé depuis 1950 | 22 | 22 |
| Témoin | non brûlé depuis 1950 | 21 | 21 |
| Peu - Ancien | 82 | 24 | 24 |
| Peu - Ancien | 90 | 20 | 20 |
| Peu - Ancien | 90 / 64 | 18 | 18 |
| Peu - Ancien | 90 / 62 | 17 | 17 |
| Peu - Ancien | 90 | 16 | 16 |
| Peu - Récent | 2003 / 62 | 15 | 15 |
| Peu - Récent | 2003 / 70 | 14 | 14 |
| Peu - Récent | 2003 / 81 | 13 | 13 |
| Peu - Récent | 2003 / 81 | 12 | 12 |
| Peu - Récent | 2003 / 64 | 11 | 11 |
| Nombreux - Ancien | 90 / 78 / 62 | 10 | 10 |
| Nombreux - Ancien | 90 / 78 / 62 | 9 | 9 |
| Nombreux - Ancien | 90 / 85 / 70 | 8 | 8 |
| Nombreux - Ancien | 90 / 85 / 70 | 7 | 7 |
| Nombreux - Ancien | 90 / 85 / 70 | 6 | 6 |
| Nombreux - Récent | 2003 / 90 / 70 | 5 | 5 |
| Nombreux - Récent | 2003 / 90 / 64 | 4 | 4 |
| Nombreux - Récent | 2003 / 90 / 70 / 64 | 3 | 3 |
| Nombreux - Récent | 2003 / 90 / 70 / 64 | 2 | 2 |
| Nombreux - Récent | 2003 / 90 / 70 / 64 | 1 | 1 |

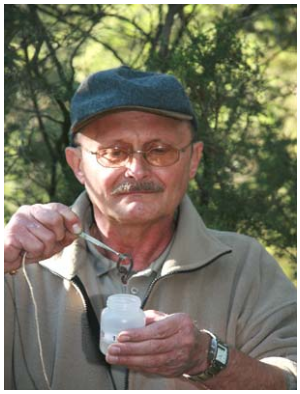
### *3.1.2. Echantillonnage des vers de terre*

L'échantillonnage des vers de terre est effectué par une extraction chimique à l'isothiocyanate d'allyle (Fig.5). L'utilisation de la solution d'isothiocyanate d'allyle (AITC, extrait de moutarde) a été préférée à une solution de formol car présentant moins d'effets toxiques sur la végétation et de nombreux organismes du sol (Wironen and Moore, 2006; Zaborski, 2003). La solution est préparée à partir de 5g d'AITC (94%) dans 1L d'éthanol (95%) et diluée à 100mg/L à l'aide d'un arrosoir. Deux arrosages de 10L de la solution, espacés de 10min, sont appliqués soigneusement et de manière homogène dans un cadre de 50cm x 100cm, dont la surface a été débroussaillée et légèrement nettoyée. La solution d'AITC irrite l'épiderme des vers de terre qui apparaissent à la surface de la zone

d'échantillonnage où ils sont recueillis à l'aide de pinces et fixés dans une solution de formol à 5%. L'extraction est achevée par un grattage systématique de la zone avec un petit râteau de jardinage sur les 25 premiers centimètres du sol. Les déterminations systématiques sont réalisées au laboratoire et la biomasse est mesurée.

Cadre de 50cm x100cm

2 arrosages de 10L à 10' d'intervalle



Fixation dans une solution de formol

| Nombre de placette | Quantité d'eau nécessaire | Quantité de solution AITC |
|---|---|---|
| 1 placette | 20x6= 120L | 400x6=2400cc |
| 15 placettes | 120x15= 1800L | 2400x15= 36000cc ou 36L |

**Figure 5**. Méthode d'extraction des vers de terre

### *3.1.3. Echantillonnage des turricules*

Les turricules récents, reconnaissables à leur structure agrégée non érodée et au fait qu'ils recouvrent ou englobent de la litière fraiche, sont comptés sur 25 quadrats de 1 m² par placette, suivant une grille systématique de 5x5m. Les comptages ont été effectués en 2008 sur les 32 placettes du dispositif final. Le labour du sol par les sangliers en fin d'hiver et au printemps rend le comptage parfois difficile. Lorsqu'un quadrat tombe dans une zone trop labourée, il est déplacé mètre par mètre dans le sens de l'avancement jusqu'à la première zone non retournée. Quelques placettes n'ont pu être comptées du fait d'un labour généralisé.

### *3.1.4. Analyses statistiques*

Ne correspondant pas au même nombre de placettes, les données de novembre 2006 et de mars 2007 ont été traitées séparément. De plus, malgré un nombre importants, 20% des 60 échantillons en novembre et plus de 50% des 90 en mars ne présentent aucun individu récolté. Ainsi, les résultats d'abondance et de biomasse des vers de terre sont présentés uniquement en fonction de leur moyenne, la variation des données étant calculée par l'erreur standard ou écart à la moyenne. La dominance (abondance relative = proportion d'individus

d'une espèce par rapport au nombre total de toutes les espèces) des vers de terre a été calculée pour les différentes modalités de feux.

L'indice de diversité de Shannon-Wiener (H'), dépendant du nombre d'espèces présentes dans l'échantillon, et l'indice d'équitabilité (J'), représentant le rapport de la diversité spécifique observée à la diversité maximale théorique, ont été calculés pour chaque modalité à partir des formules suivantes :

$$H' = -\sum_{i=1}^{s} p_i . \log_2 p_i$$

(s=nombre total d'espèces et pi=proportion des individus de l'espèce i dans la communauté)

$$J' = \frac{H'}{H'_{\max}} = \frac{H'}{\log_2 s}$$ (H' = diversité observé et H'max = diversité maximale théorique)

L'impact de la répétition des feux sur la diversité lombricienne (abondance et biomasse) est analysé par des régressions linéaires basées sur la moyenne des 6 prélèvements de chaque placette.

Ces différentes analyses ont été réalisées dans Excel et XLSTAT2007.

Pour les turricules, sont analysés et comparés entre modalités d'une part le nombre de turricules frais par m² et sa variabilité, mais également la répartition spatiale à travers le pourcentage de quadrats sans turricule. La taille des agrégats constituant les turricules, indicateurs de la taille des vers qui les ont formés, est également notée.

## 3.2. Résultats

### *3.2.1. Structure de la communauté*

Un total de 3 espèces (avec leurs formes juvéniles) en novembre 2006 et de 5 espèces (avec les formes juvéniles) en mars 2007, appartenant toutes à la famille des Lumbricidae, ont été déterminées avec une biomasse totale de 477g et 130g respectivement. Les tableaux 3 et 4 résument les données, d'abondance et de biomasse, obtenues pour les différents stades de développement des espèces récoltées lors des 2 campagnes de terrain.

Deux espèces dominent dans ces milieux, *Nicodrilus nocturnus* Evan 1946 (anécique) et *Allolobophora chlorotica chlorotica* Savigny 1826 (endogée). Les espèces restantes, *Lumbricus centralis* Bouché 1972 (anécique), *Allolobophora bartolii bartolii* Bouché 1970 et *Octolasium cyaneum* Savigny 1826 (endogées), n'ont été trouvées que dans une ou deux placettes des modalités témoin et 1 feu en 1990 (Fig. 6).

**Tableau 3**. Synthèse statistique (Moyenne et Ecart à la moyenne [S.E.]) de l'abondance des vers de terre (ind/m²) pendant la campagne de novembre (60 échantillons) et la campagne de mars (90 échantillons)

| Espèces | Catégorie écologique | Stade | Novembre 2006 | | Mars 2007 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Moyenne | S.E. | Moyenne | S.E. |
| *Nicodrilus nocturnus* | *anécique* | adultes | 1,63 | 1,37 | 0,14 | 0,24 |
| *Nicodrilus* sp. | | juvéniles | 1,55 | 1,83 | 0,74 | 1,03 |
| *Lumbricus centralis* | *anécique* | adultes | 0,02 | 0,03 | 0,13 | 0,25 |
| *Lumbricus* sp. | | juvéniles | 0,18 | 0,34 | 0,16 | 0,28 |
| *Allolobophora chlorotica chlorotica* | *endogé* | adultes | 1,00 | 1,13 | 0,18 | 0,30 |
| *Allolobophora bartolii bartolii* | *endogé* | adultes | 0 | 0 | 0,16 | 0,30 |
| *Allolobophora* sp. | | juvéniles | 0,25 | 0,43 | 0,21 | 0,37 |
| *Octolasium cyaneum* | *endogé* | adultes | 0 | 0 | 0,01 | 0,02 |
| *Octolasium* sp. | | juvéniles | 0 | 0 | 0,03 | 0,07 |

**Tableau 4**. Synthèse statistique (Moyenne et Ecart à la moyenne [S.E.]) de la biomasse des vers de terre (g/m²) pendant la campagne de novembre (60 échantillons) et la campagne de mars (90 échantillons)

| Espèces | Catégorie écologique | Stade | Novembre 2006 | | Mars 2007 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Moyenne | S.E. | Moyenne | S.E. |
| *Nicodrilus nocturnus* | *anécique* | adultes | 5,79 | 4,99 | 0,40 | 0,72 |
| *Nicodrilus* sp. | | juvéniles | 1,33 | 1,62 | 0,50 | 0,72 |
| *Lumbricus centralis* | *anécique* | adultes | 0,05 | 0,10 | 0,15 | 0,28 |
| *Lumbricus* sp. | | juvéniles | 0,02 | 0,03 | 0,06 | 0,12 |
| *Allolobophora chlorotica chlorotica* | *endogé* | adultes | 0,72 | 0,84 | 0,10 | 0,18 |
| *Allolobophora bartolii bartolii* | *endogé* | adultes | 0 | 0 | 0,11 | 0,22 |
| *Allolobophora* sp. | | juvéniles | 0,06 | 0,11 | 0,04 | 0,08 |
| *Octolasium cyaneum* | *endogé* | adultes | 0 | 0 | 0,02 | 0,03 |
| *Octolasium* sp. | | juvéniles | 0 | 0 | 0,01 | 0,01 |

Seules les 2 catégories écologiques, anécique et endogé, sont présentes ; aucune espèce épigée n'a été récoltée dans les différentes placettes. L'absence de ce groupe fonctionnel dans ces écosystèmes méditerranéens perturbés peut s'expliquer par différents facteurs, tels que les conditions climatiques sèches, l'absence d'accumulation de litière dans de nombreuses placettes ou encore une prédation accrue du fait de l'ouverture des milieux.

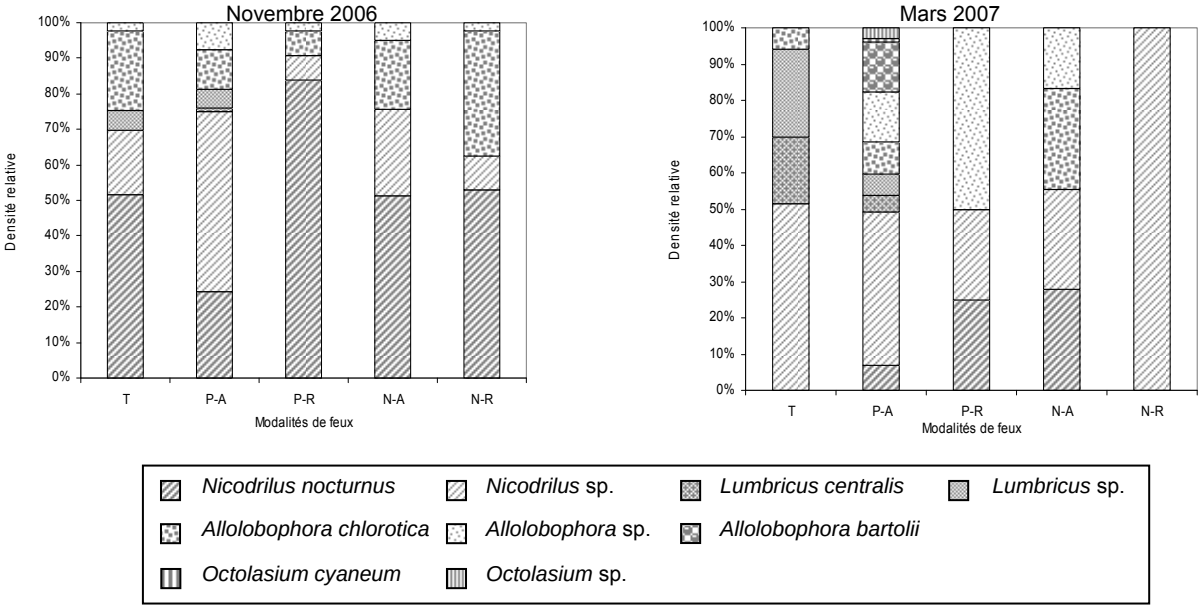



**Figure 6.** *Structure dominante dans les populations de vers de terre (abondance relative) au sein des 5 modalités de feux*

*T : témoin, P-A : 1 feu, P-R : 2 feux, N-A : 3 feux et N-R : 4 feux*

Les données d'abondance et de biomasse de ces communautés sont très faibles quelles que soient les placettes échantillonnées et les modalités de feux (Tab.5). Les prélèvements de novembre 2006 indiquent une présence plus importante d'individus adultes alors que les prélèvements de mars 2007 soulignent une plus grande quantité de juvéniles notamment pour les anéciques. La taille des individus adultes récoltés en mars est souvent plus petite que celle des individus de novembre. Les relevés de mars conduisent ainsi à une biomasse d'autant plus faible que l'abondance des vers de terre y est faible et que les individus sont de petite taille.

**Tableau 5**. Abondance moyenne (S.E) et biomasse moyenne (S.E) des 2 catégories écologiques présentes dans les 5 modalités d'incendie et pour les 2 campagnes de terrain.

| | Novembre 2006 | | | | | Mars 2007 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | T | P-A | P-R | N-A | N-R | T | P-A | P-R | N-A | N-R |
| **Abondance (ind/m²)** | | | | | | | | | | |
| *Catégorie: Anécique* | | | | | | | | | | |
| Total | 4,5 (2,33) | 7,08 (5,0) | 1,75 (1,72) | 2 (2,0) | 1,58 (0,82) | 1,72 (1,93) | 3,39 (1,72) | 0,11 (0,2) | 0,56 (0,74) | 0,11 (0,2) |
| adultes | 2,66 (1,28) | 1,67 (1,0) | 1,5 (2,17) | 1,17 (1,22) | 1,25 (0,79) | 0,33 (0,59) | 0,72 (0,72) | 0,06 (0,10) | 0,28 (0,43) | 0,00 |
| juvéniles | 1,83 (1,78) | 5,42 (4,06) | 0,25 (0,38) | 0,83 (1,11) | 0,33 (0,44) | 1,39 (1,45) | 2,67 (1,56) | 0,06 (0,10) | 0,28 (0,46) | 0,11 (0,20) |
| *Catégorie: Endogé* | | | | | | | | | | |
| Total | 1,92 (1,89) | 1,83 (2,21) | 0,33 (0,37) | 0,83 (0,97) | 1,33 (1,06) | 0,11 (0,2) | 2,28 (2,09) | 0,11 (0,2) | 0,44 (0,5) | 0,00 |
| adultes | 1,75 (1,83) | 1,08 (1,31) | 0,25 (0,38) | 0,67 (0,89) | 1,25 (1,13) | 0,11 (0,20) | 1,33 (1,44) | 0,00 | 0,28 (0,40) | 0,00 |
| juvéniles | 0,17 (0,28) | 0,75 (1,13) | 0,08 (0,15) | 0,17 (0,31) | 0,08 (0,15) | 0,00 | 0,94 (0,84) | 0,11 (0,20) | 0,17 (0,30) | 0,00 |

| | Novembre 2006 | | | | | Mars 2007 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | T | P-A | P-R | N-A | N-R | T | P-A | P-R | N-A | N-R |
| **Biomasse (g/m²)** | | | | | | | | | | |
| *Catégorie: Anécique* | | | | | | | | | | |
| Total | 13,48 (5,61) | 8,71 (4,43) | 4,46 (6,73) | 4,69 (4,64) | 4,62 (3,03) | 1,16 (1,40) | 3,18 (1,93) | 0,22 (0,39) | 1,11 (1,68) | 0,03 (0,06) |
| adultes | 11,72 (5,74) | 5,05 (2,95) | 4,32 (6,52) | 3,74 (3,77) | 4,38 (3,23) | 0,38 (0,68) | 1,4 (1,54) | 0,20 (0,38) | 0,91 (1,42) | 0,00 |
| juvéniles | 1,76 (1,51) | 3,66 (2,33) | 0,15 (0,23) | 0,95 (1,34) | 0,24 (0,36) | 0,78 (0,82) | 1,78 (1,05) | 0,02 (0,04) | 0,19 (0,33) | 0,03 (0,06) |
| *Catégorie: Endogé* | | | | | | | | | | |
| Total | 1,41 (1,48) | 0,8 (0,85) | 0,22 (0,33) | 0,46 (0,54) | 1,04 (0,85) | 0,1 (0,17) | 1,11 (1,02) | 0,02 (0,03) | 0,2 (0,26) | 0,00 |
| adultes | 1,32 (1,39) | 0,68 (0,80) | 0,17 (0,25) | 0,42 (0,55) | 1,03 (0,86) | 0,1 (0,17) | 0,91 (0,97) | 0,00 | 0,16 (0,23) | 0,00 |
| juvéniles | 0,09 (0,15) | 0,12 (0,18) | 0,05 (0,10) | 0,05 (0,09) | 0,01 (0,01) | 0,00 | 0,2 (0,19) | 0,02 (0,03) | 0,03 (0,06) | 0,00 |

### *3.2.2. Impact du nombre de feux sur la communauté*

Les analyses de régression montrent un impact négatif de l'augmentation du nombre de feux sur la diversité des anéciques (Fig.7). La réponse de ce groupe fonctionnel varie toutefois en fonction de la période d'échantillonnage. On observe une diminution significative du nombre de vers de terre dans les prélèvements de mars 2007 ($p<0,05$) alors qu'elle n'est que marginalement significative dans les prélèvements de novembre 2006 ($p<0,1$). Les données de biomasse quant à elles montrent une diminution significative uniquement pour les prélèvements de novembre ($p<0,05$). Notons que cette biomasse est essentiellement produite par l'espèce *Nicodrilus nocturnus* (cf. Fig.6), présente dans toutes les placettes échantillonnées avec des spécimens de belle taille pouvant atteindre un poids de 6g.

Le groupe des endogés ne montre pas de réponse au feu, en terme d'abondance ou de biomasse et ce quelle que soit la période des prélèvements (Fig.7). Encore moins représentés dans les relevés que les anéciques, les vers de terre endogés sont aussi de plus petite taille d'où une biomasse d'autant plus faible. En novembre 2006, seule l'espèce *Allolobophora chlorotica chlorotica* constitue la communauté des endogés qui est complétée en mars 2007 par 2 autres espèces, *Allolobophora bartolii bartolii* et *Octolasium cyaneum* (cf. Fig.6), trouvées chacune dans une seule placette de la modalité P-A (2 feux), la placette 20 et la placette 24 respectivement. Dans la modalité N-R (4 feux), aucune espèce endogée n'a été récoltée pour la période de mars.

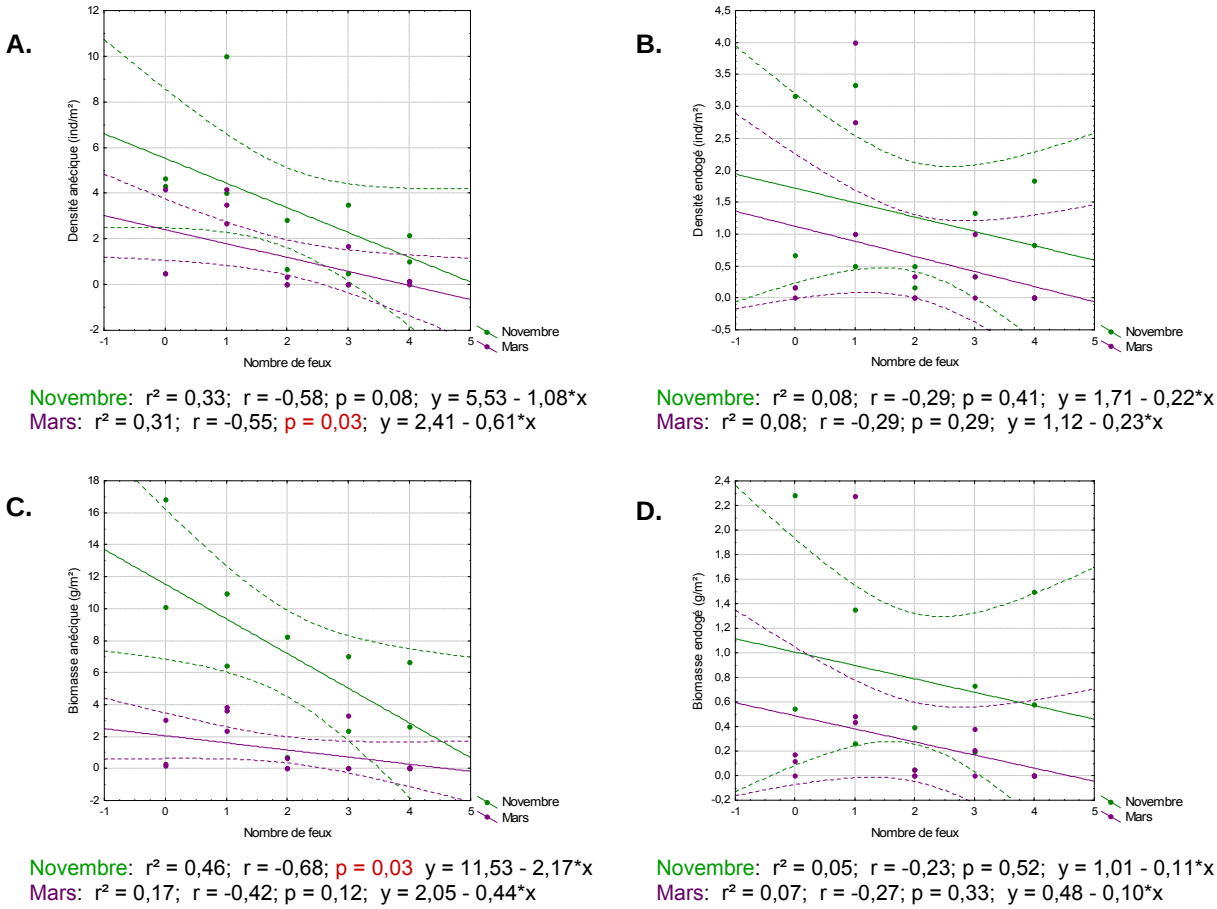



**Figure 7.** Impact du nombre de feux sur l'abondance (A, B) et la biomasse (C, D) des vers de terre anéciques (à gauche) et endogés (à droite)

Les résultats des indices de diversité (Tab.6), qui prennent en compte les espèces, montrent un indice de Shannon nettement plus élevé pour les modalités témoin et P-A (1 feu en 1990) et ce quel que soit le mois des prélèvements. Les valeurs faibles de Shannon pour les modalités P-R, N-A et N-R sont associées à une très faible équitabilité, traduisant une répartition des individus par espèce très inégale souvent attribuée à l'abondance de *Nicodrilus nocturnus*. Il est intéressant de souligner que la modalité P-R (2 feux, dernier en 2003) présente une diversité aussi faible, voire plus faible, que les modalités nombreux feux.

**Tableau 6**. Indices de diversité des vers de terre pour les 5 modalités de feux. L'abondance correspond au nombre total d'individus récoltés dans chaque modalité. La richesse prend en compte séparément les espèces à l'état adulte des espèces juvéniles.

| | Novembre 2006 | | | | Mars 2007 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Abondance | Richesse | Shannon | Equitabilité | Abondance | Richesse | Shannon | Equitabilité |
| T | 77 | 5 | 1,04 | 0,17 | 33 | 4 | 0,82 | 0,16 |
| P-A | 107 | 6 | 1,25 | 0,19 | 102 | 9 | 2,07 | 0,31 |
| P-R | 25 | 4 | 0,43 | 0,09 | 4 | 3 | 0,17 | 0,09 |
| N-A | 34 | 4 | 0,59 | 0,12 | 18 | 4 | 0,58 | 0,14 |
| N-R | 35 | 3 | 0,57 | 0,11 | 2 | 1 | 0,08 | 0,08 |

### *3.2.3. Nombre, taille et répartition spatiale des turricules*

Jusqu'en mars 2006, les turricules frais ont été globalement très abondants (3-15/m²) et de grande taille moyenne (3 à 5 cm, jusqu'à 10 cm de haut) dans l'ensemble des placettes, avec cependant une diminution en nombre dans les placettes les plus récemment et fréquemment brûlées (NR, NA). En mai 2006, toute activité avait cessé à cause de la sécheresse, mais il a été possible d'en récolter un nombre significatif dans 23 des 25 placettes initiales pour les analyses chimiques.

En novembre 2006 et mars 2007, le nombre de turricules n'a pas été compté précisément mais une nette diminution en nombre et en taille a été noté, corrélé à la faible activité des vers et au petit nombre de vers capturés. Durant la sécheresse de 2007, d'avril à septembre, aucune activité des vers n'a été mise en évidence. Une petite activité a repris fin 2007 sans être datée précisément, puis en février 2008, mais de courte durée puisqu'il n'y en avait aucune entre fin mars et fin avril. Enfin une faible activité de quelques semaines maximum a suivi les pluies de fin avril et mai 2008 mais elle avait totalement stoppé fin mai-début juin, avant même la fin de l'épisode pluvieux.

Au printemps 2008, il a été observé aux dimensions des turricules (H = ½ à 3 cm) et à leur grain très fin (agrégats d'ordre millimétrique) que l'immense majorité étaient créée par des vers de très petite taille. Dans quelques placettes de forêts âgées (NA n°13, PA n°20, témoins n°22 et 24) certains turricules conservaient un grain assez gros et pour certains des dimensions proches de la normale (H = 3 à 10 cm). En dehors de quelques forêts 25 ans ou plus après le feu, où subsistent quelques vers adultes, il y a donc exclusivement des juvéniles dans l'activité en 2008.

Le labour systématique du sol par les sangliers (notamment à la recherche des vers) rend les comptages difficiles dans certaines placettes témoins (23-27). Il est probable que les zones les plus riches en turricules sont aussi les plus labourées. Le nombre de turricules dans ces placettes est sans doute sous-estimé, notamment dans la 27 où plus de 70% de la surface avait été retournés. Cette dernière placette n'est pas prise en compte dans les analyses statistiques.

Il a parfois été difficile de repérer les petits turricules dans les litières épaisses des peuplements anciens (T, NA, PA), le fait de fouiller la litière les détruisant : le nombre des turricules dans les placettes témoins et anciennes est donc sans doute sous-estimé alors qu'il est fiable dans les placettes brûlées récemment où la litière est discontinue et mince.

Ces biais probables renforcent les gradients démontrés ci-dessous par les analyses statistiques.

Dans la placette 10, on a observé une activité très peu importante sous le couvert dense du cytise (*Cytisus vilosus*), plus importante dans les zones dominées par les autres espèces (cystes, calycotome, ...). Un effet nocif ou répulsif du cytise sur les vers est possible.

**Résultats pour les turricules**

Pour toutes les modalités, il existe au moins une placette où l'activité des vers est faible à très faible (figures 8 et 10). Sauf pour la modalité NR, qui n'a que des activités très faibles, il existe au moins une placette par modalité où elle est assez importante (figures 8 et 10), ce qui donne des écarts-types assez élevés.

L'activité peut être très différente dans des placettes de même modalité, proches géographiquement et situées dans des conditions écologiques qui semblent similaires (mêmes versant, exposition, pente, sol, structure de végétation). Exemple la 18 (0.72/m²) et la 20 (3.12/m²).

L'histoire différente de ces placettes, la possibilité de refuges dans des zones rocheuses fissurées, la proximité de pare-feux où les vers sont particulièrement nombreux et où ils sont moins impactés par le feu, voire épargnés, sont autant d'explications possibles (la placette 20 est à proximité immédiate d'une piste, et était peut-être traitée en pare-feu avant le dernier grand incendie.

*A - Répartition spatiale des turricules*

**Tableau 6** *: Nombre de quadrats sans turricules (rappel : 25 quadrats/placette)*

| | NTR | NR | NA | PR | PA | T |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Moyenne** | **10.6** | **12.4** | **9.25** | **10.75** | **4.4** | **0.25** |
| **Pourcentage** | **42%** | **50%** | **37%** | **43%** | **18%** | **1%** |

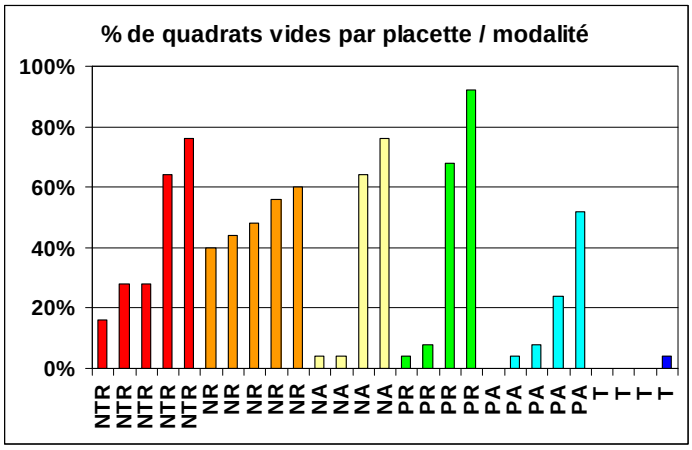



**Figure 8.** *Distribution spatiale des turricules*

Il n'y a quasiment pas de quadrat sans turricules dans les témoins, il y en a très peu dans la majorité des PA et dans la moitié des PR et des NA. Il y en a toujours beaucoup dans les NR et NTR. L'activité des vers est donc à la fois plus intense mais aussi mieux répartie dans l'espace dans les placettes moins impactées par le feu.

**Tableau 7:** *Test de Kruskal-Wallis* Statistique = 11.4269 Proba. = 0.043

| | *Effectif* | *Rang moyen* |
|---|---|---|
| NTR | 5 | 17.8 |
| NR | 5 | 18.4 |
| NA | 4 | 15.5 |
| PR | 4 | 17.125 |
| PA | 5 | 10.4 |
| T | 4 | 3.625 |

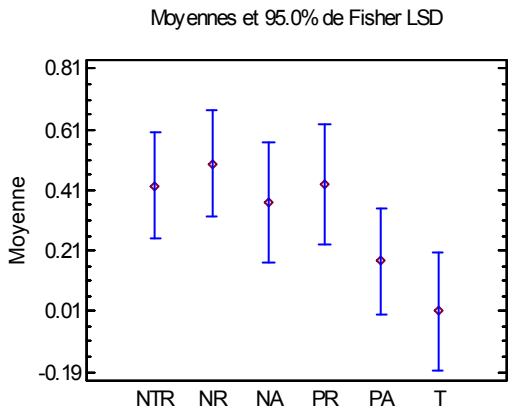
La variabilité est très forte dans les modalités intermédiaires NA et PR, faible dans les modalités extrêmes NR et T.

Des mesures complémentaires seraient nécessaires dans des sites voisins des placettes d'IRISE et similaires.

**Figure 9**: *pourcentage de quadrats vides*

**Tableau 8:** *Tests des étendues multiples*
Méthode: 95.0 % LSD

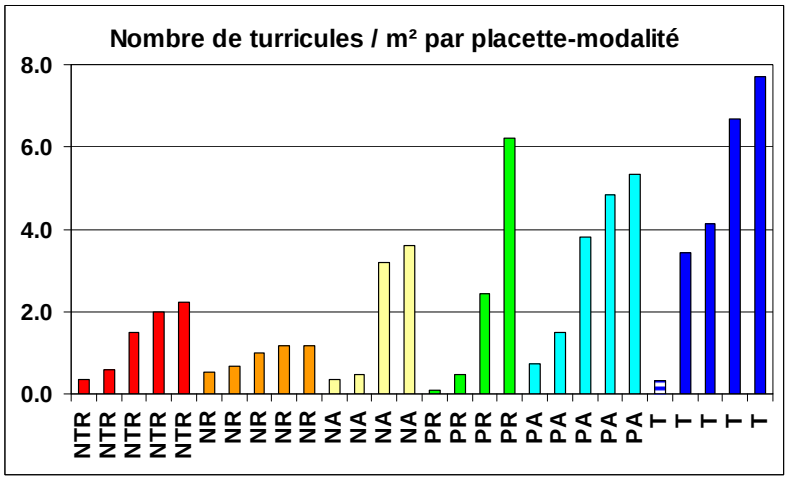
| | *Effectif* | *Moyenne* | *Groupe homogène* |
|---|---|---|---|
| T | 4 | 0.01 | X |
| PA | 5 | 0.176 | X Y |
| NA | 4 | 0.37 | X Y |
| NTR | 5 | 0.424 | Y |
| PR | 4 | 0.43 | Y |
| NR | 5 | 0.496 | Y |




Seules les deux modalités extrêmes, NR et T se distinguent statistiquement. Le groupe NTR/NR/NA/PR est très homogène, PA s'en distingue sans être statistiquement différent, en raison du fort écart-type. Les deux modalités les moins impactées (PA et T) sortent globalement du lot.

*B - Comparaison des nombres moyens de turricules par m² par modalité*

**Figure 10**: *Comparaison des nombres moyens de turricules par m² par modalité*




La placettes 27 (témoin) est montrée pour mémoire mais n'est pas utilisée (labour par sangliers)

**Tabl 9:** *Test de Kruskal-Wallis*
Stat = 10.34 Proba.= 0.06.

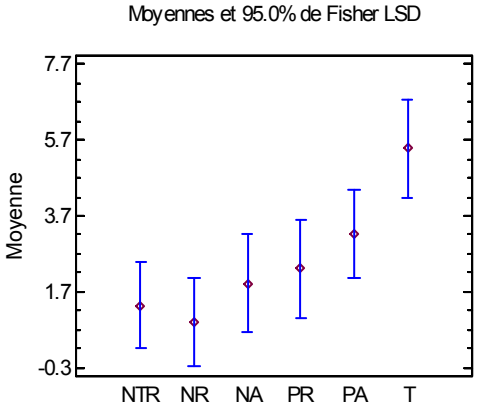
| | *Effectif* | *Rang moyen* |
|---|---|---|
| NTR | 5 | 10.8 |
| NR | 5 | 9.4 |
| NA | 4 | 11.25 |
| PR | 4 | 11.875 |
| PA | 5 | 18.1 |
| T | 4 | 23.5 |

Test en limite d'être significatif.

**Tableau 10**: *Tests des étendues multiples*

| | *Effectif* | *Moyenne* | *Groupe homogène* |
|---|---|---|---|
| NR | 5 | 0.904 | X |
| NTR | 5 | 1.336 | X Y |
| NA | 4 | 1.91 | X Y |
| PR | 4 | 2.3 | X Y |
| PA | 5 | 3.232 | Y Z |
| T | 4 | 5.49 | Z |

**Figure 11**: *Nb moyen de turricules/m²*




T se distinguent de toutes les modalités brûlées sauf PA, T étant largement en tête.
PA se distingue statistiquement de NR et globalement de BR et NTR.
NR et NTR se distinguent surtout par l'absence de valeurs élevées.
La grande variabilité de NA et PR ne leur permettent pas de se distinguer de NR et NTR en raison de 2 valeurs très faibles.
Du fait que NA et PR ne se distinguent pas de NR et NTR par les valeurs de % des quadrats sans turricules, ils s'en distinguent surtout, là où il y en a, par le nombre plus élevé de turricules au m².

*C - Comparaison des nombres de turricules par modalité toutes placettes confondues*

Ce test ne distingue pas les placettes, et ne traite que des modalités. Il ne peut être fait qu'en non-paramétrique du fait de la répartition non-gaussienne des valeurs. Il distingue mieux les différentes modalités (figure 11, tableaux 11 et 12):

- Les témoins se distinguent statistiquement de toutes les autres modalités
- les placettes brûlées récemment et de nombreuses fois (NR-NTR) se distinguent de toutes les placettes peu ou pas brûlées (PR, PA, T).

**Tableau 11**: *nombres de turricules par modalité toutes placettes confondues*
**Test de Kruskal-Wallis**

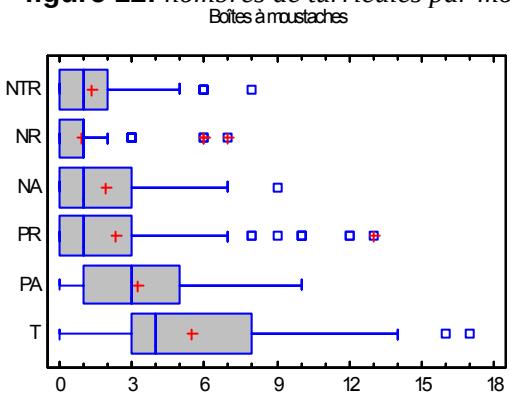
| | *Effectif* | *Rang moyen* |
|---|---|---|
| NTR | 125 | 272.516 |
| NR | 125 | 231.52 |
| NA | 100 | 312.78 |
| PR | 100 | 308.215 |
| PA | 125 | 408.604 |
| T | 100 | 519.705 |

Statistique = 165.94  Proba. = 0.00

**Tableau 12 :** *Contrastes 2 à 2*

| | *Effectif* | *Moyenne* | *Groupes* |
|---|---|---|---|
| NR | 125 | 0.904 | X |
| NTR | 125 | 1.336 | X Y |
| NA | 100 | 1.91 | Y Z |
| PR | 100 | 2.3 | Z |
| PA | 125 | 3.232 | Z |
| T | 100 | 5.46 | T |

**figure 12:** *nombres de turricules par modalité*




*D - En conclusion sur les turricules*

Les turricules, par leur répartition spatiale et leur densité moyenne, permettent de distinguer statistiquement dans tous les cas les témoins non brûlés depuis 50 ans et les placettes brûlées récemment et de nombreuses fois.

Dans l'ensemble des analyses, la modalité NTR se distingue par des valeurs moyennes légèrement supérieures à celles de la modalité NR (bien la différence soit non significative). Deux facteurs peuvent l'expliquer:

- jusqu'en 2007, date du feu, la population de vers des sites NTR était dans des conditions de milieu plus favorables (assimilées à NA) que celle de NR, car la végétation était dense et datait de 1985 (24 ans). Les vers ont donc pu se maintenir à des niveaux plus élevés que dans NR malgré la sécheresse, bénéficiant de l'ancienneté de la végétation et de l'accumulation de matière organique.
- juste après le feu (1 an), on observe dans l'horizon superficiel un niveau transitoire très élevé de matière organique (cf. rapport LCP). Ce pic pourrait être favorable aux vers, les composés correspondant semblant être au moins en partie facilement biodégradables comme en témoigne le pic de respiration bactérienne qui l'accompagne et la diminution rapide (50%) dans les 2 ans qui suivent.

Les placettes brûlées peu et il y a longtemps (PA) se distinguent nettement, par leur moyenne, des modalités brûlées beaucoup bien qu'anciennement (NA) ou récemment (NR, PR, NTR), même si le fort écart-type ne permet pas de conclure statistiquement dans tous les cas.

Dans les modalités intermédiaires (PR, NA, PA), la variabilité est très forte, que ce soit pour la répartition spatiale ou pour le nombre total des turricules. Des comptages supplémentaires par modalité seraient nécessaires pour mieux cerner et comprendre la variabilité.

Le lien avec d'autres paramètres du milieu doit être recherché pour comprendre éventuellement cette variabilité d'activité et de répartition spatiale des vers: composition ou densité de la végétation, histoire des peuplements, richesse en matière organique et qualité de celle-ci ...

### 3.3. Discussion & Conclusion générale

#### *3.3.1. Structure de la communauté*

L'activité des vers de terre (famille des Lumbricidae) s'observe par une très faible abondance (<10 individus/m²) des quelques espèces (≤5 espèces) présentes dans le Massif des Maures. Ces résultats soulignent la particularité des écosystèmes soumis au climat méditerranéen caractérisé par les variations d'humidité et de température du sol des hivers humides et des étés secs. Durant la période de l'étude, les mois les plus humides correspondent aux mois de janvier et février 2006 et aux mois de septembre à décembre 2007, avec des températures moyennes de l'air ne descendant pas au dessous de 8°C (cf. Fig.3). Bien que restant faible, l'activité lombricienne apparaît, dans nos investigations, plus importante en novembre 2006 qu'en mars 2007 avec 2 à 3 fois plus d'individus capturés. Ceci vient confirmer l'hypothèse de Peterson et ses co-auteurs (Peterson et al., 2001) suggérant une courte fenêtre hivernale où l'habitat devient favorable pour l'activité des vers de terre. Les conditions (notamment l'humidité du sol) favorables pendant cette période humide deviennent rapidement limitantes dès que la pluviométrie diminue. Les données obtenues pour mars 2007 viennent renforcer cette hypothèse où la très forte chute des précipitations dès le mois de janvier peut expliquer la très faible activité. L'importance des pluies saisonnières dans la régulation de l'activité des vers de terre est bien documentée (Callaham and Hendrix, 1997; Garnsey, 1994; Reddy and Pasha, 1993; Tondoh, 2006) ; et les courtes périodes d'humidité de quelques mois sous climat méditerranéen reflètent l'importance déterminante de l'humidité du sol, plus que la saison en elle-même, sur l'activité lombricienne (Peterson et al., 2001).

Les abondances (<10 ind/m²) et biomasses (<10 g/m²) obtenues dans nos prélèvements concordent avec les données de la littérature qui soulignent que les valeurs les plus faibles sont notamment associées aux sols arides de forêts sclérophylles (Coleman et al., 2004). Comme souligné ci-dessus, il est largement reconnu que les conditions d'humidité du sol et de température sont un facteur limitant de l'activité et de la distribution des vers de terre. Les travaux de Lavelle en savane africaine (Lavelle, 1978; Lavelle and Spain, 2001) montrent des différences dans le rôle écologique des individus d'une même population du fait des différences importantes de taille entre les juvéniles et les adultes, et de l'adaptation des populations aux variations de l'environnement. Ces travaux menés sur l'espèce endogée mésohumique *Millsonia anomala* ont mis en évidence la domination d'individus juvéniles pendant la saison sèche car ils sont mieux adaptés que les adultes aux conditions chaudes et sèches. Pendant la saison des pluies, les conditions de températures plus fraîches et une meilleure disponibilité de l'eau favorisent les adultes. Ces résultats sont intéressants à relier aux résultats du Massif des Maures où les individus adultes sont les plus importants en

novembre 2006 dans des conditions d'humidité plus fortes qu'en mars 2007 où les juvéniles prennent le relais. Les conditions climatiques, régnant dans le Massif des Maures, jouent également sur l'importance des catégories écologiques où les espèces anéciques et endogées apparaissent les mieux adaptées. Les individus et plus particulièrement les adultes de ces catégories, résistent aux conditions défavorables en vivant en profondeur dans le sol où ils sont capables d'exploiter des ressources de faible qualité. De plus, pendant la saison sèche certaines espèces (notamment parmi les anéciques) sont capables d'entrer dans une phase de repos (diapause) ou de produire des structures résistantes (cocons) qui éclosent lorsque les conditions s'améliorent (Edwars and Bohlen, 1996).

### *3.3.2. Impact du feu sur la communauté lombricienne*

Le feu influence de façon différente les communautés d'anéciques et d'endogés. L'abondance et la biomasse des vers de terre anéciques sont affectées par les répétitions de feu alors que les espèces endogées ne sont pas touchées. Les différentes stratégies adoptées par ces deux catégories doivent pouvoir expliquer leur réponse au feu.

- Les espèces endogées sont capables de vivre sans difficulté dans le sol à des profondeurs supérieures à 20cm du fait d'une faible sélectivité de la matière organique qui peut être pauvre en apport nutritif. Cette stratégie semble propice à résister à l'impact du feu. En effet, bien que l'intensité d'un feu à la surface du sol peut atteindre des températures comprises entre 200-300°C (Franklin et al., 1997), voire 500-700°C, la température dépasse rarement 150°C à 5cm de la surface et souvent il n'y a aucun réchauffement du sol au-delà de 20-30cm (Certini, 2005). Dans ces conditions, les populations d'endogés peuvent être moins perturbées que celles des anéciques dont la distribution dans le sol est plus grande. De plus l'incendie provoque la mortalité d'un grand nombre de racines qui peuvent alimenter les endogés jusqu'à grande profondeur. Enfin, les analyses réalisées par les autre équipes du projet IRISE montrent que le feu ne modifie pas la quantité ni la qualité de la matière organique dans l'horizon 5 - 15 cm.

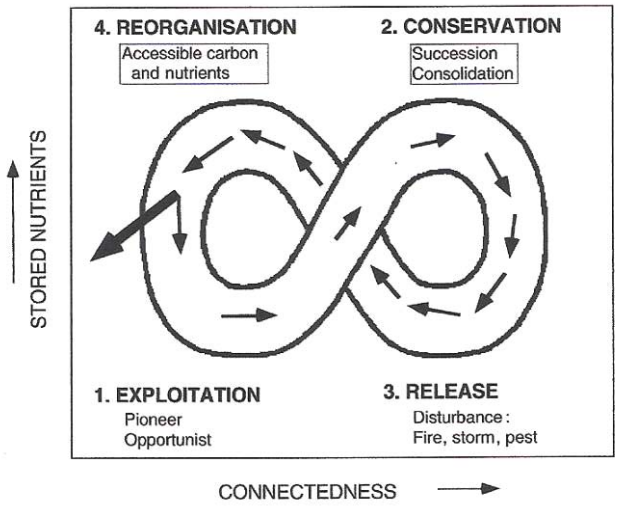
- il est possible qu'une partie de la population d'anécique (celle se trouvant à proximité de la surface) n'ait pas le temps, en période de feu, de fuir en profondeur et soit éliminée, particulièrement lorsque les vers sont dans une phase de léthargie ou de résistance (cocons). Trois à cinq ans après le feu, la quantité de matière organique dans l'horizon superficiel (0 - 5 cm) est diminuée de moitié par rapport aux témoins et modalités de feux anciens (15-25 ans), et sa qualité est altérée, les acides humiques se présentant sous des formes plus récalcitrantes à la biodégradation (Annexes 5.3 à 5.6). La litière est également réduite à peu de chose, ce qui handicape les vers anéciques. Enfin, peu après le feu, des hydrocarbures aromatiques polycycliques toxiques abondent dans les premiers

centimètres de sol (Annexe 5.5) et peuvent constituer un frein à l'activité et au développement des vers.

D'autre part, les feux altèrent la composition floristique, et leurs récurrences favorisent les espèces arbustives sclérophylles sempervirentes (annexe 5.1 , Montes et al., 2004; Trabaud and Galtie, 1996) dont la litière de moins bonne qualité peut constituer un facteur limitant les ressources alimentaires des vers de terre anéciques et par la même leur développement dans de tels milieux. Concernant nos résultats, la composition floristique semble bien jouer un rôle dans la structure de la communauté des vers de terre. En effet, si la diversité des anéciques diminue de façon significative avec l'augmentation du nombre de feux, cette diminution est essentiellement le fait d'une diversité plus forte dans les modalités témoin et P-A (peu de feu, dernier feu en 1990) que dans les trois autres modalités (P-R, N-A et N-R) qui présentent des résultats voisins (Tab.5). Pour les modalités P-R et N-R (dernier feu en 2003) la végétation, dominée par le chêne liège et les cistes, est caractéristique des premiers stades de succession (ici entre 3 et 5 ans) des écosystèmes méditerranéens après feu (Montes et al., 2004). Dans les placettes étudiées, les cistes forment de grandes étendues du fait de leur fort potentiel de recouvrement (Tarrega et al., 2001) lié à la levée par le feu de la dormance des graines (Pausas, 2001). Ainsi, quel que soit le nombre de feux la litière disponible pour les vers de terre 3 à 5 ans après un feu est issue d'une végétation peu diversifiée, parfois constituée de plages monospécifiques de ciste. Ceci suggère que l'impact du feu sur la communauté d'anécique dépend non seulement du nombre de feux mais également du temps écoulé depuis le dernier feu. Cette dernière hypothèse s'applique aussi à la richesse spécifique des vers de terre dans ces écosystèmes perturbés où seules deux espèces (et leurs formes juvéniles) persistent dans les modalités P-R, N-A et N-R, l'anécique *Nicodrilus nocturnus* et l'endogé *Allolobophora chlorotica chlorotica*.

### *3.3.3. Impact du feu sur la stabilité de l'écosystème*

Les perturbations font partie intégrante de la dynamique des écosystèmes (Bengtsson et al., 2000) caractérisée par des phases de succession et de réorganisation de l'écosystème (Holling, 1992; Holling, 2001) (Fig.8). La diversité biologique est particulièrement importante pendant ces phases de succession et réorganisation. Le feu est une des perturbations les plus importantes des écosystèmes méditerranéens. Il contribue dans une certaine mesure au maintien d'une biodiversité et d'une mosaïque paysagère qui sont favorables à la résilience écologique (Folke et al., 2004; Peterson et al., 1998), c'est-à-dire à la capacité des communautés et des écosystèmes à se ré-organiser après perturbations. Un écosystème diversifié est plus apte à résister aux perturbations et plus résilient que ceux qui sont pauvres en espèces.




Les flèches rapprochées signifient des changements rapides, les flèches éloignées des changements lents. La flèche en gras indique la possibilité de sortir du cycle, et un changement vers un nouveau système (dégradé ou plus productif) s'effectue généralement entre les phases de ré-organisation et d'exploitation. La diversité dans les écosystèmes forestiers est nécessaire pour les transitions entre les 4 stades.

**Figure 8**. Succession et ré-organisation des écosystèmes telles que décrites dans les théories récentes sur les changements dans les écosystèmes (d'après Bengtsson et al 2000).

La résistance et la résilience des communautés pédofaunistiques des écosystèmes méditerranéens sont donc d'autant plus problématiques que ces écosystèmes sont pauvres tels que le montrent nos résultats. De plus, les questions clefs dans la résilience des écosystèmes sont celles qui se rapportent à la capacité des espèces à recoloniser les espaces perturbés à partir des sites voisins et à la survie des espèces et des fonctions écologiques face aux perturbations (Bengtsson, 2002).

Les vers de terre semblent peu se déplacer, avec des capacités de dispersion ne dépassant pas 10 m/an (Lavelle and Spain, 2001). Une recolonisation des espaces perturbés par les incendies répétés dans le Massif des Maures peut ainsi prendre beaucoup de temps et sera d'autant plus difficile que les espaces brûlés sont importants. La superficie des sites non ou peu brûlés ces cinquante dernières années dans le Massif des Maures est plus faible que celle des sites plus fréquemment brûlés ce qui laisse supposer que la réintroduction d'espèces sera d'autant plus longue que la distance et la superficie à recoloniser seront grandes. Bengtsson (2002) reconnaît que la réorganisation des communautés du sol peut prendre beaucoup de temps et nous émettons alors l'hypothèse que l'échelle à laquelle la faune réagit n'est pas compatible avec l'augmentation de la fréquence des feux renforcée par le changement climatique (Resco de Dios et al., 2007). Des suivis à long terme sont nécessaires pour mieux connaître la capacité de résilience de la faune du sol. Cependant, notre dispositif expérimental nous permet de tenir compte du temps écoulé depuis le dernier feu et de constater que l'impact négatif des feux de 2003 sur la communauté lombricienne est encore bien visible.

Les résultats obtenus pour les modalités P-A et N-A (dernier feu en 1990) montrent également qu'au temps écoulé après le feu se rajoute l'impact du nombre de feu. La modalité P-A présente une diversité aussi grande voire plus que la modalité témoin alors que la modalité N-A a une diversité tout aussi faible que les placettes brûlées en 2003. Ceci renvoie à l'idée d'un seuil au-delà duquel le nombre de feux est susceptible de modifier irrémédiablement la structure de la communauté et des processus fonctionnels qui y sont rattachés. D'une manière générale, le système actuel semble fonctionner avec très peu d'espèces, et les placettes les plus perturbées avec seulement 2 espèces (*Nicodrilus nocturnus* et *Allolobophora chlorotica chlorotica*). L'instabilité des forêts du Massif des Maures est donc à souligner par une faible représentation des groupes fonctionnels due à une faible biodiversité générale. Or, la persistance des groupes fonctionnels est d'autant plus importante qu'ils contribuent aux performances et services des écosystèmes (Folke et al., 2004). Ainsi, par une pression accrue des feux la perte de la fonction anécique, principalement représentée par *Nicodrilus nocturnus* véritable ingénieur de l'écosystème, risquerait d'entraîner une altération dramatique du fonctionnement de ces écosystèmes méditerranéens.

## 4. Impact des incendies de forêt sur les structures biogéniques produites par les vers de terre

Face au fonctionnement simplifié des subéraies dégradées du Massif des Maures, basée principalement sur l'anécique *Nicodrilus nocturnus*, le dispositif expérimental du programme IRISE offre l'opportunité d'étudier le rôle de cette espèce dans ces écosystèmes à travers la production de ses turricules (structures biogéniques de surface). En effet, malgré la diversité très faible décrite précédemment, l'activité lombricienne est bien présente par l'abondance de turricules visibles sur la majorité des placettes échantillonnées.

Dans les différentes placettes du dispositif expérimental, il est fréquent d'observer une accumulation de turricules à la surface du sol sur une faible superficie (plus de 10 turricules sur 30X25 cm², photo de gauche)

**Abondance des turricules attribués à *Nicodrilus nocturnus***

Ainsi l'impact d'une activité lombricienne, même sur une courte période, sur l'écosystème mérite d'être estimé. Le présent chapitre décrit l'étude engagée sur les caractéristiques

chimiques et microbiologiques des turricules produits pour l'essentiel par *Nicodrilus nocturnus* et leur comparaison à celles des sols des 25 placettes que totalise le projet IRISE. Pour cela des échantillons de turricules et de sols superficiels (0-5cm) ont été prélevés en mars 2007, sur lesquels des analyses chimiques, microbiennes et de Spectroscopie Proche Infra Rouge (SPIR) ont été réalisées entre avril et juin 2007. Ce travail a été effectué en étroite collaboration avec les partenaires microbiologistes du programme Forest-Focus IRISE : Sonia Czarnes du Laboratoire d'Ecologie Microbienne (Lyon I) et Raphaël Gros de l'IMEP (Marseille III).

L'objectif est d'évaluer la capacité de l'outil SPIR à discriminer les structures biogéniques des vers de terre (turricules) et le sol (0-5cm) ainsi que d'évaluer son efficacité pour prédire des propriétés chimiques (C, N, C/N, pH, CEC, Cations, Nitrate, Ammonium) et microbiologiques (activité des bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes, activité enzymatique, biomasse microbienne : SIR). L'analyse porte également sur la liaison des résultats à l'impact de la répétition des feux.

## 4.1. Matériels et méthodes

### *4.1.1. La spectroscopie proche infra rouge (SPIR)*

La spectroscopie proche infra rouge est reconnue comme une technique rapide, peu coûteuse, et précise pour analyser beaucoup d'éléments au même moment (Ludwig et al. 2002). Cette méthode est utilisée avec succès en agriculture, pour prédire la composition d'échantillons et en industrie manufacturière dans des études d'écologie (Rinnan and Rinnan 2007).

Cette technique obtient le spectre de réflectance d'un échantillon dans la gamme de région proche infra rouge (1000-2500nm). Dans cette région PIR, la radiation est absorbée par différents liens chimiques, tels que C-H, N-H, S-H, C=O et O-H, des composés présents dans l'échantillon (Foley et al. 1998). Ainsi, le spectre PIR contient des informations basiques sur la composition organique d'un échantillon. Les spectres PIR couplés à des techniques chimiométriques ont été utilisés pour estimer des paramètres chimiques et biologiques. La SPIR est connue pour sa capacité à prédire les contenus de C-organique et de N-organique de litières ou de sols, des cations échangeables, des nutriments (Cécillon and Brun 2007, Roger and Bellon-Maurel 2000, Joffre et al. 2001). Les récents développements de la SPIR en Ecologie du sol ont également montré l'efficacité de cette méthode pour prédire des propriétés biologiques du sol telles que la biomasse microbienne, la nitrification potentielle, ou certaines activités enzymatiques du sol (Chang et al., 2001,

Chodak et al., 2002, 2003, 2007, Cohen et al., 2005, Coûteaux et al. 2003, Fritze et al., 1994, Ludwig et al., 2002, Nilsson et al., 1992, Palmborg and Nordgren, 1993, 1996, Pietikäinen and Fritze, 1995, Reeves et al., 2000, Rinnan and Rinnan, 2007, Terhoeven-Urselmans et al., 2006, 2008) ainsi que pour discriminer des structures biogéniques (e.g. les turricules de vers de terre) du sol (Hedde et al., 2005, Velasquez et al., 2007).

A ce jour, la capacité prédictive de la SPIR pour des activités biologiques au sein de structures biogéniques n'a pas été étudiée. De plus, si la prédiction par la SPIR des propriétés chimiques du sol est bien avancée et reconnue, la prédiction d'activités microbiennes du sol telles que les activités enzymatiques n'est pas encore bien démontrée et nécessite des études supplémentaires pour confirmation.

### *4.1.2. Le protocole expérimental*

Du sol (0-5cm) et des turricules, dispersés sur la placette, ont été prélevés au niveau de chaque placette du dispositif IRISE. Les prélèvements ont été effectués les 19, 20 et 21 mars 2007. Les échantillons, tamisés à 2mm sur le terrain et conservés dans des sachets plastiques, ont fait l'objet d'analyses par l'équipe EM du Cemagref Grenoble ainsi que par les laboratoires de microbiologie de Lyon I et de Marseille III (Fig.10).

Les prélèvements de l'équipe EM, ayant servi aux analyses chimiques et NIRS, comprennent :

- deux échantillons composites de sol et deux échantillons composites de turricules par placette, soit un total de 50 échantillons de sol et 50 échantillons de turricules de 100g chacun ;
- ainsi qu'un échantillon composite de sol et un échantillon composite de turricules de 200g chacun, soit un total de 25 échantillons de sol et 25 échantillons de turricules.

Les prélèvements des équipes de microbiologie correspondent à:

- un échantillon composite de sol et un échantillon composite de turricules de 200g chacun, soit un total de 25 échantillons de sol et 25 échantillons de turricules.

Remarque :

Sur la placette I8, très peu de turricules ont été trouvées, ne permettant pas d'avoir une quantité suffisante pour mener à bien l'ensemble des analyses. Cette placette a donc finalement été enlevée de l'étude.

Prélèvements sol et turricules

Tamisage 2mm

Conditionnement en sachets

Echantillons de 100g

- Cemagref (Grenoble):
  - 2 sous-échantillons sol / 2 sous-échantillons turricule
  - Total 100 échantillons
- Laboratoires de microbiologie (Lyon et Marseille):
  - 1 échantillon composite de sol et 1 turricule
  - Total 50 échantillons

**Figure 10**. Echantillonnage et conditionnement in situ du sol et des turricules des 25 placettes du protocole IRISE

### *4.1.3. Acquisition de spectres SPIR*

L'analyse SPIR est réalisée avec un spectromètre à transformée de Fourier (FT-NIR) Antaris II de la société Thermo Electron Corporation. Les échantillons ont été broyés à 0,2mm avec un broyeur Retsch ZM 200 puis conservés dans des pots en polypropylène à température ambiante. Les échantillons une fois séchés à l'étuve à 40°C environ, ont été placés dans un dessiccateur avant leur analyse. Un volume constant de poudre est placé dans une cuve, et comprimé légèrement avec un couvercle prévu à cet effet. Environ 1 g de sol suffit pour réaliser une mesure NIRS. Chaque échantillon a été scanné à 32 reprises entre 1000 et 2500 nm (10000 à 4000 $cm^{-1}$), avec une résolution de 2 $cm^{-1}$. Un spectre moyen a alors été calculé pour l'échantillon puis archivé à l'aide du logiciel Result Operation (Thermo Electron Corporation). On obtient donc pour chaque échantillon un spectre brut d'absorption (environ 6000 valeurs d'absorbance).

### *4.1.4. Analyses physico-chimiques et microbiologiques*

Le carbone organique ($C_o$), l'azote total ($N_{tot}$), la capacité d'échange cationique (CEC) et les cations échangeables (Ca , Mg, K) ainsi que le pH ont été déterminés à partir des méthodes classiques d'analyse. Le C/N a été calculé à partir des valeurs de $C_o$ et $N_{tot}$. Les analyses ont été réalisées au laboratoire d'Analyse des Sols de l'INRA d'Arras pour l'ensemble des échantillons prélevés et séchés à température ambiante.

Les analyses biologiques comprennent la détermination du carbone microbien ($C_{mic}$), de deux enzymes extracellulaires (FDA hydrolase et Cellulase), de la nitrification potentielle et de la dénitrification potentielle. Le rapport $C_{mic}/C_o$ a été calculé à partir des données obtenues. Les analyses microbiennes ont été effectuées au laboratoire de microbiologie de l'IMEP (Marseille) pour le $C_{mic}$, la FDA hydrolase et la Cellulase, et au laboratoire d'Ecologie microbienne de l'Université de Lyon 1 pour la nitrification et dénitrification potentielles.

Les méthodes d'analyse des propriétés du sol sont présentées dans le tableau 7.

**Tableau 7.** Méthodes d'analyses des propriétés chimiques et microbiennes.

| Propriétés | Unité de mesure | Méthodes |
|---|---|---|
| Carbone organique ($C_o$) | g kg-1 | NF ISO 10694, 1999 |
| Azote total ($N_{tot}$) | g kg-1 | NF ISO 13878, 1999 |
| Azote nitrique ($NO_3$) et ammoniacal ($NH_4$) | mg kg-1 | Krom, 1980; Searle, 1984 |
| Capacité d'échange (CEC) | cmol kg-1 | Metson, 1956 |
| Cations échangeables | cmol kg-1 | Thomas and Marshall, 1999 |
| pH eau | | NF ISO 10390, 2005 |
| dénirification potentielle | µg N g dw-1 h-1 | Smith and Tiedje, 1979; Tiedje et al., 1989; Yoshinari et al., 1977 |
| nitrification potentielle | µg N g dw-1 h-1 | Lensi et al., 1986 |
| Carbone microbien ($C_{mic}$) | mg g-1 | Anderson and Domsch, 1978; Beare et al., 1990 |
| $C_{mic}/C_o$ | | |
| Cellulase | U1 g-1 dm | Deng and Tabatabai, 1994 |
| FDA hydrolase | U2 g-1 dm | Adam and Duncan, 2001 |

### *4.1.6. Analyses statistiques*

Les comparaisons des échantillons de sol et de turricule ont été effectuées à l'aide d'analyse en composante principale en fonction des paramètres chimiques et biologiques mesurés ainsi que des longueurs d'onde issues de l'analyse SPIR.

La capacité prédictive de l'analyse SPIR pour l'ensemble des paramètres mesurés a été estimée par PLSR (partial least square regression, Tenehaus, 1998). Un modèle PLSR a été réalisé pour chaque paramètre chimique et biologique. Chaque modèle a été calibré afin de minimiser l'erreur standard de validation croisée (RMSECV), d'augmenter le coefficient de détermination ($Q^2$) et l'erreur de prédiction résiduelle (RPD) obtenu d'un modèle de validation croisée « leave-one-out » (X-Val). Lorsque l'on utilise des jeux de données peu importants (40-120 échantillons) pour la modélisation de variables multiples quantitatives, X-Val donne la meilleure estimation de la capacité prédictive du modèle (Martens and Dardenne, 1998). Les options de calibration comprennent l'élimination des valeurs aberrantes, le calcul des dérivées des spectres de longueur d'onde et la sélection des longueurs d'onde proche infra rouge les plus importantes utilisant la méthode VIP (variable importance on the projection) décrite dans Tenenhaus (1998). Les valeurs VIP on été calculées pour chacune des 6224 longueur d'onde. Un nouveau modèle PLSR a été réalisé avec les longueurs d'onde sélectionnées. Les traitements statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel R version 2.6.1 (R Development Core Team, 2007) avec la fonction signal pour le calcul des dérivées avec les filtres Savistky-Golay (Fearn, 2000) et la fonction pls pour les PLSR (Mevik and Wehrens, 2007) avec l'algorithme VIP de Chong and Jun (2005).

Certaines concentrations aberrantes pour la FDA hydrolase, la dénitrification potentielle et le rapport Cmic/Corg ont été supprimées de l'analyse (Annexe 1). Pour toutes les propriétés chimiques et biologiques, la dérivée seconde a été choisie pour le prétraitement des spectres.

## 4.2. Résultats

### *4.2.1. Caractérisation chimique et microbienne des turricules*

L'analyse en composante principale (Fig.11) appliquée aux données chimiques et aux activités microbiennes obtenues pour l'ensemble des échantillons montre une distinction nette des turricules par rapport aux échantillons de sol. Cette séparation est montrée par l'axe 1 qui explique plus de 57% de la variance des données et permet de conclure à un enrichissement de ces structures biogéniques en $C_{org}$, $N_{total}$, cations ($Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$, $K^{+}$), en azote ammoniacal et nitrique, avec également une activité microbienne plus importante en ce qui concerne les résultats du $C_{mic}$ et de dénitrification. L'axe 2, expliquant 12% de la variance, est caractérisé par des pH plus élevés en valeurs positives et des %H, des C/N et des activités cellulase plus importantes en valeurs négatives. Cet axe a tendance à différencier, quelque soit le type d'échantillon turricule ou sol, les modalités de feu regroupées sous 2 classes : feux anciens et feux récents. Les échantillons des placettes témoins, P-A et N-A sont plus ou moins regroupés surtout pour le sol et sont situés pour l'essentiel dans la partie négative de l'axe 2. A l'opposé dans la partie positive se trouvent les échantillons des placettes P-R et N-R concernant les turricules, nous pouvons toutefois noter la position intermédiaire des échantillons des placettes N-A et une séparation nette des modalités de feu à l'exception des modalités témoin et P-A.

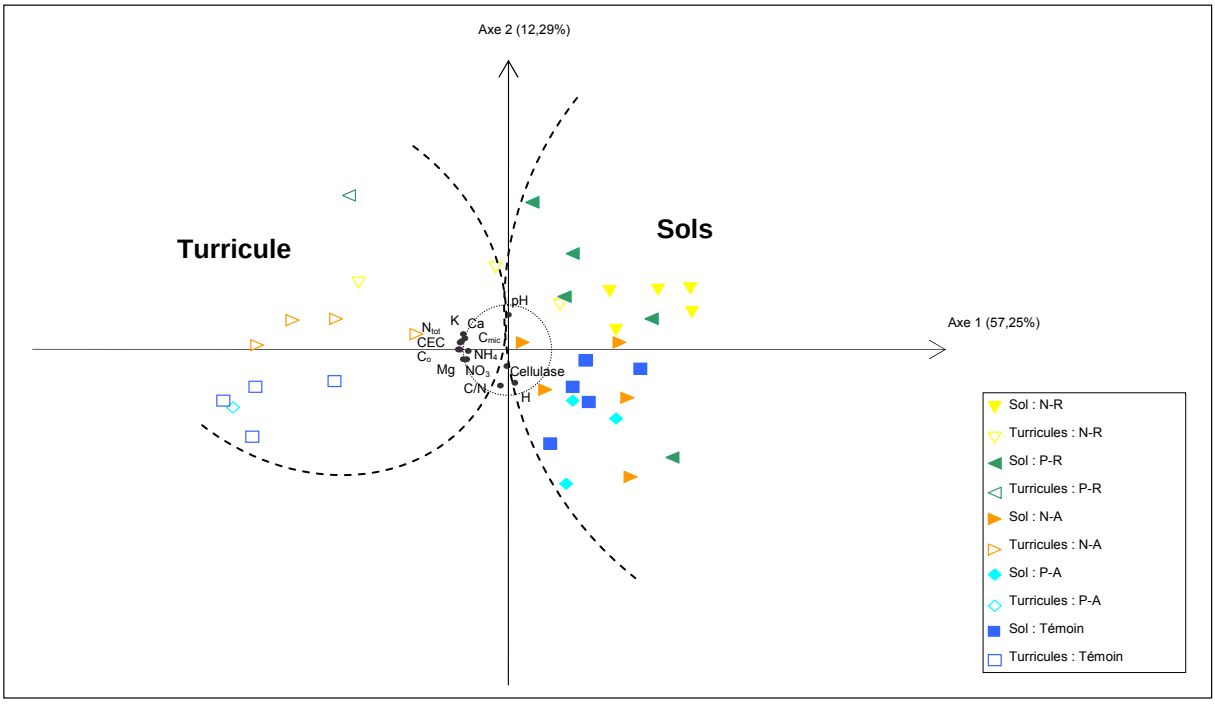



**Figure 11**. Analyse en composante principale des relevés de turricules et de sol en fonction des caractéristiques chimiques et microbiologiques. Analyse effectuée sur un total de 36 relevés après élimination par le logiciel des valeurs invalides.

### *4.2.2. Discrimination des turricules par la SPIR*

Les analyses SPIR ont été réalisées sur l'ensemble des échantillons (n=98) au Cemagref. Chaque spectre comprend 32 scans de l'échantillon. Les données sont obtenues avec une résolution à 2 $cm^{-1}$ permettant d'obtenir un spectre de 6224 valeurs d'absorbance de 10000 à 400 $cm^{-1}$.

L'analyse en composante principale (Fig. 12), après traitement des spectres par dérivée première, permet de discriminer sur l'axe 2 (11,2% de la variance) les échantillons de sol des échantillons de turricules. Les spectres, caractérisant ces deux types de matériel, sont d'autant plus différents que le passage du feu est ancien. L'axe principal 1 (82% de la variance) permet en effet d'observer un gradient feu basé sur la date du dernier feu. Les relevés dans les placettes de la modalité témoin se distinguent nettement dans la partie gauche du graphique et forment un premier groupe de valeurs spectrales assez dispersées. Un second groupe de données moins dispersées englobe les relevés des placettes de la modalité P-A avec celles de la modalité N-A. Enfin, dans la partie droite du graphique, un ensemble assez homogène regroupe les échantillons des modalités P-R et N-R.

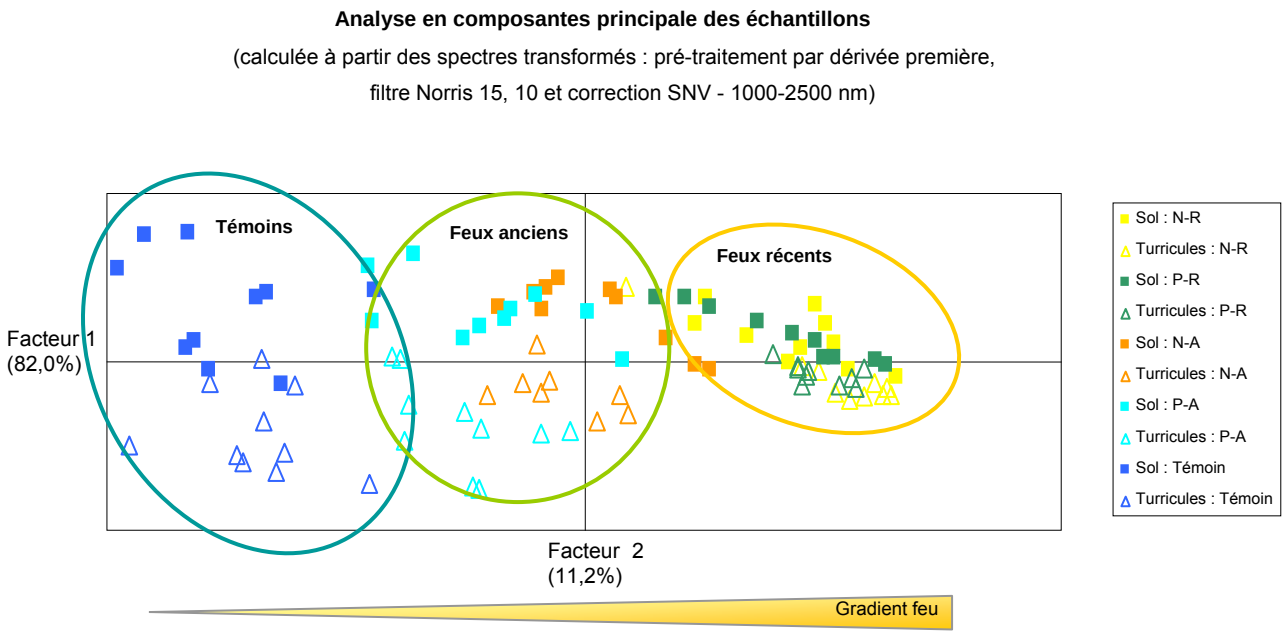



**Figure 12.** Analyse en composante principale des spectres PIR caractérisant l'ensemble des échantillons (sols et turricules) prélevés dans les 25 placettes du programme IRISE.

Cette première étape dans l'analyse des spectres obtenus montre l'efficacité de la méthode SPIR pour discriminer les 2 composantes de l'écosystème étudiées ainsi que son efficacité pour traduire un impact du feu en fonction de la date du dernier feu.

### *4.2.3. Prédiction des propriétés chimiques et biologiques*

La capacité prédictive de l'analyse SPIR pour les différents paramètres étudiés a été estimée par une première analyse PLSR (partial least square regression Tenenhaus, 1998) sur le spectre brut (Tab. 8). Cette analyse montre des corrélations intéressantes pour 10 paramètres sur les 15 mesurés.

Nos résultats concernant les paramètres chimiques confirment ceux trouvés dans la littérature avec de fortes corrélations pour le Carbone organique, l'Azote total et les cations échangeables (notamment CEC, Mg et Ca) et des corrélations plus faibles avec le pH, le potassium et l'Azote nitrique.

Concernant les paramètres biologiques, cette première analyse met en évidence une corrélation significative à partir du spectre brut avec le Carbone microbien ($R^2$=0,78) et les bactéries dénitrificatrices ($R^2$=0,72).

**Tableau 8.** Calibration SPIR des paramètres biologiques et chimiques par la méthode PLSR-TQ Analyst.

| Paramètre | Nb. Ech. | Outlier | Spectre | Gamme spectrale | Centré | Réduit | Pathlength cor. | Baseline cor. | Mini PRESS | RMSECV LOO | Moy REF | %moy RMSECV | R | $R^2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *SIR* | 49 | 26S | brut | 6035 / 4060 | oui | oui | SNV | quadratic removed | 4 | 0,308 | 1,4988 | 20,5 | 0,88 | *0,78* |
| *NIT* | 36 | 26S | brut | 5120 / 4040 | oui | oui | no | quadratic removed | 1 | 0,187 | 0,191 | 97,9 | 0,73 | *0,53* |
| *DENIT* | 49 | 26T, 26S | brut | 5175 / 4050 | oui | oui | no | no | 8 | 0,107 | 0,26 | 41,2 | 0,85 | *0,72* |
| *N-NO3* | 49 | 26S | brut | 5190/5060 & 4615/4120 & 6850/6300 | oui | non | MSC | quadratic removed | 5 | 14,2 | 17,52 | 81,1 | 0,84 | *0,70* |
| *N-NH4* | 49 | 26S | brut | 9968 / 4014 | oui | non | no | quadratic removed | 7 | 17,5 | 21,67 | 80,8 | 0,74 | *0,55* |
| *Cellulase* | 49 | 26S | 2nd SG72 | 9522 / 8991 | oui | oui | no | no | 2 | 0,00683 | 0,0151 | 45,2 | 0,43 | *0,19* |
| *Fdase* | 49 | 26S | 1st SG72 | 10000 / 4000 | oui | oui | no | no | 1 | 0,000306 | 0,00131 | 23,4 | 0,50 | *0,25* |
| *Corg* | 98 | no | brut | 10000 / 4000 | oui | oui | no | no | 7 | 5,85 | 50,8 | 11,5 | 0,98 | *0,95* |
| *N-tot* | 98 | no | brut | 10000 / 4000 | oui | oui | no | no | 7 | 0,427 | 2,8 | 15,3 | 0,95 | *0,90* |
| *CEC* | 98 | no | brut | 4790 / 4000 | oui | oui | no | no | 6 | 1,85 | 16,1 | 11,5 | 0,94 | *0,89* |
| *pH* | 98 | no | brut | 10000 / 4000 | oui | oui | no | no | 8 | 0,205 | 6,43 | 3,2 | 0,81 | *0,65* |
| *Ca* | 98 | no | brut | 10000 / 4000 | oui | oui | no | no | 8 | 1,76 | 11,094 | 15,9 | 0,91 | *0,82* |
| *Mg* | 98 | no | brut | 10000 / 4000 | oui | oui | no | no | 8 | 0,366 | 2,452 | 14,9 | 0,95 | *0,90* |
| *K* | 98 | no | brut | 10000 / 4000 | oui | oui | no | no | 8 | 0,163 | 0,72 | 22,6 | 0,81 | *0,65* |
| *Na* | 98 | no | brut | 10000 / 4000 | oui | oui | no | no | 6 | 0,0439 | 0,1386 | 31,7 | 0,70 | *0,49* |

Un modèle PLSR peut être alors construit pour chacune des variables corrélées tel qu'illustré dans la figure 13. A partir de ces premiers résultats nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux activités microbiennes et à leur prédiction, l'analyse SPIR ayant déjà été démontrée comme un outil fiable pour prédire les propriétés chimiques mesurées et nos résultats ne venant que confirmer de précédentes études.

Afin d'affiner la prédiction de la SPIR pour les activités microbiennes, un prétraitement du modèle PLSR a été réalisé par sélection de longueur d'onde au niveau du spectre à l'aide de la méthode VIP (variable importance on the projection). La méthode VIP calcule une valeur pour chaque longueur d'onde. Les valeurs VIP obtenues par la PLSR correspondent à une mesure importante de chaque variable explicative (c à d longueur d'onde) et un nouveau modèle PLSR est construit avec les longueurs d'onde sélectionnées. Dans le tableau 9 sont présentés trois modèles PLSR et leurs résultats X-Val pour chacune des 6 propriétés biologiques.

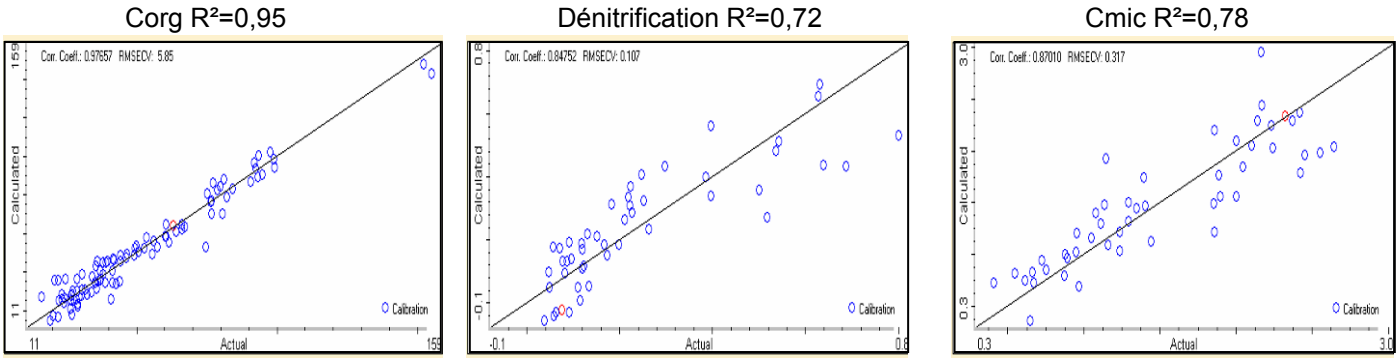



**Figure 13**. Modèle de prédiction PLSR pour 3 des variables chimiques et biologiques (Carbone organique, Dénitrification et Carbone microbien).
Modèle validé en Cross-validation Leave-One-Out

**Tableau 9.** Prédiction des propriétés microbiologiques à partir de la SPIR: Résultats X-Val.

| Propriétés | Selection Variable | Longueur d'onde sélectionée (%) | h | Q² | RMSECV | RPD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Potential denitrification | Whole NIR | 100 | 3 | 0.38 | 0.16 | 1.3 |
| | VIP 1 | 34 | 4 | 0.87 | 0.07 | 2.8 |
| | VIP 2 | 16 | 4 | 0.91 | 0.06 | 3.4 |
| Potential nitrification | Whole NIR | 100 | 1 | 0.43 | 0.20 | 1.3 |
| | VIP 1 | 26 | 3 | 0.70 | 0.14 | 1.9 |
| | VIP 2 | 13 | 3 | 0.89 | 0.09 | 3.1 |
| Microbial carbon ($C_{mic}$) | Whole NIR | 100 | 2 | 0.55 | 0.43 | 1.5 |
| | VIP 1 | 28 | 3 | 0.83 | 0.26 | 2.5 |
| | VIP 2 | 13 | 4 | 0.90 | 0.20 | 3.3 |
| $C_{mic}$:$C_{org}$ ratio | Whole NIR | 100 | 2 | 0.14 | 0.0064 | 1.0 |
| | VIP 1 | 35 | 3 | 0.73 | 0.0031 | 1.9 |
| | VIP 2 | 16 | 4 | 0.84 | 0.0024 | 2.5 |
| Cellulase | Whole NIR | 100 | 3 | 0.18 | 0.0083 | 0.9 |
| | VIP 1 | 33 | 4 | 0.72 | 0.0041 | 1.9 |
| | VIP 2 | 12 | 6 | 0.81 | 0.0034 | 2.3 |
| FDA hydrolase (Fdase) | Whole NIR | 100 | 3 | 0.03 | 0.00029 | 1.1 |
| | VIP 1 | 34 | 3 | 0.78 | 0.00014 | 2.2 |
| | VIP 2 | 15 | 3 | 0.84 | 0.00012 | 2.6 |

Abbreviations: h = nombre de variable latente utilisées pour la PLSR; Whole NIR = PLSR réalisée avec l'ensemble du spectre SPIR; VIP 1 = PLSR effectuée après une première sélection de variable avec la méthode VIP; VIP 2 = PLSR effectuée après une seconde sélection de variable; Q² = coefficient de détermination après validation en cross validation leave-one-ou; RMSECV = erreur racine carré moyenne de la validation croisée; RPD = erreur de prédiction résiduelle (RPD = SD $RMSECV^{-1}$)

Les 3 modèles PLSR correspondent au même spectre avec zéro, un ou deux traitements successifs par la méthode VIP. La prédiction des modèles PLSR basés sur l'ensemble du spectre est très pauvre avec un RPD proche de 1 pour la plupart des propriétés (Tab 9 et Fig. 14). Une première sélection de variable génère des modèles plus fiables pour toutes les propriétés avec un RPD au dessus de 1,9. Les meilleurs modèles obtenus ont été calculés avec un second traitement des variables de sélection (Fig. 15); Cmic et le potentiel de dénitrification obtenant des valeurs X-Val "raisonables" (Williams 1993) avec un $Q^2$ supérieur à 0,9 et un RPD supérieur à 3 (Tab 9).

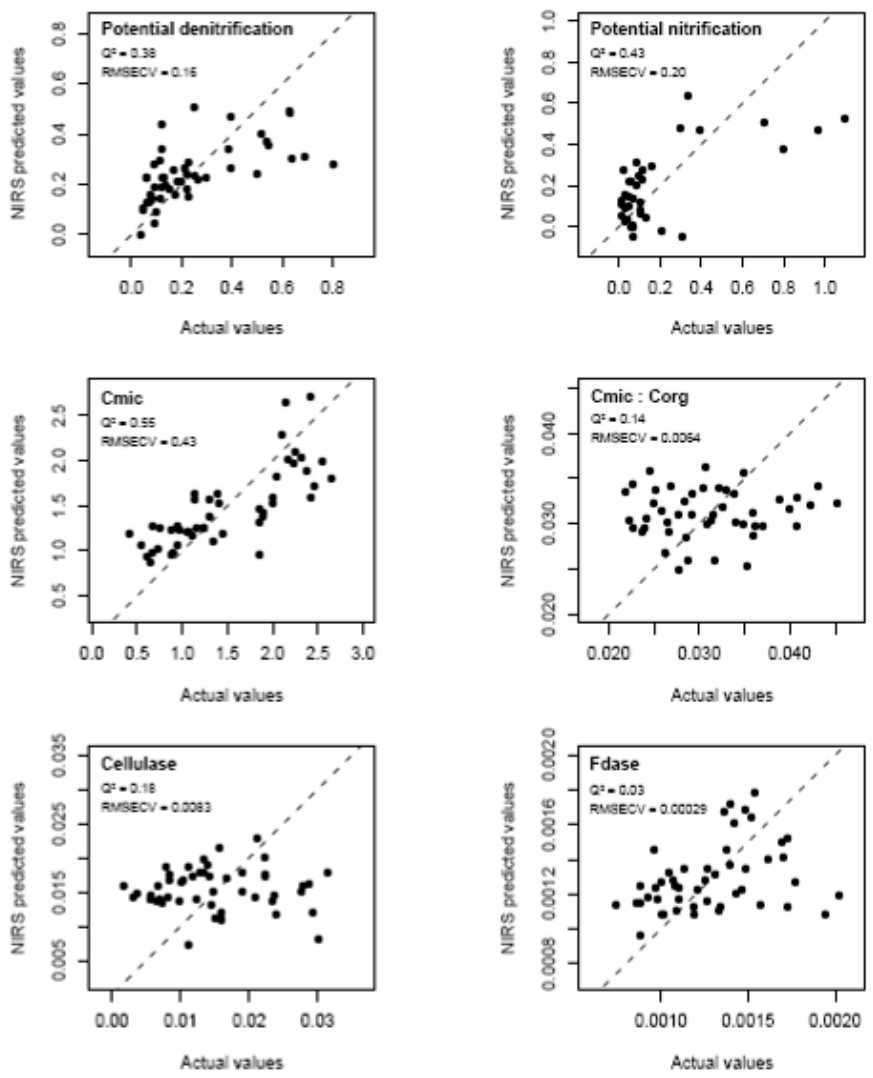



**Figure 14.** Corrélation entre valeurs prédites et valeurs réelles des propriétés biologiques sur l'ensemble du spectre SPIR. La ligne en pointillés indique le rapport 1:1.

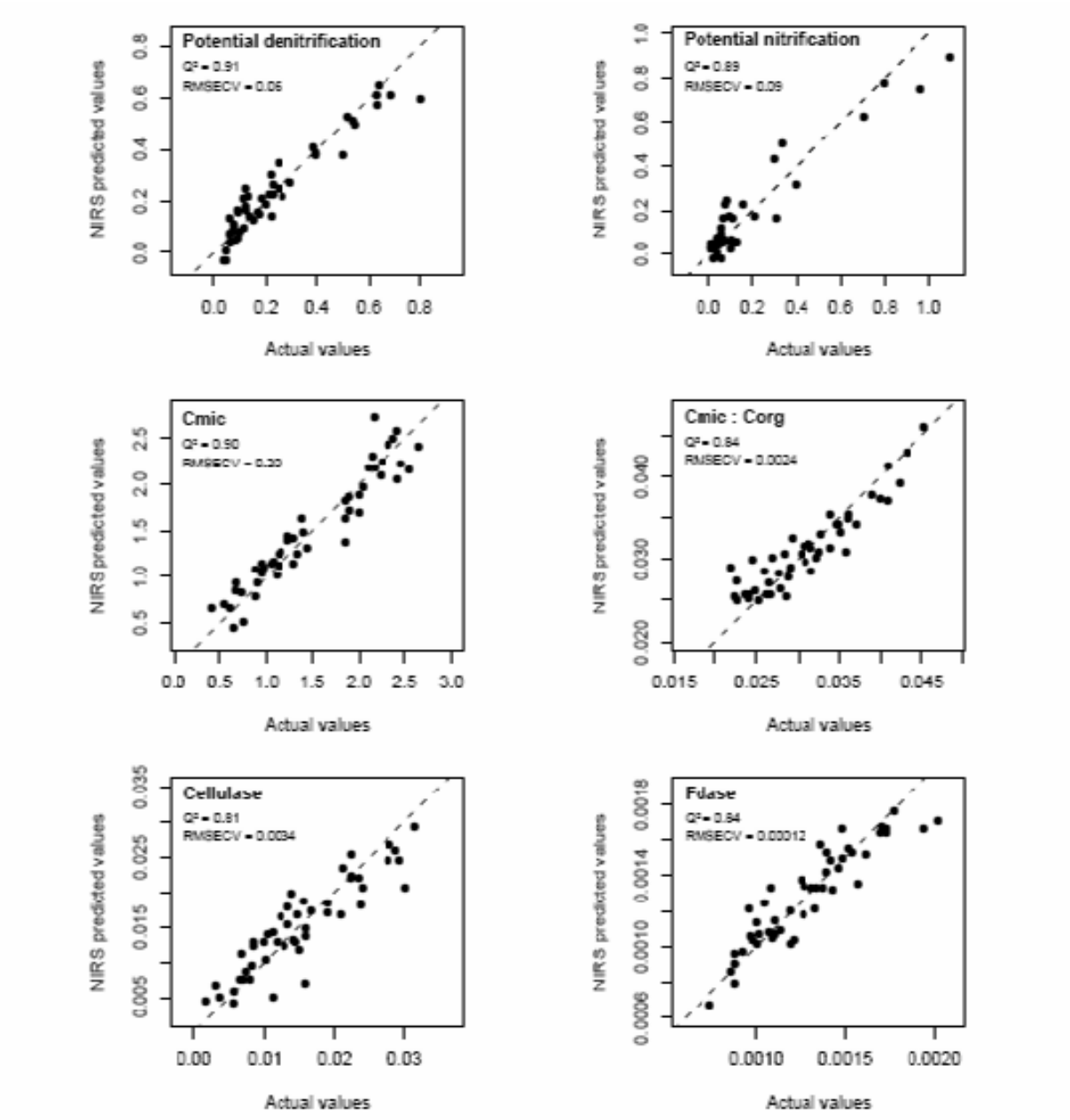



**Figure 15.** Corrélation entre valeurs prédites et valeurs réelles des propriétés biologiques après un second traitement des variables de sélection par la méthode VIP (VIP2). La ligne en pointillés indique le rapport 1:1.

### 4.3. Discussion & Conclusion

Notre étude menée sur la comparaison entre les turricules, produits par *Nicodrilus nocturnus*, et le sol présents dans les écosystèmes perturbés du massif des Maures a permis de constater une augmentation des concentrations des éléments chimiques ainsi qu'une activité microbienne plus élevée dans les turricules. Ce résultat vient une nouvelle fois confirmer l'enrichissement des écosystèmes par l'activité des vers de terre et leur production biogénique tel que démontré dans de nombreux travaux antérieurs (cf. par exemple Lavelle and Spain, 2001).

L'approche nouvelle utilisée dans cette étude par l'utilisation de l'analyse SPIR montre des résultats intéressants quant à la prédiction des contenus chimiques et biologiques par les modèles PLSR. Les résultats les plus innovants concernent les prédictions des activités microbiennes par sélection de variables (VIP2) et les coefficients $Q^2$ supérieur à 0,9 pour Cmic et la dénitrification confirment voire sont même supérieurs à ceux de précédentes études avec des $Q^2$ généralement compris entre 0,6 et 0,8 pour les propriétés biologiques (e.g. Reeves et al 2000, Rinnan et Rinnan 2007). L'utilisation de la méthode VIP a conduit à la sélection d'intervalles plutôt qu'à des longueurs d'onde individuelles avec une importante contribution de la région spectrale 1750-2500nm (Fig. 16). Pour toutes les propriétés biologiques, les intervalles sélectionnés contiennent des longueurs d'onde associées à la matière organique (par exemple, 1725nm, 1930nm) par Ben-Dor et al. (1997) mais aussi beaucoup de longueurs d'onde associées à la biomasse microbienne identifiées par Vaidyanathan et al. (1999), à l'exception de la cellulase (Tab.10). Ainsi, les modèles développés dans cette étude pour les propriétés biologiques peuvent refléter non seulement les changements dans la disponibilité des macronutriments (quantité et qualité) qui controlent l'activité biologique du sol (Palmborg and Nordgren, 1996; Rinnan and Rinnan, 2007) mais aussi l'information directement reliée à la biomasse microbienne même si le contenu moyen en Cmic ne représente que 1,5 mg/g de sol (Annexe 1).

L'amélioration des modèles avec la sélection de variables est évidente et devrait être généralisée pour l'établissement des modèles PLSR. Malgré l'augmentation de l'utilisation de la SPIR en Science du Sol, cette approche n'a été utilisée qu'une seule fois : Palmborg and Nordgren (1993) ont sélectionné 15 longueurs d'onde au sein de spectres SPIR d'échantillons de sol en fonction de leur coefficient de régression. Cependant, la sélection d'intervalles est plus robuste que la sélection de quelques variables (Höskuldsson, 2001).

Enfin, l'ACP des spectres PIR (Fig. 11) montre une homogénéisation des caractéristiques différenciant sol et turricules avec une nouvelle fois soulignée l'importance de la date du dernier feu plus que le nombre de feu répété sur l'écosystème.

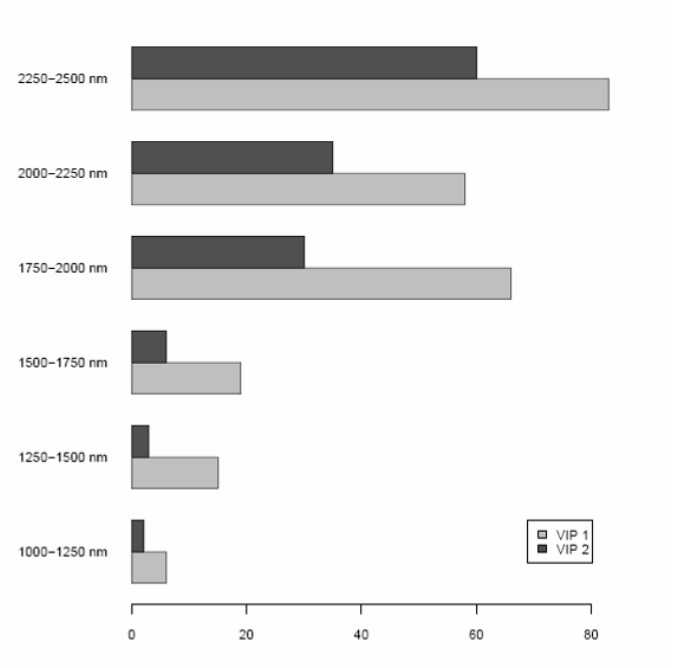



**Figure 16**. Fréquence relative (%) des longueurs d'onde sélectionnées dans les intervales PIR après un (VIP1) ou deux (VIP2) traitements pour le carbone microbien: des résultats similaires ont été obtenus pour toutes les propriétés mesurées dans notre étude.

**Tableau 10.** Sélection des longueurs d'onde de biomasse microbienne après le second traitement VIP (VIP2).

| | Principaux pics d'absorbance de biomasse* (nm) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Propriétés | 1580 | 1690 | 1730 | 1760 | 2060 | 2270 | 2310 | 2350 |
| Potentiel dénitrification | N | Y | Y | N | Y | Y | Y | Y |
| Potentiel nitrification | N | N | Y | Y | Y | Y | Y | N |
| Carbone microbien ($C_{mic}$) | N | N | Y | N | Y | Y | Y | Y |
| $C_{mic}$:$C_{org}$ ratio | N | Y | Y | N | Y | Y | Y | Y |
| Cellulase | Y | N | N | N | N | N | N | N |
| FDA Hydrolase (Fdase) | Y | N | Y | N | Y | Y | Y | Y |

Abréviations:

Y = Longueur d'onde correspondent aux pics de biomasse sélectionnés

N = Longueur d'onde correspondent aux pics de biomasse non sélectionnés

*: determines par Vaidyanathan et al. (1999)

## 5. Synthèse et conclusion générale

Au sein du dispositif IRISE l'impact du feu sur les écosystèmes étudiés peut être abordé sous deux angles : un premier sur l'impact de la fréquence des incendies sur le milieu et un second sur l'impact du temps écoulé depuis le dernier feu. C'est sous ce deuxième angle que semble devoir principalement s'interpréter nos résultats que ce soit sur les aspects de biodiversité (communauté de vers de terre) ou plus fonctionnels (caractérisation turricules-sols par la SPIR). Le nombre de feux intervient cependant de façon secondaire, car les modalités comportant de nombreux feux ont toujours un moyenne inférieure aux modalités moins brûlées pour la diversité et la biomasse des vers, et se différencient également dans les analyses SPIR même si la variabilité forte interdit le plus souvent de conclure statistiquement.
Ainsi à partir des modalités d'incendie définies dans le projet IRISE, un gradient feu peut être établi en fonction de la date du dernier feu. Ce gradient se traduit par un impact des incendies de forêt dans le Massif des Maures d'autant plus important que la date du dernier feu est récente avec une diminution de la diversité des communautés lombriciennes et une homogénéisation des caractéristiques entre le sol et les turricules.

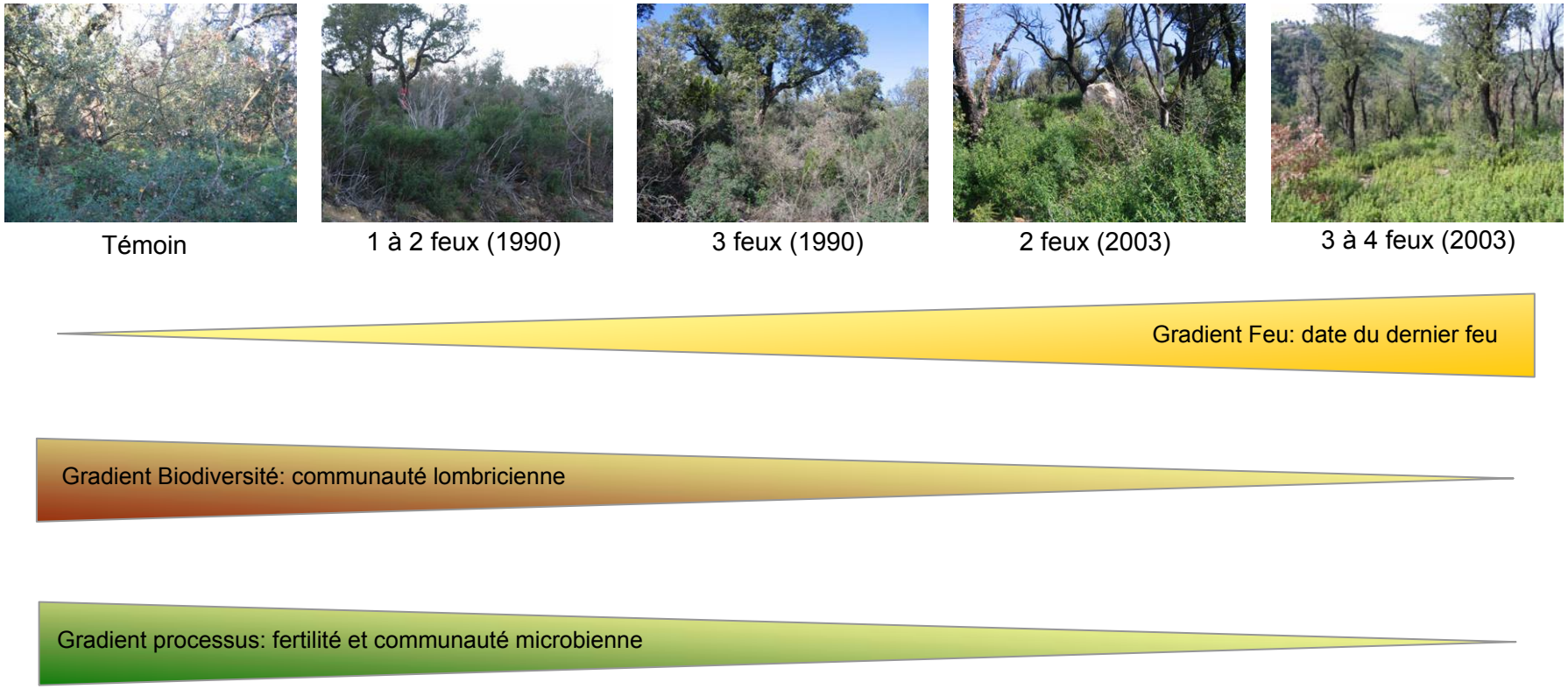
En interprétant ces résultats et notamment ceux qui découlent de l'activité récente (nombre et distribution spatiale des turricules), on peut aussi noter que la sécheresse de ces dernières années, qui a fortement réduit l'activité et la biomasse des vers, a d'autant plus impacté les communautés lombriciennes que les feux passé étaient nombreux ou récents. Les milieux les plus dégradés, où l'activité des vers est essentielle à une bonne résilience des caractéristiques physiques du sol et de l'activité microbiologique, sont donc les plus susceptibles d'être affecté par le changement climatique.

La simplification de l'écosystème qui semble se produire après incendie pose le problème de la résistance et de la résilience des écosystèmes ainsi perturbés. D'après le gradient ici proposé, la résilience des communautés de vers serait bonne à moyen terme si la fréquence ne dépasse pas 15 à 25 ans. Elle serait moins bonne si la fréquence dépasse ce seuil. Elle le serait d'autant moins que si la population de vers a une dynamique propre sur 15 à 25 ans, elle dépendon l'a vu des autres facteurs du milieux dont certains se dégradent à moyen terme en cas de feux plus fréquents que tous les 25 ans (structure de la végétation, quantité et qualité de la matière organique, résilience et résistance des communautés microbiologiques). L'hypothèse d'une période longue sans incendie dans les forêts méditerranéennes va à l'encontre des prédictions actuelles liées au changement climatique pour lesquelles une augmentation de l'occurrence des feux est privilégiée.

Malgré la forte perturbation de la communauté des vers de terre, notre étude confirme le rôle d'ingénieurs de l'écosystème des vers de terre, notamment ici de *Nicodrilus nocturnus*. Nos résultats soulignent leur rôle positif dans l'amélioration de la qualité des sols en augmentant l'apport de nutriments, l'activité biologique, le contenu de matière organique et la structure des horizons superficiels du sol, au travers de leur production de turricules. L'analyse SPIR a montré son efficacité pour estimer de façon qualitative et quantitative les propriétés chimiques et biologiques du sol. De plus, notre approche par sélection de longueurs d'onde dans le spectre PIR avec la méthode VIP a permis d'obtenir des modèles PLSR avec une bonne prédiction pour les propriétés microbiologiques du sol et des turricules de vers de terre. L'analyse SPIR comparée du sol et des turricules pourrait être un bon outil d'évaluation de l'état de l'écosystème.

L'étape suivante de cette étude devra être de valider ces modèles à partir d'échantillons indépendants.

**Simplification des fonctions de l'écosystème liées aux activités des vers de terre avec une réduction de leur biodiversité**



# 6. Références


Adam, G. and Duncan, H., 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (fda) in a range of soils. Soil Biology and Biochemistry, 33: 943-951.

Anderson, J.P.E. and Domsch, K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biology and Biochemistry 10: 215-221.

Arnan, X., Rodrigo, A. and Retana, J., 2006. Post-fire recovery of Mediterranean ground ant communities follows vegetation and dryness gradients. Journal of Biogeography, 33: 1246–1258.

Baeza, M., Raventós, J., Escarré, A. and Vallejo, V., 2006. Fire Risk and Vegetation Structural Dynamics in Mediterranean Shrubland. Plant Ecology, 187(2): 189-201.

Balvanera, P. et al., 2006. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. Ecology Letters, 9(10): 1146-1156.

Bardgett, R.D., Bowman, W.D., Kaufmann, R. and Schmidt, S.K., 2005. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. Trends in Ecology & Evolution, 20(11): 634-641.

Beare, M.H., Neely, C.L., Coleman, D.C. and Hargrove, W.L., 1990. A substrate-induced respiration (sir) method for measurement of fungal and bacterial biomass on plant residues. Soil Biology and Biochemistry 22: 585-594.

Ben-Dor, E., Inbar, Y., Chen, Y., 1997. The reflectance spectra of organic matter in the visible near-infrared and short wave infrared region (400–2500 nm) during a controlled decomposition process. Remote Sensing of Environment 61, 1-15.

Bengtsson, J., 2002. Disturbance and resilience in soil animal communities. European Journal of Soil Biology, 38(2): 119-125.

Bengtsson, J., Nilsson, S.G., Franc, A. and Menozzi, P., 2000. Biodiversity, disturbances, ecosystem function and management of European forests. Forest Ecology and Management, 132(1): 39-50.

Bouché, M.B., 1972. Lombriciens de France. Ecologie et systématique. INRA. Annales de zoologie-Ecologie animale. N° hors série, Paris.

Buhk, C. and Hensen, I., 2006. "Fire seeders" during early post-fire succession and their quantitative importance in south-eastern Spain. Journal of Arid Environments, 66(2): 193-209.

Callaham, M.A. and Hendrix, P.F., 1997. Relative abundance and seasonal activity of earthworms (Lumbricidae and Megascolecidae) as determined by hand-sorting and formalin extraction in forest soils on the southern Appalachian Piedmont. Soil Biology and Biochemistry, 29(3-4): 317-321.

Callaway, R.M. et al., 2002. Positive interactions among alpine plants increase with stress. Nature, 417: 844-848.

Cécillon, L., Brun, J.J., 2007. Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS): a practical tool for the assessment of soil carbon and nitrogen budget. In: Jandl, R., Olsson, M. (Eds.), COST Action 639 : Greenhouse-gas budget of soils under changing climate and land use (BurnOut). Federal Research and Training Centre for Forests, Natural Hazards and Landscape, Vienna, pp. 103-110.

Certini, G., 2005. Effects of fire on properties of forest soils: a review. Oecologia, 143: 1-10.

Chang, C.W., Laird, D.A., Mausbach, M.J., Hurburgh, Jr., C.R., 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy - Principal components regression analyses of soil properties. Soil Science Society of America Journal 65, 480-490.

Chodak, M., Ludwig, B., Khanna, P., Beese, F., 2002. Use of near infrared spectroscopy to determine biological and chemical characteristics of organic layers under spruce and beech stands. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 165, 27-33.

Chodak, M., Khanna, P., Beese, F., 2003. Hot water extractable C and N in relation to microbiological properties of soils under beech forests. Biology and Fertility of Soils 39,123-130.

Chodak, M., Niklińska, M., Beese, F., 2007. Near-infrared spectroscopy for analysis of chemical and microbiological properties of forest soil organic horizons in a heavy-metal-polluted area. Biology and Fertility of Soils 44, 171-180.

Chong, I.G., Jun, C.H., 2005. Performance of some variable selection methods when multicollinearity is present. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 78, 103-112.
Cohen, M.J., Prenger, J.P., DeBusk, W.F., 2005. Visible-near infrared spectroscopy for rapid, non-destructive assessment of wetland soil quality. Journal of Environmental Quality 34, 1422-1434.
Coleman, D.C., Crossley Jr., D.A. and Hendrix, P.F., 2004. Fundamentals of Soil Ecology. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
Coûteaux, M.M., Berg, B., Rovira, P., 2003. Near infrared reflectance spectroscopy for determination of organic matter fractions including microbial biomass in coniferous forest soils. Soil Biology and Biochemistry 35, 1587-1600.
Curry, J.P. and Schmidt, O., 2007. The feeding ecology of earthworms - A review. Pedobiologia, 50(6): 463-477.
De Deyn, G.B. and Van der Putten, W.H., 2005. Linking aboveground and belowground diversity. Trends in Ecology & Evolution, 20(11): 625-633.
Delitti, W., Ferran, A., Trabaud, L. and Vallejo, V.R., 2005. Effects of fire recurrence in Quercus coccifera L. shrublands of the Valencia Region (Spain): I. plant composition and productivity. Plant Ecology, 177(1): 57-70.
Deng, S.P. and Tabatabai, M.A., 1994. Cellulase activity of soils. Soil Biology Biochemistry 26: 1347–1354.
Diaz-Delgado, R., Lloret, F., Pons, X. and Terradas, J., 2002. Satellite evidence of decreasing resilience in Mediterranean plant communities after recurrent wildfires. Ecology, 83(8): 2293-2303.
Diaz, S. and Cabido, M., 2001. Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. Trends in Ecology & Evolution, 16(11): 646-655.
Edwars, C.A. and Bohlen, P.J., 1996. Biology and Ecology of Earthworms, third ed. Chapman and Hall, London.
Ettema, C.H. and Wardle, D.A., 2002. Spatial soil ecology. Trends in Ecology & Evolution, 17(4): 177-183.
Fearn, T., 2000. Savistky-Golay filters. NIR news 11, 6, 14.
Foley, W.J., McIlwee, A., Lawler, I.R., Aragones, L., Woolnough, A., Berding, N., 1998. Ecological applications of near-infrared spectroscopy - a tool for rapid, cost-effective prediction of the composition of plant and animal tissues and aspects of animal performance. Oecologia 116, 293-305.
Folke, C. et al., 2004. Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics, 35: 557-581.
Franklin, S.B., Robertson, P.A. and Fralish, J.S., 1997. Small-scale fire temperature patterns in upland Quercus communities. Journal of Applied Ecology, 34(3): 613-630.
Fritze, H., Järvinen, P., Hiukka, R., 1994. Near-infrared characteristics of forest humus are correlated with soil respiration and microbial biomass in burnt soil. Biology and Fertility of Soils 18, 80-82.
Garnsey, R.B., 1994. Seasonal Activity and Estivation of Lumbricid Earthworms in the Midlands Fo Tasmania. Australian Journal of Soil Research, 32(6): 1355-1367.
Hart, S.C., DeLuca, T.H., Newman, G.S., MacKenzie, M.D. and Boyle, S.I., 2005. Post-fire vegetative dynamics as drivers of microbial community structure and function in forest soils. Forest Ecology and Management, 220(1-3): 166-184.
Hedde, M., Lavelle, P., Joffre, R., Jiménez, J.J., Decaëns, T., 2005. Specific functional signature in soil macro-invertebrates biostructures. Functional Ecology 19, 785-793.
Holling, C.S., 1992. Cross-Scale Morphology, Geometry, and Dynamics of Ecosystems. Ecological Monographs, 62(4): 447-502.
Holling, C.S., 2001. Understanding the Complexity of Economic, Ecological, and Social Systems. Ecosystems, 4(5): 390-405.
Hooper, D.U. et al., 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. Ecological Monographs, 75(1): 3-35.
Hooper, D.U. and Vitousek, P.M., 1997. The Effects of Plant Composition and Diversity on Ecosystem Processes. Science, 277: 1302-1305.
Höskuldsson, A., 2001. Variable and subset selection in PLS regression. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 55, 23-38.

Joffre, R., Agren, G.I., Gillon, D. and Bosatta, E., 2001. Organic matter quality in ecological studies: theory meets experiment. Oikos, 93: 451-458.
Krom M. D., 1980. Spectrophotometric determination of ammonia : A study of a modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocuyanurate. The Analyst , 105, 305-316.
Lavelle, P., 1978. Les vers de terre de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire): peuplements, populations et fonctions dans l'écosystème, thèse d'Etat. Université Paris VI/ENS.
Lavelle, P., 1983. The structure of earthworm communities. In: J.E. Satchell (Editor), Earthworm Ecology: From Darwin to Vermiculture. Chapman & Hall, London, pp. 449-466.
Lavelle, P. et al., 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. European Journal of Soil Biology, 42(Supplement 1): S3-S15.
Lavelle, P. and Spain, A.V., 2001. Soil Ecology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.
Lensi, R., Mazurier, S., Gourbiere, F., Josserand, A., 1986. Rapid-determination of the nitrification potential of an acid forest soil and assessment of its variability. Soil Biology and Biochemistry 18, 239-240.
Le Houérou, H.N., 1990. Agroforestry and sylvopastoralism to combat land degradation in the Mediterranean Basin: old approaches to new problems. Agriculture, Ecosystems and Environment, 33: 99-109.
Loreau, M., 2000. Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. Oikos, 91(1): 3-17.
Ludwig, B., Khanna, P.K., Bauhus, J. and Hopmans, P., 2002. Near infrared spectroscopy of forest soils to determine chemical and biological properties related to soil sustainability. Forest Ecology and Management, 171(1-2): 121-132.
Metson, A.J., 1956. Methods of chemical analysis for soil survey samples. NZ Soil Bur Bull, 12.
Mevik, B.H., Wehrens, R., 2007. The pls package: principal component and partial least squares regression in R. Journal of Statistical Software 18, 2, 1-24.
Montes, N., Ballini, C., Bonin, G. and Faures, J., 2004. A comparative study of aboveground biomass of three Mediterranean species in a post-fire succession. Acta Oecologica, 25(1-2): 1-6.
Nilsson, M., Korsman, T., Nordgren, A., Palmborg, C., Renberg, I., Öhman, J., 1992. NIR spectroscopy used in the microbiological and environmental sciences. In: Hildrum, K.I., Isaksson, T., Naes, T., Tandberg, A. (Eds.), Near infra-red spectroscopy, bridging the gap between data analysis and NIR applications. Ellis Horwood, pp. 229-234.
NF ISO 10390, 2005. Soil quality, determination of pH. AFNOR, 7 pp.
NF ISO 10694, 1995. Qualité du sol, dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire). AFNOR, 7 pp.
NF ISO 13878, 1998. Soil quality, determination of total nitrogen content by dry combustion ("elemental analysis"). AFNOR, 5 pp.
Palmborg, C., Nordgren, A., 1993. Modelling microbial activity and biomass in forest soil with substrate quality measured using near infrared reflectance spectroscopy. Soil Biology and Biochemistry 25, 1713-1718.
Palmborg, C., Nordgren, A., 1996. Partitioning the variation of microbial measurements in forest soils into heavy metal and substrate quality dependent parts by use of near infrared spectroscopy and multivariate statistics. Soil Biology and Biochemistry 28, 711-720.
Parr, C.L., Robertson, H.G., Biggs, H.C. and Chown, S.L., 2004. Response of African savanna ants to long-term fire regimes. Journal of Applied Ecology, 41(4): 630-642.
Pausas, J.G., 2001. Resprouting vs seeding - a Mediterranean perspective. Oikos, 94(1): 193-194.
Pausas, J.G., 2006. Simulating Mediterranean landscape pattern and vegetation dynamics under different fire regimes. Plant Ecology, 187(2): 249-259.
Pausas, J.G. and Verdu, M., 2005. Plant persistence traits in fire-prone ecosystems of the Mediterranean basin: a phylogenetic approach. Oikos, 109(1): 196-202.
Perez, B., Cruz, A., Fernandez-Gonzalez, F. and Moreno, J.M., 2003. Effects of the recent land-use history on the postfire vegetation of uplands in Central Spain. Forest Ecology and Management, 182(1-3): 273-283.
Petchey, O.L. and Gaston, K.J., 2006. Functional diversity: back to basics and looking forward. Ecology Letters, 9(6): 741-758.

Peterson, A.C., Hendrix, P.F., Haydu, C., Graham, R.C. and Quideau, S.A., 2001. Single-shrub influence on earthworms and soil macroarthropods in the southern California chaparral. Pedobiologia, 45(6): 509-522.
Peterson, G., Allen, C.R. and Holling, C.S., 1998. Ecological resilience, biodiversity, and scale. Ecosystems, 1(1): 6-18.
Pietikäinen, J., Fritze, H., 1995. Clear-cutting and prescribed burning in coniferous forest: Comparison of effects on soil fungal and total microbial biomass, respiration activity and nitrification. Soil Biology and Biochemistry 27, 101-109.
Reddy, M.V. and Pasha, M., 1993. Influence of Rainfall, Temperature and Some Oil Physicochemical Variables on Seasonal Population-Structure and Vertical-Distribution of Earthworms in 2 Semiarid Tropical Grassland Soils. International Journal of Biometeorology, 37(1): 19-26.
Reeves, III, J.B., McCarty, G.W., Meisinger, J.J., 2000. Near infrared reflectance spectroscopy for the determination of biological activity in agricultural soils. Journal of Near Infrared Spectroscopy 8, 161-170.
Resco de Dios, V., Fischer, C. and Colinas, C., 2007. Climate Change Effects on Mediterranean Forests and Preventive Measures. New Forests, 33(1): 29-40.
Rinnan, R. and Rinnan, A., 2007. Application of near infrared reflectance (NIR) and fluorescence spectroscopy to analysis of microbiological and chemical properties of arctic soil. Soil Biology and Biochemistry, 39(7): 1664-1673.
Rixen, C. and Mulder, C.P.H., 2005. Improved water retention links high species richness with increased productivity in arctic tundra moss communities. Oecologia, 146(2): 287-299.
Roger, J.M., Bellon-Maurel, V., 2000. Using genetic algorithms to select wavelengths in near-infrared spectra : application to sugar content prediction in cherries. Applied Spectroscopy 54, 1313-1320.
Scullion, J. and Malik, A., 2000. Earthworm activity affecting organic matter, aggregation and microbial activity in soils restored after opencast mining for coal. Soil Biology and Biochemistry, 32(1): 119-126.
Searle P. L., 1984. The Berthelot or indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. The Analyst , 109, 549-568.
Smith, M. S., Tiedje, J. M., 1979. Phases of denitrification following oxygen depletion in soil. Soil Biology and Biochemistry 11, 261-267.
Somogyi, M., 1952. Notes on sugar determination. . Journal of Biology Chemistry 195: 19– 23.
Sousa, W.P., 1984. The role of disturbance in natural communities. Annual Review of Ecology and Systematics, 15: 353-391.
Tarrega, R., Luis-Calabuig, E. and Valbuena, L., 2001. Eleven years of recovery dynamic after experimental burning and cutting in two Cistus communities. Acta Oecologica-International Journal of Ecology, 22(5-6): 277-283.
Tatoni, T. and Roche, P., 1994. Comparison of old-field and forest revegetation dynamics in Province. Journal of Vegetation Science, 5: 295–302.
Tenenhaus, M., 1998. La régression PLS. Editions Technip, Paris, 254 pp.
Terhoeven-Urselmans, T., Michel, K., Helfrich, M., Flessa, H., Ludwig, B., 2006. Near-infrared spectroscopy can predict the composition of organic matter in soil and litter. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 169, 168-174.
Terhoeven-Urselmans, T., Schmidt, H., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2008. Usefulness of near-infrared spectroscopy to determine biological and chemical soil properties: Importance of sample pre-treatment. Soil Biology and Biochemistry, doi:10.1016/j.soilbio.2007.12.011.
Thébault, E. and Loreau, M., 2006. The relationship between biodiversity and ecosystem functioning in food webs. Ecological Research, V21(1): 17-25.
Thomas, C.F.G. and Marshall, E.J.P., 1999. Arthropod abundance and diversity in differently vegetated margins of arable fields. Agriculture, Ecosystems & Environment, 72(2): 131-144.
Tiedje, J. M., Simkins, S., Groffman, P. M., 1989. Perspectives on measurement of denitrification in the field including recommended protocols for acetylene based methods. Plant and Soil 115, 261-284.
Tilman, D., 2000. Causes, consequences and ethics of biodiversity. Nature, 405(6783): 208-211.
Tondoh, J.E., 2006. Seasonal changes in earthworm diversity and community structure in Central Cote d'Ivoire. European Journal of Soil Biology, 42(Supplement 1): S334-S340.

Trabaud, L., 1994. Postfire plant community dynamics in the Mediterranean Basin. In: J.M. Moreno and W.C. Oechel (Editors), The Role of Fire in Mediterranean-type Ecosystems. Ecological Studies, vol. 107. Springer, New York, pp. 1–15.

Trabaud, L. and Galtie, J.F., 1996. Effects of fire frequency on plant communities and landscape pattern in the Massif des Aspres (southern France). Landscape Ecology, 11(4): 215-224.

Vaidyanathan, S., Macaloney, G., McNeil, B., 1999. Fundamental investigations on the near-infrared spectra of microbial biomass as applicable to bioprocess monitoring. The Analyst 124, 157-162.

Velasquez, E., Pelosi, C., Brunet, D., Grimaldi, M., Martins, M., Rendeiro, A.C., Barrios, E., Lavelle, P., 2007. This ped is my ped: Visual separation and near infrared spectra allow determination of the origins of soil macroaggregates. Pedobiologia 51, 75-87.

Wardle, D.A. et al., 2004. Vulnerability to global change of ecosystem goods and services driven by soil biota. In: D.H. Wall (Editor), Sustaining biodiversity and ecosystem services in soils and sediments. Island Press, Washington, Covelo, London, pp. 101-135.

Williams, P.C., 1993. What does the raw material have to say? NIR news 4, 5, 13.

Wironen, M. and Moore, T.R., 2006. Exotic earthworm invasion increases soil carbon and nitrogen in an old-growth forest in southern Quebec. Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere, 36(4): 845-854.

Wolters, V. et al., 2000. Effects of global changes on above- and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: Implications for ecosystem functioning. BioScience, 50(12): 1089-1098.

Wood, T.M. and Bath, K.M., 1988. Measuring cellulase activities. In: W.A. Wood and S.T. Kellogg (Editors), Biomass: Part A. Cellulose and Hemicellulose. Methods in Enzymology. vol. 160. Academic Press, London, pp. 87–112.

Yoshinari, T., Hynes, R., Knowles, R., 1977. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction and measurement of denitrification and nitrogen fixation in soil. Soil Biology and Biochemistry 9, 177-183.

Zaborski, E.R., 2003. Allyl isothiocyanate: an alternative chemical expellant for sampling earthworms. Applied Soil Ecology, 22(1): 87-95.

# 7. Annexes lombriciens

### Annexe 1.

Valeurs moyennes et écart type (SD) des différents paramètres étudiés.

| Propriétés | unité de mesure | n[a] | moyenne | SD |
|---|---|---|---|---|
| Carbone organique (Co) | g/kg | 49 | 52,16 | 28,02 |
| Azote total (Ntot) | g/kg | 49 | 2,94 | 1,43 |
| C/N | | 49 | 17,69 | 2,49 |
| pH | | 49 | 6,42 | 0,34 |
| Ca | cmol/kg | 49 | 11,18 | 4,11 |
| Mg | cmol/kg | 49 | 2,42 | 1,07 |
| K | cmol/kg | 49 | 0,72 | 0,27 |
| Na | cmol/kg | 49 | 0,14 | 0,06 |
| CEC | cmol/kg | 49 | 15,50 | 5,11 |
| Azote ammoniacal ($NH_4$) | mg/kg | 49 | 21,67 | 25,62 |
| Azote nitrique ($NO_3$) | mg/kg | 49 | 17,52 | 26,05 |
| Dénitrification potentielle | µg N g/dw/h | 48(1) | 0,24 | 0,20 |
| Nitrification potentielle | µg N g/dw/h | 36[b] | 0,19 | 0,27 |
| Carbone microbien (Cmic) | mg/g | 49 | 1,50 | 0,65 |
| Co/Cmic | | 47(2) | 0,03 | 0,01 |
| Cellulase | U1 /g dm | 49 | 0,015 | 0,007 |
| FDA hydrolase | U2 /g dm | 48(1) | 0,0012 | 0,0003 |

Abréviations:
n=nombre d'échantillons utilisé pour le calcul et les PLSR
FDA= Fluoresceine di-acetate
Dw= équivalent poids sec (dry weight equivalent)
U1= µmol de glucose libéré par minute
U2= µmol de fluoresceine libérée par minute

[a] le nombre de valeurs aberrantes suprimées est indiqué entre parenthèses. Dans une des 25 placettes échantillonnées, aucun turricule de vers de terre n'a été trouvé d'où les analyses ont été effectuées sur un total de 49 échantillons au lieu de 50.

[b] seules 36 mesures sont disponibles pour la nitrification potentielle.

**Annexe 2.**

Valorisation des résultats: 2 articles acceptés dans les revues:
**Soil Biology and Biochemistry**
**Science of the Total Environment**

Soil Biology & Biochemistry 40 (2008) 1975–1979

Contents lists available at ScienceDirect

Soil Biology & Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/soilbio

Short communication

## Variable selection in near infrared spectra for the biological characterization of soil and earthworm casts

Lauric Cécillon [a,b,*], Nathalie Cassagne [c], Sonia Czarnes [d], Raphaël Gros [e], Jean-Jacques Brun [a]

[a] Cemagref Grenoble, Mountain Ecosystems Research Unit, 2 rue de la Papeterie, BP 76, 38402 Saint Martin d'Hères, France
[b] French Agency for Environment and Energy Management (ADEME), 2 square La Fayette, BP 90406, 49004 Angers cedex 01, France
[c] INRA, URFM, Ecologie des Forêts Méditerranéennes, UR 629, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon cedex 9, France
[d] Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS UMR5557, INRA USC 1193, Ecologie Microbienne, Bât G. Mendel, 43 bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne, France
[e] Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie (IMEP), Facultés des Sciences St-Jérôme, Boîte 452, 13397 Marseille cedex 20, France

ARTICLE INFO

*Article history:*
Received 26 January 2008
Received in revised form 13 March 2008
Accepted 31 March 2008
Available online 12 May 2008

*Keywords:*
NIRS
PLSR
Wavelength selection
Soil biogenic structures
Soil macrofauna
Microbiological activity

ABSTRACT

Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) was used to predict six biological properties of soil and earthworm casts including extracellular soil enzymes, microbial carbon, potential nitrification and denitrification. Partial least squares regression (PLSR) models were developed with a selection of the most important near infrared wavelengths. They reached coefficients of determination ranging from 0.81 to 0.91 and ratios of performance-to-deviation above 2.3. Variable selection with the variable importance in the projection (VIP) method increased dramatically the prediction performance of all models with an important contribution from the 1750–2500 nm region. We discuss whether selected wavelengths can be attributed to macronutrient availability or to microbial biomass. Wavelength selection in NIR spectra is recommended for improving PLSR models in soil research.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

STOTEN-10790; No of Pages 6 ARTICLE IN PRESS

SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT XX (2008) XXX–XXX

available at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

www.elsevier.com/locate/scitotenv

Short communication

## Predicting soil quality indices with near infrared analysis in a wildfire chronosequence

Lauric Cécillon[a,b,*], Nathalie Cassagne[c], Sonia Czarnes[d], Raphaël Gros[e], Michel Vennetier[f], Jean-Jacques Brun[a]

[a] Cemagref Grenoble, Mountain Ecosystems Research Unit, 2 rue de la Papeterie, BP 76, 38402 Saint Martin d'Hères, France
[b] French Agency for Environment and Energy Management (ADEME), 2 square La Fayette, BP 90406, 49004 Angers cedex 01, France
[c] INRA, URFM, Ecologie des Forêts Méditerranéennes, UR 629, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon cedex 9, France
[d] Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS UMR5557; INRA USC 1193, Ecologie Microbienne, Bât G. Mendel, 43 bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne, France
[e] Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie (IMEP), Facultés des Sciences St-Jérôme, Boîte 452, 13397 Marseille cedex 20, France
[f] Cemagref Aix en Provence, Mediterranean Ecosystems and Risks Research Unit, 3275 Route de Cezanne, CS 40061, 13182 Aix en Provence Cedex 5, France

ARTICLE DATA

Article history:
Received 13 May 2008
Received in revised form 4 July 2008
Accepted 16 July 2008

Keywords:
NIRS
Soil quality
Soil health
Soil monitoring
GISQ
Soil biogenic structures

ABSTRACT

We investigated the power of near infrared (NIR) analysis for the quantitative assessment of soil quality in a wildfire chronosequence. The effect of wildfire disturbance and soil engineering activity of earthworms on soil organic matter quality was first assessed with principal component analysis of NIR spectra. Three soil quality indices were further calculated using an adaptation of the method proposed by Velasquez et al. [Velasquez, E., Lavelle, P., Andrade, M. GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. Soil Biol Biochem 2007; 39: 3066–3080.], each one addressing an ecosystem service provided by soils: organic matter storage, nutrient supply and biological activity. Partial least squares regression models were developed to test the predicting ability of NIR analysis for these soil quality indices. All models reached coefficients of determination above 0.90 and ratios of performance to deviation above 2.8. This finding provides new opportunities for the monitoring of soil quality, using NIR scanning of soil samples.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

# Annexe 5.3 : MICROBIOLOGIE

**RESUME**

Les travaux de microbiologie ont porté sur les communautés intervenant dans les deux principaux cycles biogéochimiques : ceux du carbone et de l'azote. Ils ont étudiés les effets du nombre de feux, de la fréquence des feux et de la date du dernier feu sur différents paramètres indicateurs des populations bactériennes : taille, diversité fonctionnelle, activités, efficacité métabolique, résistance au stress et résilience.
L'interaction entre répétition des feux et répétition des sécheresses a été étudiée en laboratoire en conditions contrôlées à partir d'échantillons de sol prélevés sur les placettes IRISE, représentant les différentes modalités de régime de feu, et soumis à des cycles de dessiccation/réhumectation répétés une à quatre fois.
Le rôle de la richesse du substrat dans la résilience et la résistance des communautés a été testé par des apports de carbone et éléments nutritifs avec et sans soumission à des stress hydriques. Enfin, les rapports entre végétation et communautés microbiennes ont été étudiés par deux types d'expérimentation : en forêt par élimination des apports racinaires (parcelles « tranchées» isolées des racines) et en laboratoire par des apports en milieu contrôlé de feuilles et de tanins de cistes, espèces dominantes du maquis après incendie.

En raison du substrat très rocheux, nous n'avons pu étudier les sols au-delà de 30 cm, et les analyse préalables réalisées en 2005 ont montré que seuls les horizons 0-5 et 5-15 cm présentaient un intérêt et des variations possibles suivant les modalités. Sauf dans les forêts les plus anciennes, l'essentiel de l'activité bactérienne est concentrée dans l'horizon A des sols, sur les 5 premiers centimètres où se trouve aussi la grande majorité des ressources en matière organique. La quantité de matière organique incorporée au sol par les racines des arbres à des profondeurs supérieures à 30 cm ne sont sans doute pas négligeables, mais ne sont pas accessibles dans le cadre de notre étude.

De façon globale, l'activité microbienne à très court terme est très corrélée à la teneur en eau des sols. L'impact des incendies ne peut donc s'apprécier qu'en contrôlant ce facteur. A court et moyen terme, cette activité est également très liée aux ressources en matière organique du sol. Tous les facteurs qui contribuent à augmenter ou diminuer la quantité de matière organique disponible, dont les incendies, jouent directement sur la taille et l'activité des communautés microbiennes des sols. La qualité de la matière organique est également importante. Ces points sont développés ci-dessous.

**Taille et composition des populations**

La biomasse globale dans l'horizon A des communautés microbiennes hétérorophes (celles qui utilisent les ressources carbonées du sol) est diminuée de 40% 3 ans après un incendie comparativement aux témoins de 50 ans ou plus, et semble correctement restaurée après 15 à 25 ans bien qu'encore inférieure de 20%. Elle dépend essentiellement du temps depuis le dernier incendie. De ce point de vue, l'horizon B (5-15 cm) est totalement insensible au régime d'incendie comme au temps écoulé après les feux, sauf dans les témoins les plus anciens (>150 ans). Cette stabilité est à mettre en rapport avec le faible impact du feu au-delà de 5 cm de profondeur, qui n'affecte ni la composition chimique ni les ressources disponibles pour les communautés bactériennes, du moins sur le court terme. L'horizon B contient 12% de la biomasse microbienne totale des témoins, 15% 15 à 25 ans après le feu et 20 à 25% dans les modalités brûlées depuis 3 ans, cette proportion augmentant avec la diminution des effectifs de l'horizon A.

D'un point de vue fonctionnel, les communautés impliquées dans le cycle de l'azote sont moins résistantes en moyenne (50% de perte à 3 ans), et moins résilientes car leur activité et la taille de leur population restent très diminuées même 15 ans après le feu.

**Activités bactériennes**

La respiration basale microbienne n'est que peu affectée par le régime d'incendie sur les prélèvements de 2006, et est rétablie à des niveaux élevés dès la 3ème année après le feu malgré la faible taille des populations. L'horizon B contribue pour 20 à 30% de cette respiration totale. La confrontation de différentes analyses permet d'émettre l'hypothèse que le feu sélectionne des communautés résistantes mais à faible efficacité métabolique, consommant de grandes quantités de ressources relativement à activité et croissance, qui réactivent la respiration totale rapidement après le feu. Cependant, dans des tests réalisés en 2007 après incubation en milieu contrôlé, cette respiration diminue significativement et brusquement pour la plus grande

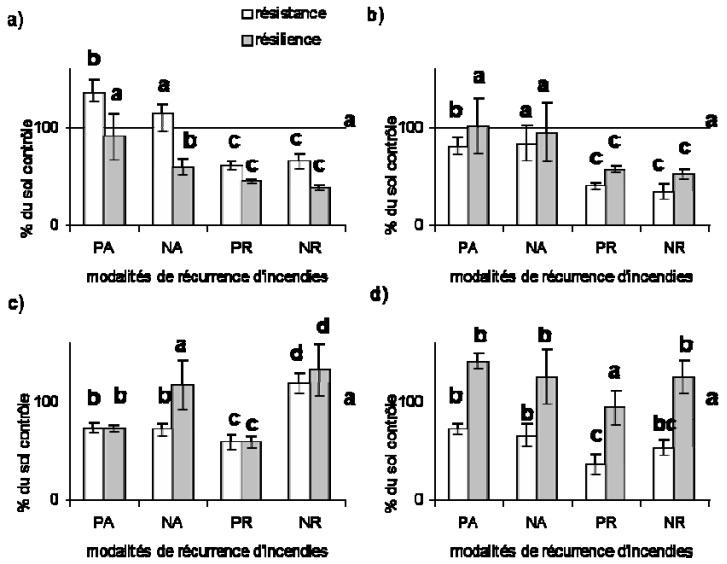
fréquence d'incendie, montrant qu'il existe un seuil critique même pour les populations résistantes, venant à la fois d'une réduction des populations et de leur diversité fonctionnelle. La répétition des stress hydriques naturels in-situ peut avoir contribué à ce résultat.

Les activités enzymatiques extracellulaires, traduisant certaines activités de décomposition de la matière organique par les bactéries, sont profondément modifiées par les incendies mais suivant des schémas variables. Pour la majorité, l'activité diminue quand la perturbation par le feu augmente : soit uniquement en fonction du temps depuis le dernier feu, ce qui traduit une résilience régulière, soit aussi en fonction soit du nombre total de feu, ou surtout de l'indice de fréquence des feux, ce qui montre une perte de résistance ou de résilience en cas de stress trop répété ou trop rapprochés. Les réductions d'activités peuvent êtres dues à une matière organique peu propice (qualité modifée des acides humiques), à la désactivation de certains enzymes (adsobtion, …) sur les nouvelles molécules créées directement ou indirectement par les incendies, à une concurrence avec des champignons ou à une modification des communautés. Quelques fonctions sont favorisées par des feux peu fréquents, mais finissent par décroître si les feux sont trop nombreux. Leur activité est maximale pour des niveaux de perturbation intermédiaire (NA ou PR). Les analyses d'activité enzymatiques sont les seules pour lesquelles des niveaux significativement différents ont été trouvés entre modalité dans l'horizon B du sol (5-15cm), les variations suivant assez fidèlement celles observées dans l'horizon A.

Les analyses de la matière organique montrent des modifications significatives des apports par la litière ainsi que de la qualité de la matière organique des sols avec une fréquence élevée des incendies. Ces modifications se traduisent par une proportion plus élevées de molécules récalcitrantes à la dégradation microbienne ou même inhibitrices de cette activité (structures aromatiques, tanins condensés), qui peuvent expliquer les réductions observées.
Le rôle de ces substances a été testée et confirmée par des expériences spécifiques où l'on a ajouté des feuilles de cistes broyées ainsi que des extraits de tanins condensés sur des cultures bactériennes prélevées dans les modalités IRISE. L'apport de feuilles, procurant des ressources carbonées, a un impact globalement positif sur l'activité bactérienne tandis que les apports d'extraits de ces feuilles freinent cette activité. Les impacts des tanins sur la dynamique des cycles biogéochimiques sont dus à leur toxicité sur la cellule microbienne. Les tanins perturbent les phosphorylations oxydatives et les transports d'électrons, empêchant ainsi le bon déroulement du métabolisme énergétique des micro-organismes. Par ailleurs, les tanins condensés, via leur capacité à se complexer avec des protéines par des liaisons hydrogènes, forment des complexes stables avec les protéines enzymatiques limitant l'activité de ces enzymes et donc celle des bactéries sur la décomposition de la matière organique et dans les cycles biogéochimiques. Ces apports de tanins et globalement de substances récalcitrantes sélectionneraient dans le sol les communautés microbiologiques les plus aptes à métaboliser ces substances, dont font partie les champignons, notamment les espèces mycorrhyziennes des cistes.
Le cycle de l'azote est particulièrement affecté, et la disponibilité de l'azote est réduite même avec des apports de feuilles broyées de cistes. Les cistes, et plus globalement les espèces sclérophylles dominantes dans ces milieux après l'incendie, se prémuniraient ainsi d'une concurrence trop forte avec les bactéries juste après le feu dans un milieu où l'azote biodisponible est peu abondant.

La composition végétale, et donc ses apports en matière organique et autres éléments par la litière et par les racines, joue un rôle important sur la structure des communautés bactériennes et leur activité, ainsi que sur l'équilibre entre bactéries et champignons. Il en découle en partie la dépendance de ces communautés vis-à-vis du régime d'incendie et du temps après le feu, lesquels modifient cette composition végétale.

Sur les communautés microbiennes, l'interaction incendies-sécheresse a été testée de façon rigoureuse en laboratoire. Des échantillons de sols issus des modalités IRISE ont été soumis à un nombre variable de cycles dessiccation/réhumectation (1 ou 4) après une période d'incubation destiné à les mettre tous au même niveau d'humidité et d'activité potentielle. Le même test a été réalisé en ajoutant une quantité suffisante de matière organique et d'azote pour que les ressources ne soient pas limitantes, afin de tester la diversité fonctionnelle des communautés présentes.




*Effet de la récurrence des incendies sur la stabilité (résistance et résilience) de la respiration basale microbienne à un stress hydrique et en fonction de la quantité de ressource disponible. Les figures a) et b) illustrent respectivement, la stabilité à un cycle et la stabilité à 4 cycles de dessiccation/humectation sans ajout de ressource supplémentaire au sol. Les figures c) et d) illustrent respectivement, la stabilité à un cycle et la stabilité à 4 cycles de dessiccation/humectation après amendement des sols par un mélange de cellulose/azote. Les lettres minuscules différentes indiquent les différences significatives entre les moyennes des modalités d'incendies et les témoins (100%).*

Quelque soit leur fréquence, les incendies modifient durablement la composition microbienne des sols, sélectionnant des communautés de faible efficacité métabolique. A court terme (jusqu'à au moins 4 ans après le feu), ils sélectionnent des communautés moins résistantes et moins résilientes. Résistance et résilience sont inversement proportionnelles au gradient d'incendies ; cependant, les différences entre peu et beaucoup de feu sont statistiquement significatives pour les feux anciens et peu ou pas pour les feux récents. Les communautés contribuant à la résistance se reconstituent avec le temps puisqu'elles retrouvent un niveau équivalent ou supérieur aux témoins après 15 ans, quel que soit le nombre d'incendies. La résilience reste très inférieure à celle des témoins à 15 ans si les feux passés ont été nombreux.
Lorsqu'on multiplie les stress hydriques, la résistance diminue beaucoup et la résilience augmente légèrement pour toutes les modalités brûlées, les feux récents conservant les moins bonnes performances. Le nombre de feux n'a plus d'effet significatif, montrant que la répétition des sécheresses opère sa propre sélection dans les communautés bactériennes.
L'ajout de ressources en phase d'incubation modifie complètement la réponse des bactéries, modifiant sans doute l'équilibre initial des communautés et leur capacité adaptative : elles deviennent plus résilientes aux stress hydriques, et d'autant plus rapidement que le nombre de feux anciens était important. Les modalités les plus anciennement brûlées deviennent aussi moins résistantes.
La meilleure résilience avec ajout de ressources va dans le même sens que la meilleure résilience des modalités où les feux sont anciens, et où les ressources du sol en matière organique sont plus élevées.

Dans notre contexte écologique, la diminution de la résistance serait induite par une réduction, suite à un incendie récent, de la biomasse microbienne et par une modification de la structure de la communauté.
La diversité fonctionnelle et le quotient métabolique (traduisant l'efficacité de l'utilisation des ressources) sont significativement impliqués dans la résistance des fonctions (activités enzymatiques) et des propriétés de taille (biomasse microbienne totale) et de statut métabolique des communautés microbiennes à un cycle de sécheresse.
Nos résultats valideraient ainsi l'hypothèse de la nécessité d'une importante redondance fonctionnelle pour la conservation d'une résistance et d'une résilience élevées.

# Rapport Final Programme IRISE – Volet Microbiologie

**Rédaction : Gros R. (IMEP), Guénon R. (IMEP), Carrara M. (IMEP), Czarnes S. (LEM), Clay A. (LEM).**

## I. Effets de la récurrence des incendies sur le fonctionnement microbien des sols (Campagne 2006) – Travaux réalisés par l'IMEP (UMR 6116) et le LEM (UMR 5557)

### I.1. Introduction

Le feu est la principale perturbation naturelle des écosystèmes continentaux. Un incendie de forêt, qu'il soit d'origine naturelle ou anthropique, participe à la dynamique de l'écosystème forestier en interrompant ou en modifiant l'évolution des communautés végétales. Il entretient une hétérogénéité spatiale qui contribue au maintien de la biodiversité à l'échelle du paysage. Le feu enrichit le sol en éléments minéraux et favorise la croissance d'espèces végétales pyrophytes. Les effets d'un incendie sont complexes (Neary et al., 1999) et dépendent de sa durée et de son intensité, de la nature de la végétation plus ou moins combustible et de la topographie (Robichaud et al., 2000). Bien qu'étant un élément important de la dynamique des écosystèmes du globe, l'augmentation de la fréquence des incendies, particulièrement dans des zones fragiles (savanes africaines, forêts méditerranéennes…) peut conduire à une dégradation importante des écosystèmes. En France, la forêt de la région Provence – Alpes – Côte d'Azur (PACA) s'étend sur plus de 1 200 000 hectares, soit 38% de la superficie de cette région (3ème rang en France). Fragile, elle reste la grande victime des étés méditerranéens : plus de 60 000 hectares sont partis en fumée en 2003, principalement dans le massif des Maures où se situe notre étude.

Les incendies participent à la dynamique des écosystèmes forestiers en interrompant ou en modifiant l'évolution des communautés végétales. Bien qu'étant un élément important de la dynamique des écosystèmes du globe, l'augmentation de la fréquence des incendies, particulièrement dans les forêts méditerranéennes fragilisées par des sécheresses récurrentes et de plus en plus intense, peut conduire à une dégradation importante de la qualité des sols et un blocage de la dynamique de végétation aux stades régressifs de garrigues (Bonnet et Tatoni, 2004). Depuis les cent dernières années, la répétition des feux n'a jamais été aussi élevée et le temps qui les

sépare, jamais aussi court. Dans les sites fréquemment brûlés, le brûlage appauvrit le sol en matière organique et conduit à des phénomènes de désertification parfois irréversibles. La récurrence des incendies peut donc être considérée comme une perturbation importante.

Les micro-organismes jouent un rôle majeur dans la fertilité du sol. Ce sont les premiers agents de décomposition de la matière organique (Vance et Chapin., 2001). La quantité de bactéries et de champignons (biomasse et/ou densité) conditionne la dynamique des cycles biogéochimiques (Thirukkumaran et Parkinson, 2000). Le feu a des effets directs et indirects sur les micro-organismes du sol. Les effets directs, généralement à court terme, altèrent sous l'effet des hautes températures la composition et la densité des communautés microbiennes du sol. Après un incendie unique, certains chercheurs ont mis en évidence une diminution significative de la biomasse, des activités minéralisatrices et de la diversité des communautés microbiennes dans les sols brûlés (Hart et al., 2005). Le feu affecte principalement les horizons superficiels du sol (de 0 à 10 cm de profondeur). Cet horizon est d'ailleurs celui qui concentre une forte densité de micro-organismes et une forte activité microbienne (Neary et al., 1999). L'élévation de la température induite par le feu entraîne une diminution de la biomasse microbienne (DeBano et al., 1998; Pietikainen, 1999) pouvant aller jusqu'à la quasi stérilisation des couches superficielles (Pietro-Fernandez et al., 1998). La résilience de la biomasse microbienne est variable et peut prendre jusqu'à 12 ans dans certains écosystèmes (Fritze et al., 1993). L'humidité des sols est le facteur majeur qui contrôle l'impact du feu sur les propriétés biologiques des sols. Choromanska et DeLuca (2002) montrent que la biomasse microbienne sous l'effet du feu diminue proportionnellement au taux d'humidité des sols probablement due à une meilleure conduction de l'eau par rapport à l'air entraîne l'augmentation de la vitesse de propagation de la chaleur.

Dans une forêt d'épicéa, Pietikainen et Fritze (1995) ont montré qu'un feu de faible intensité provoquait une diminution de la respiration basale microbienne mais non proportionnellement à celle de la biomasse du fait que le quotient respiratoire (qCO2=respiration basale/biomasse) des sols incendiés est plus efficace. Dans des forêts méditerranéennes de pins, le feu diminue les activités enzymatiques déhydrogénases, uréases, phosphatases alcalines, arylsulfatases et certaines protéases et sont corrélées à la respiration basale et la biomasse microbienne (Hernandez et al., 1997). De la même manière, Boerner et Brinkman (2003) montrent que le passage du feu dans un écosystème dominé par des chênes rouges (Quercus rubra L.) induit une diminution des activités enzymatiques des phosphatases acides (15-50%), des β-glucosidases (5-50%) et n'altère pas les activités chitinases et même augmente fortement les phénols oxydases (20-80%).

Le brûlage altère la composition spécifique des communautés microbiennes du sol. Bååth et al. (1995) ont montré par l'analyse des phospholipides membranaires que le feu favorisait le développement des bactéries au dépend des champignons plus sensibles à la chaleur. Cette

sensibilité à la chaleur est particulièrement 'mortelle' chez les Basidiomycètes et en revanche favorise les Ascomycètes en activant la germination des ascospores à l'état de dormance (Torres et Honburubia, 1997). Le feu agit également négativement sur la fragile symbiose entre les plantes vasculaires et les mycorhizes dont les dommages augmentent proportionnellement avec la sévérité du feu (Klopatek et al., 1988). Cependant, Choromanska et DeLuca (2001) démontraient que l'application de faibles feux de manière préventive permettait l'adaptation de communautés microbiennes devenues résistantes aux feux naturels. Fonturbel et al., (1995) corroborent ceci en montrant que l'application périodique de feux dans des forêts de pins entraînait l'adaptation de la microflore totale, et de certains groupes comme les bactéries hétérotrophes, les champignons filamenteux et les algues qui de ce fait ne souffraient pas du passage d'un feu d'intensité moyenne.

On distingue deux types d'effets indirects du feu sur les communautés microbiennes : les effets abiotiques et les effets biotiques. Les effets abiotiques concernent les modifications engendrées par des changements physico-chimiques du sol (texture, pH, disponibilité des nutriments, teneur en matière organique (MO)…). L'un des effets biotiques les plus importants est la dynamique végétale post incendie. En effet, le lien étroit qui existe entre les plantes et les communautés microbiennes du sol (Wardle, 2002) suggère que la restauration de la structure et des fonctions des communautés microbiennes, après le passage du feu, est principalement contrôlée par la dynamique de la végétation, en particulier par la nature des apports en matière organique (Hart et al., 2005).

L'activité des microorganismes responsables de la minéralisation est perturbée, et des transformations se produisent au niveau de l'équilibre entre les groupes fonctionnels microbiens et la qualité de la matière organique. Une augmentation du pool d'ions ammonium (NH4+) peut également favoriser le développement des bactéries nitrifiantes (Hart et al., 2005). Le feu entraînant une diminution et une transformation de la ressource (MO) et des modifications des propriétés des sols va contrôler de manière indirecte la survie et la recolonisation par les organismes du sol. De plus, en produisant des composés toxiques pour les cellules tels que des molécules aromatiques polychlorées ou encore des hydrocarbures arômatiques polycycliques (HAP), le feu va affecter le fonctionnement microbien et ralentir ainsi la dynamique des cycles de la matière. Le feu affecte également la diversité fonctionnelle microbienne (D'Ascoli et al., 2005 ; Overby et al., 2006). Le feu qui affecte la qualité chimique des sols et le fonctionnement microbien peut en retour affecter la stabilité fonctionnelle de ces microorganismes. Les facteurs écologiques (biotiques et abiotiques) qui régulent cette stabilité microbienne sont peu connus bien que les microorganismes soient les principaux acteurs du sol.

Les principaux mécanismes par lesquels la végétation influence les communautés microbiennes telluriques sont : i) la quantité de ressource apportée au système sol (litières, exsudats

racinaires, pluviolessivats), ii) la compétition pour les nutriments (C, N, P) et iii) la qualité des ressources (matière organique labile, récalcitrante à la dégradation). Après un ou plusieurs incendies, la dynamique de recolonisation des écosystèmes par la végétation dépend du niveau de dégradation du milieu induit par le feu (intensité, récurrence, temps de passage), de la qualité et de la quantité de ressources restantes dans le milieu. Le feu en appauvrissant les sols augmente la compétition pour les nutriments (N et P) entre plantes et microorganismes (Kaye et Hart, 1997) et induit le développement d'une végétation adaptée à ces conditions d'infertilités. Les communautés végétales sont alors dominées par quelques espèces sclérophylles de la famille des cistacées (*Cistus albidus*, *C. monspeliencis*, *C. saviifolius*…), des fagacées (*Quercus suber*, *Q. ilex*), des fabacées (*Ulex parviflorus*) et des pinacées (*Pinus halepensis*, *P. pinea*…). L'évolution de la végétation s'accompagne de changements de qualité des apports organiques conditionnant ainsi les activités microbiennes et la dynamique de recyclage de la matière. Les apports sont riches en polyphénols, tannins et terpènes, qui sont très réfractaires à la dégradation. Un chapitre de ce travail sera consacré à l'étude des effets de la végétation sur le contrôle des fonctions microbiennes des sols incendiés.

L'hypothèse générale du programme européen 'IRISE' (Impact de la Récurrence des Incendies Sur les Ecosystèmes) est que les écosystèmes méditerranéens sont en équilibre avec le feu dans une limite qui dépend de la fréquence des incendies. Une trop grande fréquence conduirait à une dégradation sensible du milieu et à un appauvrissement de ses potentialités (i.e. productivité, biodiversité, stabilité). Les écosystèmes situés avant le point de rupture pourraient alors être considérés comme des écosystèmes de références, c'est-à-dire ceux qui seront utilisés pour évaluer l'efficacité des procédés de restauration. Nous testerons dans ce chapitre les effets du nombre de feu, du temps depuis le dernier feu et d'un accroissement de l'histoire contemporaine des incendies (fréquence globale d'incendie) sur le fonctionnement microbien des sols.

## I.2. Matériel et méthodes

### I.2.1. Site d'étude

Le site d'étude est localisé dans le Massif des Maures (Var, France) et s'étend d'Est en Ouest entre les communes 'Plan-de-la-Tour' et 'Saint Aygulf', et du Nord au Sud entre les communes 'Roquebrune-sur-Argens' et 'Sainte-Maxime'. Le climat de cette région, typiquement méditerranéen, avec des hivers doux et humides et des étés chauds et secs, est caractérisé par des précipitations annuelles moyennes de 919 mm et des températures annuelles moyennes de 14°C (données Météo France, moyennes calculées sur la période 1961-2002). Le site d'étude repose sur des gneiss de type migmatique (Debrand-Passard *et al*., 1984). Les sols développés sur ce substrat

siliceux sont de type Dystric Cambisol (SSS WRB, 1998). Une altération importante des profils consécutifs aux incendies conduit à la formation de sols squelettiques et peu différenciés de type Dystric Leptosol (SSS WRB, 1998).

Sur ce site d'étude, 25 parcelles d'environ 400 $m^2$ chacune ont été sélectionnées et étudiées. Le plan d'expérience définit cinq traitements qualitatifs de récurrence d'incendies. Le CEMAGREF a sélectionné six parcelles qui ont subi 3 ou 4 feux mais dont le dernier a eu lieu en 2003 (parcelles dites 'NR'), cinq parcelles qui ont subi 3 feux et dont le dernier a eu lieu en 1990 (parcelles 'NA'), quatre parcelles qui ont subi 2 feux dont le dernier a eu lieu en 2003 (parcelles 'PR'), cinq parcelles qui ont subi 1 ou 2 feu, dont le dernier à eu lieu soit en 1982 soit en 1990 (parcelles 'PA') et cinq parcelles n'ayant pas été incendiées depuis au moins 1950 (parcelles 'C'). Ce plan d'expérience nous permet de tester i) l'effet du régime d'incendie (i.e. C, PA, NA, PR, NR), ii) l'effet du nombre de feux (i.e. 1, 2, 3 ou 4), et iii) l'effet du temps depuis le dernier feu (i.e. >56 années, 16-24 années et 3 années).

### I.2.2. Plan d'échantillonnage

En mars 2006, cinq quadras d'environ 1$m^2$ ont été sélectionnés sur chacune des 25 placettes et les sols prélevés à deux profondeurs (0-5 cm et 5-15 cm). Pour chacune des deux profondeurs, les 5 échantillons par parcelles ont ensuite été tamisés à 2 mm puis mélangés pour obtenir un échantillon composite par parcelle. Ce plan d'échantillonnage est identique pour l'ensemble des équipes du programme.

### I.2.3. Microbial basal respiration and biomass

Basal respiration rate (BR) of each sample was determined by weighing 5 g (dry wt equiv.) sub-samples into 126 ml jars, sealing the jars with lids equipped with rubber septa, and sampling air in the headspace with a needle and syringe after 4 h incubation. Air samples were injected in a model CP-2002-P micro-GC (Chrompack, Middelburg, Netherlands) equipped with a thermal conductivity detector and using He as carrier gas, and analysed for $CO_2$ concentrations. Ambient $CO_2$ concentrations were subtracted from sampled $CO_2$ concentrations and resulting values were adjusted at 22°C according to Ideal Gas Laws using a $Q_{10}$ = 2. Microbial biomass (MB) of each sample was estimated using substrate-induced respiration (SIR) rates (Anderson, 1978). Briefly, 5 g (dry wt equiv.) sub-samples were placed in 500 ml jars and amended with glucose (1000 µg C $g^{-1}$ soil) The amendments were applied as 250 mg of a glucose:talc mixture. The glucose was then dispersed through the forest floor material using a handmixer with one beater (Bradley, 1995). The

amended sub-samples were immediately transferred to 126 ml jars and left uncovered for 100 min, which is the time required to reach maximum initial SIR rate (Anderson, 1978). Excess $CO_2$ accumulated in each sampling jar was then flushed for 5 min with ambient air using a modified aquarium pump. The jars were immediately sealed with lids equipped with rubber septa, incubated for 30 min, and air in the headspace was analysed for $CO_2$ and corrected for ambient conditions as previously described. SIR rates were converted to MB using equations given by Beare et al. (1990). The metabolic quotient ($qCO_2$) of each bulked sample was calculated as BR / MB.

### I.2.4. Measurement of *nirK* copy abundance by quantitative PCR

Quantitative PCR assays were carried out from soil DNA with Lightcycler 480 (Roche Diagnostics, Meylan, France) according to Henry et al. (2004) with primers (5′–3′) nirK876 (ATY GGC GGV CAY GGC GA) and nirK1040 (GCC TCG ATC AGR TTR TGG TT) (Henry et al. 2004). The 20µL final volume PCR mix contained (final concentrations) QuantiTect SybrGreen PCR Master Mix 1X (Qiagen, Courtaboeuf, France), 1µM of each primers, 0.4 µg of T4 protein and 5 ng of soil DNA extract or 5µL of tenfold standard serial dilutions ranging from $10^7$ to $10^2$ *nirK* copies of three linearized plasmids containing different *nirK* genes from environmental samples (Henry et al. 2004). Thermal cycling was carried out in the same conditions as described by (Henry et al. 2004) except than the last cycle with an annealing temperature of 58°C was repeated 45 times. Melting curves and amplified *nirK* fragment length observed after agarose gel running of randomly chosen final PCR products were used to check amplification specificity.

### I.2.5. Denitrifying enzyme activity

Denitrifying enzyme activity (DEA) was measured on soil samples over a short period by making all environmental factors affecting the denitrification rate non-limiting (Smith and Tiedje, 1979). Such measurements provide a snapshot of the concentration of functional denitrifying enzymes in the soil (Tiedje et al., 1989). Fresh soil (10 g equivalent dry mass) was placed into sterile 150 ml plasma flasks sealed with rubber stoppers. The atmosphere of each flask was evacuated and replaced by a 90:10 He–$C_2H_2$ mixture to provide anaerobic conditions and inhibit $N_2O$-reductase activity (Yoshinari et al., 1977). Then, a solution containing $KNO_3$ (200 µg N $g^{-1}$ dry soil), glucose (1 mg C $g^{-1}$ dry soil), and glutamic acid (1 mg C $g^{-1}$ dry soil) was provided in order to achieve 100% water holding capacity. Incubation was carried out at 28 °C for about 6 h. Gas samples (200 ml) were analyzed during the incubation for $N_2O$ concentration using a gas

chromatograph (µGC-AGILENT R3000, SRA Instruments). Denitrifying Enzyme Activity was expressed as µg N h−1 g−1 dry soil.

I.2.6. Nitrifying enzyme activity

Nitrifying enzyme activity (NEA) was measured according to the method proposed by Lensi et al. (1986) in which soil nitrate is measured by conversion to $N_2O$ by denitrification. We have previously shown that this approach gives similar results than traditional extraction–colorimetry method but with higher sensitivity to measure short term nitrate accumulation rate (Le Roux et al., 2008). For each fresh soil sample, two subsamples of 10 g equivalent dry mass were placed into 150 ml plasma flasks. One subsample was used to estimate the initial soil $NO_3^-$ content. This subsample was supplied with a suspension of the denitrifying organism Pseudomonas fluorescens AK15 ($O.D._{580\ nm}$ = 2) in a solution containing glucose and glutamic acid (final soil C concentration for each was 1 mg C g−1 dry soil), achieving 100% water holding capacity. The flasks were sealed with rubber stoppers and the atmosphere of each flask was replaced by a $He_2H_2$ mixture (90:10). The $N_2O$ accumulation was surveyed until the total conversion of soil $NO_3^-$ to N2O. The other subsample was used to determine potential $NO_3^-$ accumulation. In this case, the soil was enriched with a solution of $(NH_4)_2SO_4$ (final concentration: 200 µg N g−1 dry soil), in order to ensure a water content equivalent to 80% of water holding capacity. Then, the flasks were sealed with Parafilm and incubated at 28 °C for 24 h. After aerobic incubation allowing nitrate to accumulate, the soil samples were enriched with *Pseudomonas fluorescens*, glucose and glutamic acid and incubated as described above. $N_2O$ was analyzed on a µGC-AGILENT R3000 (SRA Instruments) chromatograph until total conversion of nitrate to $N_2O$. Nitrifying Enzyme Activity was computed by subtracting the nitrate initially present in the soil from the nitrate present after aerobic incubation, and was expressed as µg N h−1 g−1 dry soil.

I.2.7. Activités enzymatiques

*Extraits enzymatiques concentrés*. Toutes les activités ont été mesurées après l'extraction et la concentration des protéines enzymatiques selon la méthode de Criquet (1999). Dix grammes d'échantillon frais sont mis en suspension dans 100 mL de solution d'extraction ($CaCl_2$, $2H_2O$ à 0,2 mol.$L^{-1}$ + Tween 80 à 0,05% + PVPP à 20 g.$L^{-1}$). La suspension à été mise à agiter pendant une heure (120 oscillations.$min^{-1}$), puis filtrée rapidement avec des bas en nylon et centrifugée (12000 g, 20min, 4°C). Soixante mL de surnageant, préalablement filtrés sur membranes Whatman GF/D (680 µm) puis GF/C (260 µm), ont ensuite été concentrés, par élimination de la phase aqueuse, dans

des tubes à dialyse (12-14kDa) en présence de PEG (polyéthylène glycol) pendant 12 heures (4°C). Le concentré protéique de chaque tube a été repris dans 10 mL de tampon Tris (2 mmol.$L^{-1}$, pH 6,0) puis filtré sur des membranes Whatman de 20µm. Pour chaque activité mesurée, trois répétitions de dosage ont été réalisées par extrait.

*Dosages des activités enzymatiques.*

*FDA hydrolase :* L'activité FDAse a été déterminée selon la méthode de Schüner et Rosswall (1982) que nous avons adapté pour un dosage en microplaques de 96 puits. Dans chaque puit, 60 µL d'extrait ont été incubés (30 min, 37 °C) avec 240 µL de tampon phosphate de potassium (60 mmol.$L^{-1}$ à pH 7,6) et 2 µL de FDA (2 mg.$mL^{-1}$). Une gamme étalon a été préparée dans le tampon phosphate à partir d'une solution standard de fluorescéine (20 µg.$ml^{-1}$). La lecture simultanée de la densité optique (DO) des extraits, et de la gamme étalon, a été effectuée à 490 nm, en utilisant un lecteur spectrophotomètre de microplaques type Elisa 960 (Metertech®). L'activité des FDA hydrolases est exprimée en U (µmol de fluorescéine produit par $min^{-1}$) $g^{-1}$ de matière sèche (U $g^{-1}$ MS).

*Cellulase :* Les cellulases ont été dosées selon la méthode de Criquet (2002). Cinquante µL d'extrait ont été incubés 1h à 50°C avec 450µL de tampon acétate de sodium (50 mmol.$L^{-1}$, pH 6,0) contenant 1 % de carboxyméthylcellulose (CMC). Les sucres réducteurs libérés par l'hydrolyse de la CMC ont été dosés par la méthode de Somogyi-Nelson (Somogyi, 1945 ; Nelson, 1994). Un mélange de 250 µL du milieu réactionnel précédent et de 250 µL de réactif de Somogyi est porté à ébullition pendant 15 min. Après refroidissement, 250 µL de réactif de Nelson et 500 µL d'eau sont ajoutés. Une gamme étalon a été préparée dans les conditions décrites ci-dessous, en remplaçant l'extrait enzymatique par une solution de glucose dont la concentration varie de 0 à 100 µg/mL. La lecture des DO a été effectuée à 610 nm. L'activité des cellulases est exprimée en U (µmol de glucose produit par $min^{-1}$) $g^{-1}$ de matière sèche (U $g^{-1}$ MS).

*Tyrosinase :* L'activité mono-phénol mono-oxygenase (tyrosinase) a été dosée en utilisant le protocole de Saiya-Cork *et al*. (2002). Brièvement, les dosages ont été effectués dans des microplaques de 96 puits en utilisant la L-3,4-dihydroxyphenylalnine (L-DOPA, $\varepsilon^{M}$= 620 L.$mol^{-1}$.$cm^{-1}$) comme substrat. Les puits ont reçu 100 µL d'extrait et 100 µL d'une solution de L-DOPA (25 mmol.$L^{-1}$) solubilisé dans du tampon phosphate de Na (0,1mol.$L^{-1}$, pH 5,7). Après 60 min d'incubation à 25°C, les DO ont été obtenues par lecture des microplaque à 450nm en utilisant un spectrophotomètre type Elisa 960 (Metertech®). L'activité est exprimée en U $g^{-1}$ MS (1U = 1µmole de Dopachrome $min^{-1}$).

I.2.8. Statistical analysis

We used one-way ANOVA to test either the effects of the fire regime, the time since last fire or the number of fire on all measured microbial variables. The posthoc test LSD of Fisher was used to distinguish the significant differences between means at $P < 0.05$. The Pearson correlation was used to test for the significance of the relationships between the microbial variables and FGI, and for microbial variables between them. For all analyses, we checked the residual plots for equal variance. Data were log transformed if necessary to stabilise the variance. All analyses were performed using SPSS 11.0 statistical software (SPSS Inc., Chicago, IL).

## I.3. Résultats et discussion

I.3.1. Effets du régime d'incendie sur les fonctions microbiennes

*I.3.1.1. Effets du régime d'incendie sur la taille et la physiologie des communautés microbiennes*

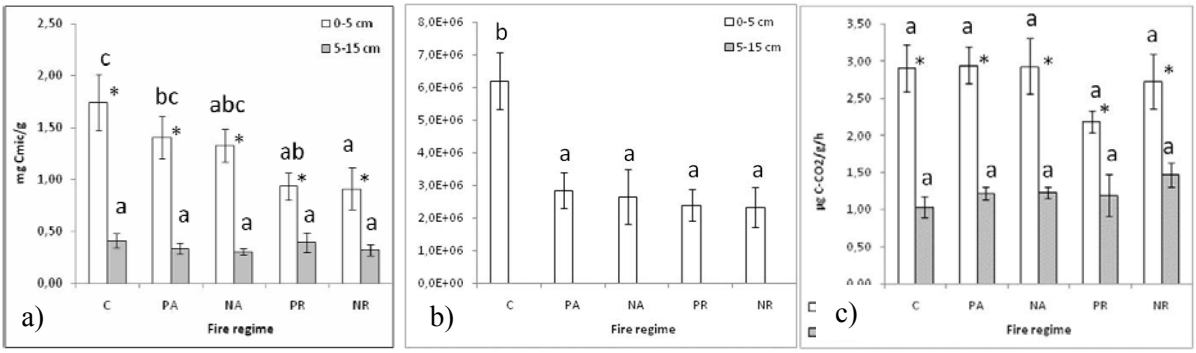



Figure 1 : Effets du régime d'incendie sur a) le carbone microbien hétérotrophe, b) le nombre de copie du gène nirK et c) la respiration basale microbienne. Les modalités d'incendies en abscisse sont C (contrôle non brulés depuis 56 ans), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± erreur type (n = 5). Le signe * indique une différence significative (test t, P<0,05) entre les horizons 0-5 cm et 5-15 cm pour une modalité du régime d'incendie.

Le carbone microbien est significativement affectée par les facteurs 'Régime d'incendie' ($F = 3,02$, $p<0,05$) et fortement contrôlée par le facteur 'Profondeur de prélèvement' ($F = 90,7$, $P<0,001$). Seule la profondeur de prélèvement contrôle significativement la respiration basale ($F = 88,6$, $P<0,001$). Les Figures 1a et 1c illustrent respectivement ces modifications de taille de la communauté microbienne hétérotrophe et d'activité respiratoire soumis à ces deux facteurs. Concernant le carbone microbien, nous constatons l'absence d'effet des feux, quelque soit leur

nombre ou l'âge du dernier feu, dans l'horizon 5-15 cm. Par contre un feu récent, quelque soit le nombre d'événements précédents ce feu (NR et PR), diminue de moitié (P<0,05) le carbone microbien dans cet horizon. Cette diminution de biomasse microbienne constatée dans l'horizon de surface n'est pas suivie d'une diminution d'activité physiologique respiratoire. Nous ne mesurons qu'une respiration basale significativement (P<0,05) plus basse dans les horizons 5-15 cm, comparativement aux horizons de surface, et ceci indépendamment du régime d'incendie. L'absence de corrélation entre la diminution de biomasse et la respiration basale peut être expliquée soit par une augmentation en carbone labile, peu probable à la suite d'un incendie, soit par une modification de la composition de la communauté en faveur de souches microbiennes zymogènes. Le quotient métabolique (= respiration basale/biomasse microbienne) qui augmente significativement dans les sols NR (données non montrées) confirme l'hypothèse d'une modification de la communauté en faveur d'organismes d'efficacité métabolique faible. Ce résultat semble en désaccord avec les hypothèses traditionnelles relatives aux successions de stratégies r-K qui supposent que l'évolution favorise l'adaptation de bactéries possédant des taux élevés de reproduction dans des conditions de ressources non limitées (stratèges r, bactéries gram-), ou l'utilisation optimale des ressources limitées (stratèges K, bactéries gram+) (Atlas et Bartha, 1998). Ici les incendies, supposés réduire la disponibilité des ressources, favoriserait pourtant des communautés microbiennes à stratégie r. Ceci peut être attribué à la capacité des bactéries gram- à tolérer plus efficacement les stress abiotiques supplémentaires tels que les stress hydriques.

### *I.3.1.2. Effets du régime d'incendie sur les activités enzymatiques extracellulaires*

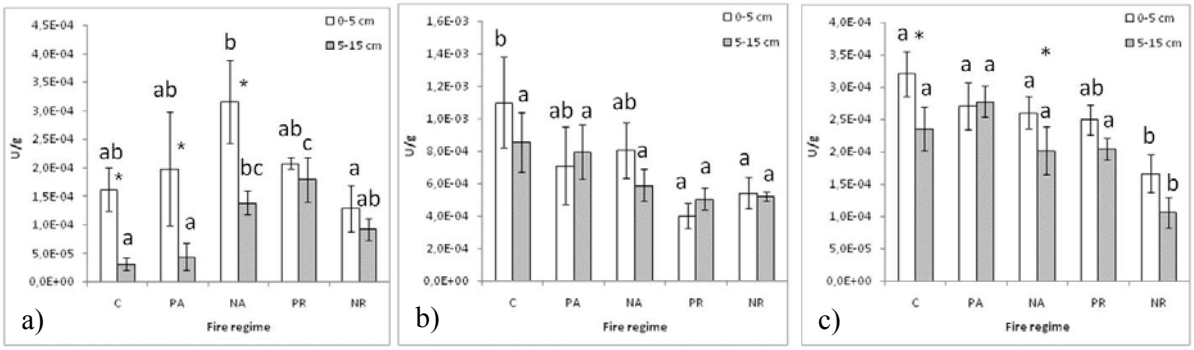



Figure 2 : Effets du régime d'incendie sur les activités enzymatiques extracellulaires a) FDA hydrolase, b) tyrosinase et c) cellulases. Les modalités d'incendies en abscisse sont C (contrôle non brulés depuis 56 ans), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± erreur type (n = 5). Le signe * indique une différence significative (test t, P<0,05) entre les horizons 0-5 cm et 5-15 cm pour une modalité du régime d'incendie.

Les activités enzymatiques FDA hydrolase, tyrosinase et cellulase sont significativement affectées par le régime d'incendie (respectivement F=3, P<0,05 ; F=3,1, P<0,05 et F=8,6, P<0,001). La profondeur de prélèvement contrôle significativement le niveau des activités FDA hydrolase

(F=12,6, P<0,001) et cellulase (F=6,7, P<0,001). Les Figures 2a, 2b et 2c détaillent ces effets. Dans l'horizon de surface, deux incendies lorsqu'ils sont anciens augmentent l'activité FDA hydrolase comparativement aux sols incendiés de nombreuses fois et le dernier feu récent. Une différenciation entre l'horizon de surface et l'horizon 5-15 cm est mesurée lorsque les feux sont anciens et ceci quelque soit leur nombre. Lorsque le dernier feu est récent, quelque soit le nombre d'incendie le précédant, aucune différence entre les horizons n'est mesurée. Dans l'horizon 5-15 cm, l'activité la plus forte est mesurée sous la contrainte d'un faible nombre de feux dont le dernier est récent. Les deux activités tyrosinase et cellulase sont affectées proportionnellement au régime d'incendie et ceci pour les deux horizons. Dans l'horizon 5-15 cm, lorsque le dernier feu est récent, l'activité cellulase est d'autant plus réduite que le nombre de feux précédents le dernier est important. Une tendance similaire est observée dans l'horizon de surface mais sans différences significatives entre PR et NR. Seule la diminution de l'activité cellulase est corrélée significativement (r=0,55, P<0,01) à une diminution du carbone microbien indiquant un effet indirect et durable du régime d'incendie sur la synthèse de cet enzyme via une diminution de la biomasse microbienne. Hernandez et al. (1997) ont mis en évidence une diminution d'un grand nombre d'activités enzymatiques (deshydrogenase, urease, phosphatase alkaline, protéase…) corrélée à une diminution de biomasse microbienne consécutive à l'incendie d'une pinède méditerranéenne. Boerner et Brinkman (2003) ont montré qu'un incendie pouvait également augmenter l'activité tyrosinase de 20 à 80% par rapport au contrôle. Cette augmentation fut attribuée à une modification de la qualité de la matière organique induite par le feu et attribuée à la production de composés aromatiques. Dans notre situation, soit les incendies ne modifient pas cette matière organique au profit de composés aromatiques, donc ne stimulent la synthèse de tyrosinase (cette hypothèse sera vérifiée mais semble peut probable), soit la diminution de biomasse microbienne contrebalance les effets positifs d'une modification de la matière organique sur cette enzyme, soit dans notre situation écologique, les incendies favorisent le développement de communautés bactériennes plutôt que fongiques, ces dernières étant fortement productrices de tyrosinase, soit les teneurs en azote inorganique sont suffisamment importante et réprime la synthèse enzymatique (Fog, 1988). Finalement, l'activité FDA hydrolase est conférée par un pool d'enzyme dite estérases dont les lipases et les protéases sont les protéines dominantes. Il est probable que le régime d'incendie NA favorise l'installation de formations végétales produisant une litière riche en polyméthylènes à longues chaînes caractéristiques des cires et cutines et stimulant la synthèse de lipases.

*I.3.1.3. Fonctions microbiennes impliquées dans la dynamique du cycle de l'azote*

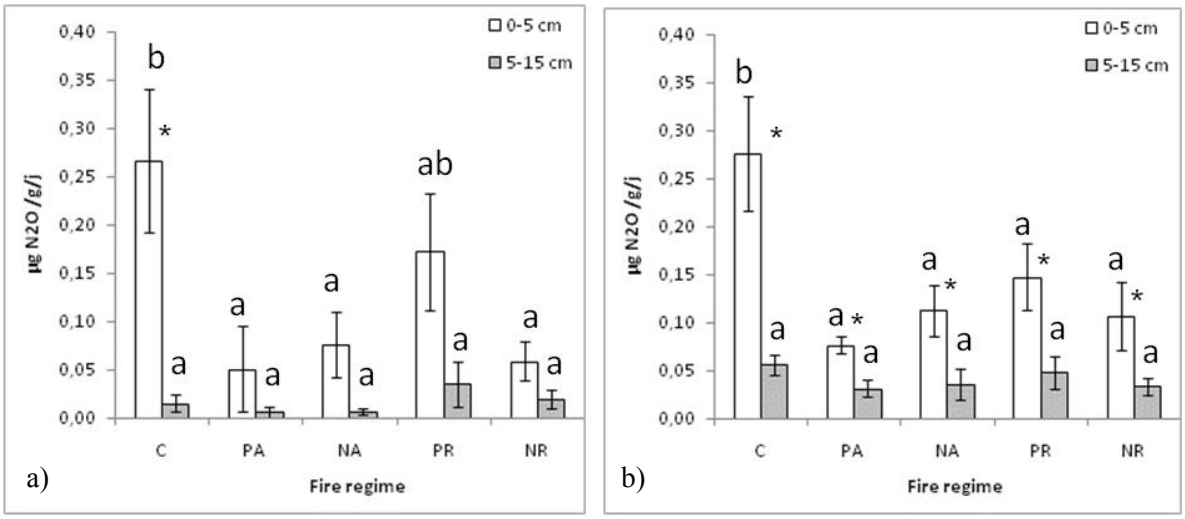



Figure 3 : Effets du régime d'incendie sur a) la nitrification potentielle et b) la dénitrification potentielle. Les modalités d'incendies en abscisse sont C (contrôle non brulés depuis 56 ans), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± erreur type (n = 5). Le signe * indique une différence significative (test t, P<0,05) entre les horizons 0-5 cm et 5-15 cm pour une modalité du régime d'incendie.

Les activités de nitrification potentielle et de dénitrification potentielle sont significativement affectée par les facteurs 'Régime d'incendie' (respectivement, F = 3,8, p<0,05 ; F= 4,8, p<0,05) et fortement contrôlée par le facteur 'Profondeur de prélèvement' (respectivement, F = 24,7, p<0,001 ; F= 33, p<0,001). Quel que soit le nombre d'événements précédents le feu, et quelle que soit la date du dernier feu, les activités de nitrification et de dénitrification diminuent par rapport au contrôle. Pour l'activité de nitrification, la diminution est d'environ 71% sauf pour les parcelles incendiées 'PR' où la diminution n'est que de 35%. La mesure d'activité de nitrification potentielle est réalisée sur un temps cours sans modification de la taille des communautés (communauté nitritante et communauté nitratante) mais ne permet pas de différencier la participation de chacune des deux communautés dans le processus globale de production de $NO3^-$. Pour l'activité de dénitrification, la diminution est d'environ 60 % pour les parcelles incendiées 'NA', 'PR', 'NR' et de 72 % pour les parcelles incendiées 'PA'. L'activité de dénitrification étant induite en fonction des conditions environnementale, elle reflète le pool d'enzyme présent au moment de l'échantillonnage. La taille de la communauté des dénitrifiants possédant le gène nirK diminuant d'environ 50% (voir *I.3.1.1.*), il semble que les variations de taille et d'activité de la communauté des dénitrifiants soient corrélées. Ceci est confirmé par l'analyse des corrélations entre la taille et l'activité (R= 0.58 ; p<0,05)

## I.3.2. Capacité de résilience des fonctions microbiennes

### *I.3.2.1. Résilience de la taille et de la physiologie des communautés microbiennes*

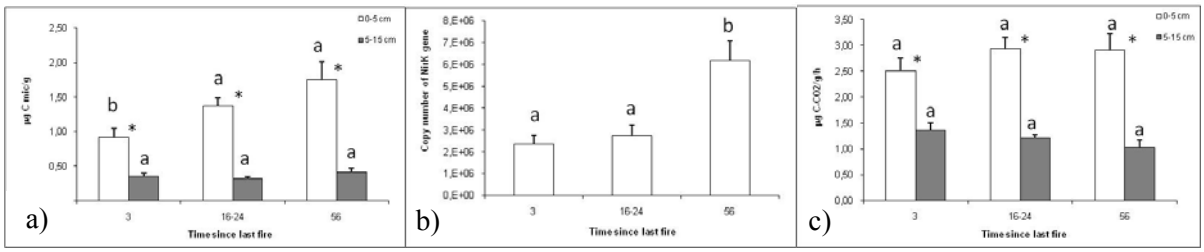



Figure 4 : Effets du temps depuis le dernier feu sur a) la biomasse microbienne hétérotrophe, b) le nombre de copie du gène nirK et c) la respiration basale microbienne. Valeurs moyennes ± erreur type (3 ans, n = 10 ; 16-24 ans, n = 10 ; 56 ans, n = 5). Le signe * indique une différence significative (test t, P<0,05) entre les horizons 0-5 cm et 5-15 cm pour une modalité de temps depuis le dernier feu.

Le temps depuis le dernier feu n'influence significativement que la quantité de carbone microbien (F = 75,2, P<0,001) et le nombre de copie du gène nirK (F = 46,7, P<0,001) dans les sols des horizons superficiels. Les sols ayant subi un feu en 2003 (temps de résilience = 3 ans) présente une quantité de carbone microbien (Figure 4a) significativement plus basse que les sols plus anciennement incendiés. Dès 16 à 24 ans de résilience, la valeur moyenne de carbone microbien semble incomplètement mais significativement restaurée comparativement au sol n'ayant pas subit d'incendie depuis au moins 56 ans. La communauté des dénitrifiants nécessite plus de temps pour retrouver une densité aussi élevée que celle mesurée dans les sols les plus anciennement incendiés. Dans un peuplement de conifères en forêt boréale, Fritze et al. (1993) ont montré que plus de douze années étaient nécessaires pour retrouver une biomasse microbienne équivalente à celle mesurée avant l'incendie. La biomasse microbienne est directement corrélée à la quantité de carbone disponible dans les sols. Il semblerait, en région méditerranéenne, qu'une période de 16-24 ans sans incendie, soit suffisante pour restaurer un stock de matière organique assurant une biomasse microbienne hétérotrophe optimale.

*I.3.2.2. Résilience des activités enzymatiques extracellulaires*

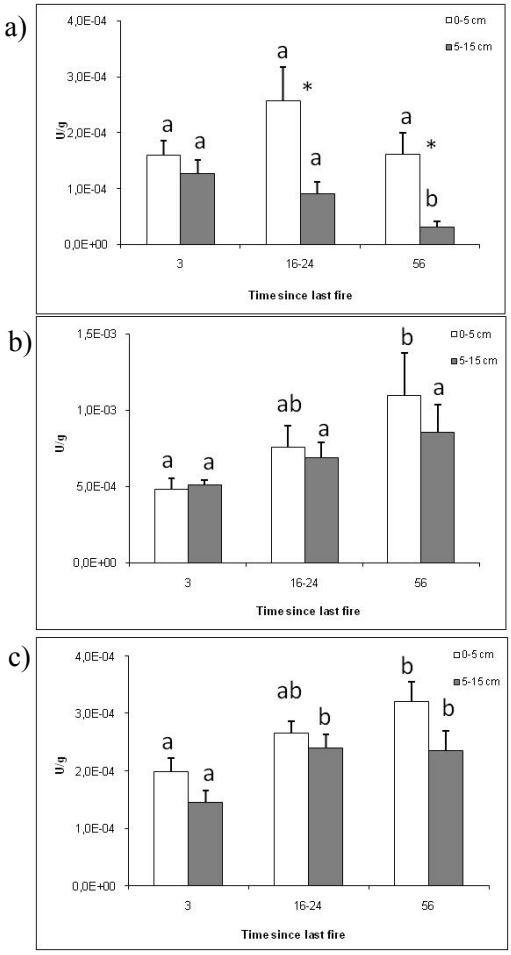



Figure 5 : Effets du temps depuis le dernier feu sur les activités enzymatiques extracellulaires a) FDA hydrolase, b) tyrosinase et c) cellulases. Valeurs moyennes ± erreur type (3 ans, n = 10 ; 16-24 ans, n = 10 ; 56 ans, n = 5). Le signe * indique une différence significative (test t, P<0,05) entre les horizons 0-5 cm et 5-15 cm pour une modalité de temps depuis le dernier feu.

Dans l'horizon de surface, le temps nécessaire à la résilience de l'activité tyrosinase (Figure 5 b) et de l'activité cellulase (Figure 5 c) est plus long que celui permettant la résilience de la biomasse microbienne. Dans l'horizon 5-15 cm, une période de 16-24 ans est suffisante pour permettre la résilience de l'activité cellulase (Figure 5 c), mais insuffisante pour l'activité FDA hydrolase (Figure 5 a). Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer ces résultats. La restauration des stocks de carbone des sols anciennement incendiés et favorisant une résilience de la biomasse microbienne ne semble pas bénéficier à la synthèse de protéines enzymatiques impliquées dans la dynamique de minéralisation de la matière organique. Ainsi nous supposons i) soit que la qualité de la matière organique reste, après une période d'environ 20 ans, défavorable à la synthèse d'enzymes impliquées dans l'hydrolyse de la cellulose, ii) soit que la production d'une litière supposée riche en tannins bloque par précipitation l'activité des enzymes microbiennes (Hattenschwiler et Vitousek, 2000), soit que les incendies modifient durablement la communauté microbienne en défaveur des champignons importants producteurs de phénol-oxydases (Saiya-Cork

et al., 2002). D'une manière générale, les activités enzymatiques cellulolytiques, impliquées dans la dégradation d'une litière riche en cellulose, augmentent avec la fertilisation. Une quantité limitée d'azote inorganique ou organique peut également limiter la synthèse de cellulase (Fog, 1988).

### *I.3.2.3. Résilience des fonctions microbiennes impliquées dans la dynamique du cycle de l'azote*

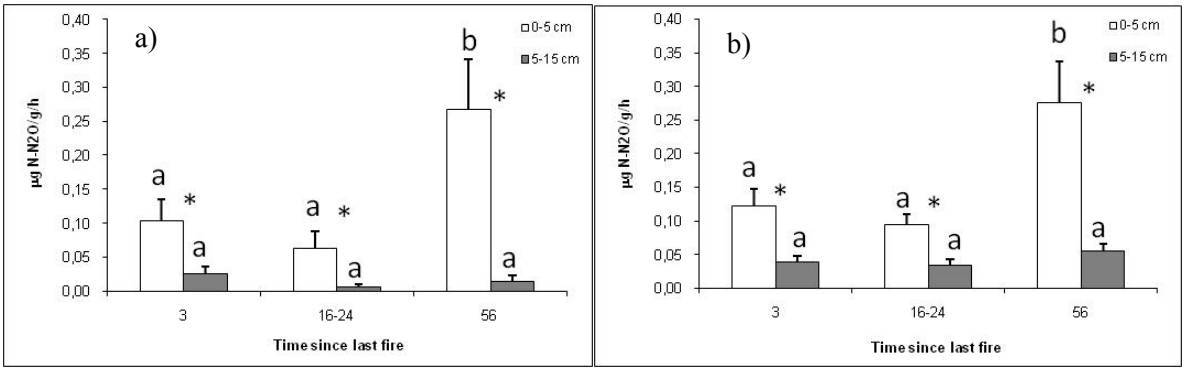



Figure 6 : Effets du temps depuis le dernier feu sur a) la nitrification potentielle et b) la dénitrification potentielle. Valeurs moyennes ± erreur type (3 ans, n = 10 ; 16-24 ans, n = 10 ; 56 ans, n = 5). Le signe * indique une différence significative (test t, P<0,05) entre les horizons 0-5 cm et 5-15 cm pour une modalité de temps depuis le dernier feu.

Comme on l'a vu précédemment pour la taille de la communauté des dénitrifiants, l'activité de cette communauté nécessite un temps supérieur à 24 ans pour retrouver une activité aussi élevée que celle mesurée dans les sols les plus anciennement incendiés, 'C'. La corrélation entre la taille et l'activité de la communauté des dénitrifiants (R= 0.58 ; p<0,05) et la non résilience à la fois de l'effectif et de l'activité pour des temps long (> 24 ans) pourrait s'expliquer principalement par des modifications des facteurs environnementaux (teneure en eau, teneure en NO3-, structure du sol). De façon mineure, d'éventuelles modifications de la structure de la communauté pourraient aussi intervenir.

# II. Effets de la récurrence des incendies sur les relations entre la qualité de la matière organique, les niveaux d'activités et la stabilité des fonctions microbiennes des sols (Campagne 2007) - Travaux réalisés par l'IMEP (UMR 6116)

## II.1. Introduction

Le premier effet visible du feu est la perte de matière organique allant de la faible volatilisation de certains composés, la carbonisation de cette matière et jusqu'à son oxydation complète. Les teneurs en éléments carbone et azote sont principalement affectés par le feu (Neary et al., 1999). En effet, le carbone est transformé en CO2 et beaucoup d'azote se volatilise sous l'effet du brûlage et, consécutivement, lorsque le sol s'assèche (DeBano et al., 1979). Une augmentation du pool d'ions ammonium ($NH_4^+$) après le passage du feu peut également favoriser le développement des bactéries nitrifiantes (Hart et al., 2005). Jonhson et Curtis (2001) ont montré que si le temps depuis le dernier feu est d'au moins dix ans, le stock de carbone organique des sols forestiers augmentait significativement de 8% dans l'horizon A. Ceci peut s'expliquer de différentes manières : par l'incorporation rapide des matières minérales non brûlées (car protégées), la transformation de matières organiques fraîches à des formes plus récalcitrantes diminuant ainsi la minéralisation ou encore l'apparition dans les sols fréquemment brûlés d'espèces fixatrices d'azote. L'effet du feu peut être également appréhendé qualitativement. En effet, en fonction de la température du feu, différentes classes de molécules vont être affectées (disparition ou modification) et dans des proportions différentes. Gonzàlez-Pérez et al. (2004) ont classé les principales modifications de la matière organique induites par le feu:

- Déplacement des groupements oxygénés terminaux (diminue la solubilité)
- Diminution de la longueur des chaînes carbonées (alcanes, acides gras, alcools)
- La cyclisation des sucres et des lipides
- La formation de composés azotés hétérocycliques
- La condensation de macromolécules de substances humiques
- La production de composés pratiquement inaltérables tels que les charbons

Les charbons, produits par la combustion incomplète de résidus végétaux pourraient avoir un rôle écologique sensible notamment dans les sols fréquemment incendiés pouvant représenter jusqu'à 35 à 40 % du carbone organique total (Smith et al., 1999). Zackrisson et al., (1996) estiment que les quantités de charbons peuvent aller de 984 à 2074 kg. $ha^{-1}$. Ces charbons possèdent des

propriétés d'adsorption efficaces et peuvent ainsi réduire la phytotoxicité des phénols. Ces propriétés diminuent au cours du temps et finissent par disparaître au bout d'un siècle.

Des substances hydrophobes telles que des hydrocarbures aliphatiques se trouvent dans les horizons minéraux superficiels (Doer, 2000) et subissent des transformation sous l'effet de la chaleur (gazéification, condensation aux agrégats et particules simples ; Huffman et al., 2001 ; Letey, 2001) et vont jusqu'à leur destruction totale après le passage du feu (DeBano, 2000).

Le feu qui affecte à court terme la dynamique microbienne et la qualité chimique des sols peut, à long terme, modifier la stabilité de l'écosystème. La perte de stabilité des communautés du sol suite à une perturbation affecte les taux de recyclage de la matière (Wardle et Parkinson, 1990), le stockage du carbone dans les sols, et affecte également la disponibilité des nutriments pour les plantes (Orwin et Wardle, 2006). La stabilité est définie par Orians (1975) comme la capacité d'une fonction, d'une activité, à résister aux stress (i.e. à éviter un déplacement de son niveau de base) et à retrouver un fonctionnement proche du fonctionnement initial (i.e. la résilience). La disponibilité des ressources et la diversité des communautés sont deux facteurs susceptibles de contrôler la stabilité fonctionnelle microbienne. Le feu peut modifier directement le niveau d'activité des micro-organismes, mais peut également agir sur la stabilité de ces activités. Dans le cadre plus précis de ce chapitre, nous suggérons que la récurrence des incendies diminue à la fois la diversité microbienne et la disponibilité des ressources, entraînant de fait une réduction de la stabilité des fonctions microbiennes. Nous supposons également que la récurrence des incendies agit jusqu'à un seuil où le nombre supplémentaire d'incendies conduit à une sélection des communautés peu diversifiées mais résistantes à la perturbation.

Afin d'apporter des éléments de réponse à ces différentes hypothèses, nous utiliserons les teneurs en carbone organique et en azote minéral des sols comme des indicateurs quantitatifs de la ressource. Les modifications qualitatives de la matière organique seront étudiées par RMN solide du $^{13}C$. Nous étudierons les effets de plusieurs modalités de récurrences d'incendies sur la stabilité de quelques fonctions microbiennes (activités enzymatiques FDA hydrolases et tyrosinase, respiration microbienne basale et induite par ajout de glucose). Pour cela, nous expliquerons comment nous avons appliqué une perturbation maîtrisée en condition expérimentale et choisie pour son importance dans le fonctionnement des écosystèmes méditerranéens : les cycles d'humectation/dessiccation. La stabilité de ces fonctions sera corrélée aux modifications de la diversité des fonctions cataboliques.

## II.2. Matériels et méthodes

### II.2.1. Sites d'étude et échantillonnage

Nos hypothèses ont été testées en établissant un plan expérimental à trois facteurs.

Le premier facteur est la récurrence des incendies. Pour cette expérience, 17 parcelles du plan d'expérience d'IRISE ont été sélectionnées. Les régimes d'incendies de chaque parcelle (Tableau annexe 2) offrent la possibilité de définir la récurrence selon trois approches :

a) Le plan d'expérience définit 5 traitements qualitatifs d'incendies. Le CEMAGREF a sélectionné trois parcelles qui ont subi 4 feux depuis 1964 et dont le dernier a eu lieu en 2003 (parcelles 'NR'), trois parcelles qui ont subi 3 feux depuis 1962 et dont le dernier a eu lieu en 1990 (parcelles 'NA'), trois parcelles qui ont subi 2 feux depuis 1962 dont le dernier a eu lieu en 2003 (parcelles 'PR'), trois parcelles qui ont subi 1 seul feu en 1982 (parcelles 'PA') et cinq parcelles brûlées 1 seule fois en 1950 (parcelles NB).

b) Ce plan permet également de considérer le temps depuis le dernier incendie (temps de résilience). Les modalités sont : pas d'incendie depuis 57 ans, 17 ans et 4 ans.

c) Les différentes caractéristiques de temps depuis le dernier feu, de nombre de feux et de dates de ces feux, entre les 17 parcelles, permettent de calculer une fréquence globale d'incendie (FGI).

$$FGI = Ni / Log ([I_p-I_{F1}] \times [I_{F1}-I_{F2}] \times \ldots \times [I_{Fi}-I_{Fa}])$$

Cette fréquence est donnée comme le rapport entre le nombre de feux (Ni) et un indice de temps calculé par le produit des intervalles de temps séparant les incendies ($I_p$ est l'instant en année du prélèvement, $I_{Fi}$ est l'instant du $i^{ème}$ feux, $I_{Fa}$ est l'instant du feu le plus ancien). Cet indice de temps permet de distinguer les différentes parcelles en intégrant les périodes de résilience propres à l'histoire de vie de chacun des sols incendiés.

En mars 2007, cinq échantillons de sol (0-5 cm de profondeur) ont été prélevés aléatoirement sur chaque parcelle. Les 5 échantillons ont ensuite été mélangés pour obtenir un échantillon composite par parcelle (N=17). Les échantillons ont alors été tamisés à 2 mm et conservés au frais (4°C) en attendant le début de la phase expérimentale de laboratoire.

Le deuxième et le troisième facteur, respectivement la disponibilité des ressources et la récurrence d'un stress hydrique, ont été appliqués au laboratoire. Pour cela, les échantillons de terrain ont été subdivisés en deux parts égales. L'une d'elle, nommée F pour 'fertilisée', à été amendée d'un mélange de cellulose pure microcristalline (Sigma) et d'azote inorganique (nitrate d'ammonium). Ces apports simulent des quantités non limitantes de différentes ressources. La quantité de cellulose apportée à un échantillon (20 $mg.g^{-1}$ de matière sèche) a été préalablement déterminée de manière à favoriser une respiration microbienne basale optimale. La quantité d'azote apportée aux échantillons a été calculée pour obtenir un rapport C/N du mélange cellulose/azote égale à 15. La deuxième partie de l'échantillon composite de terrain n'a pas été amendée, elle sera nommée C pour 'contrôle'.

Pour chaque parcelle, trois fractions de 120 grammes (équivalent du poids sec) de sols F et C ont alors été pesés dans trois pots d'horticulture en plastique noir (10×10×8 cm). Ces échantillons ont été soumis à une phase de stabilisation de 7 jours dans des conditions de température (30°C) et d'humidité optimales (60% de leur capacité au champ).

Après la semaine de stabilisation, le tiers des échantillons (nommés T pour 'Témoin' ou non perturbés) ont été maintenus dans ces conditions d'incubation pendant 28 jours consécutifs. Les échantillons de la deuxième et de la troisième séries subiront un stress hydrique de récurrence différente, respectivement 1 et 4 cycles de dessiccation et d'humectation (cycle D/H) (Mikha *et al.*, 2005). Les premiers résultats obtenus dans le cadre du projet IRISE montrent que l'eau est un facteur clé dans la réponse des communautés microbiennes à la récurrence des incendies. L'importance de l'eau dans ces sols est telle que la physiologie et l'activité des communautés microbiennes sont probablement régies par des alternances de phases de disponibilité hydrique et de sécheresse (Nagy et Macauley, 1982 ; Nizovtseva *et al.*, 1995). Chaque cycle contient deux phases : i) une période de dessiccation de cinq jours (assèchement des sols à 30°C pour obtenir une quantité d'eau finale inférieure à 10% de leur capacité au champ), ii) une période d'humectation de deux jours (retour rapide à une quantité d'eau égale à 60% de leur capacité au champ).

Les variables décrites ci-dessus ont été mesurées soit après la phase de stabilisation, soit le lendemain de la dernière période d'humectation du dernier cycle D/H (mesure de la résistance), soit 14 jours après la dernière période d'humectation du dernier cycle D/H (mesure de la résilience). Pendant cette dernière période, les échantillons ont été conservés dans des conditions d'optimum de température (30°C) et d'humidité (60% de leur capacité au champ).

II.2.2. Microbial basal respiration and biomass

Basal respiration rate (BR) of each sample was determined by weighing 5 g (dry wt equiv.) sub-samples into 126 ml jars, sealing the jars with lids equipped with rubber septa, and sampling air in the headspace with a needle and syringe after 4 h incubation. Air samples were injected in a model CP-2002-P micro-GC (Chrompack, Middelburg, Netherlands) equipped with a thermal conductivity detector and using He as carrier gas, and analysed for $CO_2$ concentrations. Ambient $CO_2$ concentrations were subtracted from sampled $CO_2$ concentrations and resulting values were adjusted at 22°C according to Ideal Gas Laws using a $Q_{10}$ = 2. Microbial biomass (MB) of each sample was estimated using substrate-induced respiration (SIR) rates (Anderson, 1978). Briefly, 5 g (dry wt equiv.) sub-samples were placed in 500 ml jars and amended with glucose (1000 µg C $g^{-1}$ soil) The amendments were applied as 250 mg of a glucose:talc mixture. The glucose was then dispersed through the forest floor material using a handmixer with one beater (Bradley, 1995). The amended sub-samples were immediately transferred to 126 ml jars and left uncovered for 100 min, which is the time required to reach maximum initial SIR rate (Anderson, 1978). Excess $CO_2$ accumulated in each sampling jar was then flushed for 5 min with ambient air using a modified aquarium pump. The jars were immediately sealed with lids equipped with rubber septa, incubated for 30 min, and air in the headspace was analysed for $CO_2$ and corrected for ambient conditions as previously described. SIR rates were converted to MB using equations given by Beare et al. (1990). The metabolic quotient ($qCO_2$) of each bulked sample was calculated as BR / MB.

II.2.3. Activités enzymatiques

*Tyrosinase activity:* Brièvement, on prélève 0,5g de sol équivalent sec auquel on ajoute 6 ml de solution de L-Dopa (3,4 dihydroxyphénylalanine, $\varepsilon^M$= 620 L.$mol^{-1}$.$cm^{-1}$)) à 25mM dans du tampon acétate à pH 6,5 et 50 mM. Après incubation de 15 minutes à l'obscurité et à température ambiante, on réalise 3 aliquotes dans des tubes eppendorf. Les tubes sont alors centrifugés 3 minutes à 12 000 g (4°C). Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à 590nm. Les témoins sont réalisés dans les mêmes conditions que les essais mais en ajoutant 6 ml de tampon acétate à 25mM sans Dopa. Le blanc du spectrophotomètre est fait à l'eau distillée. L'activité est exprimée en U $g^{-1}$ MS (1U = 1µmole de Dopachrome $min^{-1}$).

*Cellulase activity:* A direct procedure for the measurement of cellulase activity was adapted from the method of Deng and Tabatabai (1994). Unless otherwise indicated, a sub-sample of fresh soil (0.5 g dry weight equiv.) was incubated for 1 h at 50°C in 7.5 ml of 50 mM Na-acetate buffer (pH

6.0) with 1% carboxymethylcellulose (CMC). After the incubation step, the sample was centrifuged for 20 min at 12,000 g. The supernatant was analyzed for reducing sugars released in the medium during the hydrolysis of CMC by litter cellulases. Reducing sugars in the supernatant were measured using the Somogyi–Nelson method (Somogyi, 1952; Wood and Bath, 1988). The supernatant (2 ml) was mixed with 2 ml of Somogyi consisting in a mixture (4:1) of Somogyi I (288 g anhydrous sodium sulfate, 24 g sodium potassium tartrate, 48 g sodium carbonate, 32 g sodium bicarbonate in 1.6 l of boiled distilled water) and Somogyi II (72 g sodium sulfate, 8 g copper sulfate in 400 ml of boiled distilled water) reagents. The resulting solution was heated 15 min in a boiling water bath and 2 ml of Nelson reagent (100 g ammonium molybdate, 84 ml conc. $H_2SO_4$, 12 g sodium arsenate in 1.9 l of distilled water) and 2 ml of distilled water were added to the solution. The solution was mixed and the absorbance was measured with a spectrophotometer (Kontron, model Uvikon 860) at 520 nm. A calibration curve was established with glucose (0–100 µg $ml^{-1}$) and the activity of the cellulases was expressed in U (µmol of glucose released $min^{-1}$) $g^{-1}$ of dry matter (U $g^{-1}$ DM).

*FDA hydrolase activity:* Fluorescein di-acetate (FDA) hydrolysis activity was measured by following the method of Adam and Duncan (2001). A sub-sample of fresh soil (0.5g dry weight equiv.) was incubated for 1 h at 37°C in 4 ml of 60 mM K-phosphate buffer (pH 7.6) with 50 µl of FDA solution (2 $mg.ml^{-1}$). After the incubation step, 2 ml of acetone was added to terminate the reaction. The mixture was centrifuged for 3 min at 12,000 g (4°C) and the absorbance of an aliquot of the supernatant was measured with a spectrophotometer (Kontron, model Uvikon 860) at 490 nm. A calibration curve was established with fluoresceine sodium salt (0–20 µg $ml^{-1}$) and the activity of the FDA hydrolase was expressed in U (µmol of fluoresceine released $min^{-1}$) $g^{-1}$ of dry matter (U $g^{-1}$ DM).

*Activités phosphomonoestérases acide (Pma) et alcaline (Pmb)* : Les activités phosphomonoestérases sont déterminées en mesurant l'hydrolyse du *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP) en *p*-nitrophenol (*p*-NP) selon la méthode modifiée de Tabatabai & Bremmer (1969). Le milieu réactionnel est constitué de 0,5 g de sol, 4 ml de tampon acétate de sodium 0,1 M à pH 5 (Pma) ou 4 ml de tampon NaOH glycine 0,1 M à pH 9 (Pmb) et de 1 ml de *p*-NPP à 5 mM dans leurs tampons respectifs. Après incubation 1 heure à 37°C, la réaction est stoppée par l'ajout de 1 ml de $CaCl_2$ à 0,5 M et de 4 ml de NaOH à 0,5 M. Après centrifugation 3 minutes à 12 000 *g* et à 4°C, la densité optique est lue à 412 nm. Les activités phosphomonoestérases sont exprimées en µmoles de *p*-NP libéré par minute (U) et par gramme de matière sèche ($U.g^{-1}MS$).

II.2.4. Carbon-utilisation pattern analysis

The functional structure and diversity of the extractable microflora were assessed by carbon-utilisation pattern from each bulked sample generated with BIOLOG® EcoPlates (BIOLOG Inc., Hayward, CA). The community-based approach using MicroPlates screens the ability of microbial communities to utilise diverse and selected carbon substrates and allows to assess their functional catabolic diversity (Garland and Mills, 1994). We purposely did not adjust for a uniform inoculum density as we considered the total microbial number as an inherent characteristic of microbial diversity in each plot (Bradley et al., 2000). Briefly, 3 g (dry wt equiv.) of sub-sample was added to 150 ml of sterile 0.1 % Na-pyrophosphate solution (pH 7.0) to which 15-20 sterile glass beads (3 mm) were added. The mixture was then shaken on an orbital shaker for 20 min., and centrifuged at 500 x *g* for 10 min at 4 °C to obtain the microbial suspension. Exactly 1 mL of supernatant was diluted into 99 mL of sterile saline solution (0.85% NaCl), hand-mixed for 30 sec. and left to stand for 10 min. A 125 µL aliquot of the diluted solution was added to each of 96 wells in a BIOLOG® EcoPlate. Each plate comprised of a triplicate set of 31 wells containing redox-sensitive tetrazolium dye plus a unique C-source, and one control well containing dye only. Plates were incubated at 25°C and colour formation in each well was monitored as monochromatic light (595 nm) absorbance, using a Bio-Tek FL600 automated plate reader (Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT). Measurements were made three times daily until average well colour development (AWCD) exceeded a value of 1.0 standardised absorbance units (i.e., 3–5 days incubation). The incubation time ($T_{0.75}$) corresponding to AWCD = 0.75 absorbance unit was then determined for each triplicate set of a plate. Before statistical analyses, the absorbance value of the control well at $T_{0.75}$ was subtracted from absorbance values at $T_{0.75}$ of the 31 associated wells containing C substrates. The average number of substrate use at $T_{0.75}$ (i.e. substrate richness or SR) was calculated for each triplicate set of a plate and considering >0.1 absorbance units as a positive reaction. To measure the functional diversity (FD), the Shannon's diversity index was calculated (Zack et al., 1994) from : $FD = - \sum p_i(\ln p_i)$, where $p_i$ as the ratio of colour development of the $i^{th}$ well to the sum of colour development of all positive wells.

II.2.5. Disponibilité des formes inorganiques de l'azote et du phosphore

L'extraction de l'azote minéral (ammonium et nitrate) a été réalisée avec 50 mL d'une solution de KCl M pour 5g de sol équivalent sec. Les solutions ont été mélangées pendant 1 heure sur un agitateur puis filtrées. Les différentes formes de l'azote inorganique contenues dans les filtrats ont ensuite été analysées par colorimétrie en suivant les protocoles de Mulvaney (1996) et

Keeney et Nelson (1982). La teneur en azote sous la forme d'ammonium ($N\text{-}NH_4^+$) a été quantifiée par la méthode 'salycilate de nitroprusside'. L'intensité de la coloration vert émeraude qui se forme après ajout de salicylate est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 667nm. Le nitroprusside est un catalyseur qui augmente l'intensité et le développement de la coloration. La teneur en azote sous la forme de nitrate ($N\text{-}NO_3^-$) a été quantifiée à l'aide de la méthode dite par 'acide salicylique'. L'absorbance de la coloration jaune de l'acide salicylique nitraté est lue au spectrophotomètre à 410 nm.

### II.2.6. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) solide du $^{13}C$

Les échantillons ont été préalablement traités avec des solutions d'acide chlorhydrique et d'acide fluorhydrique en adaptant les protocoles de Schmidt et al., (1997) et de Gélinas et al., (2001). Les spectres $^{13}C$ haute résolution ont été réalisés sur le spectrophotomètre Bruker DSX 400 MHz du Spectropole des Universités Aix-Marseille I et III. Les spectres $^{13}C$ CP/MAS ont été enregistrés à la fréquence 100,7 MHz avec découplage du proton. Les échantillons d'environ 100 mg placés dans un rotor tournent à une vitesse de 10 kHz inclinés à l'angle magique. Les paramètres d'acquisitions utilisés pour un enregistrement optimal sont une impulsion de 90° pour le proton de durée 2,8 µs, un délai de répétition de 3s, un nombre d'acquisition de 20 K et enfin un temps de contact de 2ms. Les signaux $^{13}C$ sont repérés par rapport à la position du signal de la glycine (carbonyle à 176,03 ppm). L'intensité de chaque région chimique est déterminée par intégration à l'aide du logiciel DmFit (Massiot *et al.*, 2002).

### II.2.7. Analyses statistiques

Après vérification de l'homogénéité de la variance (test de Levene), nous avons utilisé une analyse de variance non paramétrique (Kruskall-Wallis). Nous avons également utilisé le test U de Mann-Withney pour tester les différences, au seuil de significativité fixé à $p<0,05$, entre les moyennes. Une régression linéaire, suivie d'un test de Pearson, a été utilisée pour mettre en évidence une relation entre deux variables. Toutes les analyses ont été réalisées en utilisant le logiciel Statistica 6.0.

Une Analyse en Composante Principale (ACP) et un cercle de corrélations ont été calculés sur des matrices de corrélations (CANOCO 4.5). Ces matrices ont été obtenues respectivement à partir des empreintes fonctionnelles (Biolog®) et des variables environnementales. Le cercle des corrélations permet de comprendre la contribution de ces variables environnementales sur la structuration des communautés.

## II.3. Résultats et discussion

II.3.1 Effets de la récurrence des incendies sur la matière organique des sols

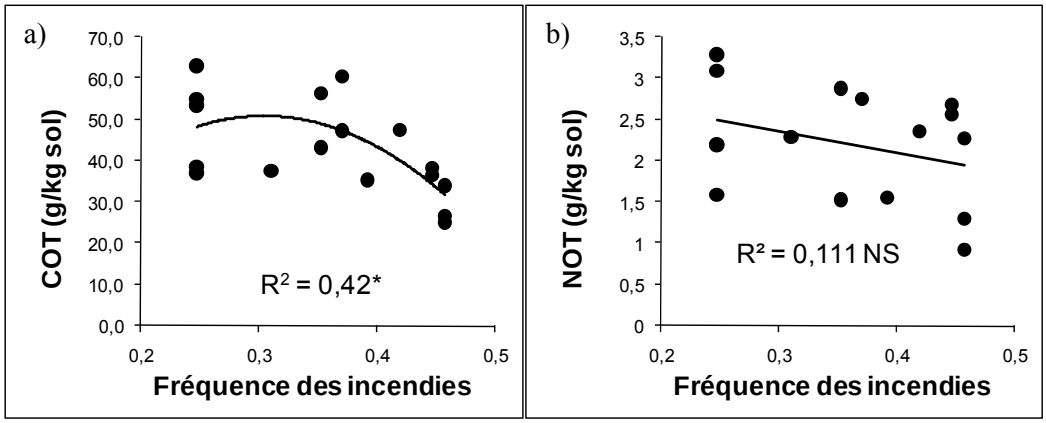



Figure 1 : relations entre la fréquence d'incendies et a) les teneurs en carbone total et b) les teneurs en azote organique des sols.

Les teneurs en carbone organique total des sols sont faiblement négativement mais significativement (P<0,05) corrélées à l'augmentation de la fréquence des incendies (Figure 1a). Deux parcelles non incendiées depuis au moins 57 ans sur les cinq étudiées présentent des teneurs en COT inférieures à celles mesurées dans les sols incendiés 1 à 2 fois au cours de cette période. Comparativement à ces parcelles témoins les sols PR, PA et NA présentent des teneurs en COT plus élevées. Almendros et al. (1990) et Knicker et al. (2005) rapportent des observations similaires dans d'autres écosystèmes forestiers avec parfois un doublement des teneurs en COT dans les sols incendiés. Les incendies de très forte intensité sont supposés minéraliser les composés carbonés et azotés de la matière organique des sols et donc engendrer une diminution des stocks de carbone au moins dans les premiers centimètres de profondeurs. Cependant après un incendie de moyenne intensité, une part considérable de biomasse végétale morte et partiellement carbonisée s'accumule sur le parterre forestier. Par ailleurs, les apports par les cendres d'éléments minéraux nutritifs (dont l'azote inorganique) favorisent le développement rapide de la strate herbacée et donc augmente la production de litière. Si ces apports peuvent expliquer des teneurs en carbone plus élevées dans certains sols incendiés par rapport à certains sols contrôle, ces résultats dépendent de la densité du couvert végétale avant l'incendie, donc du régime d'incendie préalable au dernier feu et à l'intensité de ce dernier feu. En effet, nous constatons que seul un nombre important de feux, dont le dernier est récent, a un effet négatif significatif sur ces teneurs en COT. Il semblerait dans ce cas qu'un nombre important de feux pourrait avoir eu un effet négatif important sur la biomasse végétale restante (chute de productivité) et que cette biomasse lorsqu'elle serait incendiée ne permettent de combler les pertes en COT des sols par la minéralisation de la matière organique. Pour de faibles valeurs de fréquences, l'écosystème possède un potentiel de résilience élevé et stable de son stock

de matière organique. Nous pouvons effectivement supposer qu'un faible nombre d'incendies, espacé dans le temps, permet le développement de communautés végétales typiques des régions méditerranéennes sur substrats acides (Etage dominant de vieux chênes liège avec sous-étage assez dense de chêne vert (*Quercus ilex*), chêne blanc (*Quercus pubescens*), arbousier (*Arbustus unedo*), petit houx (*Ulex parviflora*), bruyère arborescente (*Erica arborea*). Ces communautés favorisent à la fois l'élaboration et le renouvellement du stock de matière organique au sol. Au-delà de ce seuil se sont des communautés végétales adaptées à la fréquence élevée des incendies qui se développent. Ces communautés pyrophytes (peuplement de chêne liège avec rejets de chêne blanc et chênes verts sur un maquis dense de bruyère arborescente, cystes (*Cystus albidus*, *C. montpeliensis*) et argelas (*Calycotome spinosa*) allouent leur énergie à la fabrication préférentielle de tissus pérennes et peu concentrés en nutriments (tiges et racines). Les stocks de matière organique sont, dans ces circonstances fréquemment minéralisés et faiblement restaurés. Cette fréquence n'impose aucune contrainte aux teneurs en azote organique (Figure 1b).

Outre les modifications quantitatives de la matière organique constatées ci-dessus, les analyses RMN du 13C effectuées sur les mêmes échantillons montrent également les effets des incendies sur la qualité de cette matière organique. A l'exception de la région C alkyl (Figure 2a), caractérisée par des molécules aliphatiques à plus ou moins longues chaînes type acides gras, cutines, cires, hemicellulose…, toutes les régions étudiées présentent une relation significative avec la fréquence des incendies. Les régions C méthoxyl (Figure 2b) (groupe –OCH3 de la lignine, acides aminés…), C carbohydrates (Figure 2c) (cellulose, hemicellulose, polysaccharides, alcool…) et C di O-alkyl (Figure 2d) (C1 anomérique de la cellulose, des tanins condensés et des composants de la lignine) diminuent significativement lors de l'augmentation de la fréquence des incendies. Inversement, les régions attribuées aux C aromatiques (i.e. C aryl = polyphénols, lignine et composants des tanins, C aromatiques C- et O- substitués (Figure 2e) et C phénoliques = phénols, C aromatiques O- et N- substitués (Figure 2f)) sont positivement corrélées à une augmentation de la fréquence des incendies. Quelques soit la fréquence d'incendies les régions dominantes de la matière organique sont les régions C alkyl et C O-alkyl (en moyenne 24 et 28% respectivement) et C aryl (23%). Le ratio Alkyl/O-Alkyl et l'indice d'aromaticité augmentent tous les deux proportionnellement à l'augmentation de la fréquence des incendies (Figure 3a et b).

Le ratio Alkyl/O-Alkyl caractérise le degré d'humification de la matière organique d'un sol (Baldock et Preston, 1995). Au cours de la décomposition de cette matière organique, sont généralement observées une augmentation relative de la région C alkyles et une diminution de l'intensité relative de la région C O-Alkyl. Ici les incendies qui n'affectent pas significativement la composition en poly-méthylènes à longues chaînes (pics à 25 et 40 ppm de la région C alkyl) de la matière organique, diminuent de manière importante l'intensité relative de la région C O-Alkyl.

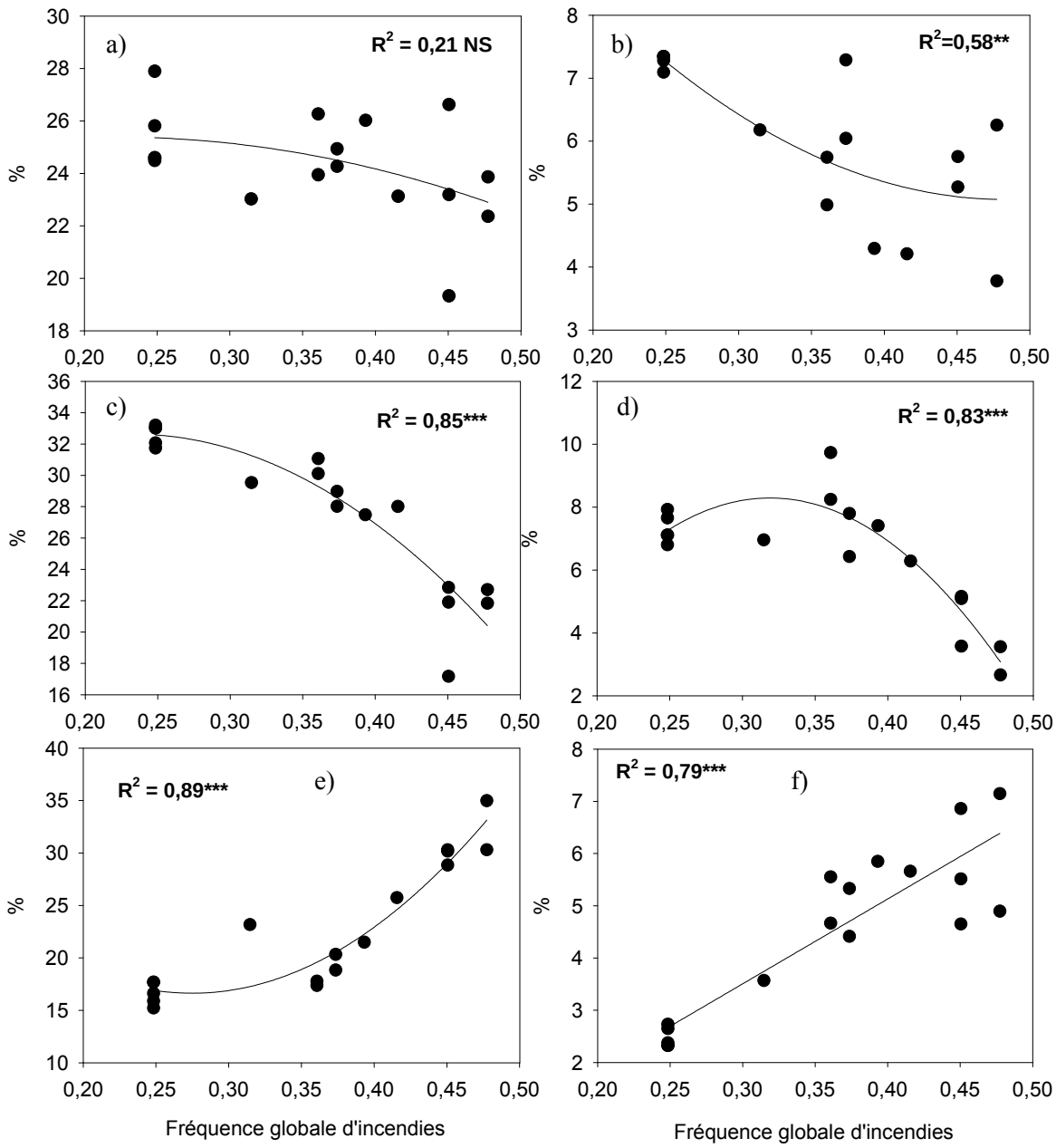



Figure 2 : Relations entre la fréquence d'incendies et les intensités relatives des régions a) C Alkyl, b) C méthoxyl, c) C carbohydrates, d) C di O-Alkyl, e) C Aryl et f) C phenolique, dérivées des spectres RMN solide du 13C

Le degré d'humification augmente ainsi sous l'effet des incendies répétés par une action du feu importante, directe ou indirecte, sur une diminution en proportion des molécules de type carbohydrates, cellulose, hémicellulose et polysaccharides. Les effets du feu sur le degré d'humification sont cependant différents de ceux induits par la décomposition microbienne. En effet, il est reporté par Kogel-Knaber et al. (1992) que cette décomposition se traduisait par une production de composés alkyl à longues chaînes. Webster et al. (2001) ont également suggéré que la qualité de la ressource en carbone organique assimilable par les hétérotrophes est inversement corrélée à ce ratio. L'augmentation de l'aromaticité de la matière organique induit par la récurrence des incendies confirme une dégradation importante de la qualité de cette matière organique à la fois

au profit de composés aromatiques et polymères aliphatiques récalcitrants à la dégradation microbienne et au dépend de composés labiles comme la cellulose.

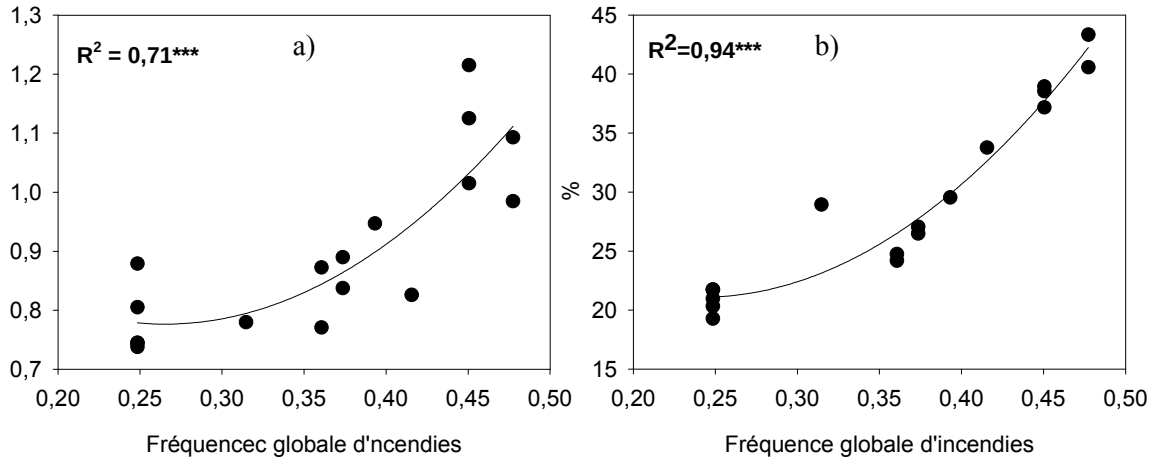



Figure 3 : Relations entre la fréquence d'incendies et a) le degré d'indice d'humification et b) le pourcentage d'aromaticité de la matière organique, calculées à partir des spectres RMN solide du 13C

II.3.2. Effets de la récurrence des incendies sur le fonctionnement microbien

Les résultats des corrélations linéaires entre les différentes variables (mesurées juste après la phase de stabilisation) et le nombre de feux, le temps de résilience ou la fréquence d'incendies sont consignés dans le tableau 1.

| Variables | Nombre de feux | Temps de résilience | Fréquence d'incendies |
|---|---|---|---|
| Diversité fonctionnelle | -0,289 NS | 0,447 NS | -0,434 NS |
| Respiration basale | **-0,556*** | **0,537*** | **-0,580*** |
| Biomasse microbienne | **-0,497*** | **0,690**** | **-0,702**** |
| Quotient métabolique | -0,050 NS | -0,234 NS | 0,171 NS |
| FDAse | **0,671**** | **-0,683**** | **0,698**** |
| Tyrosinase | **-0,651**** | **0,677**** | **-0,655**** |
| Pma | 0,106 NS | -0,109 NS | 0,036 NS |
| PmB | -0,079 NS | 0,026 NS | -0,049 NS |
| Cellulase | 0,112 NS | 0,195 NS | -0,158 NS |

**Tableau 1 :** Résultats des corrélations de Pearson testant les effets de la fréquence des incendies sur les variables chimiques et microbiennes. (Valeurs de *p* : * p<0,05 ; ** p<0,01 ; *** p<0,001 ; NS non significatif). % MO : Matière Organique, Pma : Phosphomonoestérase acide, Pmb : Phosphomonoestérase basique.

Parmi les trois modalités d'incendies, la fréquence est celle qui offre des coefficients de régression (r) les plus élevés et les plus significatifs. La récurrence d'incendies peut être définie comme une combinaison du nombre de feu, du temps de résilience après le dernier feu et de l'intervalle de temps entre chaque feu. De nombreux auteurs (Ojima D.S. et al., 1994 ; Dumontet et al, 1996 ; Boerer et Brinkman, 2003 ; Michelsen et al., 2004) calculent la fréquence en utilisant l'une ou l'autre de ces composantes. Dans notre projet, en plus de ces approches, nous avons calculé une fréquence qui intègre ces différentes notions. Nos résultats montrent que ce calcul est plus pertinent que l'ensemble des informations individuelles (Tableau 1).

| | F | p values | 4 years | 17-25 years | 57 years |
|---|---|---|---|---|---|
| Basal respiration (µg $CO_2$-C $g^{-1}$ $h^{-1}$) | **10.39** | **0.0017** | **1.16 a** | **2.19 b** | **2.24 b** |
| SIR (µg $CO_2$-C $g^{-1}$ $h^{-1}$) | **12.73** | **<0.001** | **9.59 a** | **17.23 b** | **20.15 b** |
| Metabolic quotient ($qCO_2$) | 0.44 | ns | 1.57 | 1.63 | 1.40 |
| Catabolic diversity (H') | **36.10** | **<0.001** | **3.86 a** | **4.02 b** | **4.09 b** |
| FDA hydrolase (U $g^{-1}$) | **6.09** | **0.0125** | **1.18 $10^{-3}$ a** | **1.16 $10^{-3}$ a** | **5.70 $10^{-4}$ b** |
| Phenol oxydase (U $g^{-1}$) | **9.53** | **0.0033** | **0.23 a** | **0.27 a** | **0.44 b** |
| Cellulase (U $g^{-1}$) | **4.56** | **0.0299** | **1.03 $10^{-4}$ a** | **1.39 $10^{-3}$ b** | **6.15 $10^{-4}$ b** |
| Phosphomonoesterase acide (U $g^{-1}$) | **35.01** | **<0.001** | **6.86 $10^{-3}$ a** | **1.36 $10^{-2}$ b** | **1.43 $10^{-2}$ ab** |
| Phosphomonoesterase alkaline (U $g^{-1}$) | **26.09** | **<0.001** | **5.44 $10^{-3}$ a** | **1.04 $10^{-2}$ b** | **1.02 $10^{-2}$ b** |
| Net N mineralisation (µg $g^{-1}$ $d^{-1}$) | 1.24 | ns | -0.84 | 2.64 | -0.37 |
| Net ammonification (µg $g^{-1}$ $d^{-1}$) | 1.06 | ns | -0.80 | 2.44 | -0.68 |
| Net nitrification (µg $g^{-1}$ $d^{-1}$) | 2.01 | ns | -0.03 | 0.20 | 0.31 |

Table2. Results from one-way ANOVA (F and p values) testing for effects of resilience time on physical and chemical properties and microbial variables. F and p values in bold indicate statistical significance at p=0.05.

Le tableau 2 présenté ci-dessus montre les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) testant l'effet du temps depuis le dernier feu sur les variables microbiennes. L'effet du temps de résilience est très impliqué dans la réponse d'un grand nombre de variables microbiennes. Les feux récents (4 ans) diminuent fortement l'activité physiologique des communautés microbiennes (respiration basale et induite) mais n'induit pas leur adaptation en termes d'efficacité métabolique (qCO2). Ce facteur contrôle également significativement la diversité catabolique des communautés microbiennes (F=36,1 p<0,001) mais également toutes les activités enzymatiques. Les activités les plus faibles ont été mesurées sur les sols incendiés pour la dernière fois en 2003. Les activités impliquées dans la dynamique du cycle de l'azote ne sont pas affectés par le temps depuis le dernier feu.

Le calcul d'un indice de fréquence d'incendie permet de synthèse dans une seule valeur l'ensemble de l'information contenu dans l'historique contemporain de stress incendiaire d'une parcelle. L'ensemble des activités microbiennes mesurées montre une corrélation significative avec cette fréquence des incendies. Sept variables microbiennes sur 8 sont négativement corrélées à la fréquence et seule l'activité FDA hydrolase est positivement corrélée à cette fréquence. La construction de modèles régressifs polynomiaux d'ordre 2 permet d'obtenir des paramètres statistiques de meilleures qualités que les régressions linéaires. Ces régressions polynomiales permettent également de calculer une fréquence d'incendie 'seuil' caractérisant un point de rupture dans l'équilibre entre la récurrence des feux et le fonctionnement microbien des sols. Les valeurs de ce point de rupture dépendent des variables microbiennes mais séparent globalement d'un côté les écosystèmes en équilibre avec un ou deux feux maximum dans une période de 25 ans (i.e. 0<FGI<0,35-0,4) et de l'autre des écosystèmes dont les effets des feux sont importants et d'autant plus élevés que les feux sont nombreux (≥3) et rapprochés dans le temps (i.e. FGI>0,35-0,4).

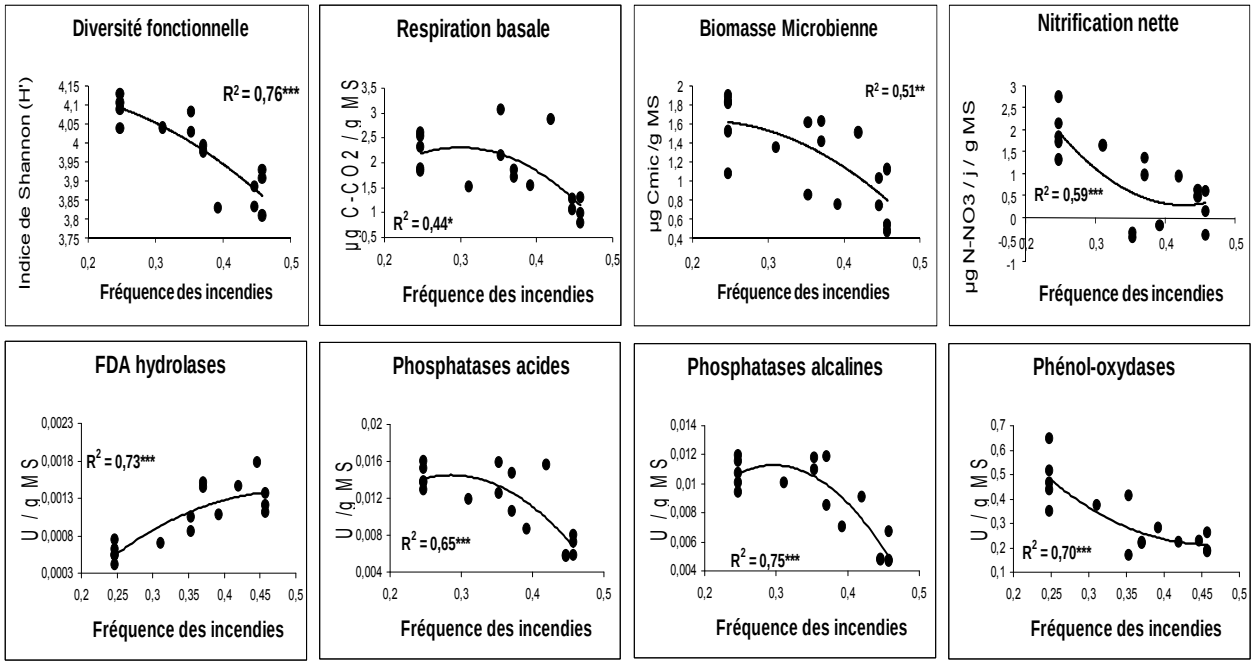



Figure 4 : Régressions construites entre la fréquence des incendies et quelques variables microbiennes impliquées dans la dynamique des cycles du carbone (diversité fonctionnelle, respiration basale, phénol-oxydase, biomasse microbienne, FDA hydrolase), de l'azote (nitrification nette, biomasse microbienne) et du phosphore (phosphatases acides et alcalines, biomasse microbienne).

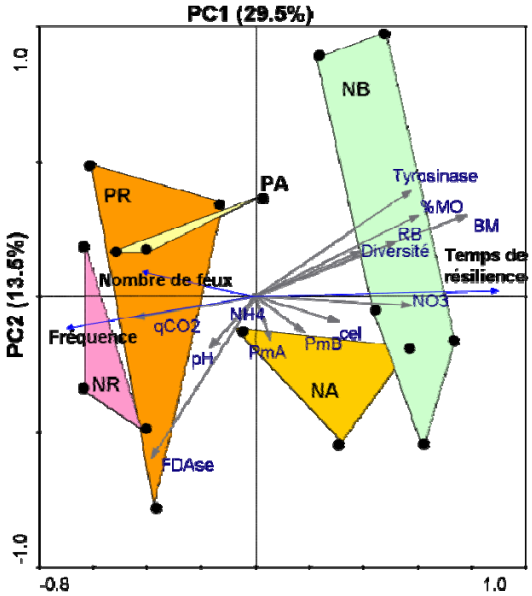



**Figure 5 :** Diagramme factoriel (PC1 × PC2) et cercle de corrélation obtenus par Analyse en Composante Principale et illustrant respectivement, i) les effets de différentes modalités d'incendies sur les modifications de la structure fonctionnelle des communautés microbiennes et ii) les variables explicatives des regroupements obtenus (flèches).

Le diagramme factoriel obtenu par Analyse en Composante Principale (figure 5) montre que l'axe 1 (29.5% d'inertie) sépare les communautés microbiennes selon leur structure cataboliques en différentes modalités qualitatives d'incendies (NR, PR, PA, NA, NB). Le cercle des corrélations confirme le rôle des modalités quantitatives des incendies (fréquence, temps de résilience et nombre de feux) sur la distribution le long de l'axe 1, de la structure fonctionnelle. L'axe 2 (13.5% d'inertie) exprime la variabilité intra parcellaire de la structure fonctionnelle des communautés

microbiennes. La structure fonctionnelle des sols incendiés serait contrôlée par les effets indirects des incendies c'est-à-dire par le rétrocontrôle de la végétation sur les micro-organismes (Hart *et al.*, 2005). Toute évolution de la qualité et de la quantité de matière organique s'accompagne de modifications de la composition et des profils physiologiques des communautés microbiennes du sol (Bending *et al*., 2002). Les incendies récents réduisent les quantités de matière organique et donc modifient les fonctions cataboliques exercées par la communauté. Concernant les incendies anciens, une modification des communautés végétales entraînerait un changement de la qualité biochimique de la ressource (Certini 2005), et en retour les fonctions cataboliques des communautés microbiennes (Berg *et al*., 1987).

### II.3.3. Relations entre activités microbiennes et matière organique

Les teneurs en carbone organique des sols incendiés permettent d'expliquer certaines variables microbiennes telles que les phosphatases alcaline et acide ainsi que la respiration basale et induite par ajout de glucose. En effet, les figures 6a et 6b illustrent ces corrélations significatives positives entre variables microbiennes et teneurs en COT. Une diminution des teneurs en carbone organique suite à des incendies engendrent un effet direct sur des activités microbiennes connues pour être dépendante du carbone disponible et impliquées dans la dynamique de cet élément.

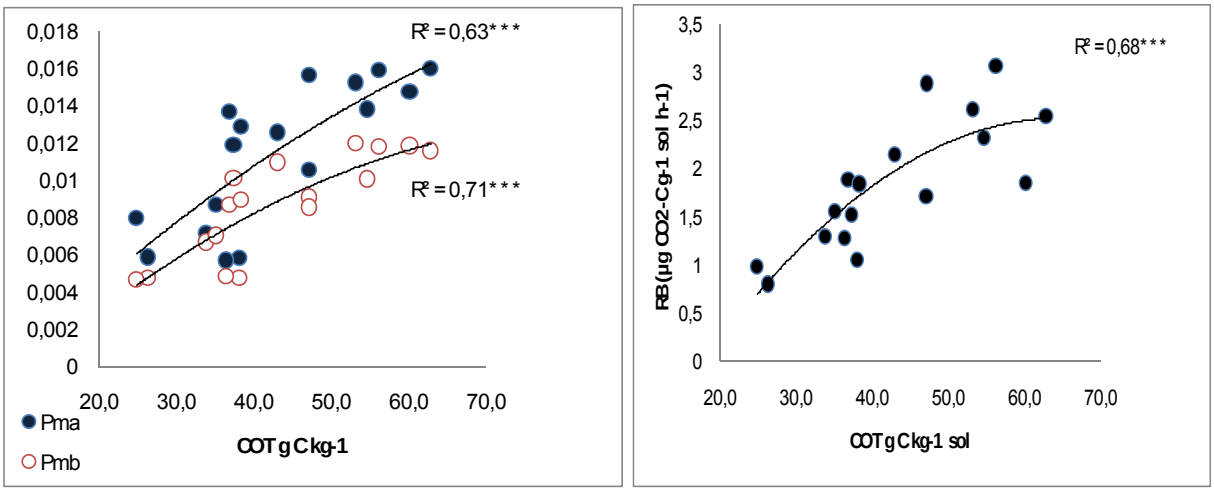



Figure 6 : Relations entre les teneurs en Carbone Organique Total des sols et les activités phosphatases acides et alcalines (a) et la respiration basale (b).

Les incendies en modifiant la qualité de la matière organique, soit directement par les effets de la carbonisation, soit indirectement en modifiants la qualité des apports via la végétation, contrôle les activités microbiennes. Le Tableau 3 consigne les résultats de corrélations linéaires entre les régions alkyl, méthoxyl, O-alkyl, di O-alkyl, aryl, O-aryl et carboxyl des spectres RMN du 13C, le degré d'humification et l'indice d'aromaticité et les activités microbiennes. Les

phosphatases acides et alcalines, la respiration basale, la biomasse microbienne et la diversité catabolique sont les fonctions les plus contraintes par la qualité de la matière organique. La diminution de ces fonctions engendrée par l'augmentation de la fréquence d'incendie est fortement corrélée à la diminution des intensités relatives des fonctions C O-alkyl et C di O-alkyl, en d'autre terme des composés labiles, ainsi qu'à l'augmentation de la proportion en composés réfractaires à la biodégradation (C aryl et C phénolique). Les fortes corrélations entre ces composés aromatiques et les activités enzymatiques suggèrent que les incendies conduisent à la formation de formations végétales constituées d'espèces apportant aux sols incendiés d'importante quantité de structure aromatiques s'apparentant aux tannins condensés. Les tannins condensés contribuent à l'augmentation des intensités relatives des régions C aryl et C phénoliques des spectres RMN constatée dans les sols ayant subie des incendies récurrents et dont le dernier et récent. Les tannins sont connus pour inhiber la décomposition de la matière organique et la dynamique des cycles biogéochimiques (Hattenschwiler et Vitousek, 2000). Les impacts des tanins sur la dynamique des cycles biogéochimiques sont dus à leur toxicité sur la cellule microbienne. Les tanins perturbent les phosphorylations oxydatives et les transports d'électrons, empêchant ainsi le bon déroulement du métabolisme énergétique des micro-organismes (Scalbert *et al.*, 1991). Ils peuvent également inhiber la croissance hyphale des champignons saprophages (Kuiters *et al.*, 1990). Par ailleurs, les tanins condensés, via leur capacité à se complexer avec des protéines par des liaisons hydrogènes, forment des complexes stables avec les protéines enzymatiques (Scalbert, 1991).

| | FDA hydrolase | Tyrosinase | Phosphatase acide | phosphatase alcaline | Cellulase | Respiration Basale | Biomasse microbienne | Quotient métabolique | Diversité catabolique |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Alkyl | NS | NS | 0,60* | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| Methoxyl | NS | NS | 0,65* | NS | NS | NS | 0,66** | NS | 0,71** |
| O Alkyl | NS | NS | 0,85*** | 0,79*** | NS | 0,75** | 0,64* | NS | 0,88*** |
| Di O Alkyl | NS | NS | 0,76*** | 0,77*** | NS | 0,69** | NS | NS | 0,76*** |
| Aryl | NS | NS | -0,91*** | -0,85*** | NS | -0,79*** | -0,66** | NS | -0,87*** |
| Phénolic | 0,79*** | -0,66* | -0,70** | NS | NS | NS | -0,62* | NS | -0,64* |
| Carboxyl | NS | NS | NS | NS | 0,65*** | NS | 0,70** | -0,64** | NS |
| Alkyl/O-Alkyl | NS | NS | -0,65* | -0,69** | NS | -0,58* | -0,53* | NS | -0,80*** |
| Aromaticity | NS | NS | -0,93*** | -0,83*** | NS | -0,78*** | -0,68** | NS | -0,88*** |

Tableau 3 : Matrice de corrélations linéaires des spectres RMN du 13C et des activités microbiennes (valeur de r suivi de * si significatif a p<0,05, ** si significatif a p<0,01, si significatif a p<0,001, NS si non significatifs)

### II.3.5. Influence de la récurrence des incendies sur la stabilité de certaines fonctions et caractéristiques microbiennes

Les résultats de l'analyse de variance (test de Kruskal-Wallis) sont consignés dans le tableau 4. Les facteurs 'récurrence des incendies' et 'historique de stress' sont les seuls facteurs qui influencent la résistance de certaines fonctions et caractéristiques microbiennes, tandis que la résilience est contrôlée par la récurrence et la disponibilité des ressources.

| | Sources de variation | Récurrence des incendies | Ressources | Historique de stress |
|---|---|---|---|---|
| Résistance | ddl | 4 | 1 | 1 |
| | Respiration basale | 33,6*** | 2,1NS | 2,1** |
| | Biomasse | 31,3*** | 0,2NS | Ind. |
| | qCO2 | 13,5** | 0,6NS | 5,5* |
| | Diversité fonctionnelle | 10,5** | 0,32NS | 8,2** |
| | FDAse | 18,7*** | 0,5NS | 22,2*** |
| | Tyrosinase | 28,3*** | 0,9NS | 2,2NS |
| | NH4+ | 15,8** | 1,1NS | 1,1NS |
| | NO3- | 12,7** | 8,3** | 11,6*** |
| Résilience | Respiration basale | 12,8** | 5,2* | 1,3NS |
| | Biomasse microbienne | 36,6*** | 8,5** | 0,9NS |
| | qCO2 | 12,7** | 3,3* | 1,7NS |

**Tableau 4 :** Analyse de variance (Kruskal-Wallis) testant l'influence des 3 facteurs 'récurrence des incendies', 'disponibilité des ressources' et 'historique des stress' sur la résistance et la résilience de différentes variables microbiologiques.

L'analyse détaillée de la stabilité de la respiration basale est illustrée par la figure 7. Un cycle de perturbation D/H diminue le niveau de respiration basale des parcelles récemment incendiées (NR et PR) (figure 7a) mais augmente celui des parcelles anciennement incendiées. Ce résultat implique un effet négatif des incendies récents sur la résistance des communautés microbiennes. Un seul cycle D/H conduit à une diminution du niveau d'activité 14 jours après la mesure de la résistance quelle que soit la récurrence d'incendie, impliquant l'absence de dynamique de résilience. Un historique de stress important (4 cycles de D/H) amplifie les effets négatifs sur la résistance et induit cette fois ci une dynamique de résilience (figure 7b). La figure 7c montre qu'un apport supplémentaire important de ressource à des sols qui subissent une faible histoire de stress, diminue la résistance des sols anciennement incendiés (1 cycle D/H). Cette ressource favorise la dynamique de résilience des sols incendiés de nombreuses fois (NA et NR). Finalement, un apport conséquent de ressource aux sols incendiés n'à aucun effet supplémentaire significatif sur la résistance tandis que conjugué à un historique de stress important, la ressource génère une augmentation très importante de la résilience (figure 7d).

Fierer et Schimel (2002) suggèrent que l'augmentation de la résilience suite à un histoire de stress importante peut être expliqué par trois hypothèses : la taille de la communauté, le niveau de ressource et la sélection. Nos résultats révèlent l'absence d'effet des traits de vie (historique de stress) sur la biomasse microbienne. Par conséquent, une succession de stress hydriques libérerait des composés facilement utilisables provenant soit de la MO séquestrée, soit de la lyse des cellules microbiennes. Cet historique de perturbations sélectionne des communautés microbiennes adaptées à ces conditions. Les champignons ou encore les bactéries gram + sont des groupes microbiens qui résistent au choc osmotique généré par la réhumectation rapide des sols (Harris, 1981). Les résultats obtenus des sols fertilisés expérimentalement confirment le rôle majeur de la disponibilité de la ressource dans le contrôle de la résilience. Par ailleurs, nous suggérons que les épisodes de feux récents affectent la quantité de ressources disponibles nécessaires à la résilience des fonctions

microbiennes. Orwin et al. (2006) ont montré que la résistance et la résilience à des cycles de dessiccation et d'humectation sont corrélées à la disponibilité des ces ressources. Ils précisent qu'une corrélation positive entre les ressources et la résistance implique une relation négative entre les ressources et la résilience, et inversement. Dans notre contexte écologique, la diminution de la résistance serait induite par une réduction, suite à un incendie récent, de la biomasse microbienne et par une modification de la structure de la communauté (Figure 5). D'après Bottner (1985) la fraction active de la biomasse serait détruite par la chaleur (dessiccation) et la fraction dormante survivrait à ce stress. La fraction active de la biomasse microbienne représenterait les organismes à croissance rapide (stratégie r) moins résistants aux perturbations mais plus résilients grâce à leurs taux de croissance rapide.

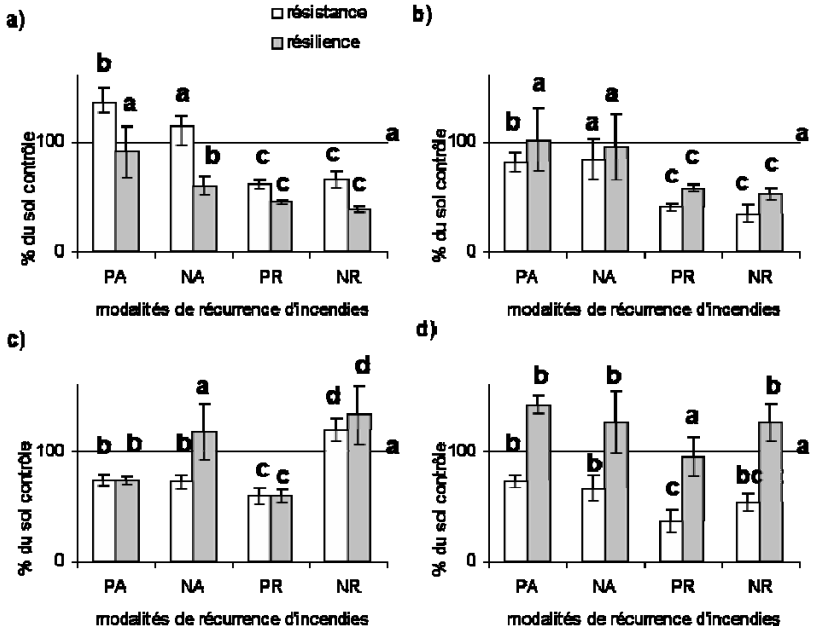



**Figure 7 :** Effet de la récurrence des incendies sur la stabilité (résistance et résilience) de la respiration basale microbienne à un stress hydrique et en fonction de la quantité de ressource disponible. Les figures a) et b) illustrent respectivement, la stabilité à un cycle et la stabilité à 4 cycles de dessiccation/humectation sans ajout de ressource supplémentaire au sol. Les figures c) et d) illustrent respectivement, la stabilité à un cycle et la stabilité à 4 cycles de dessiccation/humectation après amendement des sols par un mélange de cellulose/azote. Les lettres minuscules différentes indiquent les différences significatives entre les moyennes des modalités d'incendies et les 'contrôles' (100%).

La résistance des communautés microbiennes possédant une faible histoire de stress (1 cycle) est fortement et significativement corrélée (tableau 5) aux caractéristiques microbiennes initiales (échantillons n'ayant subi que la phase de stabilisation). Ainsi, la diversité fonctionnelle et le quotient métabolique sont significativement impliqués dans la résistance des fonctions (activités enzymatiques) et des propriétés de taille et de statut métabolique (biomasse et qCO2) des communautés microbiennes à un cycle D/H. A l'exception d'une relation positive entre la diversité fonctionnelle et la résistance de la respiration basale, les communautés qui ont subi un historique

de stress important (4 cycles) ne montrent pas de relation significative entre la résistance de leurs fonctions et les caractéristiques initiales des sols. Ceci tendrait à montrer que les modifications induites par les stress hydriques ont conduit à des changements radicaux des communautés microbiennes par des mécanismes de sélection. Quelque soit leur fréquence, les incendies sélectionnent des communautés de faible efficacité métabolique et de résistance fonctionnelle de moins en moins élevée. Nos résultats valideraient ainsi l'hypothèse de la nécessité d'une importante redondance fonctionnelle pour la conservation d'une résistance élevée (Emmerling *et al.*, 2002).

| | **Résistance à 1 cycle D/H** | | | | | **Résistance à 4 cycles D/H** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | RB | BM | qCO2 | FDAse | Tyrosinase | RB | BM | qCO2 | FDAse | Tyrosinase |
| Diversité fonctionnelle | **0,38*** | **0,34*** | -0,06 NS | 0,10 NS | 0,18 NS | **0,34*** | 0,22 NS | 0,31 NS | -0,21 | 0,31 NS |
| qCO2 | -0,12 NS | 0,30 NS | **-0,36*** | **-0,66***** | **-0,57***** | -0,01 NS | -0,21 NS | 0,26 NS | 0,02 | 0,03 NS |

**Tableau 5** : Corrélations de Pearson entre des variables des sols 'contrôle' (T0) et la résistance de différentes fonctions physiologiques des sols ayant subi une faible et une forte histoire de stress (1 et 4 cycles). (Valeurs de *p* : * p<0,05 ; ** p<0,01 ; *** p<0,001 ; NS non significatif).

## II.4. Conclusion

Les écosystèmes continentaux méditerranéens sont régulièrement soumis aux incendies et aux périodes de sècheresse. Les effets des régimes des incendies (i.e. intensité, durée, surface et fréquence) sur les propriétés physico-chimiques des sols sont bien connus, cependant le rôle seul de la fréquence sur le fonctionnement des sols, en particulier sur le fonctionnement microbien, est encore aujourd'hui très peu étudié. Nos travaux ont mis en évidence des effets classiquement rencontrés dans la littérature sur les quantités de matière organique, les activités microbiennes, la taille et la diversité des communautés. L'originalité de nos résultats réside dans la mise en évidence d'un équilibre, une valeur seuil, entre la fréquence des feux et le fonctionnement de l'écosystème. Par ailleurs, la fréquence ainsi que le temps de résilience depuis le dernier feu contrôlent, en diminuant les ressources disponibles, en sélectionnant et modifiant la diversité des communautés, la résistance et la résilience des principales fonctions microbiennes. Une étude plus approfondie sur ces mécanismes de sélection et sur la composition de ces communautés pourrait ainsi compléter nos travaux et nous renseigner sur les relations entre la fréquence des feux et les stratégies adaptatives des microorganismes. Finalement, notre projet permet de suggérer qu'un apport de ressource, après un incendie et sous la forme de compost, serait une méthode efficace pour restaurer la qualité du sol et en particulier augmenter sa capacité de résilience.

# III. Rôle de la végétation dans le contrôle du fonctionnement microbien des sols incendiés (Campagne 2008) - Travaux réalisés par l'IMEP (UMR 6116)

## III.1. Introduction

L'augmentation de la fréquence des incendies, particulièrement dans les forêts méditerranéennes fragilisées par des sécheresses récurrentes et de plus en plus intenses, peut conduire à la persistance, donc à la résilience, des stades régressifs de maquis (Bonnet et Tatoni, 2004) et de garrigues (Bergaglio *et al*., 2004). Ces stades régressifs occupent des surfaces importantes et à partir de ceux-ci la reconstitution spontanée de peuplements forestiers feuillus est très difficile (Diaz-Delgado *et al*., 2002). Ces formations végétales présentent une faible richesse de groupes fonctionnels et produisent des litières riches en composés polyphénoliques (Gershenzon, 1994 ; Chaves et Escuder, 1999) toxiques et particulièrement récalcitrantes à la dégradation microbienne. Dans les sites fréquemment incendiés, le brûlage et l'érosion appauvrissent progressivement le sol en matière organique (Chandler *et al.*, 1983), en biomasse et en diversité (Pietikainen, 1999 ; Overby *et al*., 2006). Les interactions entre les plantes et les micro-organismes, contrôlées notamment par la quantité de matière organique, sa qualité chimique et son accessibilité, sont des facteurs clefs de la dynamique microbienne des écosystèmes dégradés (Gros *et al*., 2006) et de leur éventuelle réhabilitation (Gros *et al*., 2004). Dans ces conditions d'appauvrissement des ressources édaphiques par les feux répétés, l'objectif de nos travaux est de déterminer précisément les mécanismes (*i.e.* compétition racinaire pour les nutriments, modifications des cycles biogéochimiques par des litières riches en polyphénols) qui confèrent aux espèces pyrophytes pionnières une forte habilité compétitive et favorisent la persistance des stades régressifs de maquis.

Le ciste de Montpellier (*Cistus monspeliensis* L.), espèce pionnière et inféodée généralement aux substrats cristallins, est reconnu pour son rôle actif dans la dynamique des communautés végétales post incendies et possède un fort potentiel colonisateur dans de telles zones (De Las Heras *et al*., 2002). Les *Cistaceae* sont considérées comme l'un des taxa les plus agressifs en compétition (Trabaud, 1995). Pour lutter contre les fortes chaleurs estivales et la sécheresse de plus en plus présentes, les espèces végétales méditerranéennes développent des mécanismes d'adaptation biochimiques, notamment en produisant des feuilles à cuticule épaisse et riches en métabolites secondaires, essentiellement des tanins permettant la régulation des échanges osmotiques et donc la protection contre la dessiccation (Margaris et Vokou, 1982). Comme beaucoup d'autres espèces végétales adaptées au climat méditerranéen ou à des sols infertiles, les cistes de Montpellier sont

très riches en métabolites secondaires, en particulier en composés polyphénoliques ou tanins condensés, qui se retrouvent dans le sol via la litière, les pluviolessivats, ou encore les exudats racinaires (Castells *et al*., 2004). L'habilité compétitive du ciste de Montpellier pourrait être attribuée à sa richesse en métabolites secondaires.

On distingue deux classes de tanins : les tanins hydrolysables qui sont des polyphénols liés à des résidus sucrés (gallotanins et ellagitanins) et les tanins condensés ou proanthocyanidines qui sont des polymères constitués d'unités flavonols liées par des liaisons carbones. On distingue en fonction des groupements OH deux types de tanins condensés (procyanidines et prodelphinidines). La production de ces différents tanins varie en fonction de l'espèce (Kraus *et al*., 2003) et leur concentration et qualité sont déterminées génétiquement (Hamilton *et al*., 2001). Les composés phénoliques et les tanins hydrolysables de certaines espèces peuvent contrôler directement les successions végétales en limitant les taux de germination et de croissance des plantules (Reigosa et Gonzales, 2006). Ce contrôle peut également être indirect, via un ralentissement de la dynamique des cycles biogéochimiques et donc une diminution de la disponibilité des nutriments (Schimel, 1998 ; Bradley *et al*., 2000 ; Preston, 1999). Les impacts des tanins sur la dynamique des cycles biogéochimiques sont dus à leur toxicité sur la cellule microbienne. Les tanins perturbent les phosphorylations oxydatives et les transports d'électrons, empêchant ainsi le bon déroulement du métabolisme énergétique des micro-organismes (Scalbert *et al*., 1991). Ils peuvent également inhiber la croissance hyphale des champignons saprophages (Kuiters *et al*., 1990). Par ailleurs, les tanins condensés, via leur capacité à se complexer avec des protéines par des liaisons hydrogènes, forment des complexes stables avec les protéines enzymatiques (Scalbert, 1991). Ces complexes peuvent se former avant la chute des feuilles, durant la sénescence, avec les protéines végétales qui deviennent alors plus résistantes à la décomposition que les protéines seules. Ces complexes induisent ainsi une immobilisation de l'azote sous forme organique, et donc une diminution des quantités d'azote inorganique disponibles pour la plante. De plus, les tanins lessivés dans le sol ou libérés durant la décomposition de la litière, peuvent se complexer avec des métaux, privant ainsi les métaloenzymes du métal nécessaire à leur fonctionnement. Finalement, la complexation avec les enzymes extracellulaires hydrolytiques ou oxydatives produites par les micro-organismes du sol, inhibe l'activité de l'enzyme en occupant son site actif, et contribue au ralentissement de la décomposition et de la minéralisation de la matière organique (Northup, 1995 ; Kraus *et al*., 2003). Les tanins condensés de haut poids moléculaire auraient une action inhibitrice supérieure à celle des tanins hydrolysables (Scalbert, 1991 ; Zucker, 1983 ; Fierer *et al*., 2001). Ainsi les composés polyphénoliques sont impliqués dans les processus de décomposition de la litière (Handayanto *et al*., 1997 ; Kalburtji, 1999) et la minéralisation de l'azote (Bradley *et al*., 2000 ; Fierer *et al*., 2001).

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats de deux expériences complémentaires construites pour tester le rôle de la végétation méditerranéenne dans le contrôle des activités microbiennes impliquées dans la dynamique des cycles du carbone (respiration basale, activité phénol-oxydase) et de l'azote (minéralisation nette de l'azote, activité uréase). Dans une première expérience réalisée sur le terrain, nous testerons les hypothèses : i) que les teneurs en polyphénols totaux et en tanins condensés des litières sont d'autant plus élevées que les feux sont répétés et récents, ii) qu'une augmentation des teneurs en composés polyphénoliques des sols diminue les activités microbiennes d'autant plus fortement que les incendies sont répétés et récents, et iii) que la végétation peut apporter au sol, via son système racinaire, une quantité de carbone disponible suffisamment importante pour compenser, dans une certaine mesure et à un moment clef de la succession végétale, les effets négatifs des métabolites secondaires sur les micro-organismes. Pour tester ces hypothèses, nous avons mis en place dans le massif des Maures sur des parcelles dont la récurrence d'incendies est variable, un système de parcelles tranchées nous permettant de supprimer les apports de matières organiques labiles ou récalcitrantes, donc l'influence de la végétation sur le sol. Dans une deuxième expérience réalisée en conditions contrôlées de laboratoire, nous avons apporté aux sols des tanins de ciste de Montpellier, soit sous la forme de tanins condensés purifiés, soit sous la forme de feuilles broyées, donc incorporés avec un ensemble d'autres composés. Nous testerons ici l'hypothèse que les tanins de cette espèce sont largement impliqués dans la régression de la dynamique des cycles biogéochimiques. Deux mécanismes d'action des tanins sont supposés : i) les tanins auraient un effet toxique sur la physiologie bactérienne (respiration basale) et ii) les tanins se complexeraient aux protéines enzymatiques diminuant ainsi leurs activités.

La spectroscopie Proche Infra-Rouge (PIR) est une technique analytique rapide, non destructive et peu onéreuse qui permet d'obtenir une empreinte des caractéristiques chimiques d'un sol par la mesure de la réflectivité diffuse dans la région proche infra-rouge (1000-2500 nm). Les spectres PIR dépendent du nombre et du type de liaisons chimiques dans le matériel analysé (Foley *et al*., 1998). L'analyse PIR est maintenant couramment employée pour prédire les teneurs en carbone et en azote des sols (Brunet *et al*., 2007 ; Stevens *et al*., 2008) et certaines activités microbiennes (Terhoeven-Urselmans *et al*., 2008 ; Cécillon *et al*., in press). Lors de cette étude nous utiliserons l'outil PIR pour évaluer les effets des incendies et quantifier le rôle de la végétation dans les modifications de la qualité de la matière organique des sols. Nous testerons également le potentiel de l'outil PIR pour la prédiction des teneurs en polyphénols totaux et tanins condensés dans les sols incendiés.

## III.2. Matériels et méthodes

### III.2.1. Site d'étude

Le site d'étude est localisé dans le Massif des Maures (Var, France) et s'étend d'Est en Ouest entre les communes 'Plan-de-la-Tour' et 'Saint Aygulf', et du Nord au Sud entre les communes 'Roquebrune-sur-Argens' et 'Sainte-Maxime'. Le climat de cette région, typiquement méditerranéen, avec des hivers doux et humides et des étés chauds et secs, est caractérisé par des précipitations annuelles moyennes de 919 mm et des températures annuelles moyennes de 14°C (données Météo France, moyennes calculées sur la période 1961-2002). Le site d'étude repose sur des gneiss de type migmatique (Debrand-Passard *et al*., 1984). Les sols développés sur ce substrat siliceux sont de type Dystric Cambisol (SSS WRB, 1998). Une altération importante des profils consécutifs aux incendies conduit à la formation de sols squelettiques et peu différenciés de type Dystric Leptosol (SSS WRB, 1998).

Sur ce site d'étude, 24 parcelles d'environ 400 $m^2$ (Annexe 1) chacune ont été sélectionnées et étudiées dans le cadre du programme européen 'IRISE'. Le plan d'expérience définit cinq traitements qualitatifs de récurrence d'incendies. Le CEMAGREF a sélectionné cinq parcelles qui ont subi 4 feux depuis 1964 et dont le dernier a eu lieu en 2003 (parcelles dites 'NR'), quatre parcelles qui ont subi 3 feux depuis 1962 et dont le dernier a eu lieu en 1990 (parcelles 'NA'), cinq parcelles qui ont subi 2 feux depuis 1962 dont le dernier a eu lieu en 2003 (parcelles 'PR'), cinq parcelles qui ont subi 1 seul feu en 1982 (parcelles 'PA') et cinq parcelles brûlées une seule fois en 1950 (parcelles 'NB'). Les faciès de végétation et les types de sols de chaque modalité (Annexe 2) sont présents dans le Tableau 1.

| Modalités de récurrence | Végétation | Type de sol |
|---|---|---|
| NB | suberaie pineraie ou suberaie sur maquis bas | Cambisol dystric |
| PA | suberaie sur maquis moyen à haut, à ciste et bruyère | Leptosol dystric |
| PR | suberaie sur maquis bas à ciste | Leptosol dystric |
| NA | maquis moyen à haut sous suberaie | Leptosol dystric |
| NR | maquis bas sous suberaie | Leptosol dystric |

**Tableau 1 : Caractéristiques générales des parcelles étudiées par modalités de récurrence d'incendies**

III.2.2. Plans d'expériences et échantillonnages

*Expérimentation de terrain :* En juin 2007, soit huit mois avant les prélèvements, une campagne de terrain a permis de mettre en place 53 parcelles tranchées réparties sur les 24 parcelles décrites précédemment. La préparation d'une parcelle dite tranchée consiste à supprimer, par le creusement d'une fosse d'environ 15 cm de largeur autour d'un bloc de sol central et intact, toute pénétration de racine vivante à l'intérieur du bloc (Lavoie et Bradley 2003 ; Jassal et Black, 2006). Chaque parcelle tranchée possède une surface interne de 0,3 m² et une profondeur de tranchée de 25 cm minimum. Cette profondeur est dépendante de la profondeur de sol exploitable par les racines. Un film plastique est disposé dans la fosse, et la tranchée extérieure au film plastique est comblée avec de la terre. La litière présente à la surface du bloc interne est supprimée manuellement, puis un géotextile est disposé sur la parcelle tranchée bloquant les entrées de litière. Le système de parcelle tranchée permet donc de supprimer les apports de matière organique par les racines vivantes et la litière.

En février 2008, une parcelle tranchée a été sacrifiée pour chacune des 24 parcelles incendiées. Le sol de ces parcelles tranchées a été prélevé entre 0 et 5 cm de profondeur, tamisé à 2 mm puis homogénéisé. Pour plus de commodité, nous désignerons ces échantillons par le suffixe '-Tr' précédé du sigle des modalités de récurrence d'incendies (*e.g.* NB-Tr, PR-Tr…). Les sols (0-5 cm de profondeur) adjacents aux parcelles tranchées, et donc soumis aux influences de la végétation en place, ont été prélevés dans un rayon de 2 m autour des parcelles tranchées. Ils ont été tamisés à 2 mm puis homogénéisés. Ces échantillons seront désignés par les sigles des modalités de récurrence d'incendies (*e.g.* NB, PR…). Vingt échantillons de litière ont été récoltés aléatoirement sur la surface de chaque parcelle puis mélangés de manière à obtenir un seul échantillon composite par parcelle, représentatif de la formation végétale. De retour au laboratoire, les sols des parcelles tranchées et ceux des parcelles adjacentes ont été conservés à 4°C dans l'attente des analyses. La teneur en eau gravimétrique de ces échantillons est déterminée par dessiccation (105°C, 24h) et les valeurs obtenues ont été utilisées pour le calcul des activités microbiennes. Les échantillons de litière ont été lyophilisés puis broyés à l'aide d'un Cyclotec™ (FOSS). Une aliquote de chaque échantillon de sols prélevés sur les parcelles adjacentes aux parcelles tranchées a été réservée pour conduire la deuxième expérience (*cf.* paragraphe suivant).

*Expérimentation contrôlée d'apport de feuilles et tanins de cistes* : En janvier 2008, un kg de feuilles sénescentes de ciste de Montpellier a été prélevé sur une parcelle ayant subi 4 feux (dont le dernier en 2003) et dont la strate arbustive est dominée par cette espèce. Ces feuilles ont été

lyophilisées puis broyées à l'aide d'un Cyclotec$^{TM}$ (FOSS). Par la suite, les mesures des quantités de polyphénols totaux et tanins condensés contenus dans les feuilles de ciste ont été effectuées (9,01 mg de polyphénols totaux exprimés en équivalent d'acide tannique par gramme de feuille et 8,9 mg de tanins condensés par gramme de feuilles). L'extraction des tanins condensés contenus dans 500 g de feuilles broyées a été effectuée selon le protocole de Preston (1999). Brièvement, une pré-extraction à l'hexane a été réalisée afin d'éliminer les lipides. Puis trois extractions successives par agitation (2 heures) ont été réalisées dans un mélange Acétone /$H_2O$ (70v/30v). Après filtration, l'extrait obtenu dans une phase hydro-organique a été lavé successivement avec du chloroforme et de l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse contenant les polyphénols a ensuite été séparée de la phase organique par décantation, concentrée au rotovapor puis lyophilisée avant l'étape de purification. La purification se fait par chromatographie gel-filtration sur gel Sephadex LH-20. Une première élution avec un mélange Méthanol/$H_20$ (50/50) permet d'éluer les polyphénols de faibles poids moléculaires et les sucres. Une seconde élution avec un mélange Acétone/$H_2O$ (70/30) permet de récolter les tanins condensés. Après évaporation des solvants organiques, l'élua a finalement été lyophilisé. Par cette méthode, nous avons obtenu un rendement d'extraction de 9,5% de polyphénols totaux dont 40% sont des tanins condensés purifiés. La caractérisation moléculaire (degré de polymérisation et identification des monomères) est actuellement en cours.

Pour chaque parcelle, trois aliquotes de 100 gr (équivalent sec) de sol chacune ont été pesées dans des pots d'horticulture. La première série d'aliquotes a été mélangée à 3 g de feuilles broyées de ciste de Montpellier. Cette quantité de feuilles sénescentes a été choisie, en nous basant sur nos estimations de production de litière par le ciste de Montpellier, pour être plus faible qu'un apport annuel sur le terrain. Les échantillons de cette série seront désignés par le suffixe '-FB' précédé des sigles de modalité de récurrence d'incendies (*e.g.* NB-FB, PR-FB). La deuxième série d'aliquotes a été mélangée à 0,435 g de tanins condensés purifiés. Cette quantité est équivalente à celle contenue dans 3 g de feuilles de ciste et sera plus faible qu'un apport annuel sur le terrain. Les échantillons de cette série seront désignés par le suffixe '-TC' précédé des sigles de modalité de récurrence d'incendies (*e.g.* NB-TC, PR-TC). Dans les deux cas afin de mieux homogénéiser la répartition des feuilles et des tanins dans les 100 g de sol, on ajoute aux quantités ci-dessus 3 g de sable de Fontainebleau. La troisième série d'aliquotes n'a été mélangée qu'avec 3 g de sable de Fontainebleau d'apports, et sera considérée comme échantillons 'contrôles'. Les échantillons de cette série seront désignés par le suffixe '-C' précédé des sigles de modalité de récurrence d'incendies (*e.g.* NB-C, PR-C). Ces 72 échantillons ont été incubés à 25°C pendant 27 jours et leur teneur en eau initiale régulièrement ajustée. La teneur en eau gravimétrique de ces échantillons est

déterminée par dessiccation (105°C, 24h) et les valeurs obtenues ont été utilisées pour le calcul des activités microbiennes.

III.2.3. Caractérisation biochimique et chimique des litières et des sols

Les teneurs en carbone organique (C) et en azote total (N) des sols ont été analysées respectivement selon les normes NF ISO 10694 et NF ISO 13878.

Le dosage des polyphénols totaux est effectué selon la méthode décrite par Lorenz *et al*. (2000). Pour les litières 50 mg sont placés dans 5 ml d'un mélange Acétone/$H_20$ (70/30) sous agitation durant 1 heure. Après décantation, 100 µL d'extrait sont prélevés et mélangés à 900 µL d'eau distillée, 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 2,5 ml d'une solution de carbonate de sodium à 20%. L'intensité de la coloration obtenue après 2 heures d'incubation (30°C) est mesurée au spectrophotomètre à 750 nm. Une gamme étalon a été préparée dans les mêmes conditions à partir d'une solution standard d'acide tannique (100 $mg.l^{-1}$). Pour le sol, un dosage identique a été réalisé directement (i.e. sans extraction) sur les échantillons. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide tannique/g de matière sèche.

Le dosage des tanins condensés a été réalisé par la méthode HCl-butanol selon le protocole de Lorenz *et al*. (2000). Une extraction des tanins a été préalablement effectuée sur 50 mg de litière avec 5 ml d'un mélange Acétone/$H_20$ (70/30) sous agitation (1 heure, 30°C). Après décantation, 2 ml d'extrait ont été mélangés avec 5 ml de réactif (200 mg FeSO4 /l de butanol-HCl à 95v/5v). Les résidus de litière sont séchés sous jet d'air et dosés avec 5 ml de réactif. L'extrait et les résidus sont placés 1 heure au bain-marie à 95°C. Pour les échantillons de sol, le dosage est réalisé sans extraction préalable en ajoutant 5 ml de réactif sur 100 mg de sol. Des gammes étalons sont réalisées dans les mêmes conditions que les essais à partir d'une solution de tanins condensés purifiés à 5 $g.l^{-1}$obtenus précédemment dans du méthanol pur. La lecture simultanée de la densité optique des extraits et de la gamme étalon a été effectuée à 550 nm.

Les spectres Proche Infra-Rouge (PIR) de tous les échantillons de litières et de sols (N=120) ont été acquis à l'aide d'un spectromètre Antaris Near Infra-rouge Analyser (Thermo Nicolet). Les échantillons lyophilisés et broyés sont éclairés par une source de radiations monochromatiques située entre 4000 et 10000 $cm^{-1}$. Un spectre est enregistré pour chaque échantillon, représentant l'absorbance (A) en fonction de la longueur d'onde. Une mesure d'absorbance est effectuée tous les 4 $cm^{-1}$ permettant l'acquisition de 1700 points par spectre. La spectroscopie du Proche Infra-Rouge (PIR) étant une méthode indirecte, elle nécessite un étalonnage préalable de l'appareil. Pour ce faire, il est nécessaire d'établir un modèle reliant les spectres infrarouges à une série de valeurs

mesurées de références (calibrage). Lorsque le modèle est créé, il reste à le tester sur un set d'échantillons indépendants (validation) avant de pouvoir l'utiliser en prédiction pure.

### III.2.4. Paramètres microbiologiques

#### *III.2.4.1. Microbial basal respiration and biomass*

Basal respiration rate (BR) of each sample was determined by weighing 5 g (dry wt equiv.) sub-samples into 126 ml jars, sealing the jars with lids equipped with rubber septa, and sampling air in the headspace with a needle and syringe after 4 h incubation. Air samples were injected in a model CP-2002-P micro-GC (Chrompack, Middelburg, Netherlands) equipped with a thermal conductivity detector and using He as carrier gas, and analysed for $CO_2$ concentrations. Ambient $CO_2$ concentrations were subtracted from sampled $CO_2$ concentrations and resulting values were adjusted at 22°C according to Ideal Gas Laws using a $Q_{10} = 2$. Microbial biomass (MB) of each sample was estimated using substrate-induced respiration (SIR) rates (Anderson, 1978). Briefly, 5 g (dry wt equiv.) sub-samples were placed in 500 ml jars and amended with glucose (1000 µg C $g^{-1}$ soil) The amendments were applied as 250 mg of a glucose:talc mixture. The glucose was then dispersed through the forest floor material using a handmixer with one beater (Bradley, 1995). The amended sub-samples were immediately transferred to 126 ml jars and left uncovered for 100 min, which is the time required to reach maximum initial SIR rate (Anderson, 1978). Excess $CO_2$ accumulated in each sampling jar was then flushed for 5 min with ambient air using a modified aquarium pump. The jars were immediately sealed with lids equipped with rubber septa, incubated for 30 min, and air in the headspace was analysed for $CO_2$ and corrected for ambient conditions as previously described. SIR rates were converted to MB using equations given by Beare et al. (1990). The metabolic quotient ($qCO_2$) of each bulked sample was calculated as BR / MB.

#### *III.2.4.2. Activités enzymatiques*

Les échantillons de sols provenant de l'expérimentation de terrain (N=48) ont fait l'objet d'une mesure des activités β-glucosidases et uréases sur des extraits enzymatiques concentrés. Les échantillons provenant de l'expérimentation contrôlée (N=72) ont fait l'objet d'une mesure des activités β-glucosidases et phénol-oxydases directement sur les sols. Les activités β-glucosidases et phénol-oxydases de ces 72 échantillons ont également été mesurées après un ajout dans le tube réactionnel de tanins condensés purifiés de ciste de Montpellier. Pour chaque activité mesurée, trois

répétitions de dosage ont été réalisées par extrait ou par échantillon. Les activités sont exprimées en µmole de produit formé par minute (U) et par gramme de matière sèche ($U.g^{-1}$ MS).

*Extraits enzymatiques concentrés*. Les activités ont été mesurées après l'extraction et la concentration des protéines enzymatiques selon la méthode modifiée de Criquet (1999). Dix grammes d'échantillon frais sont mis en suspension dans 100 ml de solution d'extraction ($CaCl_2$, $2H_2O$ à 0,2 $mol.l^{-1}$ + Tween 80 à 0,05% + PVPP à 20 $g.l^{-1}$). La suspension à été mise à agiter pendant une heure (120 $oscillations.min^{-1}$), puis centrifugée (2000 g, 20 min, 4°C). Soixante-dix ml de surnageant, préalablement filtrés sur membranes Whatman GF/C (260 µm), ont ensuite été concentrés, par élimination de la phase aqueuse, dans des tubes à dialyse (12-14kDa) en présence de PEG (polyéthylène glycol) pendant 12 heures (4°C). Le concentré protéique de chaque tube a été repris dans 3 ml de tampon Bis-Tris (0,2 $mol.l^{-1}$, pH 6,0).

*Dosages des activités enzymatiques sur les extraits enzymatiques concentrés.*

L'activité des β-glucosidases (EC 3.2.1.21) est déterminée en mesurant l'hydrolyse du *p*-nitrophényl β-D-glucopyranoside (*p*-NPGlu) en *p*-nitrophénol selon la méthode adaptée de Eivazi et Tabatabai (1988) légèrement modifiée pour un dosage en microplaques de 96 puits. Le milieu réactionnel est constitué de 100 µl d'extrait enzymatique, de 150 µl de tampon acétate de sodium (0,1 M et pH 5,6) et de 50 µl de *p*-NPGlu à 25 mM. Après incubation 1 heure à 37°C, la réaction est stoppée et révélée par l'ajout de 50 µl de Tris(Hydroxyméthyle) Aminométhane (THAM pH 12). L'activité β-glucosidase est exprimée en µmole de *p*-NP libéré par minute (U) et par gramme de matière sèche ($U.g^{-1}$MS). Une gamme étalon a été préparée dans le tampon acétate de sodium à partir d'une solution standard de *p*-nitrophénol (*p*-NP) (0,2 $mg.ml^{-1}$). La lecture simultanée de la densité optique des extraits et de la gamme étalon a été effectuée à 405 nm, en utilisant un lecteur spectrophotomètre de microplaques type Elisa 960.

L'uréase permet d'évaluer la quantité d'ammonium ($NH_4^+$) produite lors de la dégradation de l'urée selon la méthode adaptée de Tabatabai et Bremmer (1972) et Saiya-Cork *et al*. (2002) pour un dosage en microplaques de 96 puits. Cent cinquante µL d'extrait enzymatique ont été incubés avec 60 µl d'uréase (0,1 M) dans du tampon acétate (50 mM et pH 6) et incubés 2 heures à 37°C. Afin de révéler la réaction, 45 µl de salicylate de nitroprusside et 45 µl d'hypochlorite de sodium on été ajoutés. Ce sont des catalyseurs qui augmentent l'intensité et le développement de la coloration. L'activité uréase est exprimée en µmole d'azote sous forme de $N\text{-}NH_4^+$ libéré par minute (U) et par gramme de matière sèche ($U.g^{-1}$MS). Une gamme étalon a été préparée dans le tampon acétate à partir d'une solution standard de sulfate d'ammonium ($(NH_4)_2SO_4$ à 20 $\mu g.ml^{-1}$).

La lecture simultanée de la densité optique des extraits et de la gamme étalon a été effectuée à 600 nm, en utilisant un lecteur spectrophotomètre de microplaques type Elisa 960.

*Dosages des activités enzymatiques directement sur les sols.*

La phénol-oxydase étudiée (ou catéchol oxydase) (EC 1.14.18.1) a été dosée en utilisant le protocole de Saiya-Cork *et al*. (2002). Dans un tube à essai, 0,5g de sol frais sont pesés puis mélangés avec 6 mL d'une solution de L-Dopa (25 mM) préparée dans un tampon acétate de sodium (50 mM, pH 6,5). Le milieu réactionnel est incubé avec le sol pendant 30 mn (30°C) puis centrifugé (2 mn, 4°C, 9000 g). Une lecture de la densité optique est effectuée sur le surnageant à la longueur d'onde 590 nm. Pour chaque échantillon, un témoin est réalisé dans des conditions identiques en remplaçant la solution de L-Dopa par 6 ml de tampon acétate seul. La mesure de l'activité en présence de tanins condensés est effectuée dans les mêmes conditions mais en ajoutant au milieu réactionnel l'équivalent de $4{,}35.10^{-2}$ mg de tanins/g de sol.

L'activité des β-glucosidases (EC 3.2.1.21) a été mesurée en utilisant le protocole développé par Eivazi et Tabatabai (1988). Dans un tube à essais, 0,5 g de sol frais sont pesés puis mélangés avec 6 ml d'une solution de p-nitrophényl-P-D-glucoside (pNPG) (5mM) préparée dans un tampon acétate de sodium (0,1 M, pH 5). Le milieu réactionnel est incubé avec le sol pendant 60 mn à 30°C. La réaction est stoppée avec un ajout dans le milieu réactionnel de 1 ml de CaCl2 (0,5 M) et de 4 ml de NaOH (0,5 M), puis centrifugée (2 mn, 4°C, 9000 g). Une lecture de la densité optique est effectuée sur le surnageant à la longueur d'onde 412 nm. Pour chaque échantillon, un témoin est réalisé dans des conditions identiques en remplaçant la solution pNPG par 6 ml de tampon acétate seul. La mesure de l'activité en présence de tanins condensés est effectuée dans les mêmes conditions mais en ajoutant au milieu réactionnel l'équivalent de $4{,}35.10^{-2}$ mg de tanins/g de sol.

### *III.2.4.3. Mineral-N cycling*

Two sub-samples of 10 g (dry wt equiv.) from the 36 samples were weighed on two distinct 500-ml Mason jar. One of the sub-sample (referred as *t*0) was immediately analysed for mineral-N ($NH_4^+$ and $NO_3^-$) concentrations after extraction. Mineral-N was extracted using 100 ml of 1.0 N KCL solution. Solutions were shaken for 1 h on an orbital shaker then filtered through Whatman No. 5 cellulose filter. Filtrates were analysed colorimetrically for $NH_4^+$-N (nitroprusside-salycilate) and $NO_3^-$-N (Cd reduction) concentrations using a Technicon Auto-analyser (Pulse instrumentation, Saskatoon). The second fresh sub-sample was incubated for 30 days (*t*30) until mineral-N extraction and analysis as described above. The incubation procedure consisted to weighed the soil sub-

sample+jar, covered the jar opening with polyethylen film to delay moisture losses and permit gas exchange and put it in incubation room with constant temperature (22°C). Jars were periodically weighed and initial moisture contents restored using a fine-mist spray. We defined net N-ammonification and net nitrification as the difference in $NH_4^+$-N and $NO_3^-$–N concentrations before and after the incubation (*t*30 – *t*0). Total N mineralisation was calculated as the sum of net ammonification and net nitrification (i.e. $NH_4^+$-N + $NO_3^-$-N). The relative nitrification index was calculated as the quotient of net nitrification to total N mineralisation.

III.2.5. Analyses statistiques

Le contrôle des teneurs en tanins condensés et polyphénols totaux des litières par le facteur 'récurrence d'incendies' a été testé par une analyse de variance (ANOVA), suivie du test HSD de Tukey pour tester les différences, au seuil de significativité fixé à $p<0,05$, entre les moyennes des modalités de récurrence. Nous avons utilisé des ANOVA à deux facteurs pour tester l'effet de la récurrence des incendies, de la suppression de la végétation et de leurs interactions sur les teneurs en carbone organique, azote total, tanins condensés et polyphénols totaux, et sur les différentes variables microbiennes des sols (respiration basale, biomasse microbienne, activités enzymatiques, minéralisation, ammonification et nitrification nettes). Lorsque des interactions significatives ont été observées, des ANOVA à un facteur ont été effectuées pour analyser en détail les variations d'un facteur par rapport à l'autre. Pour une modalité de récurrence d'incendies précise, les différences à $p<0,05$ entre les moyennes des parcelles 'tranchées' et des échantillons 'adjacents' ont été testées par le test *t* de Student. Une régression linéaire, suivie d'un test de Pearson, a été utilisée pour mettre en évidence une relation entre deux variables. Pour toutes ces analyses paramétriques, nous avons vérifié les conditions requises de normalité (test de Shapiro) et d'hétérogénéité de la variance (test de Levene). Lorsque cela était nécessaire, les données ont subi une transformation logarithmique pour rencontrer ces conditions. Une procédure identique a été utilisée pour tester nos hypothèses et comparer les moyennes du plan d'expérience en conditions contrôlées (F1 : récurrence d'incendies, F2 : apports de feuilles ou de tanins de ciste). Toutes les analyses ont été réalisées en utilisant le logiciel Statistica 6.0.

L'efficacité de discrimination des sols et la capacité prédictive des teneurs en carbone organique, azote total, des teneurs en tanins et polyphénols totaux, par l'utilisation de la spectroscopie Proche Infra-Rouge (PIR), ont été analysées respectivement par ACP (Analyse en Composante Principale) précédé d'une RMCP (Régression des Moindres Carrés Partiels, Tenenhaus, 1998). Un modèle RMCP a été construit pour chaque caractéristique chimique. Le

prétraitement spectral inclut une dérivation du second degré et une sélection des longueurs d'onde les plus pertinentes pour la régression (Cécillon *et al.*, 2008). Chaque modèle RMCP a été construit afin de réduire au minimum l'erreur standard de validation croisée (ESCV) et de maximiser le coefficient de détermination de validation croisée ($R^2$cv) et le ratio performance/déviation (RDP).

## III.3. Résultats

### III.3.1. Caractéristiques biochimiques des litières et des sols

#### *III.3.1.1. Teneurs en C, N et métabolites secondaires des litières et des sols*

Les valeurs moyennes en carbone organique (C), azote total (N), polyphénols totaux et tanins condensés des litières et des sols des parcelles tranchées et non tranchées adjacentes sont présentées dans le Tableau 2.

| Modalités | Variables | Litières | Sols non tranchés | Sols des parcelle tranchées (-Tr) |
|---|---|---|---|---|
| NB | carbone organique mg.g$^{-1}$ | | 51,80 ±18,36 a | 50,82 ±12,3 ab |
| | azote total mg.g-1 | | 2,86 ±1,03 a | 2,77 ±0,69 ab |
| | polyphénols totaux mg.g$^{-1}$ | 8,92 ±3,38 ab | 0,61 ±0,09 a | 0,55 ±0,05 b |
| | tanins condensés mg.g$^{-1}$ | 13,52 ±1,99 a | 0,88 ±0,15 ab | 0,95 ±0,32 a |
| PA | carbone organique µg.g$^{-1}$ | | 41,72 ±13,18 ab | 37,94 ±9,19 bc |
| | azote total µg.g-1 | | 1,78 ±0,64 a | 1,73 ±0,46 bc |
| | polyphénols totaux mg.g$^{-1}$ | 11,48 ±2,65 c | 0,53 ±0,15 a | 0,34 ±0,08 a |
| | tanins condensés mg.g$^{-1}$ | 9,39 ±1,19 b | 0,62 ±0,13 a | 0,76 ±0,17 a |
| PR | carbone organique mg.g$^{-1}$ | | 35,12 ±10,59 ab | 33,94 ±6,48 bc |
| | azote total mg.g-1 | | 2,08 ±0,64 a | 2,02 ±0,50 abc |
| | polyphénols totaux mg.g$^{-1}$ | 3,28 ±3,94 bc | 0,54 ±0,10 a | 0,48 ±0,11 ab |
| | tanins condensés mg.g$^{-1}$ | 10,15 ±1,41 b | 0,85 ±0,23 a | 0,89 ±0,4 a |
| NA | carbone organique mg.g$^{-1}$ | | 57,25 ±20,05 a | 59,30 ±9,49 a |
| | azote total mg.g-1 | | 3,46 ±1,99 a | 3,39 ±1,26 a |
| | polyphénols totaux mg.g$^{-1}$ | 2,71 ±2,15 bc | 0,65 ±0,18 a | 0,49 ±0,07 ab |
| | tanins condensés mg.g$^{-1}$ | 1,67 ±2,04 ab | 1,29 ±0,21 b | 1,27 ±0,21 a |
| NR | carbone organique mg.g$^{-1}$ | | 24,72 ±5,44 b | 25,82 ±9,10 c |
| | azote total mg.g-1 | | 1,39 ±0,43 a | 1,42 ±0,44 c |
| | polyphénols totaux mg.g$^{-1}$ | 19,68 ±3,61 a | 0,48 ±0,22 a | 0,44 ±0,13 ab |
| | tanins condensés mg.g$^{-1}$ | 1,11 ±1,20 ab | 0,85 ±0,22 a | 0,85 ±0,18 a |

Tableau 2 : Composition chimique des litières et des sols des parcelles tranchées (-Tr) et non tranchées adjacentes ayant subi différentes modalités d'incendies (NB : non brûlées ; PA : peu anciens ; NA : nombreux anciens ; PR : peu récents ; NR : nombreux récents). Valeurs moyennes ± écart type (N = 5). Pour un type d'habitat et par variable, les moyennes des modalités d'incendies suivies d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes au seuil de $p<0,05$ (test de Tukey).

Le facteur ‘récurrence d’incendies’ a un effet significatif sur les teneurs en polyphénols totaux (F=106,91 ; p<0,001) et en tanins condensés (F=228,13 ; p<0,001) des litières. La récurrence d’incendies conduit à une augmentation de ces teneurs, en particulier lorsque le dernier feu est récent. Concernant les sols, le facteur ‘récurrence d’incendies’ affecte significativement les teneurs en carbone des sols (F=44,26 ; p< 0,001) et les teneurs en tanins condensés (F=6,59 ; p< 0,001) des parcelles non tranchées. Les plus faibles teneurs en C sont mesurées pour les parcelles NR et PR. Les teneurs en azote ne sont pas affectées par ce facteur. La plus forte teneur moyenne en tannins condensés est mesurée dans les sols NA. La suppression de la végétation n’affecte pas significativement les teneurs en carbone et en azote dans les sols des parcelles tranchées. La tranchée affecte significativement les teneurs en azote (F=52,72 p<0,001) et ces effets se traduisent par leur diminution lorsque les feux sont nombreux et récents (NR-Tr). Finalement, nous observons un effet significatif de la suppression de la végétation sur les teneurs en composés récalcitrants des sols tranchés (polyphénols totaux F= 5,15, p< 0,05) qui se traduit par une diminution des composés polyphénoliques des parcelles PA-Tr.

*III.3.1.2. Modifications et prédictions de la qualité de la matière organique des sols*

L’axe 1 (87% d’inertie) du diagramme factoriel (Figure 1) obtenu par Analyse en Composante Principale des spectres PIR sépare les différentes modalités d’incendie (NR, PR, PA, NA et NB) par leur qualité et leur quantité de matière organique. L’axe 2 (10% d’inertie) met en évidence l’effet de la suppression de la végétation sur les sols par la construction des tranchées. Cette dernière a un effet plus marqué sur la qualité de la matière organique lorsque les feux sont anciens (NA-Tr et PA-Tr) et très anciens (NB-Tr) par rapport à des feux plus récents (NR-Tr et PR-Tr).

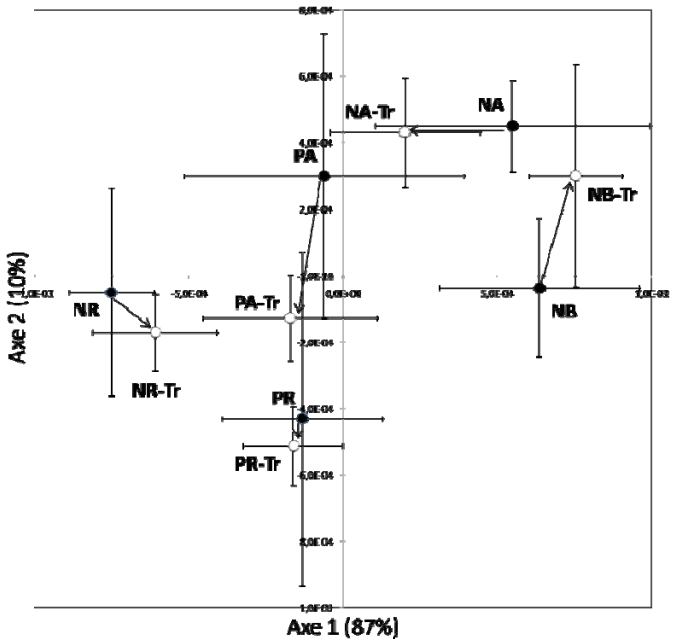



Figure 1 : Diagramme factoriel (Axe1 : Axe 2) obtenu par analyse en composante principale des spectres proche infra-rouge des sols prélevés sur les parcelles tranchées (ronds blancs) (-Tr) et non tranchées (ronds noirs), des parcelles ayant subi différentes modalités d'incendies (NB : non brûlées ; PA : peu anciens ; NA : nombreux anciens ; PR : peu récents ; NR : nombreux récents). Les coordonnées des ronds sont les moyennes des coordonnées de valeurs (N=5) sur les axes 1 et 2. Les barres représentent les erreurs types (N=5).

Les performances des modèles prédictifs sont illustrées dans le Tableau 3. La prédiction des teneurs en azote (N=48), en polyphénols totaux et en tanins condensés (N=72) dans les sols est bonne. En effet, on observe des coefficients de détermination ($R^2$cv) entre valeurs mesurées et valeurs prédites respectivement de 0,79, 0,83 et 0,89 et un écart type résiduel inférieur à 0,05 mg.g$^{-1}$ pour les teneurs en polyphénols totaux. Le paramètre le moins bien prédit est le carbone avec une erreur prédictive de 4,88 µg.g$^{-1}$. Néanmoins nous constatons que tous les modèles construits possèdent un RPD supérieur à 3 ce qui indique que les spectres PIR des échantillons de sols sont capables de prédire efficacement leur composition chimique (Arana *et al*., 2005).

| | N | CP | Calibration | | Validation | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $R^2$c | ESC | $R^2$cv | ESCV | RPD |
| Carbone (µg.g$^{-1}$) | 45 | 6 | 0,99 | 1,39 | 0,78 | 4,88 | 3,26 |
| Azote (µg.g$^{-1}$) | 47 | 6 | 0,99 | 0,06 | 0.79 | 0,26 | 4,04 |
| Tanins condensés (mg.g$^{-1}$) | 70 | 4 | 0,98 | 0,04 | 0,83 | 0,08 | 3,45 |
| Polyphénols totaux (mg.g$^{-1}$) | 71 | 4 | 0,98 | 0,03 | 0,88 | 0,05 | 4,24 |

Tableau 3 : Coefficients de détermination et erreurs standards de calibration (R2c, ESC) et de validation croisée (R2cv, ESCV) et ratio performance/déviation (RPD) obtenus par régression des Moindres-Carrés Partiels pour prédire la composition chimique des sols incendiés par l'utilisation de spectres proche infra-rouge. N : nombre d'échantillons utilisés dans le modèle ; CP : nombre de composantes principales utilisées pour la construction du modèle ; RPD : ratio performance/déviation (= écart type de la population/écart type de prédiction)

III.3.2. Contrôle des activités microbiennes par la végétation : Expérimentation de terrain

*III.3.2.1. Activité respiratoire et biomasse microbienne*

Les activités respiratoires et les biomasses microbiennes des sols des parcelles tranchées et des parcelles non tranchées adjacentes de chaque modalité d'incendies, sont présentées dans les Figures 2a et 2b. Sur les parcelles non tranchées, la récurrence d'incendies a un effet significatif sur ces deux variables (respiration basale F=50,42 p<0,001 ; biomasse microbienne F=20,82 p<0,001). Cet effet se traduit par une diminution significative d'environ 50% de l'activité respiratoire (Figure 2a) et de 35% de la biomasse microbienne (Figure 2b) lorsque les feux sont nombreux et récents (NR) comparativement aux parcelles NB. Ces mêmes variables des parcelles PR semblent également affectées, mais les différences avec les autres modalités de récurrence ne sont pas significatives. Le même patron est présent pour les sols tranchés sur ces deux variables (respiration basale F=40,42 p<0,001 ; biomasse microbienne F=75,27 p<0,001). La tranchée a un effet significatif uniquement sur la respiration basale (Figure 2 a) lorsque la récurrence d'incendies est faible et récente (PR) (test t p<0,05).

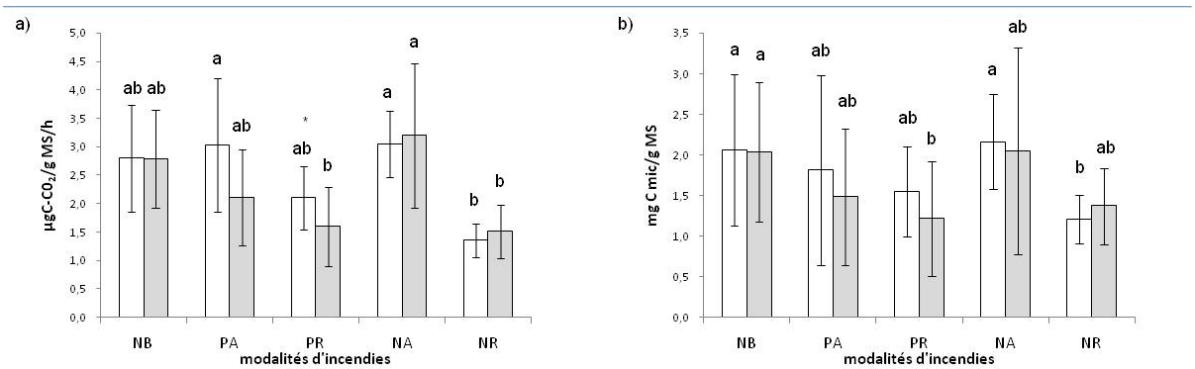



Figure 2 : Respiration basale (a) et biomasse microbienne (b) des sols prélevés sur les parcelles incendiées non tranchées (barres blanches) et tranchées (barres grisées). Les modalités d'incendies en abscisse sont NB (non brûlées), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± écart type (N = 5). Pour une série d'échantillons tranchés ou non, et par variable, les moyennes surmontées d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes au seuil de P<0,05 (test de Tukey). Le signe * indique un effet significatif (test t) de la tranchée sur la modalité d'incendies précisée en abscisse.

*III.3.2.2. Activités enzymatiques*

Les activités β-glucosidase et uréase des sols des parcelles tranchées et des parcelles non tranchées adjacentes de chaque modalité d'incendies sont présentées respectivement dans les Figures 3a et 3b. Sur les parcelles non tranchées, la récurrence d'incendies a un effet significatif sur l'activité β-glucosidase (Figure 3a) (F=92,25 p<0,001). Cette activité est significativement (p<0,05)

plus faible dans les sols PA comparativement à celle mesurée dans les sols PR. La suppression de la végétation induit une diminution significative (test t ; p<0,05) de l'activité β-glucosidase dans les sols PA et PR. Une diminution significative (test t ; p<0,05) de l'activité uréase (Figure 3b) est observée dans les sols tranchés à l'exception de la modalité NA.

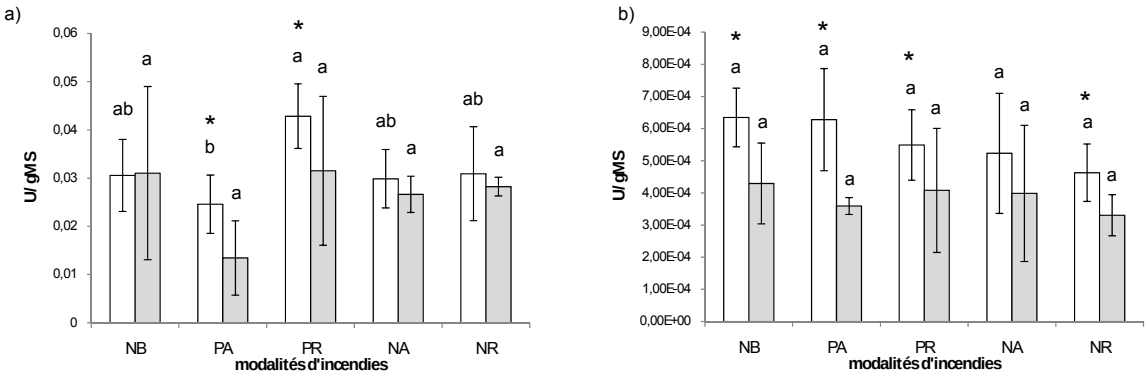



Figure 3 : Activités enzymatiques β-glucosidase (a) et uréase (b) des sols prélevés sur les parcelles incendiées non tranchées (barres blanches) et tranchées (barres grisées). Les modalités d'incendies en abscisse sont NB (non brûlées), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± écart type (N = 5). Pour une série d'échantillons tranchés ou non, et par variable, les moyennes surmontées d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes au seuil de P<0,05 (test de Tukey). Le signe * indique un effet significatif (test t) de la tranchée sur la modalité d'incendies précisée en abscisse.

### *III.3.2.3. Minéralisation nette de l'azote et nitrification nette*

Les activités minéralisatrice de l'azote et nitrifiante sont présentées respectivement dans les Figures 4a et 4b. Sur les parcelles non tranchées, la récurrence d'incendies n'a pas d'effet significatif sur la minéralisation de l'azote mais contrôle significativement la nitrification (F=28,93 ; p<0,001). Cette activité est significativement (p<0,05) plus faible dans les sols NR comparativement à celle mesurée dans les sols PA. La suppression de la végétation induit une diminution significative (test t ; p<0,05) de la nitrification dans les sols NB (Figure 4b) et crée des différences significatives de minéralisation entre les parcelles tranchées NB et PA (Figure 4a, barres grisées).

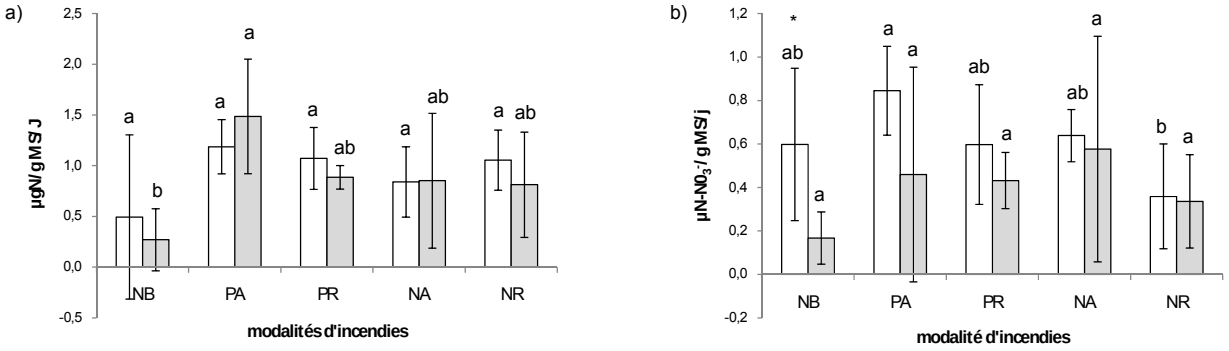



Figure 4 : Minéralisation nette de l'azote (a) et nitrification nette (b) des sols prélevés sur les parcelles incendiées non tranchées (barres blanches) et tranchées (barres grisées). Les modalités d'incendies en abscisse sont NB (non brûlées), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± écart type (N = 5). Pour une série d'échantillons tranchés ou non, et par variable, les moyennes surmontées d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes au seuil de P<0,05 (test de Tukey). Le signe * indique un effet significatif (test t) de la tranchée sur la modalité d'incendie précisée en abscisse.

### *III.3.2.4. Relations entre les activités microbiennes et la qualité de la matière organique*

Le Tableau 4 présente les résultats de corrélations de Pearson calculées entre les activités microbiennes présentées ci-dessus et différentes variables caractérisant la qualité de la matière organique des sols des parcelles incendiées adjacentes aux parcelles tranchées. Ces variables sont classiquement les teneurs des sols en carbone organique et en azote total, et plus spécifiquement des rapports entre les teneurs en polyphénols totaux ou en tanins condensés et les teneurs en matière organique. Ces deux ratios expriment des indices de carbone disponible (non récalcitrant) dans les sols. Plus le rapport augmente, plus la matière organique est jugée récalcitrante à la dégradation microbienne. Comme l'indiquent les relations positives significatives (p<0,01), l'activité respiratoire et la biomasse microbienne sont fortement dépendantes de la quantité de carbone et d'azote présente dans les sols. Les teneurs en polyphénols totaux et de tanins mesurées dans les sols ne sont pas corrélées aux activités microbiennes (données non montrées), mais nos résultats montrent des corrélations négatives (p<0,05) entre chacun des deux ratios indicateurs de la qualité de la matière organique et l'activité uréase et la nitrification. La respiration basale et la biomasse microbienne sont également négativement corrélées (p<0,001) au ratio tanin/matière organique.

| | COT (mg/g) | AOT (mg/g) | *Ratio* PT/MO | *Ratio* TC/MO |
|---|---|---|---|---|
| Respiration basale (µg C-CO2/g MS) | **0.70*** ** | **0.561** ** | NS | **-0.64*** ** |
| Biomasse microbienne (µg Cmic/gMS) | **0.89*** ** | **0.80*** ** | NS | **-0.62*** ** |
| β-glucosidase (U/g MS) | NS | NS | NS | NS |
| Uréase (U/g MS) | NS | NS | **-0.41*** | **-0.50*** |
| Minéralisation nette (µg N/g MS/j) | NS | NS | NS | NS |
| Ammonification (µg N-$NH_4^+$/g MS/j) | NS | NS | NS | NS |
| Nitrification (µg N-$NO_3^-$/g MS/j) | NS | NS | **-0.46*** | **-0.48*** |

Tableau 4 : Corrélations de Pearson calculées entre les activités microbiennes et les caractéristiques chimiques des sols des parcelles incendiées (non tranchées) (N=24 ; *p<0,05, **p<0,01 et ***p<0,001). COT = Carbone organique total, AOT = Azote organique total, PT = polyphénols totaux, TC = tanins condensés

III.3.3. Effets des apports de feuilles sénescentes et de tanins condensés de ciste de Montpellier sur les activités microbiennes des sols incendiés

*III.3.3.1. Respiration basale et biomasse microbienne*

La respiration basale (Figure 5a) et la biomasse (Figure 5b) des communautés microbiennes ont été mesurées sur les sols incendiés avec et sans apport en conditions contrôlées, de feuilles broyées ou de tanins condensés de ciste de Montpellier. On observe globalement une augmentation de près de 50% de l'activité respiratoire (Figure 5a) engendrée par l'apport des feuilles broyées de ciste. La biomasse microbienne est également significativement augmentée par cet apport mais uniquement sur les sols ayant subi un faible nombre d'incendies (*i.e.* NB, PA et PR). L'apport de feuilles a pour effet de niveler les différences d'activités respiratoires induites par les différentes modalités d'incendies, mais ne compense pas la perte de biomasse microbienne constatée dans les sols des parcelles NR et PR(Figure 5b). L'apport de tanins condensés a un effet négatif significatif sur la respiration et la biomasse des sols peu incendiés dont le dernier feu est ancien (parcelles PA).

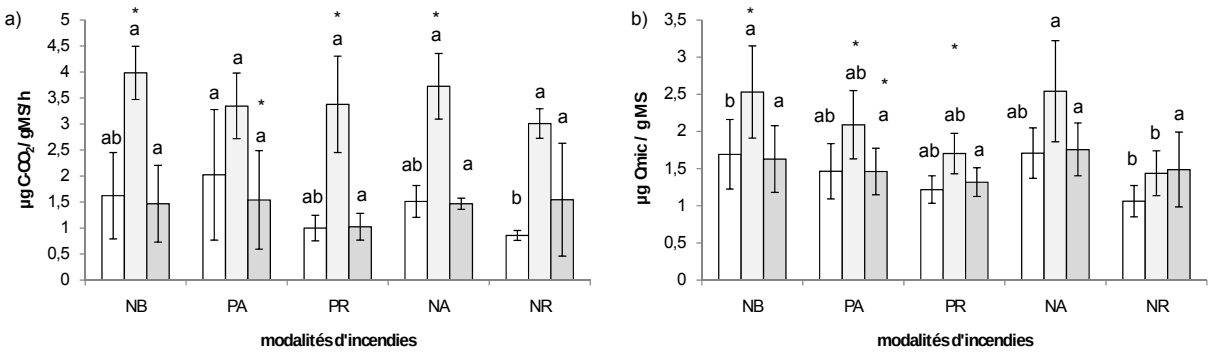



Figure 5 : Respiration basale (a) et biomasse microbienne (b) de sols prélevés sur les parcelles incendiées et incubées avec, soit des apports de feuilles sénescentes broyées de ciste de Montpellier (-FB, barres grisées claires), soit des tanins condensés extraits de ce ciste, et purifiés (-Tc, barres grisées foncées), soit avec aucun apport (-C, barres blanches). Les modalités d'incendies en abscisse sont NB (non brûlées), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± écart type (N = 5). Pour une série d'échantillons –C, -FB, ou –Tc, et par variable, les moyennes surmontées d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes au seuil de p<0,05 (test de Tukey). Le signe * indique un effet significatif (test t) de l'amendement en feuilles broyées ou en tanins condensés sur la modalité précisée en abscisse.

*III.3.3.2. Effets des apports de feuilles et de tanins sur les activités enzymatiques*

Une ANOVA à deux facteurs nous a permis de tester les effets de la récurrence des incendies (F1) et des apports (F2) sur les activités phénol-oxydase et β-glucosidase. Pour chacune des activités, les deux facteurs induisent des effets significatifs (phénol-oxydase : F1= 6,99 et F2=18,75 ; p<0,001 et β-glucosidase : F1=17,52 et F2=24,08 ; p<0,001). Les valeurs de F indiquent un contrôle plus important par les apports. La Figure 6a montre des diminutions de l'activité

phénol-oxydase au contact des feuilles de ciste et des tanins condensés. Ces diminutions sont significatives pour les parcelles non brûlées (NB) et celles où les feux sont récents (PR et NR). Contrairement aux résultats précédents, l'activité β-glucosidase (Figure 6b) augmente fortement au contact des feuilles de ciste dans toutes les modalités, et de façon significative pour les parcelles où les feux sont peu nombreux (PA et PR) ou nombreux et récents (NR). Après incubation avec des tanins condensés, nous mesurons une diminution significative de l'activité β-glucosidase dans les sols peu ou pas incendiés, significative dans les modalités PA et PR.

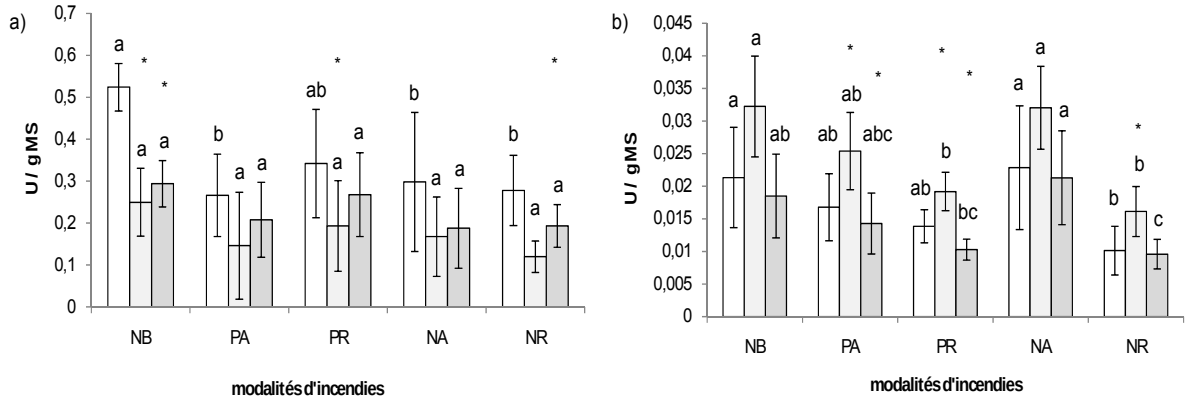



Figure 6 : Activités phénol-oxydase (a) et β-glucosidase (b) de sols prélevés sur les parcelles incendiées, et incubés avec soit des apports de feuilles sénescentes broyées de ciste de Montpellier (barres grisées claires), soit des tanins condensés extraits de ce ciste et purifiés (barres grisées foncées), soit avec aucun apport (barres blanches). Les modalités d'incendies en abscisse sont NB (non brûlées), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± écart type (N = 5). Pour une série d'échantillons –C, -FB, ou –Tc, et par variable, les moyennes surmontées d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes au seuil de P<0,05 (test de Tukey). Le signe * indique un effet significatif (test t) de l'amendement en feuilles broyées ou en tanins condensés sur la modalité précisée en abscisse.

### *III.3.3.3. Effet des tanins sur la disponibilité de l'azote*

Sur les modalités d'incendies extrêmes (NB et NR), la disponibilité de l'azote est affectée significativement par l'apport de cistes sous forme de feuilles broyées (NB-$NH_4^+$ F=104 et NR-$NH_4^+$ F=68 ; p<0,001) et de tanins condensés purifiés (NB-$NO_3^-$ F=333 et NR-$NO_3^-$ F=16 ; p<0,001). Ces apports diminuent la disponibilité des ions ammonium quelles que soient les modalités d'incendies de 33% et des ions nitrate de 97,5%.

| | NB | NR | NB | NR | NB | NR |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | -C | | -FB | | -TC | |
| N-$NH_4^+$ (µg/g) | 13,79 ±3,89a | 14,42 ±4,05a | 9,87 ±0,81ab | 9,10 ±1,27b | 9,10 ±1,41b | 9,69 ±2,10b |
| N-$NO_3^-$(µg/g) | 23,92 ±2,92 a | 16,39 ±9,02 a | 0,84 ±0,14 b | 0,37 ±0,19 b | 0,68 ±0,18 b | 0,14 ±0,08 b |

Tableau 5 : Disponibilité de l'azote des sols prélevés sur les parcelles incendiés NB : non brûlées et NR : nombreux récents incubés avec, soit des apports de feuilles sénescentes broyées de ciste de Montpellier (-FB), soit des tanins condensés extraits de ce ciste et purifiés (-TC), soit avec aucun apport (-C). Valeurs moyennes ± écart-type (N = 5). Pour un type d'habitat et par variable, les moyennes des modalités d'incendies suivies d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes au seuil de p<0,05 (test de Tukey).

*III.3.3.4. Interactions tanins/protéines enzymatiques*

Les tanins condensés sont supposés se complexer aux protéines enzymatiques et inhiber leurs activités oxydatives (phénol-oxydase) ou hydrolytiques (β-glucosidase). L'apport de tanins condensés au moment de la mesure des activités permet de mettre en évidence la formation de complexes tanins/protéines inactifs. La Figure 7 présente respectivement des pourcentages d'inhibition enzymatique des activités phénol-oxydase (Figure 7a) et β-glucosidase (Figure 7b) induit par la formation de ces complexes. L'ajout de tanins condensés a un effet inhibiteur plus important sur l'activité phénol-oxydase (60% d'inhibition en moyenne) comparativement à l'activité β-glucosidase (20% d'inhibition en moyenne). Les tanins inhibent significativement les activités des sols contrôles (phénol-oxydase $F=110$, β-glucosidase $F=117$ ; $p<0,001$), des sols ayant reçu préalablement des feuilles broyées (phénol-oxydase $F=71$, β-glucosidase $F=206$ ; $p<0,001$) et des sols ayant reçu préalablement des tanins condensés (phénol-oxydase $F=146$, β-glucosidase $F=102$ ; $p<0,001$). La comparaison des valeurs de F montre que le facteur 'apports de tanin au moment de la mesure' est plus influent sur l'activité phénol-oxydase lorsque les sols ont été préalablement incubés avec des tanins condensés et plus influent sur l'activité β-glucosidase lorsque les sols ont été préalablement incubés avec des feuilles de ciste. Une inhibition plus forte de l'activité phénol-oxydase mais non significative dans les sols des parcelles incendiées récemment ou de nombreuses fois est constatée (Figure 7a, barres blanches). Cette inhibition est fonction de l'incubation préalable des sols avec des apports en feuilles (barres grisées claires) ou en tanins de ciste (barres grisées foncées) et dépendamment des modalités de récurrences étudiées. Une incubation préalable des sols NA avec les feuilles de ciste réduit significativement l'action inhibitrice des tanins condensés sur l'activité phénol-oxydase (Figure 7a, barres grisées claires). L'activité β-glucosidase est significativement plus sensible pour les parcelles NR (Figure 7b, barres blanches). Une incubation préalable des sols NB, PA et NR avec les feuilles de ciste réduit significativement l'action inhibitrice des tanins condensés sur l'activité β-glucosidase (Figure 7b, barres grisées claires). Une incubation préalable des sols NB avec les tanins condensés de ciste réduit significativement l'action inhibitrice de ces tanins sur l'activité β-glucosidase (Figure 7b, barres grisées foncées).

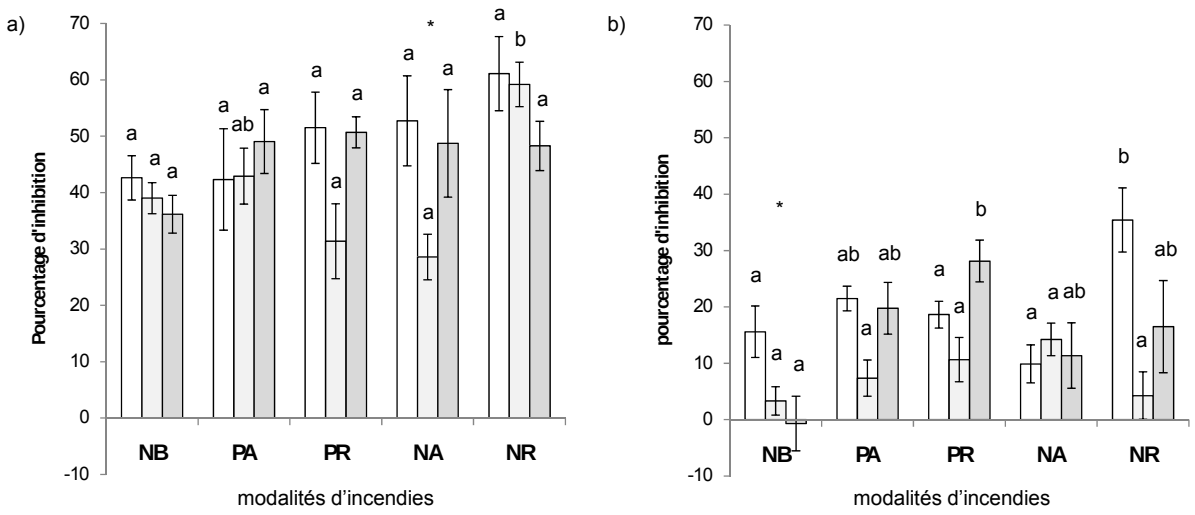



Figure 7 : Pourcentage d'inhibition des activités phénol-oxydase (a) et β-glucosidase (b) mesuré sur les sols des parcelles incendiées et incubés avec, soit des apports de feuilles sénescentes broyées de ciste de Montpellier (-FB, barres grisées claires), soit des tanins condensés extraits de ce ciste et purifiés (-Tc, barres grisées foncées), soit avec aucun apport (-C, barres blanches). Les modalités d'incendies en abscisse sont NB (non brûlées), PA (peu anciens), NA (nombreux anciens), PR (peu récents) et NR (nombreux récents). Valeurs moyennes ± écart type (N = 5). Pour une série d'échantillons –C, -FB, ou –Tc, et par variable, les moyennes surmontées d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes au seuil de P<0,05 (test de Tukey). Le signe * indique une différence significative (test t) entre le pourcentage d'inhibition des sols –FB et –C ou –Tr et –C sur la modalité précisée en abscisse.

## III.4. Discussion

### III.4.1. Rôle de la végétation méditerranéenne dans le fonctionnement microbien des sols

Le feu a des effets directs et indirects sur les micro-organismes du sol et leurs activités. Les effets directs, généralement à court terme, altèrent sous l'effet des hautes températures, la composition et la densité des communautés microbiennes du sol. On distingue également deux types d'effets indirects du feu sur les communautés microbiennes : les effets abiotiques et les effets biotiques. Les effets abiotiques concernent les modifications engendrées par des changements physico-chimiques du sol (texture, pH, disponibilité des nutriments, teneur en MO…). Le lien étroit qui existe entre les plantes et les communautés microbiennes du sol (Hobbie, 1992 ; Wardle, 2002) suggère que l'effet biotique indirect dominant est contrôlé par les modifications de la dynamique végétale post incendie, en particulier par la nature des apports en matière organique (Kaye and Hart, 1997 ; Hart *et al*., 2005).

Le plan d'expérience de terrain élaboré dans ce travail permet d'étudier les effets de différentes formations végétales méditerranéennes sur les propriétés microbiennes des sols incendiés. Ces formations décrites par Bergaglio *et al*., (2004) dépendent directement du temps depuis le dernier feu et du nombre de feux. Dans notre étude, le contrôle des activités microbiennes par trois formations végétales est étudié. La première formation, dominée par le chêne liège (*Quercus suber* L.), le pin maritime (*Pinus pinaster* Aiton), le chêne vert (Quercus ilex L.) et le

chêne blanc (*Quercus pubescens* W.), est caractérisée, dans les strates herbacées et arbustives, par la présence de bruyère arborescente (*Erica arborea* L.) et le pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). Cette formation est observable lorsque le dernier incendie est très ancien (*i.e*. plus de 50 ans, parcelles NB). La deuxième formation est une suberaie sur maquis moyen à cistes et bruyères, caractéristiques des parcelles incendiées il y a plus de vingt années (*i.e*. parcelles PA et NA). La troisième formation est une suberaie marquée par l'abondance dans la strate arbustive de différentes espèces de ciste (*Cistus monspeliensis*, *C. albidus* et *C. salviifolius*). Cette formation dont la strate arborescente est plus ou moins clairsemée dépendamment du nombre de feux, caractérise les incendies récents (*i.e*. parcelles PR et NR). Seuls les sols des parcelles fréquemment incendiées et dont le dernier feu a eu lieu en 2003 (parcelles NR) ont montré une diminution significative de l'activité respiratoire, de la biomasse microbienne et de la nitrification. Les sols des parcelles PR possèdent des activités identiques aux parcelles NB et PA. Ces activités sont corrélées aux teneurs en carbone organique des sols et à la qualité de la matière organique. Les effets indirects des incendies sur le fonctionnement microbiens des sols via les modifications de la végétation semblent donc significatifs uniquement lorsque la fréquence des incendies est élevée, et essentiellement contrôlés par la quantité et la qualité du carbone restant dans les sols ou apporté par la végétation. Pour de faibles valeurs de fréquences, le stock de matière organique est restauré. Les communautés végétales pyrophytes caractéristiques des sols pauvres en nutriments (Aerts *et al*., 1991) allouent leur énergie à la fabrication préférentielle de tissus pérennes (tiges et racines) et produisent des feuilles riches en métabolites secondaires (Castells *et al*., 2004). Les stocks de matière organique des sols seraient, dans ces circonstances, lentement restaurés et récalcitrants à la minéralisation microbienne. Nos résultats montrent clairement que les teneurs en polyphénols totaux et en tanins condensés des litières sont d'autant plus élevées que les feux sont répétés et récents. Le rôle de ces composés sera abordé et précisé dans la deuxième partie de la discussion.

La construction des parcelles tranchées est une méthode qui permet d'exclure l'influence du système racinaire des plantes sur un petit volume de sol. Cette technique a été utilisée pour étudier le rôle du système racinaire sur les mécanismes microbiens impliqués dans la dynamique des cycles du carbone et de l'azote (Lavoie et Bradley, 2003). L'exclusion des racines vivantes est supposée réduire le prélèvement des nutriments par les plantes et diminuer la respiration hétérotrophique par la suppression des apports en substrats carbonés de l'exsudation racinaire ou encore de la décomposition des radicelles. Dans la mesure où la disponibilité du carbone contrôle l'assimilation microbienne de l'azote (Hart *et al*., 1994), la suppression des racines est également supposée réduire cette assimilation et donc augmenter le pool d'azote inorganique dans les sols tranchés. La suppression du système racinaire des parcelles PR induit une diminution de la respiration basale microbienne et des activités β-glucosidase et uréase. L'absence d'effets de la tranchée sur les

teneurs en carbone organique et en azote total nous permet de conclure que le système racinaire des plantes méditerranéennes contrôle les activités microbiennes essentiellement par la qualité et la disponibilité des substrats carbonés. En effet, l'augmentation des teneurs en nitrates dans les sols des parcelles tranchées (données non montrées) est d'autant plus élevée que la récurrence des incendies est faible ou que le dernier feu est ancien. Elle reflète soit : i) l'absence de prélèvement des nitrates par les plantes, logiquement plus importante pour les stades forestiers, ii) la diminution de la nitrification productrice de nitrate à partir d'ammonium, iii) la diminution de l'immobilisation bactérienne induite par une réduction des apports en carbone labile. L'absence d'effets de la tranchée sur la minéralisation, et en particulier sur l'ammonification (donnée non montrée), nous permet de rejeter la deuxième explication. Quel que soit le mécanisme mis en œuvre, il est évident que la compétition pour l'azote inorganique entre les plantes et les micro-organismes (Kaye et Hart, 1997) est plus importante dans les écosystèmes récemment incendiés. Il semblerait que la limitation des apports en substrats carbonés labiles via le système racinaire et que l'augmentation des teneurs en composés récalcitrants et/ou toxiques via la litière, soient deux mécanismes impliqués dans l'habilité compétitive de la végétation des stades de maquis.

### III.4.2. Effets et mécanismes d'actions des tanins condensés sur les activités enzymatiques

La végétation post incendies contrôle le fonctionnement microbien par la quantité et la qualité de ses apports au sol (Hart *et al*., 2005). On s'intéresse ici au rôle écologique des tanins condensés sur les activités enzymatiques impliquées dans la dynamique du cycle du carbone (phénol-oxydase et β-glucosidase). La caractéristique la plus déterminante des tanins de haut poids moléculaire est leur capacité de former des complexes (par précipitation) avec les polymères naturels comme les protéines, les polysaccharides (l'amidon, la cellulose, l'hémicellulose, etc.) (Loomis, 1974), et les acides aminés (Mole et Waterman, 1987). L'interaction la plus commune entre les tanins et les protéines se réalise par la liaison hydrogène entre l'amide carbonyle de la protéine et l'hydroxyle phénolique (Hagerman et Butler, 1980). Cette interaction est dépendante du pH du milieu. L'affinité des protéines pour un tanin particulier varie également selon la grandeur et la structure de la protéine. Par exemple, les protéines riches en proline ont tendance à être précipitées facilement par les tanins. La taille (degré de polymérisation) et la structure de la molécule polyphénolique sont aussi importantes dans cette interaction (Bernays *et al*., 1989). Ce processus de précipitation a notamment lieu lors de la sénescence des feuilles (Toutain, 1981 ; Gallet *et al*., 1999), et les litières aériennes sont donc potentiellement riches en complexes tanins-protéines.

Dans ce travail nous avons testé les effets, sur les activités enzymatiques, de tanins condensés du ciste de Montpellier soit sous la forme de feuilles sénescentes broyées, donc incorporés avec un ensemble d'autres composés (sucres, cellulose) et probablement en partie complexés avec les protéines végétales, soit sous une forme purifiée. La purification de ces tanins a été réalisée selon le protocole de Preston (1999) et permet d'obtenir des tanins condensés de poids moléculaire supérieur à 2000 Da, ce qui correspond à des oligomères formés d'au moins 7 monomères flavonols. La capacité des tanins de haut poids moléculaire à complexer les protéines et les teneurs élevées en polyphénols de faible poids moléculaire de nos feuilles de ciste (*cf* § II.2.), suggèrent un effet répressif de l'apport de feuilles broyées sur les activités enzymatiques mesurées dans ce travail. Nos résultats mettent en évidence un effet inhibiteur des feuilles broyées sur l'activité phénol-oxydase et une augmentation de l'activité β-glucosidase. Ces résultats nous permettent d'envisager trois types d'effets potentiels induits par l'apport de feuilles de ciste : i) un effet répressif des feuilles sur l'activité phénol-oxydase consécutif à une diminution de biomasse microbienne induite par la toxicité cellulaire des polyphénols, ii) une précipitation préférentielle des phénol-oxydases avec les tanins condensés, iii) une augmentation de l'activité β-glucosidase induite soit par une augmentation de la biomasse microbienne, soit par une induction de la synthèse de ces enzymes par des apports en carbohydrates contenus dans les feuilles. L'apport de feuilles sénescentes de ciste sur les sols induit une augmentation importante de la biomasse microbienne et de l'activité respiratoire. Les composés constitutifs de ces feuilles sont donc en partie parfaitement métabolisables par les micro-organismes et semblent compenser les effets toxiques potentiels des polyphénols de faibles poids moléculaires. L'accroissement d'une biomasse active expliquerait ainsi l'augmentation de l'activité β-glucosidase, mais serait contradictoire à l'inhibition de l'activité phénol-oxydase. L'ajout de tanins condensés purifiés n'a pas d'effet sur la biomasse active indiquant : i) que les tanins du ciste ne sont pas utilisés comme source de carbone et ii) qu'ils n'inhibent pas les communautés microbiennes.

Le mécanisme de précipitation des protéines enzymatiques par les tanins a également été prouvé dans ce travail. En effet, les résultats présentés dans la Figure 7 mettent en évidence une inhibition des activités enzymatiques par complexation. Ce mécanisme stable, c'est-à-dire durable dans le temps (Figure 6), est significativement plus efficace sur l'activité phénol-oxydase. L'affinité entre les protéines et les tanins est dépendante de la structure chimique de la protéine, de son point isoélectrique et donc du pH du sol (Hagerman et Bulter, 1981), et de la structure des tanins (dégré de polymérisation, unité constitutive) (Bernays *et al*., 1989). Dans notre étude un seul type de tanins a été testé ; nous rejetons par conséquent la troisième possibilité. Le nombre et la composition en acides aminés des structures secondaires et tertiaires ainsi que par le degré de glycosilation de la protéine déterminent l'affinité de la protéine à se lier aux tanins (Hagerman et Bulter, 1978).

D'autre part, il a été établi que les tanins inhibent plus fortement les activités enzymatiques β-glucosidase lorsqu'ils sont pré-incubés en présence de protéines, et contrairement leur effet est moindre lorsqu'ils sont simultanément additionnés à la protéine (Juntheikki et Julkunen-Tiito, 2000). Le pH influencerait également la précipitation des tanins avec les protéines lorsqu'il est acide et proche du point isoélectrique (Hagerman et Bulter, 1981). La β-glucosidase a un point isoélectrique compris entre 4 et 6, et la phénol-oxydase de 4,5. L'écart entre le pH du milieu réactionnel du dosage et le point isoélectrique de la phénol-oxydase est plus important, ce qui suggère une inhibition plus faible de l'activité phénol-oxydase par l'ajout de tanins. Nos résultats montrent un comportement strictement inverse. Ils nous permettent de rejeter l'hypothèse d'une différence d'affinité des phénol-oxydases et des β-glucosidases expliquée par le pH de nos sols, et de suggérer que cette affinité est essentiellement contrôlée par une différence de structure chimique des deux protéines.

Concernant les β-glucosidases, cette précipitation peut être compensée par la taille du pool d'enzymes disponible à la précipitation ou par une affinité moindre de cette protéine pour les tanins condensés. En effet, nous constatons que l'apport préalable de feuilles de ciste diminue l'inhibition des β-glucosidases par le jeu d'une augmentation du nombre de protéines dans le sol (démontré par l'augmentation de l'activité enzymatique). Les protéines étant plus nombreuses, une certaine fraction de ces enzymes ne sera pas précipitée par des tanins supplémentaires apportés au milieu réactionnel et restera active. Concernant les phénol-oxydases, l'ajout de feuilles broyées diminue l'activité donc la quantité de protéines actives. Malgré cela, l'inhibition induite par une dose supplémentaire de tanins condensés est plus faible que celle mesurée sur les sols 'contrôles' (sols qui n'ont pas subi l'influence des feuilles de ciste). Il semblerait que l'apport de feuilles de ciste conduise à une adaptation des communautés microbiennes se traduisant par la synthèse de nouvelles isoformes de phénol-oxydases moins sensibles à la précipitation. Certaines études ont effectivement suggéré qu'un apport important de litière riche en composés allélochimiques peuvent sélectionner des populations microbiennes capables de se développer et donc d'utiliser les composés phénoliques comme source de carbone (Schmidt et Lipson, 2004). Nous suggérons que l'apport de feuilles sénescentes de ciste de Montpellier crée une pression de sélection en faveur des champignons. Ces organismes sont effectivement adaptés à la minéralisation de carbone récalcitrant (Bradley *et al.*, 2000). Ce sont en effet principalement les champignons, notamment les basidiomycètes de la pourriture blanche, qui possèdent l'équipement enzymatique (phénols oxydases) nécessaires à l'oxydation de ce polymère par la production et la libération dans le milieu d'enzymes de type phénol-oxydases (Sinsabaugh, 1991). Finalement, nos résultats révèlent une diminution de la disponibilité des formes minérales de l'azote ($NH_4^+$ et $NO_3^-$) dans les sols fortement incendiés et amendés avec des feuilles broyées et des tanins condensés du ciste de

Montpellier. Les travaux de Castells et Penuelas (2003) ont montré que l'ajout sur l'apport de pluviolessivats de ciste blanc (*Cistus albidus*) sur un sol calcaire induisait un ralentissement de la dynamique de la minéralisation nette de l'azote. Dans notre situation, les feuilles et les tanins n'ayant aucun effet toxique, les diminutions des teneurs en $NH_4^+$ et $NO_3^-$ sont probablement induites par une séquestration, sous la forme de complexes tanins/protéines, de l'azote organique indisponible à la minéralisation microbienne.

## III.5. Conclusions

Les deux expériences complémentaires conçues pour tester le rôle de la végétation dans le contrôle des activités microbiennes impliquées dans la dynamique des cycles du carbone et de l'azote, montrent que la compétition pour la ressource azotée entre les plantes et les micro-organismes du sol est plus forte dans les premiers stades arbustifs des milieux post-incendies soumis à des feux répétés. L'habilité compétitive du ciste de Montpellier, espèce dominante de ces stades régressifs, semblerait être conférée par deux principaux mécanismes impliquant les relations plantes/micro-organismes. Tout d'abord, nos résultats suggèrent que les apports racinaires en carbone facilement métabolisable par les communautés microbiennes sont particulièrement faibles dans ces stades de maquis. Ce carbone labile favorise l'assimilation microbienne et donc l'immobilisation des nitrates. En l'absence d'apport en carbone labile suffisamment important pour stimuler la croissance bactérienne, les plantes limiteraient ainsi le prélèvement par les bactéries dans un stock épuisé par les incendies successifs. Les teneurs en métabolites secondaires (polyphénols totaux et tanins condensés) des litières augmentent avec la fréquence des incendies. La production de litières riches en tanins condensés dont nous avons montré la capacité de précipiter les protéines enzymatiques, permettrait au ciste de Montpellier de ralentir la minéralisation de la matière organique et de séquestrer de l'azote sous une forme inaccessible aux bactéries. Nous avons en effet montré que les tanins condensés purifiés de ciste de Montpellier inhibaient les activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation de la matière organique par la formation de précipités protéines/tanins stables. Par ailleurs ces précipités séquestrent une quantité importante d'azote organique indisponible à l'ammonification donc à la production d'azote inorganique nécessaire à la croissance des bactéries.

Si, comme le prouvent nos résultats, les tanins du ciste de Montpellier diminuent la disponibilité de l'azote en bloquant la minéralisation de la matière organique et en séquestrant l'azote sous une forme organique, quel avantage compétitif cette espèce retire-t-elle de ce processus ? En 1995, Northup *et al*., proposent que, sur un sol pauvre en azote, les espèces de ces stades pionniers pourraient avoir accès à l'azote des complexes tanins-protéines des litières, plus

efficacement que les bactéries, notamment via leurs ectomycorhizes (ECM). Il serait donc pertinent de tester l'hypothèse que les ECM sont bien capables d'utiliser l'azote contenu dans les complexes tanins-protéines et fournirait ainsi une source d'azote exclusive et une habilité compétitive forte pour cette ressource au *Cistus* spp.

Finalement, il est clairement établi par ce travail que la qualité de la matière organique des plantes, des litières et des sols, et en particulier les teneurs en composés polyphénoliques, sont impliquées dans la dynamique microbienne des sols incendiés, et que cette qualité dépend de la récurrence des incendies. Il serait particulièrement intéressant de pouvoir prédire par un outil efficace, rapide et peu onéreux la vulnérabilité d'un écosystème à un événement incendiaire supplémentaire. Pour ce faire, l'outil doit permettre de révéler les modifications de la qualité de la matière organique des sols et de l'histoire de la parcelle en événements incendiaires. Dans ce travail, nous avons montré que la spectroscopie Proche Infra-Rouge permettait de prédire efficacement la qualité de la matière organique et les teneurs dans les sols incendiés en composés phénoliques. La PIR pourrait être utilisée : i) pour établir des équations de calibration entre l'information spectrale des différents compartiments étudiés (végétation, litières et sols) et les propriétés microbiologiques des sols, et ii) pour exploiter ces équations de calibration afin de prédire la vulnérabilité microbienne et plus largement celle de l'écosystème méditerranéen soumis à des régimes d'incendies répétés.

La compréhension du rôle des composés polyphénoliques (polyphénols totaux et tanins condensés) sur le fonctionnement microbien (inhibition, facilitation) est particulièrement intéressante dans l'étude des effets d'apports de composts sur les sols. En effet, les composts de boues de station d'épuration sont fabriqués à partir de 70% de mélange d'écorces de pins et autres déchets verts, riches en polyphénols et autres métabolites secondaires (terpènes) dont on sait les interactions possibles avec le fonctionnement microbien. Ces résultats vont nous permettre d'interpréter comment les composts de différentes maturités et donc de qualités chimique (nutriments) et microbiologiques (biomasse et diversité) vont permettre la restauration efficace des sols incendiés.

## Références bibliographiques :


Aerts R., Boot R.G.A. et Vanderaart P.J.M., 1991. The relation between aboveground and belowground biomass allocation patterns and competitive ability. *Oecologia*, **4**, 551-559.

Almendros G., F.J. González-Vila and F. Martin, 1990. Fire-induced transformation of soil organic matter from an oak forest: an experimental approach to the effects of fire on humic substances. Soil Science 149, 158–168.

Anderson, J.P.E. et Domsch K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **10**, 215-221.

Arana I., Jaren C. et Arazuri S., 2005. Maturity, variety and origin determination in White grapes (*Vitis Vinifera* L.) using NIRS. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 13, 349-357.

Atlas R.M. and R. Bartha, 1998. Quantitative ecology: numbers, biomass, and activities (Chapter 7), Microbial Ecology: Fundamentals and Applications, Benjamin/Cummings Science Publishing, Menlo Park, California, pp. 218–280.

Baldock A. and C.M. Preston, 1995. Chemistry of carbon decomposition processes in forests as revealed by solid-state carbon 13 nuclear magnetic resonance. In: W.W. McFee and J.M. Kelly, Editors, Carbon Forms and Functions in Forest SoilsSoil Sci. Soc. Am., Madison, WI, pp. 89–117.

Beare M.H., Neely C.L., Coleman D.C. et Hargrove W.L., 1990. A substrate-induced respiration (sir) method for measurement of fungal and bacterial biomass on plant residues. *Soil Biology and Biochemistry*, **22**, 585-594.

Bending, G.D., Turner, M.K., Jones, J.E. (2002) Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, **34**, 1073-1082.

Berg, B., Staaf, H., Wessen, B. (1987) Decomposition and nutrient release in needle litter from nitrogen-fertilized scots pine (pinus sylvestris) stands. *Scandinavian Journal of Forest Research*, **2**, 399-415.

Bergaglio M., Talon B., Médail F., 2004. Histoire et dynamique des forêts de l'ubac du massif des Maures (Var) au cours des derniers 7000 ans. Publication WWF, CEEP-Var, IMEP, 1-6.

Bernays E. A., Cooper Driver G. et Bilgener M., 1989. Herbivores and plant tannins. *Advances in Ecological Research* Vol. 19. Eds. M. Begon, A.H. Fitter, E.D. Ford et A. MacFadyen, 263-302. Academic Press, London.

Boerner, R.E.J., Brinkman, J.A. (2003) Fire frequency and soil enzyme activity in southern Ohio oak-hickory forests. *Applied Soil Ecology*, **23**, 137-146.

Bonnet V. Et Tatoni T., 2004. Ephemeral establishment of therophytic, ruderal and wind-dispersed species after fire (Marseille, France). In: Arianoutsou M. & Papanastasis V.P. (eds.). Ecology, conservation and management of Mediterranean climate ecosystems. Millpress Science Publishers, Rotterdam, pp. 1-12

Bottner P. (1985) Response of microbial biomass to alternate moist and dry conditions in a soil incubated with 14C and 15N labelled plant material. *Soil Biology and Biochemistry*, **17**, 329-337.

Bradley R.L., Titus B.D. et Preston C.P., 2000a. Changes to mineral N cycling and microbial communities in black spruce humus after additions of (NH4)2SO4 and condensed tannins extracted from *Kalmia angustifolia* and balsam fir. *Soil Biology and biochemistry*, 32, 1227-1240.

Brunet D., Barthès B.G., Chotte J-L. et Feller C., 2007. Determination of carbon and nitrogen contents in Alfisols, Oxisols and Ultisols from Africa and Brazil using NIRS analysis: Effects of sample grinding and set heterogeneity. *Geoderma,* **1-2**, 106-117.

Castells E., Peñuelasand J. et Valentine D.W., 2004. Are phenolic compounds released from the Mediterranean shrub *Cistus albidus* responsible for changes in N cycling in siliceous and calcareous soils? *New Phytologist*, **162**, 187-195.

Cécillon L., Cassagne N., Czarnes S., Gros R. et Brun J-J., 2008. Variable selection in near infrared spectra for the biological characterization of soil and earthworm casts. *Soil Biology and Biochemistry*, **7**, 1975-1979.

Certini, G. (2005) Effects of fire on properties of forest soils: a review. *Oecologia*, **143**, 1-10.

Chandler, C., Cheney P., Thomas P., Trabaud L. et Williams D., 1983. Fire effects on soil, water and air. *Fire in Forestry*, Wiley and Sons, New York, vol 1, 171-202.

Chaves N. et Escuder J.C., 1999. Variation of flavonoid synthesis induced by ecological factors. *Principles and Practices in Plant Ecology* – Allochemical Interactions. Eds. Inderjit, K.M.M. Dakshini and C.L. Foy, 267-285. CRC Press, Boca Raton.

Criquet S., Tagger S., Vogt G., Iacazio G. et Le Petit J., 1999. Laccase activity of forest litter. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**, 1239-1244.

De Las Heras J., Martínez-Sánchez J.J., González-Ochoa A.I., Ferrandis P. et Herranz J.M., 2002. Establishment of *Pinus halepensis* Mill, sapling following fire: effect of competition whith shrub species. *Acta Oecologica,* **2**, 91-97.

DeBano, L.F., 2000. Water repellency in soils: a historical overview. Journal of Hydrology 231–232 4–32.

DeBano, L.F., Eberlein, G.E., Dunn, P.H. (1979) Effets of burning on chaparral soils : I. Soil nitrogen. *Soil Sci Soc Am J*, **43**, 504-509.

Debrand-Passard S., Courbouleix S. et Lienhardt M.J., 1984b. Synthèse géologique du Sud-Est de la france. Vol 1, Stratigraphie et paleogéographie. Mémoire BRGM Fr. n° 125, BRGM, Orleans, 615 p. + cartes.

Diaz-Delgado R., Lloret F., Pons X. Et Terradas J., 2002. Satellite evidence of decreasing resilience in Mediterranean plant communities after recurrent wildfires. *Ecology* **83**, 2293-2303.

Doerr, S.H., R.A. Shakesby and R.P.D. Walsh, 2000. Soil water repellency: its causes, characteristics and hydrogeomorphological significance, Earth-Sci. Rev. 51, 33–65.

Dumontet, S., Dinel, H., Scopa, A. (1996) Post-fire soil microbial biomass and nutrient content of a pine forest soil from a dunal Mediterranean environment. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**, 1467-1475.

Eivazi F. et Tabatabai M.A., 1988. Glucosidases and galactosidases activities in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **20**, 601-606.

Emmerling, C., Schloter, M., Hartman, A., *et al*. (2002) Functional diversity of soil organisms - a review of recent research activities in Germany. *Journal of plant nutrition and soil Science-Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und bodenkunde* , **165**, 408-420.

Fierer N., Schimel J.P., Cates R.G. et Zou Z., 2001. The influence of balsam poplar tannin fractions on carbon and nitrogen dynamics in Alaskan taiga floodplain soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **33**, 1827-1839.

Fierer, N. & Schimel, J.P. (2002) Effects of drying-rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biology and Biochemistry*, **34**, 777-787.

Fog, K., 1988. The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. Biological Reviews 63, 433–462.

Foley W.J., Mcllwee A., Lawler I., Aragones L., Woolnough A.P. et Berding N., 1998. Ecological applications of near infrared reflectance spectroscopy: a tool for rapid cost-effective prediction of the composition of plant and animal tissues and aspects of animal performance. *Oecologia* **116** , 293–305.

Fritze H., T. Pennanen and J. Pietikäinen, (1993). Recovery of soil microbial biomass and activity from prescribed burning. Canadian Journal of Forest Research 23, 1286–1290.

Gallet C., Nilsson M-C et Zackrisson O., 1999. Phenolic metabolites of ecological significance in *Empetrum hermaphroditum* leaves and associated humus. *Plant and Soil*, **210**, 1-9.

Garland, J.L. & Mills, A.L. (1991) Classification and characterisation of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilisation. *Applied and Environmental Microbiology*, **57**, 2351-2359.

Gélinas Y., J.A. Baldock and J.I. Hedges, 2001. Demineralization of marine and freshwater sediments for CP/MAS 13C NMR analysis, Org. Geochem. 32, 677–693.

Gershenzon J., 1994. The cost of plant chemical defense against herbivory:a biochemical perspective. *Insect Plant Interactions*. Ed. E A Bernays, 105–173. CRC Press, Boca Raton.

González-Pérez M., L. Martin-Neto, S.C. Saab, E.H. Novotny, D.M.B.P. Milori, V.S. Bagnato, L.A. Colnago, W.J. Melo and H. Knicker, (2004) Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, 13C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy, Geoderma 118 (3–4), pp. 181–190.

Gros R., Jocteur Monrozier L., Bartoli F., Chotte J-L et Faivre P., 2004. Relationships between soil physico-chemical properties and microbial activity along a restoration chronosequence of alpine grasslands following ski run construction. *Applied Soil Ecology*, **1**, 7-22.

Gros R., Monrozier L.J. et Faivre P., 2006. Does disturbance and restoration of alpine grassland soils affect the genetic structure and diversity of bacterial and N2-fixing populations*? Environmental Microbiology,* **8**, 1889-1901.

Hagerman A.E. et Butler L.G., 1978. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. J*ournal of Agriculture Food and Chemistry***, 26**, 809-812.

Hagerman A.E. et Butler L.G., 1981. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *Journal of Biology and Chemistry*, **256**, 4494-4497.

Hamilton J. G., Zangerl A. R., DeLucia E. H. et Benebaum M. R., 2001.The carbon-nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecology Letters,* 4, 86-95.

Handayanto E., Giller K.E. et Cadisch G., 1997. Regulating N release from legume tree prunings by mixing residues of different quality. *Soil Biology and Biochemistry*, **29**, 1417-1429.

Harris, R., (1981) Effect of water potential on microbial growth and activity. Parr, J., Gardner, W., Elliott, L. Watter potential Relation in soil Microbiology. *Soil Science Society of America*, Madison, 23-25.

Hart S.C., Nason G.E., Myrold D.D. et Perry D.A., 1994b. Dynamics of gross nitrogen transformations in an old-growth forest: the carbon connection. *Ecology,* **75**, 880-891.

Hart, S.C., DeLuca, T.H., Newman, G.S., MacKenzie, M.D. et Boyle, S.I., 2005. Post-fire vegetative dynamics as drivers of microbial community structure and function in forest soils. *Forest Ecology and Management*, **220**, 166-184.

Hobbie S.E., 1992. Effects of plants species on nutrient cycling. *Trend in Ecology and Evolution* **7,** 336-339.

Huffman EL, MacDonald L, Stednick JD (2001) Strength and persistence of fire-induced soil hydrophobicity under ponderosa and lodgepole pine, Colorado Front Range. Hydrol Process 15:2877–2892

Jassal R.S. et Black T.A., 2006. Estimating heterotrophic and autotrophic soil respiration using small-area trenched plot technique: Theory and practice. *Agricultural and Forest Meteorology*, **140**, 193-202.

Johnson DW, Curtis PS (2001) Effect of forest management on soil C and N storage: meta analysis. Forest Ecol Manag 140:227–238

Juntheikki M. et Julkunen-Tiitto R., 2000. Inhibition of *B*glucosidase and esterase by tannins from *Betula Salix* and *Pinus* species. *Journal of Chemistry and Ecology*, **26**, 1151-1165.

Kalburtji K.L., Mosjidis J.A. et Mamolos A.P., 1999. Litter dynamics of low and high tannin sericea lespedesa plants under field conditions. *Plant and Soil*, **208**, 217-281.

Kaye J.P. et Hart S.C., 1997. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends in Ecology and Evolution*, **12**, 139-143.

Keeney & Nelson., 1982. Nitrogen – Inorganic Forms. In : Alef, K. & Nannipieri, P. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry, Chapitre 3 Soil sampling, handling storange and analysis – Inorganic nitrogen*. 79-87.

Knicker H, González-Vila FJ, Polvillo O, González JA, Almendros G (2005a) Fire-induced transformation of C- and N-forms in different organic soil fractions from a Dystric Cambisol under a Mediterranean pine forest (Pinus pinaster). Soil Biol Biochem 37:701–718

Kögel-Knabner, I., de Leeuw, J.W. and Hatcher, P.G., 1992. Nature and distribution of alkyl carbon in forest soil profiles: implications for the origin and humification of aliphatic biomacromolecules. Sci. Total Environ. 117/118, pp. 175–185.

Kraus T.E.C., Dahlgren R.A. et Zasoski R.J., 2003. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems – a review. *Plant and Soil*, **256**, 41-66.

Kuiters A.T., 1990. Role of phenolic substances from decomposing forest litter in plant-soil interactions. *Acta Botanica Neerlandica*, **27,** 329-348.

Lavoie M. et Bradley R.L., 2003. Short-trem increases in relative nitrification rates due to trenching in forest floor and mineral soil horizons of different forest types. *Plant and Soil*, **252**, 367-384.

Loomis, W.D., 1974. Overcoming problems of phenolics and quinines in the isolation of plant enzymes and organelles. *Methods in Enzymology*, **31**, 528-544.

Lorenz K., Preston C.M., Raspe S., Morrison I.K. et Feger K -H 2000. Litter decomposition and humus characteristics in Canadian and German spruce ecosystems: information from tannin analysis and13C CPMAS NMR. *Soil Biology and Biochemistry*, **32**,779-792.

Margaris N.S et Vokou D.,1982. Structural and physiological features of woody plants in phryganic ecosystems related to adaptive mechanisms, *Ecology Mediterranean*, **8** , 449-459.

Michelsen, A., Anderson, M., Jensen, M., *et al*. (2004) Carbon stocks, soil respiration and microbial biomass in fire-prone tropical grassland, woodland and forest ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, **36**, 1707-1717.

Mikha, M.M., Rice, C.W., Milliken, G.A. (2005) Carbon and nitrogen mineralization as affected by drying and wetting cycles. *Soil Biology and Biochemistry*, **37**, 339-347.

Mole S. et Waterman P.G., 1987c. Tannic acid and proteolytic enzymes: enzyme inhibition or substrate deprivation? *Phytochemistry*, **26**, 99-102.

Mulvaney, R.L., 1996. Nitrogen – Inorganic Forms. In : Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke P.A. et al. *Methods of soil analysis, Part 3 – Chemical Methods*. SSSA Book series: 5, Wisconsin, USA. 1123-1184.

Nagy, L.A. & Macauley, B.J. (1982) Eucalyptus leaf-litter decomposition: Effects of relative humidity and substrate moisture content. *Soil Biology and Biochemistry*, **14**, 233-236.

Neary, D.G., Klopatek, C.C., DeBano, L.F., Ffolliott, P.F. (1999) Fire effects on belowground sustainability: a review and synthesis. *Forest Ecology and Management*, **122**, 51-71.

Nizovtseva, D.V., Semenov, A.M., Panikov, N.S. (1995) Influence of humidity on microbial cellulase activity in peat from a raised bog. *Microbiology*, **64**, 701-705.

Northup R.R., Dahlgren R.A., et Yu Z., 1995a. Intraspecific variation of conifer phenolic concentration on a marine terrace soil acidity gradient ; a new interpretation. *Plant and Soil*, **171**, 255-262.

Ojima, D.S., Shimel, D.S., Parton, W.J., *et al*. (1994) Long-term and short-term effects of fire on nitrogen cycling in tallgrass prairie. *Biogeochemistry*, **24**, 67-84.

Orians, G. (1975) Diversity stability and maturity in natural ecosystems. *In W. H. Van Dobben & R. H. Lowe-McConnell, eds. Unifying Concepts in Ecology*. Dr. W. Junk, The Hague.

Orwin, K.H., Wardle, D.A., Greenfield, L.G. (2006) Context-dependent changes in the resistance and resilience of soil microbes to an experimental disturbance for three primary plant chronosequences. *Oikos*, **112**, 196-208.

Overby S.T., Hart S.C., Newman G.S. et Erikson D., 2006. Microbial response to high severity wildfire in the southwest United States. *Forest Ecology* S**234**, 198.

Pietikainen J., 1999. Soil microbes in boreal forest humus after fire. Ph.D. dissertation, University of Helsinki, 53p.

Preston C.M., 1999. Condensed tannins of salal (*Gaultheria shallon pursh*): a contributing factor to seedling 'growth check' on northern Vancouver Island? *In* Plant Polyphenols 2. *Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology*. Eds. G.G. Gross, R.W. Hemingway, R.Yoshida et S. Branham, 825-841. KluwerAcademic/Plenum Publishers, New York.

Reigosa M.J. et González L., 2006. Allelopathy: A physiological Process with Ecological Implications. Chapitre 20, 451-463.

Robichaud, P.R., Beyers, J.L., Neary, D.G. (2000) Evaluating the effectiveness of postfire rehabilitation treatments. Fort Collins, USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station, General Technical Report RMRS-GTR-63.

Saiya-Cork K.R., Sinsabaugh R.L. et Zak D.R., 2002. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an Acer saccharum forest soil. *Soil Biology and Biochemistry,* **34,** 1309-1315.

Scalbert A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, **30**, 3875-3883.

Schimel J.P., Cates R.G., et Ruess R., 1998. The role of balsam poplar secondary chemicals in controlling soil nutrient dynamics through succession in the Alaskan taiga. *Biogeochemistry*, **42**, 221-234.

Schmidt S.K. et Lipson D.A., 200. Microbial growth under the snow: Implications for nutrient and

Schmidt, M.W., Knicker, H., Hatcher, P.G. and Kögel-Knabner, I., 1997. Improvement of 13C and 15N CP/MAS NMR spectra of bulk soils, particle size fractions and organic material by treatment with 10% hydrofluoric acid. Eur. J. Soil Sci. 48, pp. 319–328

Schnurer, J., Rosswall, T., (1982) Fluoresceine diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology*, **43**, 1256-1261.

Sinsabaugh R.L., Antibus R.K. et Linkins A.E., 1991. An enzymic approach to the analysis of microbial activity during plant litter decomposition. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **1-4**, 43-54.

Soil Survey Staff, Keys to soil taxonomy, USDA, Natural Res. Conserv. Serv. (8th edn.), U.S. Govt. Print. Office, Washington, DC (1998).

Stevens A., Wesemael B.V., Bartholomeus H., Rosillon D., Tychon B. et Ben-Dor E., 2008. Laboratory, field and airborne spectroscopy for monitoring organique carbon content in agricultural soils. *Geoderma,* **1-2**, 395-404.

Tabatabai M.A. et Bremner J.M., 1972a. Assay of urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **4**, 479-487.

Tenenhaus, M., 1998. La regression PLS. Editions Technip, Paris, 254 pp.

Terhoeven-Urselmans T;, Schmidt H., Joergensen R.G. et Ludwig B., 2008. Usefulness of near-infrared spectroscopy to determine biological and chemical soil properties: Importance of sample pre-treatment. *Soil Biology and Biochemistry*, **5**, 1178-1188.

Thirukkumaran, C.M. & Parkinson, D. (2000) Microbial respiration, biomass, metabolic quotient and litter decomposition in lodgepole pine forest floor amended with nitrogen and phosphorous fertilizers. *Soil Biology and Biochemistry*, **32**, 59-66.

Toutain F., 1981. Les humus forestiers structures et modes de functionnement. *Revue Forestière Française*, **33**, 449-477.

Trabaud L., 1995. Modalités de germination des cistes et des pins méditerranéens et colonisation des sites perturbés. *Revue d' Ecologie (Terre Vie),* **50**, 3-14.

Vance, E.D. & Chapin, F.S. (2001) Substrate limitations to microbial activity in taiga forest floors. *Soil Biology and Biochemistry*, **33**, 173-188.

Wardle, D.A., 2002. Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components. Princeton University Press, Princeton, NJ, USA.

Wardle, D.A., Parkinson, D. (1990) Determination of bacterial and fungal fumigation Kc factors across a soil-moisture gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, **22**, 811-816.

Webster, E.A., Hopkins, D.W., Chudek, J.A., Haslam, S.F.I., imek, M. and Pîcek, T., 2001. The relationship between microbial carbon and the resource quality of soil carbon. J. Environ. Qual. 30, pp. 147–150.

Zackrisson, O., Nilsson, M.-C., et Wardle, D.A. 1996. Kay ecological function of charcoal from wildfire in the Boreal forest. Oikos, 77 : 10–19.

Zak, J.C., Willig, M.R., Moorhead, D.L. *et al.* (1994) Functional diversity of microbial communities – A quantative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, **26**, 1101-1108.

Zucker W.V., 1983. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. *American Naturalist*, **121**, 335-365.

## Annexe 5.4: Impacts des Incendies sur la matière organique et les éléments nutritifs

Laboratoire Chimie Provence LCP (ex LCE Chimie et Environnement)
Equipe CEC (Chimie de l'Environnement Continental)

## I- Contexte du travail

Le sol, biotope riche en êtres vivants de toutes sortes, est largement affecté par le passage d'un incendie, à la fois par l'élimination de certains micro-organismes vivants, mais également avec l'altération par le feu de la matière organique présente (Gonzalez-Perez et al., 2004 ; Certini, 2005, Hatten et al., 2005). Or, cette dernière constitue l'un des facteurs clés du sol, avec une influence directe ou indirecte sur ses caractéristiques physiques et chimiques, avec les interactions avec les facteurs biotiques, et compte tenu de sa contribution à la stabilité structurale et à la perméabilité pour l'eau et les gaz du sol. Conséquences d'un incendie, l'humus est modifié dans sa structure physique et chimique. L'érosion devient d'autant plus importante et les mécanismes de minéralisation sont modifiés. En particulier, dans les 5 premiers centimètres du sol, la formation de charbon, dont la structure et le rôle sont identiques à ceux du charbon actif, modifie la répartition et le déplacement des éléments nutritifs et des polluants dans le sol.

Ainsi, dans un double souci de protection du milieu environnant et de réhabilitation des sols et du couvert végétal, cette étude contribue à comprendre l'impact des feux de forêts, d'une part, par le suivi de l'évolution quantitative et qualitative de la matière organique dans un sol après le passage d'un ou plusieurs feux, avec l'identification et la quantification des principales fractions organiques (fractions stables, instables, biodisponibles), et d'autre part, sur l'évolution quantitative globale des éléments nutritifs.

Lors d'un feu de forêt, la matière organique du sol subit deux phénomènes a priori contradictoires : d'une part, on note un compartiment labile plus important qui apparaît rapidement après l'incendie et, d'autre part, on note l'apparition d'une fraction organique résistante à la biodégradation, en particulier dans les premiers centimètres, créant un gradient vertical dans la répartition des matières organiques.
En ce qui concerne la matière organique résistante néo-formée lors de l'incendie, les substances humiques et leurs fractions ont été suivies pour informer sur la présence ou l'apparition de matière organique réfractaire. L'apparition d'une fraction labile de la matière organique influence en particulier la biodisponibilité des substances nutritives et d'une partie de la fraction organique. La "fertilité" du sol pour les végétaux supérieurs est largement conditionnée par l'abondance et la disponibilité de quelques éléments minéraux de base N, P, K, Mg, Ca, et divers oligo-éléments. Les incendies provoquent une mobilisation brutale de ces éléments, auparavant stockés dans la végétation et le sol, directement par combustion de la matière localement présente avant l'incendie (on les retrouve en partie dans les cendres), et indirectement par accélération des processus de minéralisation de la matière organique et déstructuration des minéraux de surface. Cette mobilisation est favorable à la végétation pionnière qui peut en fixer une partie. Ainsi, une première strate de végétation peu exigeante en matière organique pourra pousser rapidement après l'incendie, diminuant les risques d'érosion.

L'étude de la matière organique, dans 2 horizons de surface du sol, est donc abordée suivant une approche à la fois quantitative et qualitative des différentes fractions obtenues. Nous nous sommes ainsi intéressés à :

- la quantification du carbone organique total présent dans la phase condensée,
- l'étude quantitative et qualitative des substances humiques totales (SH) du sol, ainsi que des différentes fractions: acides humiques (AH), acides fulviques (AF), et fraction non humifiée (FNH),
- l'étude quantitative et qualitative de la fraction extractible à l'eau, y compris après son fractionnement entre composés hydrophobes (Hpo), hydrophiles (Hpi) et transphiliques (Tpi) (Thurman and Malcolm, 1981 ; Aiken et al., 1992 ; Malcolm and McCarthy, 1992 ; Martin-Mousset et al., 1997 ; Croué et al., 2003),
- enfin, l'étude quantitative des principaux éléments nutritifs.

## ❖ II- Méthodologie analytique et exploitation des données

- Pour chacune des fractions citées, une étude quantitative par la mesure du carbone organique a été couplée à une approche semi-qualitative, basée essentiellement sur une approche spectroscopique, basée à la fois sur l'exploitation des spectres d'absorbance UV, et sur celle des matrices d'excitation-emission de fluorescence. L'utilisation de ces analyses spectroscopiques, associées aux fractionnements, apporte des compléments d'information sur l'évolution globale de la structure chimique et de la fonctionnalisation de la matière organique (Chen et al. 1977 ; Senesi et al., 1991 ; Stevenson, 1994, Fuentes, 2006).

- Le tableau 1 rassemble l'ensemble des informations concernant les paramètres et éléments étudiés ainsi que les techniques ou méthodes analytiques employées, les conditions opératoires retenues lors des mesures spectroscopiques, et les facteurs analytiques utilisés lors de l'exploitation des données spectrales.

**Tableau 1** : Paramètre global et éléments spécifiques étudiés, techniques et méthodes analytiques employées

| | **Paramètres/éléments étudiés** | **Technique utilisée et facteurs analytiques étudiés** |
|---|---|---|
| **Matière Organique** | COT phase condensée | Carbone Organique Total Module Solide Shimadzu ® SSM 5000 |
| | COT phase liquide | Carbone Organique Total Module Liquide Shimadzu ® 5050A |
| **Détection spectrale** | Spectrophotométrie UV | AGILENT 8453 : Acquisition du spectre entre 200 et 350 nm, pas de 1 nm. Détermination des absorbances spécifiques à 254 et 280 nm. |
| | Matrice Excitation-Emission de Fluorescence | Perkin Elmer LS55 : acquisition des intensités de fluorescence par pas de 5 nm en excitation et émission. Détermination du positionnement des 2 principaux massifs A et C, calculs de ratios de fluorescence entre ces 2 massifs. |
| **Eléments nutritifs** | Azote total (organique et minéral) | Norme NF ISO 13878 |
| | Phosphore | Joret Hebert (AFNOR NF X 31-161) |
| | Cations échangeables à l'oxalate d'ammonium | AFNOR NF X 31-108 |
| | Calcium | Fraction échangeable à l'acétate d'ammonium |
| | Magnésium | Fraction échangeable à l'acétate d'ammonium |
| | Potassium | Fraction échangeable à l'acétate d'ammonium |
| | Azote minéral (nitrate et ammonium) | Extraction au chlorure de potassium puis analyse colorimétrique |

- Comme précisé figure 1 suivante, l'acquisition des spectres d'absorbance UV et des matrices d'excitation-émission de fluorescence, ainsi que la mesure quantitative du carbone, ont été réalisés sur l'ensemble des échantillons bruts et de leurs fractions, que ce soit pour le carbone extractible à l'eau ou pour les substances humiques totales.

- Les facteurs analytiques utilisés lors de l'exploitation des données spectrales sont les suivants :

- <u>Exploitation des spectres d'absorbance UV</u> :
* Détermination des absorbances spécifiques à 254 et/ou 280 nm, fréquemment utilisés pour caractériser le degré d'aromaticité de la matière organique dissoute (soluble) (Weishaar et al., 2003 ; Chen et al., 2004 ; Traina et al., 1990 ; Korshin et al.,

1997, Martin-Mousset et al., 1997). En particulier, l'absorbance à 254 nm est due entre autres aux groupements de types benzoïques et s'accroît considérablement en présence de groupements fonctionnels polaires type carboxylique, carbonyle ou hydroxyle attachés aux cycles aromatiques. Une valeur élevée de ce facteur indique une matière organique plus condensée et un degré d'humification plus important. Les mêmes informations peuvent être obtenues à 280 nm.

* Détermination du rapport d'absorbance à 250 et 365 nm (E2/E3), permettant d'obtenir des informations sur les propriétés structurales de la matière organique (degré d'humification et de condensation, avec taille et poids moléculaire, indicateur de l'aromaticité) (Peuravuori et Pihlaja, 1997 ; Durate et al., 2003). Ainsi, plus le ratio est élevé, plus les chromophores simples et les molécules de petites tailles sont abondants.

- Exploitation des matrices d'excitation-émission de fluorescence (MEEF) :
* Détermination des valeurs des maxima d'intensité de fluorescence des principaux massifs et suivie de leurs positions dans la matrice, pour une étude qualitative de la matière organique (Senesi et al., 1991 ; Coble, 1996). On note la présence de 2 principaux massifs fluorescents (nommés conventionnellement, type A et type C), « marqueurs » représentatifs de composés type humique is sus de la matière organique naturelle (Chen et al., 2003 ; Sierra et al., 2005). Généralement, le massif A représente des acides fulviques moins condensés et de structuration plus simple ainsi que certains constituants protéïniques, et le massif C correspond aux acides humiques plus condensés et aux composés type acides humiques. Le positionnement du couple de longueurs d'onde d'excitation/émission $\lambda ex/\lambda em$ (nm) des pics d'intensité de fluorescence renseigne notamment sur les tailles des molécules organiques et sur leur degré d'humification, voire leur origine (Coble, 1996 ; Senesi et al., 1991 ; Corvasce et al., 2005).
Par ailleurs, un déplacement de l'émission vers des longueurs d'onde plus courtes (« Blue shift ») témoigne d'une réduction de la présence de systèmes contenant des électrons $\Pi$ (noyaux aromatiques, chaînes aliphatiques insaturées) et également de l'élimination de certains groupements fonctionnels de type hydroxyle, carbonyle ou aminés (Senesi, 1990 ; Sierra et al., 2005). Au contraire, un déplacement vers des longueurs d'onde plus grandes (« Red shift ») est indicateur d'un plus grand degré d'humification de la matière organique et d'un accroissement du poids moléculaire des constituants organiques (Zsolnay et al., 1998).

* Détermination des rapports entre les intensités de fluorescence (I) des 2 massifs A et C : un rapport plus élevé IA/IC est indicateur d'un degré avancé d'humification, et donc de l'âge plus avancé et de la stabilité supérieure de la matière organique (Sierra et al., 2005).

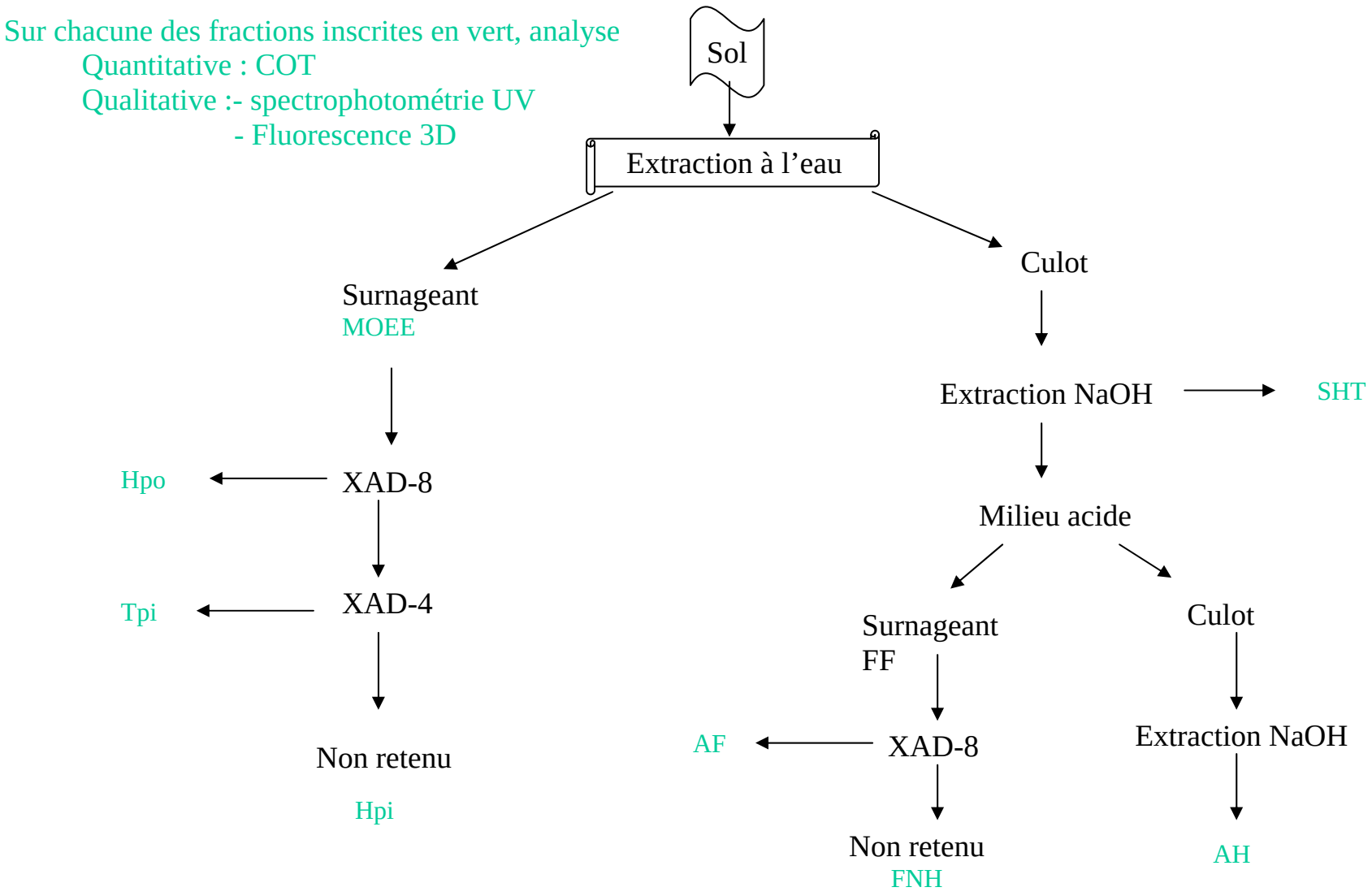



**Figure 1** : Protocoles d'extraction des substances humiques (SHT) et de la matière organique extractible à l'eau (MOEE)

## III- Résultats analytiques et discussions

Les résultats quantitatifs et qualitatifs (facteurs analytiques) provenant de l'exploitation des différentes réponses spectrales UV et des MEEF sont maintenant présentés, suivant un découpage qui s'appuie sur les procédures analytiques exposées précédemment : le carbone organique total non extractible de la phase condensée, le carbone extractible à l'eau (et ses fractions), et les substances humiques totales (et ses fractions). Les résultats concernant les éléments nutritifs sont présentés quatrième partie.

### III-1 Carbone Organique Total non extractible du sol (phase condensée)

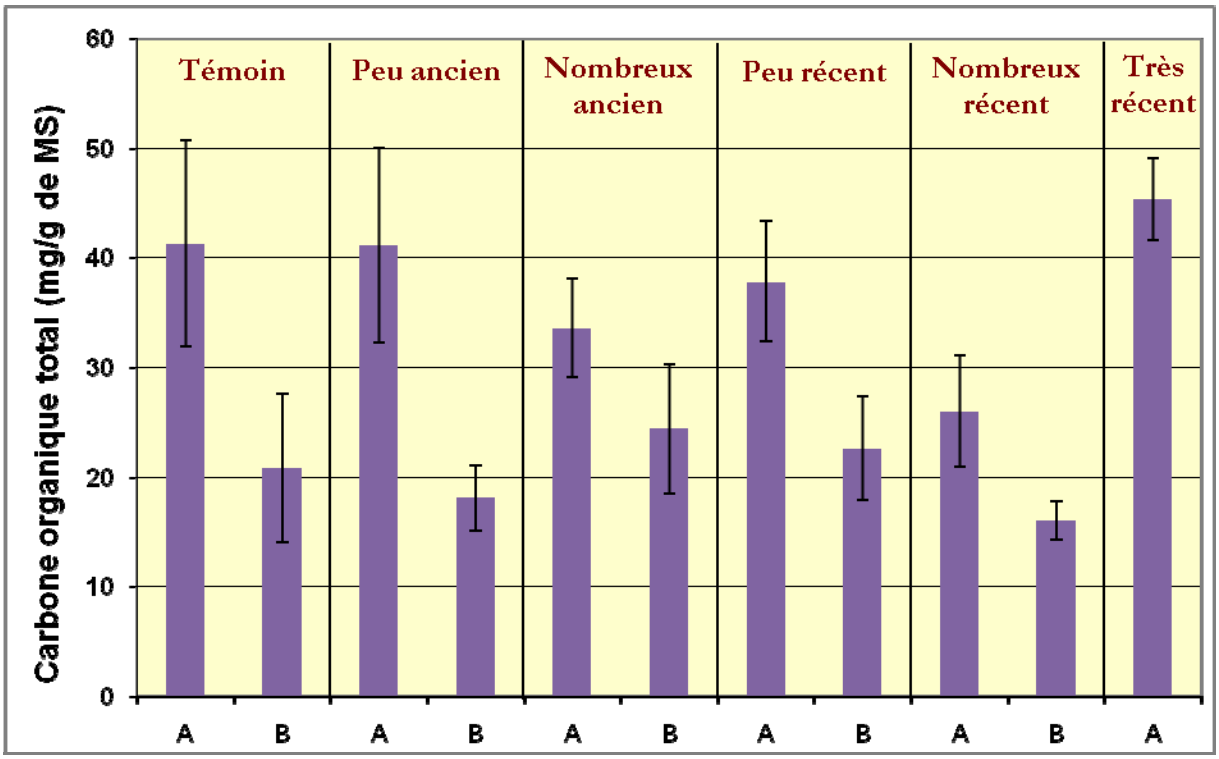



**Figure 2** : Teneur en Carbone Organique Total dans les sols (A : 0 à -5 cm; B : -5 à -15 cm). Résultats moyens obtenus sur 5 échantillons de sols par type de feux ; intervalles de confiance, P=0,05.

En s'intéressant à l'horizon A (figure 2), on remarque que seuls les sols impactés par de nombreux feux récents présentent des teneurs en COT significativement inférieures à celles des sols Témoins. Les deux facteurs, fréquence des feux et date du dernier feu, influent donc sur la perte en COT présent dans la phase condensée. Cependant, les horizons A des sols touchés par un feu très récent (incendie datant de quelques mois seulement) montrent des teneurs en COT équivalentes à celles des sols Témoins, résultats semblables à d'autres travaux (Rashid, 1987). Ce résultat indique que les incendies ne provoquent pas immédiatement une perte directe en COT, mais l'altération du sol entraînerait par la suite cette perte de matière organique par un lessivage accentué.

En ce qui concerne les horizons B, les teneurs en COT ne sont pas significativement différentes en fonction du type de traitement subit par les sols. L'impact des feux n'est donc visible qu'en surface : ce sont les couches de surface qui subissent les effets des feux, résultats analogues aux données trouvés dans la littérature (DeBano, 2000). Au-delà d'une profondeur supérieure à 5 cm, les feux n'ont quasiment plus d'influence sur ce paramètre.

Les teneurs en COT des horizons A des sols « Témoins » sont environ deux fois plus importantes que celles des horizons B : les 2 horizons sont par conséquent bien différenciés. La teneur en COT diminue significativement avec la profondeur. Cette observation est également valable pour les sols impactés par différents types de feux, excepté les nombreux feux anciens. Ce résultat est cohérent sachant que l'apport en matière organique dans les sols s'effectue par la surface, et que par ailleurs, certaines fractions de la matière organique, plus hydrophobes, sont susceptibles d'être retenues principalement dans les couches superficielles

par la matrice minérale du sol. Cependant, la différence entre les 2 horizons est moins marquée pour les sols touchés par de nombreux feux ou des feux récents. Ces types d'incendies provoquent donc une homogénéisation des horizons de ce point de vue.

### III-2 Carbone Organique Extractible à l'Eau

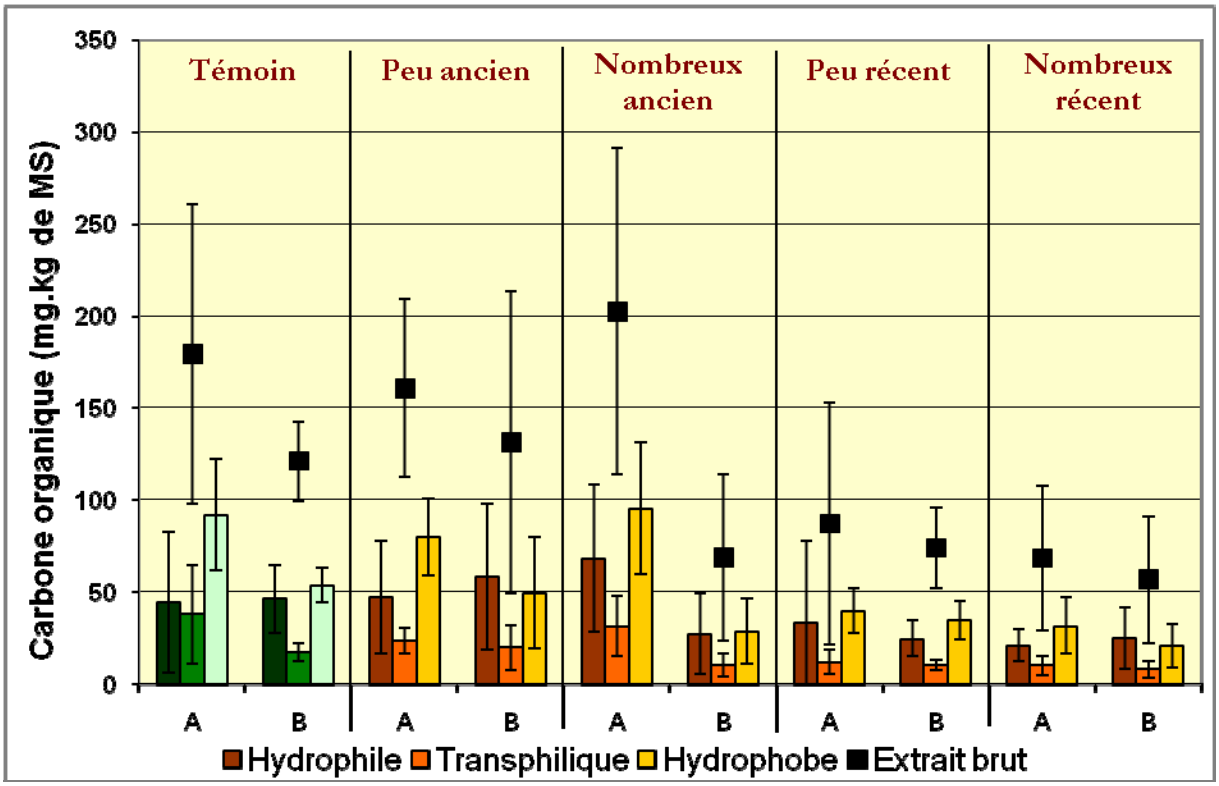



**Figure 3** : Concentrations en Carbone Organique dans les extraits à l'eau bruts et leurs fractions (A: 0 à -5 cm; B: -5 à -15 cm)
Résultats moyens obtenus sur 5 échantillons de sols par type de feux ; intervalles de confiance, P=0,05.

* Aspect quantitatif :
Les résultats du Carbone Organique Extractible à l'Eau des extraits bruts (COEE, Figure 3), correspondant à la fraction mobile du carbone organique dans le sol, présentent des intervalles de confiance plutôt importants, liés à une très forte variabilité analytique pour des sols soumis à un même traitement, ce qui ne permet pas de tirer des conclusions significatives. Cependant, certaines tendances apparaissent.

On observe des concentrations en carbone organique dans les extraits à l'eau bruts sensiblement plus faibles pour les sols touchés par des feux récents, pour les horizons A, mais aussi pour les horizons B. Les concentrations des horizons A sont proches de celles des horizons B. Les feux impactent de manière plus importante la surface et entraînent une homogénéisation de la colonne de sol, ce qui rejoint les observations faites dans d'autres travaux (DeBano, 2000).

Les concentrations en carbone des extraits bruts pour les sols touchés par des feux anciens sont équivalentes à celles des sols Témoins, excepté, semble t-il, pour l'horizon B des sols touchés par de nombreux feux anciens. Avec le temps, les sols reconstituent un pool de COEE. Par contre, on peut dire que cette reconstitution commence par la surface et prend plus de temps pour un sol qui a subi de nombreux feux.

En ce qui concerne les fractions hydrophile, transphilique et hydrophobe, on observe une tendance similaire à celle des extraits bruts. On note tout de même que les fractions hydrophobes des horizons A sont significativement plus faibles pour les sols touchés par des feux récents que ceux touchés par des feux anciens. Le facteur temps écoulé depuis le dernier feu est prépondérant sur celui de la fréquence des feux.

En représentant la proportion de chacune des 3 fractions constituant les extraits totaux de chaque sol (résultats non montrés), on remarque que la distribution des fractions est semblable pour les différents types

sols et les 2 horizons. L'aspect qualitatif de la matière organique extractible à l'eau n'est pas touché significativement par les feux de forêt ou par la profondeur, contrairement à l'aspect quantitatif.

* Aspect qualitatif :
Les résultats issus de l'exploitation des spectres d'absorption UV, en particulier de l'étude des absorbances spécifiques à 280nm (Chen and Bada, 1994) et des ratios d'absorbance à 250 et 365 nm, sur les extraits totaux et les différentes fractions, montrent peu de différences entre les différents types de sols et les horizons (résultats non montrés). Ils corroborent donc le résultat obtenu précédemment, à savoir que les feux de forêt et la profondeur impactent peu qualitativement la matière organique extractible à l'eau. Aucune complexification de la structure moléculaire de la matière organique, ni phénomène de condensation, ou encore d'augmentation du degré d'aromaticité, n'est observé. Seules les fractions hydrophiles des horizons A pour les sols « Témoins » présentent des rapports d'absorbance 250 nm/365 nm plus importants, ce qui indique la présence de composés ayant de plus petites tailles moléculaires.

Ces résultats sont également confortés par l'étude des MEEF qui démontrent, d'une part, que les extraits à l'eau bruts de l'horizon A sont le plus susceptibles d'évoluer, et d'autre part que les ratios des intensités de fluorescences des massifs A et C, représentatifs respectivement des composés organiques type fulviques et humiques (Zsolnay et al., 1998), ne sont pas significativement différents, quelque soit le traitement du sol concerné (Figure 4). Ceci indique que, qualitativement, la matière organique n'évolue ni vers une condensation, ni vers une simplification de sa structuration.

Avec une conclusion similaire, l'étude du positionnement des longueurs d'onde d'émission maximale pour les deux principaux massifs A et C (Coble, 1996) montre une absence de déplacement, que ce soit de type « red shift » ou « blue shift » (Figure 5). Ceci confirme l'absence d'évolution qualitative de la matière organique du point de vue de sa structure moléculaire.

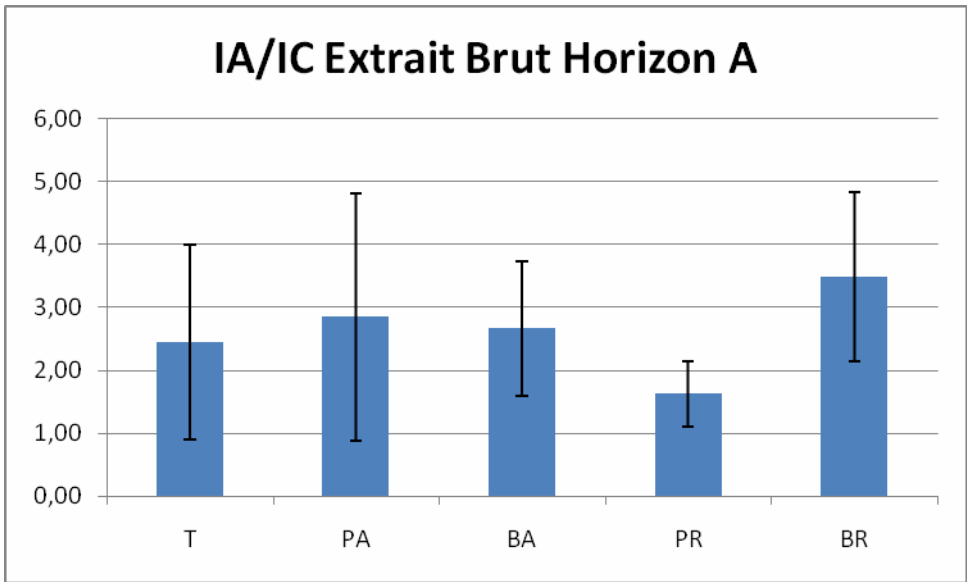



**Figure 4** : Ratio des intensités de fluorescence des massifs A et C pour les extraits d'eau bruts, horizon A

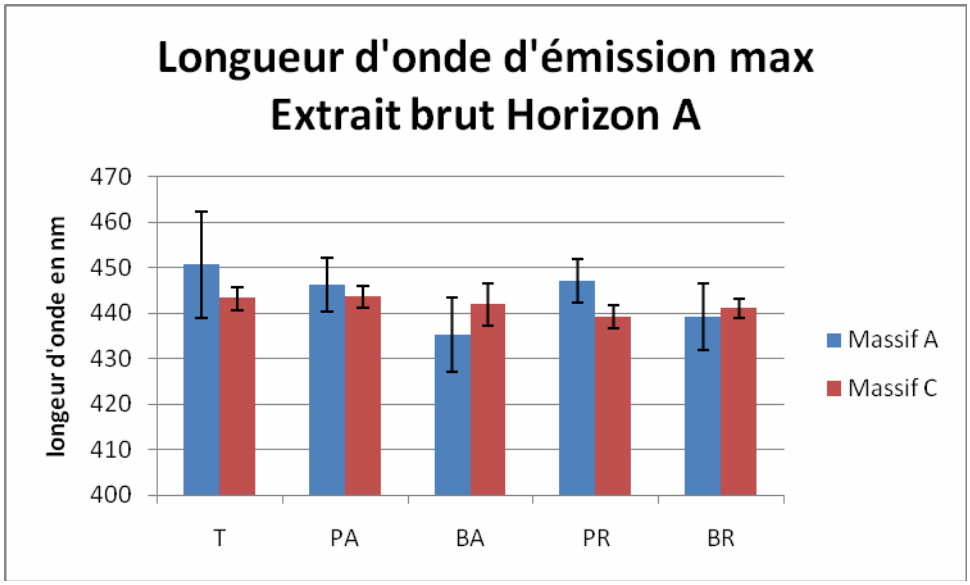



**Figure 5** : Longueurs d'onde d'émission maximale des massifs A et C, pour les extraits d'eau bruts, horizon A. Résultats moyens obtenus sur 5 échantillons de sols par type de feux ; intervalles de confiance, P=0,05.

### III-3 Les Substances Humiques

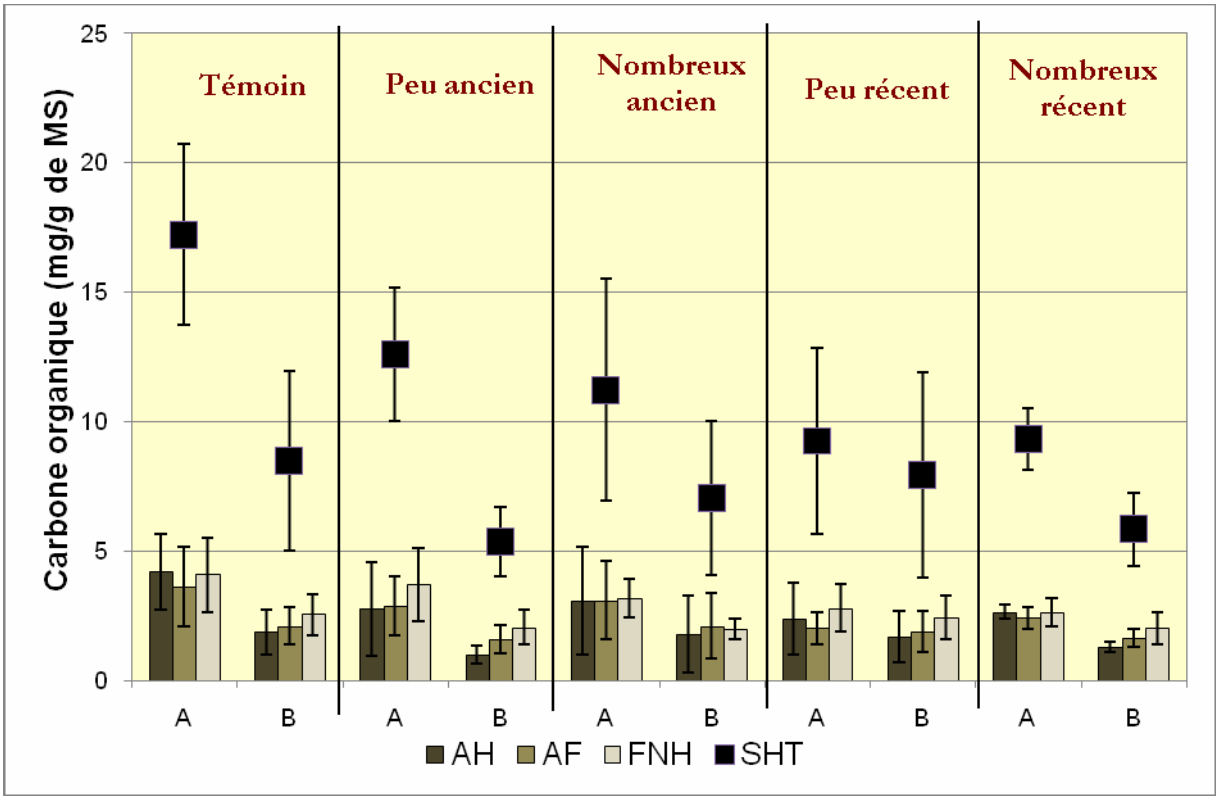



**Figure 6** : Concentrations en Carbone Organique dans les substances humiques et leurs fractions. (A: 0 à -5 cm; B: -5 à -15 cm.). Résultats moyens obtenus sur 5 échantillons de sols par type de feux ; intervalles de confiance, P=0,05.

* <u>Aspect quantitatif</u> :

Les résultats des Substances Humiques Totales du sol (SHT) en Figure 6, montrent des concentrations en carbone organique significativement plus faibles pour les sols touchés par des feux récents, en ce qui concerne les horizons A, ce qui rejoint les observations faites précédemment. Pour les sols touchés par des feux anciens, les concentrations ne sont plus significativement différentes de celles des sols Témoins, mais elles semblent néanmoins plus faibles. On peut dire que le facteur temps écoulé depuis le dernier feu est

prépondérant par rapport au facteur fréquence des feux. Les feux de forêt ont un impact important sur les substances humiques en surface. Avec le temps, le pool de SHT pour les sols brûlés se reconstitue, mais 16 ans après le dernier feu, la quantité n'atteint toujours pas celle rencontrée pour les sols Témoins.

Les concentrations en carbone organique des SHT pour les horizons B des différents types de sols sont équivalentes. Ceci montre, comme pour le COT sur phase condensée, que les feux n'ont que peu d'effet sur les couches plus profondes. On observe également à nouveau une homogénéisation de la colonne de sol, semblable à celle observée avec le carbone extractible à l'eau.

* Aspect qualitatif :
Les résultats obtenus pour les 3 fractions : Acides Humiques (AH), Acides Fulviques (AF) et Fraction Non Humifiée (FNH), montrent une tendance similaire à celle des SHT. La part de chacune des 3 fractions reste globalement la même pour les différents types sols. La composition des SHT n'est pas significativement touchée par les feux de forêt, contrairement à l'aspect quantitatif. On note cependant que pour l'horizon B, comparativement à l'horizon A, les AH ne représentent plus que la fraction mineure des SHT (effet fractionnement de la colonne de sol, ce qui est indépendant ici de l'effet feu).

Néanmoins, les résultats de la spectrométrie UV sur les SHT montrent des différences significatives entre les sols Témoins et les sols touchés par des feux récents. Les absorbances spécifiques à 254 et 280 nm sont plus importantes pour les sols brûlés récemment. Lorsque l'on affine l'analyse en s'intéressant aux spectres UV spécifiques aux différentes fractions (AH, AF, FNH), cette même tendance, beaucoup plus marquée, est observable pour les AH (Figure 7, horizon A). Ceci tend à démontrer que le feu contribue à une complexification structurale et une condensation moléculaire des substances humiques et en particulier des acides humiques.

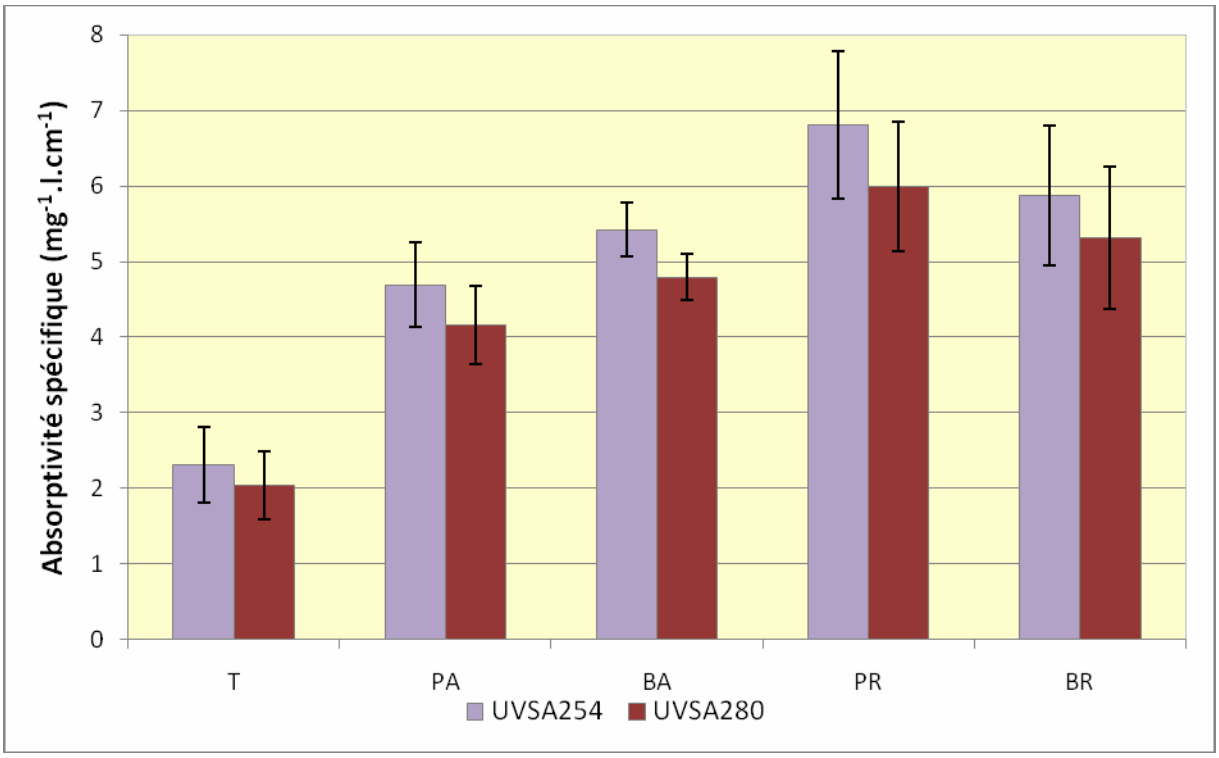



**Figure 7** : Absorptivités spécifiques des Acides Humiques pour les horizons A à 254 et 280 nm.
T : Témoins ; PA : Peu Ancien ; BA : Beaucoup Ancien ; PR : Peu Récent ; BR : Beaucoup Récent.
Résultats moyens obtenus sur 5 échantillons de sols par type de feux ; intervalles de confiance, P=0.05.

En ce qui concerne les 2 autres fractions (AF, FNH), les différences ne sont pas significatives entres les types de sols (résultats non montrés). Ceci montre que les SHT des sols incendiés récemment, et en particulier les AH, présentent un degré d'aromaticité plus élevé que pour les sols Témoins. Les feux de forêt entraînent une modification du degré d'aromaticité des substances humiques, résultats en accord avec la littérature (Almendros et al., 1984 ; 1988 ; 1992 ; Baldock and Smernik, 2002 ; Freitas et al., 1999 ; Knicker et al.,

1996 ; Gonzalez-Vila and Almendros, 2003). Avec le temps, cette aromaticité diminue puisque les absorbances spécifiques des SHT des sols touchés par des feux anciens sont équivalents à ceux des trouvés pour les sols Témoins. Comme pour l'aspect quantitatif des substances humiques et du COEE, le facteur temps écoulé depuis le dernier feu est prépondérant sur celui de la fréquence des feux.

L'étude des MEEF démontrent pour l'horizon A des SHT qui est le plus susceptible d'évoluer, que les ratios des intensités de fluorescences des massifs A et C, représentatifs respectivement des composés organiques type fulviques et humiques (Zsolnay et al., 1998), ne sont pas significativement différents, quelque soit le traitement du sol concerné (Figure 9). La variabilité des résultats issus de sols soumis à même traitement (en particulier pour les témoins) ne permet malheureusement pas de confirmer l'évolution qualitative de la matière organique vers une condensation comme observée avec l'étude UV.

Avec une conclusion similaire, l'étude du positionnement des longueurs d'onde d'émission maximale pour les deux principaux massifs A et C (Coble, 1996) montre une absence de déplacement, que ce soit de type « red shift » ou « blue shift » (Figure 8).

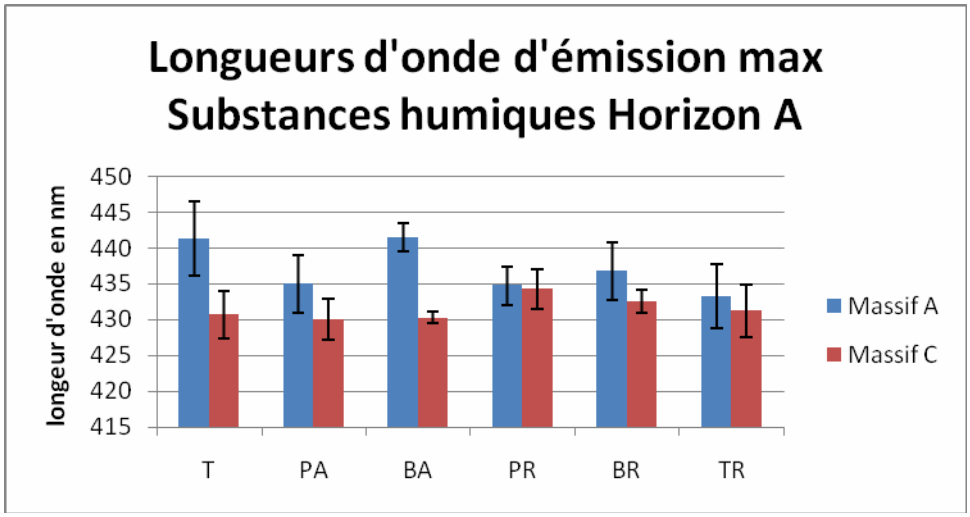



**Figure 8** : Longueurs d'onde d'émission maximale des massifs A et C, pour les SHT, horizon A. Résultats moyens obtenus sur 5 échantillons de sols par type de feux ; intervalles de confiance, P=0,05.

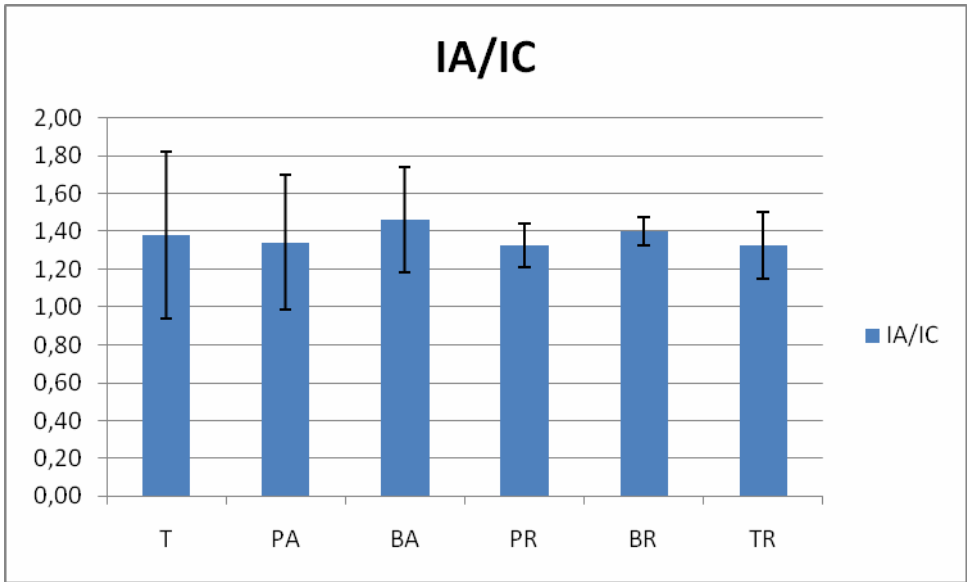



**Figure 9** : Ratio des intensités de fluorescence des massifs A et C pour les SHT, horizon A

### III-4 Les éléments nutritifs

Pour un certain nombre d'éléments nutritifs, aucune différence significative n'est observable entre les différents traitements des sols. Cela est le cas pour le phosphore Joret-Herbert, le phosphore total, le potassium, le calcium et l'azote total. En ce qui concerne le magnésium, seule la teneur des sols beaucoup brûlés récemment en surface est significativement plus faible que celle des Témoins. Pour la quasi-totalité des sols, les concentrations en azote nitrique sont inférieures à la limite de détection de la méthode, excepté pour la surface des sols Témoins et ceux touchés par peu de feux récents et beaucoup de feux anciens, pour lesquels on retrouve respectivement des moyennes de 2,46, 1,50 et 2,80 $mg.kg^{-1}$. Enfin, les plus grandes différences que l'on observe entre les sols sont pour l'azote ammoniacal (Figure 10).

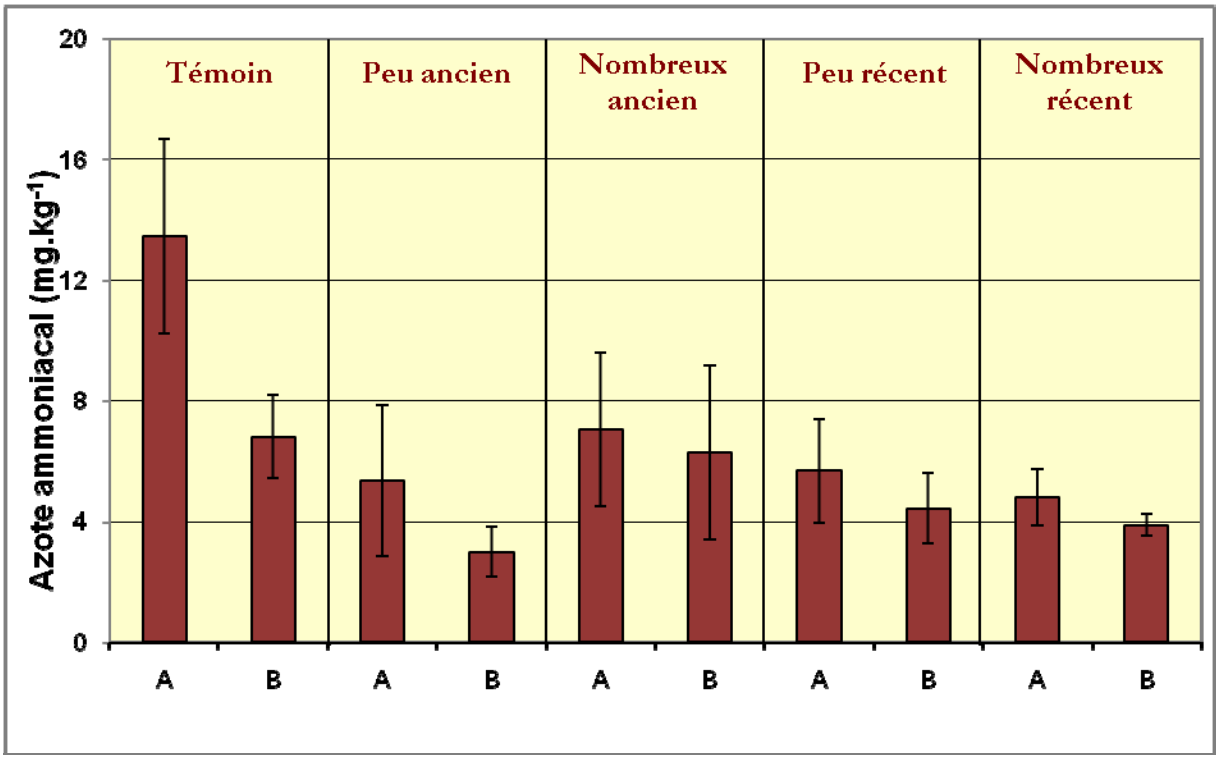



**Figure 10** : Teneurs en Azote ammoniacal (A: 0 à -5 cm; B: -5 à -15 cm)
Résultats moyens obtenus sur 5 échantillons de sols par type de feux ; intervalles de confiance, P=0,05.

Les résultats montrent que la teneur en azote ammoniacal des sols Témoins est deux fois plus élevée que celles des sols incendiés en surface. Cela est également le cas pour la couche plus profonde dans une moindre mesure, excepté pour les sols touchés par de nombreux feux anciens.
En prenant en considération tous les éléments nutritifs étudiés, les feux de forêt ont principalement un impact sur les teneurs en azote ammoniacal.

**Bilan final**

Dans de nombreuses analyses, il est parfois difficile de différencier les traitements de sol les uns des autres. Toutefois, le paramètre « feux récents » semble affecter les parcelles de sol plus que le paramètre « nombre de feux ». On peut donc supposer que le sol a une capacité à se régénérer non négligeable et que pour les parcelles que nous avons observées, l'état de résilience n'a pas été atteint, quel que soit le nombre de feux subis. Cette observation a particulièrement été faite pour le carbone organique extractible à l'eau. La quantité de substances humiques également n'a pas retrouvé sa valeur de référence (celle des témoins), même 16 ans après le passage d'un feu de forêt. Signalons également que l'on observe une forte variabilité des résultats par type de traitement, complexifiant ainsi l'interprétation quantitative et qualitative des résultats.
Concernant les substances humiques, il semble que les résultats en spectrométrie UV montrent une variabilité entre les traitements plus marquée que pour la spectrométrie fluo. Les acides humiques, composés réputés les plus anciens, sont les plus affectés par cette différence structurale.

Globalement les résultats obtenus montrent que l'impact du feu affecte essentiellement la surface du sol par rapport à l'horizon plus profond, que ce soit au niveau qualitatif mais également au niveau quantitatif. A la suite d'un feu de forêt, on observe une homogénéisation de la colonne de sol, avec un horizon de surface dont la composition se rapproche de celle de l'horizon plus profond.

Quant aux éléments nutritifs, il est difficile, pour la majorité des éléments, d'observer des différences significatives. Pour le magnésium on observe des valeurs plus basses pour les parcelles ayant subi des nombreux feux. Quant aux paramètres azote (azote total, nitrates, ammoniums), leur teneur évolue suivant les feux subis par les parcelles. Le paramètre ammonium est particulièrement concerné par cette observation : on a 2 fois plus d'ammonium dans le témoin que dans les autres sols. Ceci peut s'expliquer probablement par une modification du complexe argilo-humique. En effet, les ammoniums sont stockés par ce complexe et restitués dans la phase aqueuse du sol selon les besoins de la végétation et la capacité d'échange du complexe. Cette capacité d'échange dépend des groupements fonctionnels présents dans le complexe argilo-humique, qui paraît donc avoir évolué. Les ammoniums étant le réservoir des nitrates avant la dernière étape de la minéralisation, ce phénomène peut avoir des conséquences sur la présence de nitrates.

Même s'il a été parfois difficile de montrer des différences probantes, on peut donc conclure que concernant les paramètres analysés :

- L'âge du dernier affecte plus le sol que le nombre de feux
- Les 5 premiers cm sont affectés alors que l'horizon suivant n'est pas concerné par les changements

## Références bibliographiques


- Aiken G.R., McKnight D.M., Thorn K.A., Thurman E.M., Isolation of hydrophilic acids from water using non-ionic macroporous resins. Org. Geochem., 18, 567-573 (1992).
- Almendros G., Martın F., Gonzalez-Vila F.J., Effects of fire on humic and lipid fractions in a Dystric Xerochrept in Spain. Geoderma, 42, 115-127 (1988).
- Almendros G., Gonzalez-Vila F.J., Martin F., Fire-induced transformation of soil organic matter from an oak forest: an experimental approach to the effects of fire on humic substances. Soil Sci., 149, 158-168 (1990).
- Almendros G., Gonzalez-Vila F.J., Martin F., Fründ R., Lüdemann H.-D. Solid state NMR studies of fire-induced changes in the structure of humic substances. Sci. Total Environ., 117/118, 63-74 (1992).
- Baldock J.A., Smernik R.J., Chemical composition and bioavailability of thermally altered Pinus resinosa (Red pine) wood. Org Geochem., 33, 1093-1109 (2002).
- Certini G., Effects of fire on properties of forest soils: a review. Oecologia, 143, 1-10 (2005).
- Chen R. and Bada J.L., The fluorescence of dissolved organic matter in pore waters of marine sediments. Mar. Chem., 45, 31-42 (1994).
- Chen R., Bada J.L., The fluorescence of dissolved organic matter in pore waters of marine sediments. Mar. Chem., 45, 31-42 (1994).
- Chen Y., Senesi N., SchnitzerM., formation provided on humic substances by E4/E6 ratios. Soil Sci. Soc. Am. J., 41, 352-358 (1977).
- Chen W., Westerhoff P., Leenheer JA., Booksh K., Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. Environ. Sci. Technol., 37, 5701-5710 (2003).

- Coble P.G., Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. Marine chem., 51, 325-346 (1996).
- Croue J.P., Benedetti M.F., Violleau D., Leenheer J.A., Characterization and copper binding of humic and non humic organic matter isolated from the south platte river: evidence for the presence of nitrogenous binding site. Environ. Sci. Technol. 37, 328-336 (2003).
- DeBano L.F., The role of fire and soil heating on water repellence in wildland environments: a review. J. Hydrol., 231, 195-206 (2000).
- Durate R., Santos E., Duarte A., Spectroscopic characterisitcs of ultrafiltration fractions of fulvic and humic acids isolated from an eucaluptus bleached Kraft pulp mill effluent. Water Res., vol. 37, Issue 17, 4073-4080 (2003).
- Freitas JCC, Bonagamba TJ, Emmerich FG. $^{13}$C High-resolution solid-state NMR study of peat carbonization. Energy Fuels, 13, 53-59 (1999).
- Fuentes M., Gonzalez-Gaitano G., Garcia-Mina J., The usefulness of UV-Visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts. Org. Geochem., 37, 1949-1959 (2006)..
- Hatten J.*, Zabowski D., Scherer G., Dolan E., A comparison of soil properties after contemporary wildfire and fire suppression. Forest Ecology and Management, 220, 227–241 (2005).
- Knicker H, Almendros G, Gonzalez-Vila FJ, Martin F, Lüdemann HD. $^{13}$C- and $^{15}$N-NMR spectroscopic examination of the transformation of organic nitrogen in plant biomass during thermal treatment. Soil Biol. Biochem., 28, 1053-1060 (1996).
- Korshin G.V., Li C.W., Benjamin M., Monitoring the proerties of natural organic matter though UV spectroscopy : A consistent theory. Water Res., vol. 31, 1787-1795 (1997).
- Martha Gonzalez Perez, Ladislau Martin-Neto,*, Sergio C. Saabb, Etelvino H. Novotnya,b, De´bora M.B.P. Miloria, Vanderlei S. Bagnatod, Luiz A. Colnagoa, Wanderley J. Meloe, Heike Knicker, Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, 13C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. Geoderma, 118, 181–190 (2004).
- Malcolm R.L., McCarthy P., Quantitative evaluation of XAD-8 and XAD-4 resins used in tandem for removing organic solutes from water. Environ. Int., 18, 597-607 (1992).
- Martin-Mousset B., Croue J.P., Lefebvre E., Legube B., Distribution and characterization of dissolved organic matter of surface waters. Water Res., 31, 541-553 (1997).
- Peuravuori J. And Pihlaja K.,Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. Anal. Chim. Acta, vol. 337, 133-149 (1997).
- Rashid G.H., Effects of fire on soil carbon and nitrogen in a Mediterranean oak forest of Algeria. Plant Soil, 103, 89-93 (1987).
- Sierra M.M.D., Giovanela M., Parlanti E., Soriano-Sierra E.J., Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single scan and excitation/emission matrix techniques. Chemosphere, vol. 58, Issue 6, 715-733 (2005).
- Senesi N., Miano T., Provenzano M.R., Brunetti G., Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. Soil Sci., 152, 259-271 (1991)..
- Senesi N., Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part II : the fluorescence spectroscopy approach. Anal. Chim. Acta, vol.232, 77-106 (1990).
- Stevenson F.J., Humus Chemistry, 2$^{nd}$ ed. Wiley, New York (1994)..
- Traina S., Novak J., Smeck N., An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. J. Environ. Qual., vol. 19, 151-153 (1990).
- Thurman E.M. and Malcolm R.L., Preparative isolation of aquatic humic substances.Environ. Sci. Technol., 15, 463-466 (1981).
- Weishaar J., Aiken G., Bergamashi B., Fram M., Fujii R., Mopper K., Evaluation of specific ultraviolet absorbance as a indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. Envir. Sci. Technol., 37, 4702-4708 (2003).
- Zsolnay A.*, Baigar E.*, Jimenez M., Steinweg B. and Saccomandi F., Differentiating with Fluorescence Spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. Chemosphere, Vol. 38. No. 1, 45-50 (1999).

## Annexe 5.5: Substances toxiques et matière organique dans le sol

Laboratoire de Chimie Analytique de l'Environnement (LCAE)

## Introduction

La matière organique est un des facteurs clefs du sol. Elle a une influence importante, directe ou indirecte, sur toutes les caractéristiques physiques et chimiques du sol, et est en interaction forte avec les facteurs biotiques. Nous nous sommes attachés à étudier par spectroscopie infrarouge moyen (MIR), l'impact qualitatif et quantitatif des incendies sur la matière organique des sols. Nous avons étudié notamment les modifications induites par les différentes modalités de feu, au travers de l'évolution des substances humiques (SHT), des acides humiques et fulviques (AH et AF), ainsi que de la fraction non humifiée[1] (FNH) (collaboration LCAE-LCE ; thèse A. VERGNOUX). Les résultats préliminaires de cette étude seront synthétisés dans la suite du rapport.

Lors d'un feu de forêt, de grandes quantités de composés organiques sont émis (Simoneit et al., 2000), parmi lesquels certains sont toxiques : hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP, Wania et al., 1996), dérivés benzéniques et phénoliques et particules de moyenne taille (suies, goudrons, etc…). Une partie de ces composés reste sur les sites incendiés et peut entrer dans les chaînes trophiques. Les espèces moléculaires qui ont été prises comme modèle sont les HAP. Les résultats obtenus sur les sols par HPLC-Fluo/UV seront présentés dans la suite du rapport. Pour l'instant, les expérimentations sur la bioaccumulation n'ont pas abouti, ni pour les espèces animales (en particulier pour les lombrics, suite à 3 campagnes de prélèvement infructueuses), ni pour les espèces végétales choisies (notamment clématite (*Clematis flamula*), salsepareille (*Smilax aspera*), asperges sauvages (*Asparagus acutifolius*), jeunes pousses de chêne liège (*Quercus suber*) et liseron (*Convolvulus sepium*)). Dans le cas des espèces végétales, l'échantillonnage et la préparation des échantillons ont tout de même été réalisés et les extractions sont en cours. La recherche de marqueurs d'incendie est en cours grâce à des analyses en GC-MS ; outre les HAP et composés aliphatiques, une molécule caractéristique à été mise en évidence : le rétène (Ramdahl, 1983).

Enfin, un dernier aspect a été développé dans le but d'évaluer de façon globale l'impact des incendies sur les sols par des mesures spectroscopiques rapides. L'outil envisagé a été la spectroscopie proche infrarouge (PIR).

## Matériel et méthode

***Les différentes analyses réalisées***

MIR sur Substances Humiques : 40 sols, 1 à 2 réplicats = 60 analyses.
HAP : 58 sols en triplicats = 174 analyses.
GC-MS : 3 sols, 1 réplicat = 3 analyses.
PIR sur sols : 58 sols, 1 réplicat = 58 analyses.
PIR sur Substances Humiques (non exposé dans ce rapport) : 40 sols, 1 réplicat = 40 analyses.

***Analyse des substances humiques par spectroscopie MIR***

Les spectres infrarouges à transformée de Fourier (IRTF) ont été réalisés au moyen d'un spectromètre Thermo Electron modèle Nexus. La technique d'analyse utilisée est celle de la réflexion totale atténuée (ATR) au moyen de l'accessoire Smart Orbit avec cristal en diamant dans les conditions suivantes : résolution 4 $cm^{-1}$, 64 accumulations, domaine spectral : 4000-450 $cm^{-1}$. Cette technique a été choisie car elle ne nécessite que très peu d'échantillon, ce qui est très important notamment dans le cas des acides fulviques (obtenus en très faibles quantités, de l'ordre du mg).

Les spectres obtenus sont corrigés (correction ATR du logiciel OMNIC™) pour tenir compte de la variation de profondeur de pénétration dans l'échantillon du faisceau infrarouge incident. Des techniques de déconvolutions spectrales ont été utilisées pour améliorer la résolution de certaines régions spectrales (*self-Fourier deconvolution* du logiciel OMNIC™).

[1] selon le protocole proposé par l'IHSS (International Humic Substances Society).

***Analyse des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques dans les sols***

Les échantillons de sol ont été séchés à 40°C, puis broyés. La première étape de la procédure d'analyse des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) est une extraction solide/liquide par l'hexane avec un robot d'extraction ASE 200 (Accelerated Solvant Extractor). Le remplissage des cellules d'extraction a été réalisé de façon à combiner la phase d'extraction et de purification (Ong et al., 2003), en utilisant 4 g de silice désactivée à 10%, puis 15 g d'échantillon mélangé à 7,5 g de $Na_2SO_4$ activé. L'extrait obtenu est ensuite concentré sur TurboVap$^{TM}$. La substitution de solvant pour l'analyse finale HPLC (hexane par acétonitrile) a été réalisée sous azote, sans séchage à sec grâce à l'ajout de DMF, afin de minimiser les pertes au niveau des HAP les plus volatils. L'échantillon ainsi préparé est ensuite analysé par HPLC couplée à un détecteur fluorimétrique programmable (HPLC-Fluo/UV). Les rendements d'extraction et la validation globale de la méthode ont été réalisés sur des sols de référence certifiés (CRM 131 COA). La quantification des 14 HAP est réalisée par étalonnage externe en faisant référence à des solutions étalon certifiées.
Chacun des sols a été analysé en triplicat, entrainant de nombreux résultats. Ainsi, pour le traitement de ces résultats, nous utiliserons une Analyse en Composantes Principales (ACP), réalisée grâce au logiciel R (CRAN).

***Analyse des extraits organiques purifiés par GC/MS***

Les extraits ont été réalisés de la même façon que ceux pour l'analyse des HAP. L'analyse des fractions organiques extraites des sols a été réalisée sur une unité GC-MS/MS (Varian modèle 1200) en mode impact électronique (70eV). Le gaz vecteur est l'hélium (mode débit constant), la température de l'injecteur (splitless) est de 300°C, la colonne chromatographique est en silice fondue J&W DB 5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). La programmation en température est de 40°C (iso 1 min) à 110°C (50°C/min) puis, 110°C à 290°C par 5°C/min (iso 30 min). Les modes d'acquisitions sont à la fois le courant ionique total (full scan) et SIM avec des ions caractéristiques.

***Analyse des sols par spectroscopie Proche Infra Rouge***

L'acquisition des spectres Proche Infra Rouge (PIR) a été réalisée à l'aide d'un spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier (Antaris, Nicolet) en mode réflexion avec une sphère d'intégration. Les spectres ont été enregistrés avec 8 $cm^{-1}$ de résolution, entre 4500 et 10000 $cm^{-1}$. Chaque spectre résulte de l'accumulation de 64 scans.
3 spectres ont été acquis par échantillon de sol séché et broyé au préalable. Les résultats obtenus ont ensuite été traités par une ACP, avec le logiciel « The Unscrambler 7.5 » (CAMO).

## Résultats et discussion

***Les substances humiques***

Dans un premier temps, une attribution des bandes IR des acides humiques et fulviques a été faite suite à une analyse bibliographique. La figure 1 présente les spectres des acides humiques extraits des couches 0 à -5 cm des sols des différents types de placette.
Des indices ont été calculés en mesurant les hauteurs des principales bandes (3300, 2930, 1700, 1083 et 1030 $cm^{-1}$) et en les divisant par la hauteur de la bande à 1513 $cm^{-1}$. Cette bande est en effet caractéristique du squelette aromatique dans le cas de macromolécules telles que la lignine ou les substances humiques (Dorado et al., 2001 ; Dupuis et Jambu, 1969) et a été utilisée avec succès comme base de normalisation pour des études concernant les effets du feu sur les sols (Tinoco et al, 2006). Les indices ainsi obtenus (Tableau 1) reflètent la teneur en groupements OH ($I_{3300}$), en groupements alkyle ($I_{2930}$), en acides carboxyliques ($I_{1700}$) et en groupements de type carbohydrate ($I_{1083}$ et $I_{1030}$).

Tableau 1: Hauteurs de bande relatives* des principales bandes infrarouges des acides humiques et fulviques ; *hauteurs relatives à l'intensité de la bande à 1513 $cm^{-1}$.

| Sites | $I_{3300}$ | $I_{2930}$ | $I_{1700}$ | $I_{1083}$ | $I_{1030}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| **Témoins** | | | | | |
| AH 0-5 cm | 2.23 | 0.72 | 1.75 | 1.26 | 1.29 |
| AH 5-15 cm | 2.16 | 0.78 | 1.70 | 1.15 | 1.10 |
| AF 0-5cm | 4.22 | 0.46 | 3.21 | | |
| **Peu de feux récents** | | | | | |
| AH 0-5 cm | 2.00 | 0.43 | 1.61 | 1.10 | 0.99 |
| AH -5-15 cm | 2.06 | 0.54 | 1.67 | 1.09 | 1.02 |
| AF 0-5 cm | 3.55 | 0.41 | 2.87 | | |
| **Feux nombreux récents** | | | | | |
| AH 0-5 cm | 1.58 | 0.37 | 1.43 | 1.00 | 0.93 |
| AH -5-15 cm | 1.97 | 0.54 | 1.66 | 0.95 | 0.85 |
| AF 0-5 cm | 3.50 | 0.30 | 2.85 | | |
| **Feux nombreux anciens** | | | | | |
| AH 0-5 cm | 2.02 | 0.51 | 1.56 | 1.09 | 1.06 |
| AF 0-5 cm | 3.50 | 0.40 | 2.87 | | |
| **Peu de feux anciens** | | | | | |
| AH 0-5 cm | 1.91 | 0.52 | 1.56 | 1.16 | 1.11 |
| AF 0-5 cm | 3.39 | 0.45 | 3.07 | | |

On observe pour les acides humiques une décroissance des indices $I_{3300}$, $I_{2930}$, $I_{1700}$, $I_{1083}$ et $I_{1030}$ dans le cas des feux récents, plus marquée pour l'horizon 0 à -5 cm, ce qui indique une diminution des teneurs en groupements oxygénés et en groupements alkyle sous l'effet du feu. Dans le cas de feux anciens, on observe également une diminution des indices mais de moindre importante, ce qui peut indiquer un retour vers la normale, sans toutefois retrouver les valeurs des indices équivalentes à celles des parcelles témoins.

Si on compare les couches 0 à -5 cm et -5 à -15 cm des parcelles témoin, on remarque que pour ces dernières les valeurs des indices $I_{3300}$, $I_{1700}$, $I_{1083}$ et $I_{1030}$ sont plus faibles, tandis que l'indice $I_{2930}$ est plus fort. Ceci indique une plus grande maturité des acides humiques (moins d'oxygène, plus de carbone) pour les couches -5 à -15 cm.

Pour les couches -5 à -15 cm, et principalement dans le cas de feux anciens, on obtient souvent des spectres « anormaux » avec comme principales caractéristiques des bandes à 3215, 1190, et vers 820 $cm^{-1}$. De tels spectres ont déjà été observés (Duarte et al., 2007), mais pour l'instant restent non expliqués. Pour les feux récents, l'évolution au niveau des couches -5 à -15 cm est comparable à celle des couches 0 à -5 cm mais dans des proportions moindres.

Dans le cas des parcelles témoins, les spectres des acides fulviques, comparativement aux acides humiques, donnent lieu à des indices $I_{3300}$ et $I_{1700}$ plus élevés (4.22 vs 2.23 et 3.21 vs 1.75 respectivement) et à des indices $I_{2930}$ plus faibles (0.46 *vs* 0.72). Ceci confirme que les acides fulviques possèdent plus de groupements OH et de groupements acides carboxyliques et moins de groupements alkyle que les acides humiques.

En ce qui concerne l'impact du feu, l'évolution des indices des acides fulviques apparaît semblable à celle des acides humiques, mais les intervalles de confiance ne permettent pas de donner des résultats significatifs.

Enfin, l'étude de la fraction non humifiée est en cours.

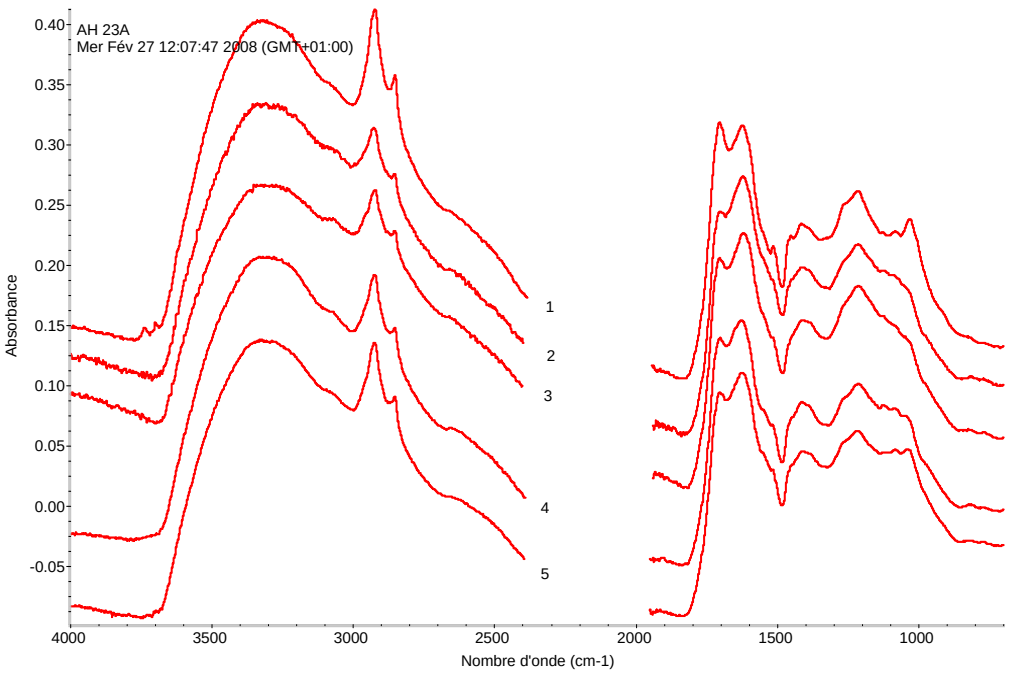



Figure 1 : Spectre IRTF entre 4000 et 700 $cm^{-1}$ des acides humiques (couche 0 à -5 cm)
1 : 23A, parcelle témoin ; 2 : 11A, parcelle ayant subi peu de feux récents ; 3 : 3A, parcelle ayant subi beaucoup de feux récents, 4 : 6A, parcelle ayant subi beaucoup de feux anciens ; 5 : 18A : parcelle ayant subi peu de feux anciens

***Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques dans les sols***

La Figure 2 montre la teneur totale des 14 HAP. Les sols de forêt ne sont pas fortement contaminés en HAP, on les retrouve à l'état de trace. Cependant, il est possible d'établir une corrélation entre la production d'HAP et la récente combustion de biomasse (Freeman and Cattell, 1986 ; Olsson and Kjallstrand, 2006). En effet, les teneurs des sols récemment incendiés sont significativement plus importantes que celles des sols témoins, notamment pour les horizons A. Ceci est en accord avec des travaux antérieurs (Kim et al., 2003). En ce qui concerne les horizons B, les teneurs de tous les sols sont plus ou moins équivalentes. Les feux récents impactent uniquement la surface du sol de manière évidente.

Les teneurs en HAP des sols touchés par des feux anciens ne présentent pas de différences significatives avec celles des sols témoins. Avec le temps, les teneurs en HAP ont diminué par lessivage (Shakesby and Doerr, 2006), biodégradation et/ou dégradation.

Au niveau des teneurs en HAP, on remarque que les sols incendiés se différencient plus par le temps écoulé depuis le dernier feu (inversement proportionnel) que par la fréquence des feux. La date du dernier feu est donc le facteur qui influe le plus sur les résultats.

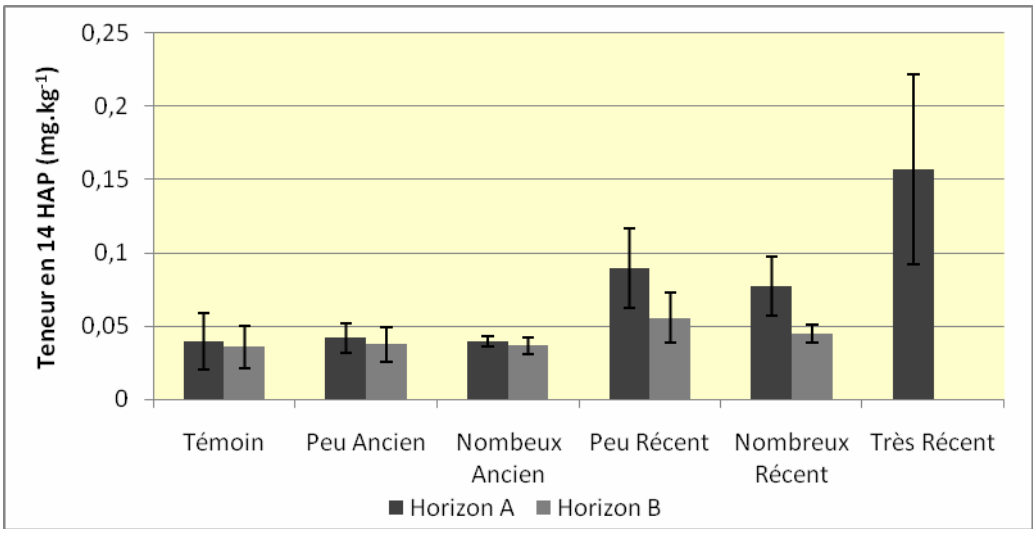


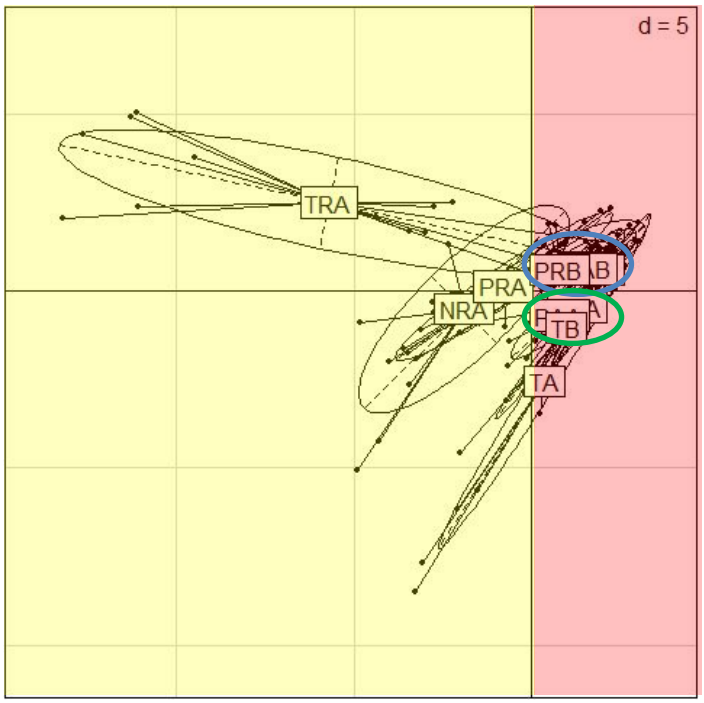

**Figure 2: Teneur en 14 HAP dans les sols.**

**A: 0 à -5 cm; B: -5 à -15 cm.**

**Moyenne de 5 sols par type de feux. Intervalle de confiance déterminé avec α=5%.**

Une première ACP a été calculée avec les résultats obtenus pour les triplicats de chacun des échantillons (165 échantillons) et avec 14 variables correspondant aux concentrations des 14 HAP quantifiés. La figure 3 montre la représentation graphique des échantillons par l'ACP. Le premier axe représente 57 % de la variance totale et le second, 25 %. Au total, 82 % de la variance totale est portée par le modèle, qui restitue donc une bonne partie de l'information. La lecture de ce graphique va permettre de mettre en évidence la différentiation des sols.

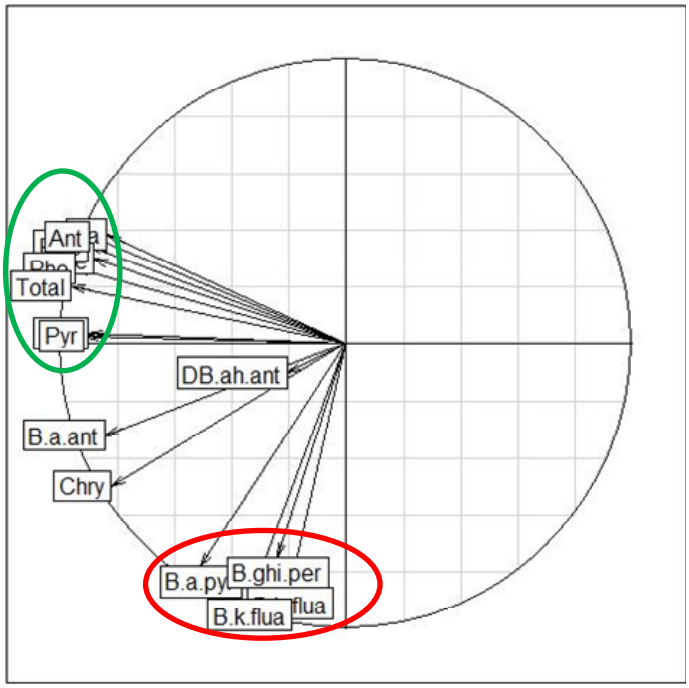
On remarque que les sols affectés par un feu très récent se démarquent particulièrement des autres (en haut, à gauche sur la figure 3). L'axe des ordonnées sépare les sols de surface affectés par des feux récents (à gauche, partie jaune) de tous les autres sols (à droite, partie rouge). Les horizons B des sols brûlés forment un groupe assez homogène (cercle bleu). Les horizons B des sols témoins se regroupent avec les horizons A des sols anciennement brûlés (cercle vert). Enfin, les horizons A des sols témoins se caractérisent par leur position négative sur l'axe des ordonnées. La répartition des échantillons sur la carte est plus disparate pour les sols de surface incendiés récemment. Les feux récents entrainent donc une augmentation notoire de l'hétérogénéité des sols.




Cependant, à partir de la position d'un échantillon inconnu sur la carte, il serait impossible de conclure sur la nature des feux qui ont touché ce sol. Ce type d'analyse ne permettra donc pas de faire de la prédiction. Par contre, le cercle des corrélations (Figure 4) permet de mettre en évidence quels sont les HAP responsables de la différentiation des sols, c'est-à-dire quels HAP sont plus particulièrement liés aux feux de forêt.

**Figure 3: Représentation graphique des échantillons par l'ACP.**

**TR : feux très récents ; NR : nombreux feux récents ; PR : peu de feux récents ; NA : Nombreux feux anciens ;**
**PA : peu de feux anciens ; T : témoins.**
**A : 0 à -5 cm; B: -5 à -15 cm.**




L'axe des abscisses est négativement corrélé au fluoranthène et pyrène, mais également au naphtalène, acénaphtène, fluorène, anthracène, phénanthrène et au total des 14 HAP (cercle vert). L'axe des ordonnées est négativement corrélé au benzo(a)pyrène, benzo(b/k)fluoranthène et au benzo(ghi)pérylène (cercle rouge). Autrement dit, l'axe des abscisses est plutôt pondéré par les HAP les plus légers et le total, alors que celui des ordonnées plutôt par les HAP les plus lourds.

**Figure 4: Cercle des corrélations.**
**Naphthalène (Na), acénaphtène (Ace), fluorène (Fluo), phénanthrène (Phe), anthracène (Ant), fluoranthène (Fla), pyrène (Pyr), benzo(a)anthracène (B.a.ant), chrysène (Chry), benzo(b/k)fluoranthène (B.b.flua, B.k.flua), benzo(a)pyrène (B.a.pyr), dibenzo(a,h)anthracène (DB.ah.ant), benzo(g,h,i)pérylène (B.ghi.per), total des 14 HAP (Total).**

En comparant les figures 3 et 4, on remarque que la surface des sols affectés par des feux très récents présente les teneurs les plus élevées en HAP les plus légers, et les plus faibles en HAP les plus lourds (les échantillons sont positionnés en haut à gauche sur la figure 3). Puis, les sols touchés par des feux récents apparaissent comme ayant des teneurs un peu plus faibles en HAP légers, et un peu plus élevées en HAP lourds. En revanche, la surface des sols témoins se caractérise par les teneurs les plus élevées en HAP les plus lourds, avec des teneurs faibles pour les HAP légers. Ces faibles teneurs en HAP légers se retrouvent également pour les autres sols. Cela dit, les horizons B des sols brûlés présentent des teneurs en HAP lourds plus faibles que les horizons B des sols témoins et les horizons A des sols anciennement brûlés.

Pour résumer, on peut dire que les feux de forêt génèrent en surface des HAP légers et entrainent la disparition des plus lourds. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'une température de l'ordre de 500-600°C est suffisante pour désorber les HAP des sols (Buco et al., 2004, Buco et al., 2007). De plus, certains auteurs affirment que la distribution des HAP à la surface des sols est corrélable à celle de l'atmosphère (Hartmann, 1995 ; Wilcke and Zech, 1997). Or, les HAP de faible poids moléculaire sont les plus abondants dans les fumées de combustions agricoles et de débris de sylviculture. Avec le temps cette tendance s'estompe. Les couches profondes de tous les sols brûlés sont homogènes et présentent les teneurs les plus faibles en HAP. Les 2 horizons des sols témoins se démarquent des autres de par leurs teneurs les plus importantes en HAP lourds. 16 ans après le dernier feu, les sols brûlés ont une distribution en HAP encore différente de celle des témoins, même si, comme nous l'avons vu précédemment, les teneurs totales sont équivalentes.

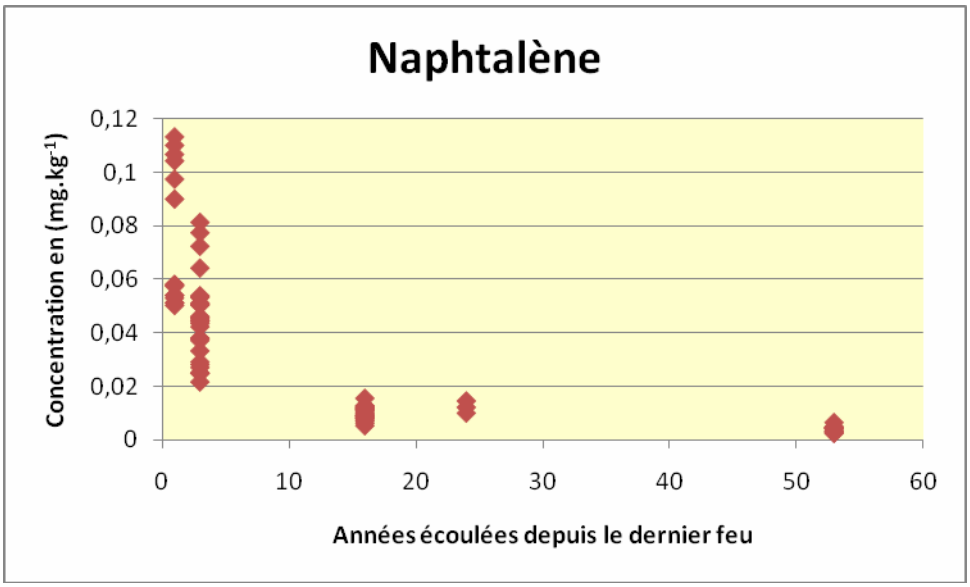



**Figure 5: Evolution de la teneur en naphtalène après feux de forêt**

Comme le montre les figures précédentes, le naphtalène est l'un des principaux HAP générés par les feux de forêt. La figure 5 montre que sa teneur dans les sols évolue de façon inverse (décroissance exponentielle) avec le temps. 16 ans après le dernier feu de forêt, les teneurs des sols deviennent très proche de celles des témoins. Cette diminution des teneurs peut être due au lessivage des sols (le naphtalène est le plus soluble des HAP étudiés) ou à des pertes consécutives à des phénomènes biotiques ou abiotiques.

***Le Rétène dans les sols, traceur de feux***

L'analyse des extraits de sol par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse permet de mettre en évidence des profils très complexes mais caractéristiques. Des recherches systématiques de marqueurs ont permis notamment de mettre en évidence la présence de rétène dans les sols. Le rétène est un composé aromatique généré par la combustion du bois, principalement les conifères (Ramdahl, 1983). La figure 6 montre le chromatogramme de l'extrait d'un horizon de surface d'un sol brûlé de nombreuses fois récemment. Grâce au spectre de masse d'un standard pur de rétène, il est possible d'identifier ce composé au temps de rétention 32,25 minutes.

L'utilisation d'un étalon interne a permis de procéder à une semi-quantification. Les teneurs du rétène sont de l'ordre du $\mu g.kg^{-1}$ à la surface des sols brûlés, alors qu'il est à l'état de trace dans celui du sol témoin. Le sol touché par de nombreux feux anciens présente la concentration la plus élevée. Ce composé est probablement résistant à la biodégradation environnementale. Malgré le temps écoulé depuis le dernier feu (16 ans), la concentration reste plus élevée que celle du sol brûlé de nombreuses fois récemment. La génération de ce composé peut également dépendre de la gravité des feux occasionnés, ce qui expliquerait aussi ces différences de concentration dans les sols brûlés. Cependant, l'analyse de réplicats reste indispensable pour confirmer ces observations. On peut tout de même conclure en disant que le rétène est un bon marqueur organique des feux (Ramdahl, 1983, Simoneit, 2000).

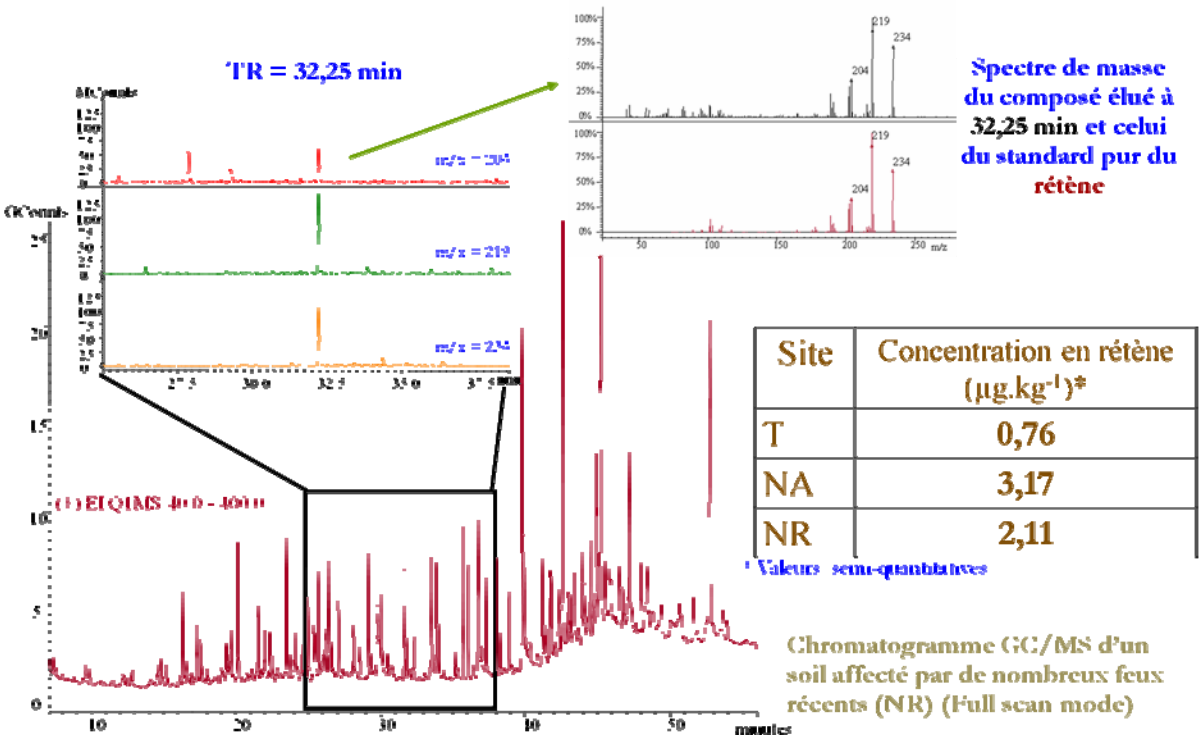



**Figure 6: Analyses en CG/SM de la fraction organique globale, purifiée sur silice (F1+F2)**

***La spectroscopie Proche Infra Rouge***

Une seconde ACP a été réalisée avec les spectres proche infra rouge (PIR) (multiplicative scatter correction) de l'horizon A de chacun des 18 échantillons traités. La figure 7 montre l'ordination des différents sols étudiés par l'ACP. Le premier axe représente 99 % de la variance totale et le second, 1 %. Au total, près de 100 % de la variance totale est portée par les deux composantes principales.

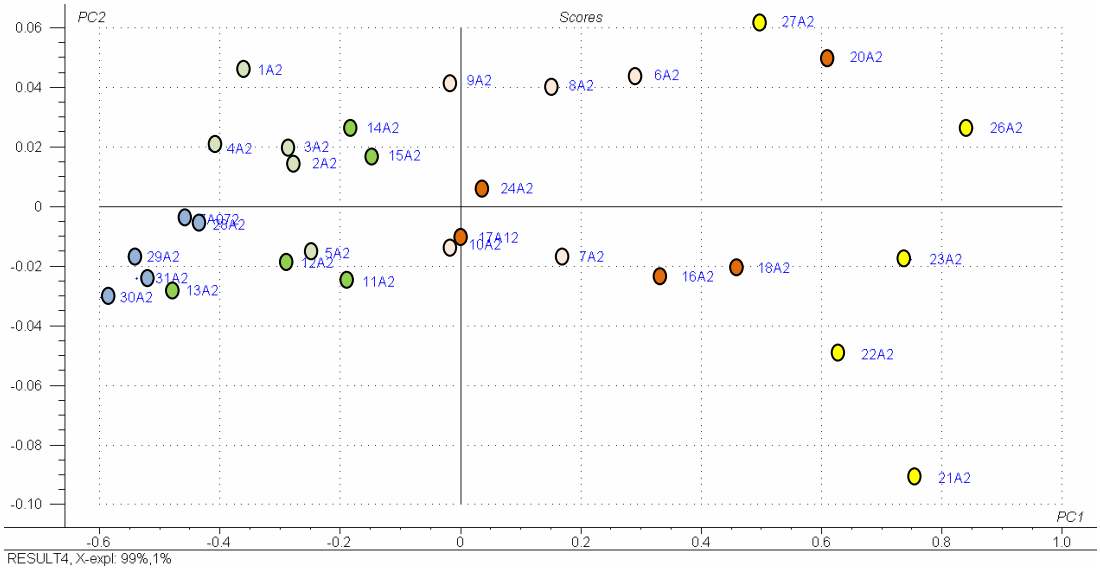



**Figure 7: Représentation graphique des échantillons**

Feux très récents — Feux nombreux récents — Peu de feux récents
Feux nombreux anciens — Peu de feux anciens — Témoins

Ce type d'analyse permet de différencier les sols en fonction des évènements de feu. On remarque que les sols se distribuent selon l'axe des abscisses en fonction du temps écoulé depuis le dernier feu et de la fréquence des feux. L'axe des ordonnées sépare plus ou moins les sols brûlés récemment et très récemment des sols brûlés il y a plus longtemps et témoins. L'axe des abscisses représentant 99 % de la variance totale a été construit à partir du loading plot présenté en figure 8.

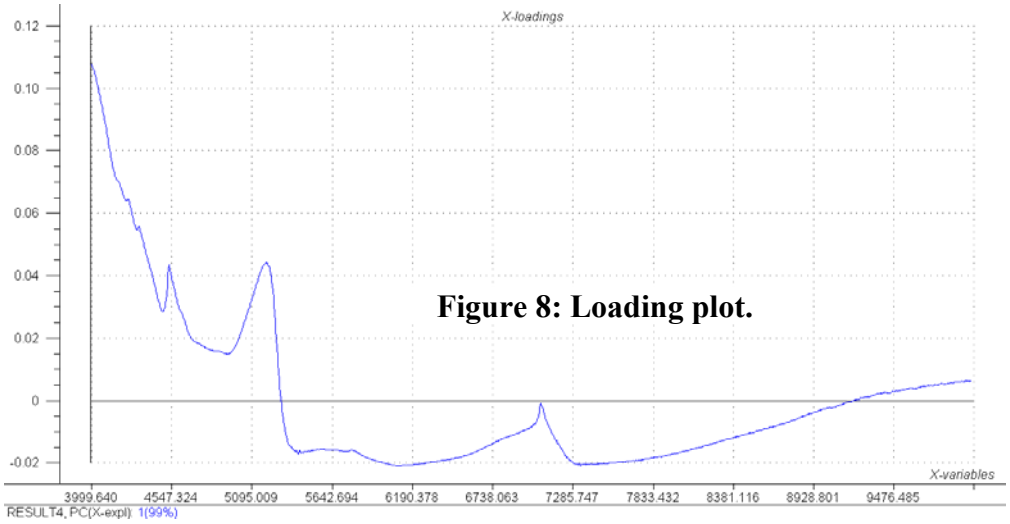



**Figure 8: Loading plot.**

Cependant, les bandes d'absorption des spectres PIR peuvent difficilement être attribuées à des fonctions. On ne peut donc pas définir, pour l'instant, ce qui différencie les sols.
Un travail de mise en corrélation des différents paramètres physico-chimiques mesurés avec les spectres PIR est en cours afin de prédire les valeurs des paramètres à partir des spectres PIR.

**Valorisation des travaux**

*Réalisé*

**Article**

Vergnoux, A.; Malleret, L.; Domeizel, M.; Theraulaz, F.; Doumenq, P. 2008. *Effect of forest fires on water extractable organic matter and polycylic aromatic hydrocarbons in soils.* Progress in Environmental Science and Technology, Proceedings of the International Symposium on Environmental Science and Technology, Beijing, China, Nov. 13-16, 2007 (2007), 344-354. CODEN: 69KHLH AN 2008:34958 CAPLUS

**Congrès**

A. Vergnoux - 2007. *Effect of Forest Fires on the WEOM and PAHs in the Soils*. Présentation orale à 2007 International Symposium Environnemental Science and Technology (2007 ISEST), Pékin (13 au 16 novembre 2007)

A. Vergnoux, L. Asia, F. Michaud, L. Malleret, F. Théraulaz et P. Doumenq - 2007. *Effet des feux de forêt sur la teneur en carbone organique et en HAP des sols.* Poster à la Société Française de Chimie (SFC), Avignon (24 mai 2007)

A. Vergnoux, L. Malleret, L. Asia, F. Théraulaz et P. Doumenq - 2007. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as indicators of forest fire: comparison of levels and distributions between burned and unburned soils*. Poster au congrès ISPAC, Norvège (Août 2007)

A. Vergnoux - 2007. *Effect of Forest Fires on the WEOM and PAHs in the Soils.* Présentation orale à IX International Symposium on Analytical Methodology in the Environmental Field (IX ISAMEF), Majorque (Octobre 2007)

A. Vergnoux, M. Domeizel, S. Inogamdjanova et F. Théraulaz - 2007 *Etude de l'impact d'un feu de forêt sur la matière organique extractible à l'eau, le carbone organique total du sol et les éléments nutritifs.* Poster congrès de l'International Humic Substances Society (IHSS), Lyon (Novembre 2007)

A. Vergnoux, L. Malleret, M. Domeizel, F. Théraulaz et P. Doumenq - 2008. *Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques indicateurs de feux de forêt: teneurs et distributions dans des sols brûlés et témoins*. Poster au congrès des doctorants, CEREGE Arbois (18-19 mars 2008).

A. Vergnoux - 2008. *Quantitative and qualitative impact of forest fires on soil organic matter*. Présentation orale à International Conference on Environmental Science and Technology (2008 ICEST) à Houston (28 au 31 juillet 2008).

A. Vergnoux - 2008. *Modification of soils PAHs level and distribution profiles by forest fires*. Présentation orale à International Conference on Environmental Science and Technology (2008 ICEST) à Houston (28 au 31 juillet 2008)

**Stages:**

Aurore Vergnoux - 2006. *Effet des feux de forêt sur la teneur en carbone organique et en HAP des sols*. Stage de Master 2 Sciences de l'Environnement Terrestre (Janvier-juin 2006).

François Micheau - 2006 *Analyse de HAP dans des sols brûlés*. Stage de Master 1 (Juillet-septembre 2006).

*En préparation*

**Articles scientifiques**

Vergnoux et al. - 2009. *Effects of forest fires on the level and distribution of PAHs in soils*

Vergnoux et al. - 2009. *Effects of forest fires on WEOM and Humic Substances: UV-Vis and Fluorescence spectroscopy approaches*.

Vergnoux et al. - 2009. *COT and Infrared changes of Humic Substances from burned soils*

Vergnoux et al. - 2009. *Fire impact on forest soils evaluated using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration*

**Thèse**

Aurore Vergnoux. *Composés organiques et éléments nutritifs du sol : impact d'incendies répétés*. Thèse de doctorat (Novembre 2006-novembre 2009).

## Bibliographie

Buco, S., Moragues, M., Doumenq, P., Noor, A., Mille, G. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soil by Curie point pyrolysis coupled to gas chromatography–mass spectrometry, an alternative to conventional methods. J. Chomatogr. A, 2004, 1026, 223-229.

Didyk, B.M., Simoneit, B. R. T., Pezoa, L.A., Riveros, M.L., Flores, A.A. Urban aerosol particles of Santiago, Chile: organic content and molecular characterization. Atmospheric Environment, 2000, 34, 1167-1179.

Dorado, J., Almendros, G., Field, J.A., Sierra-Alvarez, R. Infrared spectroscopy analysis of hemp (*Cannabis sativa*) after selective delignification by *Bjerkandera* sp. At different nitrogen levels. Enzyme and Microbial Technology, 2001, 28, 550-559.

Duarte, R. M. B. O., Santos, E. B. H., Pio, C. A., Duarte, A. C. Comparison of structural features of water-soluble organic matter from atmospheric aerosols with those of aquatic humic substances. Atmosph. Environ., 2007, 41, 8100-8113.

Dupuis, T., Jambu, P. Etude par spectroscopie infrarouge des produits de l'humification en milieu hydromorphe calcique. Science du Sol, 1969, 1, 23-35.

Hartmann, R. Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in Waldboden. Bayreuther Bodenkd., 1995, 44, 117p.

Kim, E.J., Oh, J.E., Chang, Y.S. Effects of forest fire on the level and distribution of PCDD/Fs and PAHs in soil. Sci. Total Environ., 2003, 311, 177-189.

Ong, R., Lundstedt, S., Haglund, P. and Marriott, P. Pressurised liquid extraction–comprehensive two-dimensional gas chromatography for fast-screening of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. J. Chromatogr. A, 2003, 1019, 221-232.

Ramdahl, T. Retene: a molecular marker of wood combustion in ambient air. Nature, 1983, 306, 580-582.

Simoneit, B. R. T., Rogge, W. F., Lang, Q., Jaffé, R. Molecular characterization of smoke from campfire burning of pine wood (Pinus elliottii). Chemosphere - Global Change Science, 2000, 2, 107-122.

Tinoco, P., Almendros, G., Sanz, J., Gonzalez-Vasquez, R., Gonzalez-Vila, F. J. Molecular descriptors of the effect of fire on soils under pine forest in two continental Mediterranean soils. Org. Geochem., 2006, 37, 1995-2018.

Wania, F., Mackay, D. Tracking the distribution of persistent organic pollutants. Environ. Sci. Technol., 1996, 30, 390-396.

Wilcke, W., Zech, W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in forest floors of the northern Czech mountains. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd., 1997, 160, 369-378.

Buco, S., Moragues, M., Sergent, M., Doumenq, P., Mille, G. An experimental design approach for optimizing polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in contaminated soil by pyrolyser-gas chromatography-mass spectrometry. Environmental Research, 2007, 104, 2, 209-215.

## Annexe 5.6: Analyse de Carbone Organique par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

CEREGE

Un des challenges majeurs en biogéochimie aujourd'hui reste l'identification du rôle de la matière organique (MO) dans le fonctionnement des sols. Afin de déterminer les mécanismes dans lesquels elles sont impliquées, il est indispensable de caractériser les phases organiques présentes dans le sol. Actuellement, des outils analytiques complémentaires très efficaces (RMN ; InfraRouge, UV-Visible, Pyrolyse-GC-MS) permettent de caractériser la MO (Kogel-Knabner, 2000) que ce soit au niveau des groupes fonctionnels ou au niveau moléculaire. La qualité des données fournies par ces méthodes dépend évidemment de l'état de l'échantillon. Dans les sols, la matière organique n'est en général pas présente de manière isolée, mais associée à des phases minérales. Le cas idéal est d'observer un système avec le moins d'étapes préparatives possibles pouvant affecter le C organique. La spectroscopie RMN, puisque spécifique d'un noyau donné, présente l'attrait de pouvoir se passer de préparation d'échantillons dans un certain nombre de situation. Des échantillons de chacunes des modilités NR, NA, PR, PA et T ont été lyophilisé et analysé par RMN $^{13}C$.

Les conditions opératoires étaient les suivantes: Les spectres RMN $^{13}C$ en phase solide ont été enregistrés avec un spectromètre Bruker Avance WB-400 avec un sonde de 4 mm. Ils ont été obtenus en mode CP-MAS à 100.7 MHz, rotation à 10 kHz, temps de recyclage de 3s, temps de contact CP 2ms. Le nombre de scans allait de 2k à 8k pour cette phase exploratoire. La quantitativité de l'analyse a été améliorée en utilisant une séquence d'impulsion particulière. En effet, l'impulsion appliquée au proton n'est pas statique mais est appliqué selon un schéma de rampe décroissante de 100% à 50% pendant le temps de contact. Ce type d'impulsion permet de mieux respecter la condition de Hartmann-Hahn, donc d'assurer un transfert d'aimantation plus efficace comparé à une séquence de CP classique où l'impulsion $^{1}H$ est une fonction créneau. Ceci se traduit par une meilleure quantitativité, notamment pour les C en hydridation $sp^2$, sachant tout de même que les proportions relatives sont données avec une erreur estimée de ± 10%. Pour améliorer davantage la quantitativité, on peut enregistrer plusieurs expériences avec des temps de contact variables. Cependant, le gain en précision attendu ne justifie pas l'allongement considérable du temps d'analyse. Les pics sont repérés en ppm par rapport à la résonance du TMS (0 ppm).

Aucun des spectres obtenus dans ces conditions ne présente un signal exploitable. L'augmentation du nombre d'accumulations n'a pas amélioré le rapport signal/bruit.La figure 1 montre l'aspect typique des spectres. En effet, d'une manière générale, l'étude de la matière organique associée aux phases minérales est souvent peut être compliquée en raison (1) des faibles quantités de C et inversement (2) des quantités trop importantes de phases minérales qui masquent le signal des phases organiques lors de son analyse à la IR-TF et Py-CG/SM ou (3) de la présence d'éléments paramagnétiques (surtout le fer) qui affectent les spectres de RMN $^{13}C$ en causant une modification et/ou un élargissement de la résonance (Smernik and Oades, 1999; 2002). Dans le cas présent, le fort bruit ainsi que les ondulations de la ligne de base indique que c'est certainement la présence de fer qui responsable de la mauvaise qualité des spectres.

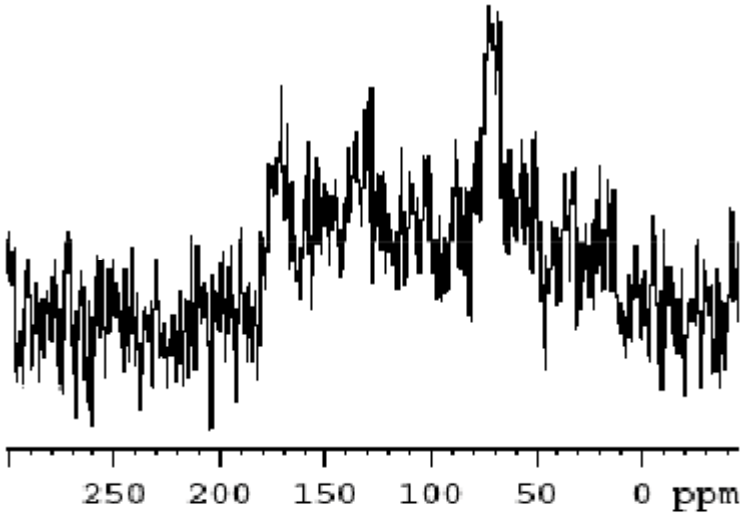



Figure 1 : Allure typique des spectres RMN $^{13}C$ pour les échantillons bruts

L'obtention de données exploitables passe par une extraction de la matière organique. Plusieurs techniques d'extraction de la MO sont décrites dans la litérature (e.g.Stevenson; 1994). Le protocole suivi a été défini précédemment pour l'extraction de la MO de sols de La Réunion riche en fer (Wojciechowicz, 2005) et a donné de bons résultats. Il s'agit d'un protocole d'extraction simplifié, ne nécessitant pas à posteriori de purification des fractions (dialyse), puisque les sels introduits n'interférent pas dans l'analyse spectroscopique. Les échantillons ont été donc extraits par NaOH 0,2 M dans un ratio solide-liquide de 1:4 pendant 24h, centrifugés à 4000 rpm pendant 15 min, le surnageant est ensuite extrait par HCl 6 N ajouté jusqu'à pH 1. Après un repos de 2h, une centrifugation à 10 000 rpm est réalisée pendant 10 min, puis le surnageant est récupéré, congelé et lyophilisé en vue d'être analysé par RMN $^{13}C$. Le culot récupéré après la deuxième centrifugation est également congelé, lyophilisé puis analysé par RMN $^{13}C$. Classiquement, la fraction soluble (surnageant) après extraction acide correspond à la fraction "fulvique" et la partie qui précipite (deuxième culot) à la fraction "humique"(Stevenson, 1994 ). Bien qu'apparaissant comme rudimentaire, ce protocole basé essentiellement sur des différences de solubilité, est une excellente alternative aux protocoles de séparation de la MO sur résines XAD qui sont plus délicat à mettre en œuvre et donc source d'erreurs.

Etant donné la complexité de la matière organique naturelle, les résonances obervées ne sont pas attribuées à une fonction/molécule spécifique mais elles sont classées par famille de groupement chimique. On peut ainsi définir les régions spectrales suivantes:

-de 0 à 40 ppm: région aux C-$H_x$ aliphatiques

-de 40 à 60 ppm: région se superposent les C-N (les N étant des amines I, II ou III) et les -O-Methyl terminaux.

- de 60 à 100 ppm: région des C-O (alcools, éthers…) et plus particulièrement des mono- et polysaccharides.

-de 100 à 130 ppm: région des C aromatiques

-de 130 à 160 ppm: région des C-O aromatiques (phénols, aryl-éthers…)

-au delà de 160 ppm: région des carbonyls C=O (amides, acides…)

## Fractions humiques

Les spectres ont été enregistrés avec 12k accumulations. Le traitement des FID a été effectué avec le logiciel SwaNMR. Le rapport signal/bruit est amélioré par un élargissement des raies de 100 Hz. Après Transformé de Fourier, les corrections de phase et de ligne de base sont effectuées manuellement. La proportion relative des différents pics est obtenue en fittant le signal expérimental par un ensemble gaussiennes à l'aide du logiciel Igor Pro.

Dans l'ensemble, on obtient des spectres exploitables pour toutes les modalités NR, NA, PR, PA et T. Il n'en demeure pas moins que, compte tenu du nombre de scans, on pouvait s'attendre à un meilleur rapport signal/bruit. Ceci indique qu'une certaine proportion d'éléments paramagnétiques est toujours présente sans pour autant compromettre l'exploitation des données en terme de proportion de carbone par famille de composé. La qualité des spectres reste très variable sans qu'il soit possible de relier cette variabilité aux différentes modalités.

Les compositions chimiques des fractions humiques présentées représentent les situations pour chaque modalité.

### Modalité NR

La figure 2 montre l'allure typique des données obtenues. On y distingue aisément les différentes régions spectrales décrites ci-dessus: un premier massif vers 30 ppm (C aliphatiques); un pic autour de 53 ppm, délicat d'attribuer avec certitude surtout en l'absence de dosage CHON, la largeur du pic étant toute fois en faveur de l'hypothèse C-N; les polysaccharides vers 71 ppm; un ensemble de résonances avec un pic principal centré sur 126 ppm correspondant aux C aromatiques; un petit pic vers 150 pic attribué aux aryl-O; et finalement le pic des C=O à 171 ppm.

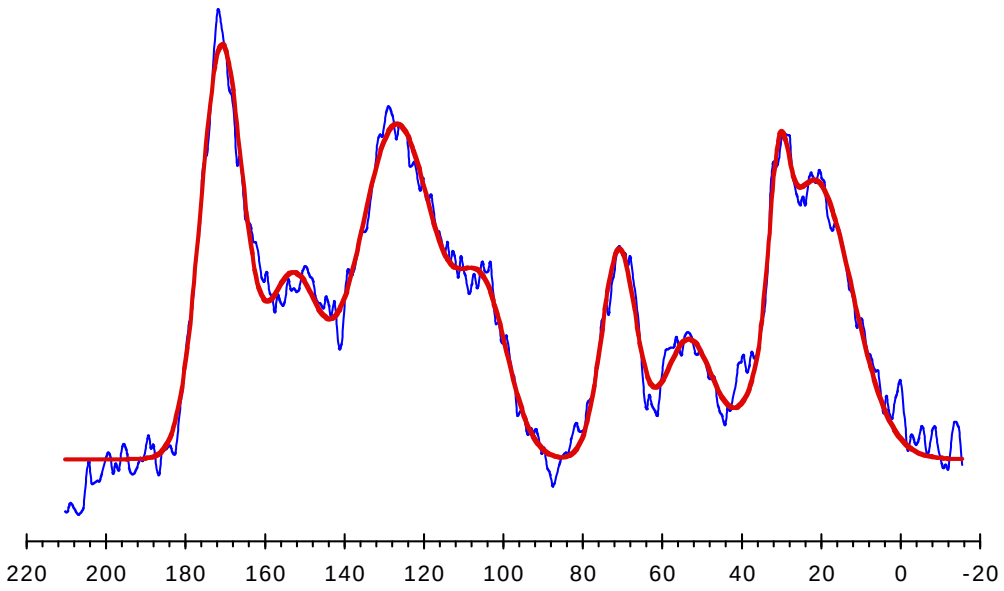



Figure 2: Spectre C-13 CP/MAS (bleu, LB 20Hz) et fit (rouge) fraction humique plac. #1

D'un point de vue quantitatif, un fit avec 8 gaussiennes fournit les proportions des différents familles de C organiques (Fig. 3). On note une proportion forte de C carbonyl (env. 1/5 du C détecté). La répartition C aliphatique total (c-à-d les alcanes + amines + polysaccahrides) versus C aromatique total (C aryl et aryl-O) est exprimée ici en individualisant la composante des C carbonyles. En effet, pour les C carbonyles, il n'est pas possible de déterminer s'ils sont portés par des motifs aliphatiques ou aromatiques. Attribuer ce type de C à l'une plutôt que l'autre famille serait par conséquent trop spéculatif. Dans le cas présent, le C aromatique réprésente environ 45% du C visible, ce qui est cohérent avec la nature humique extraite. Le C aliphatique représente env. 40%. On a donc un équilibre entre les deux grandes familles de C.

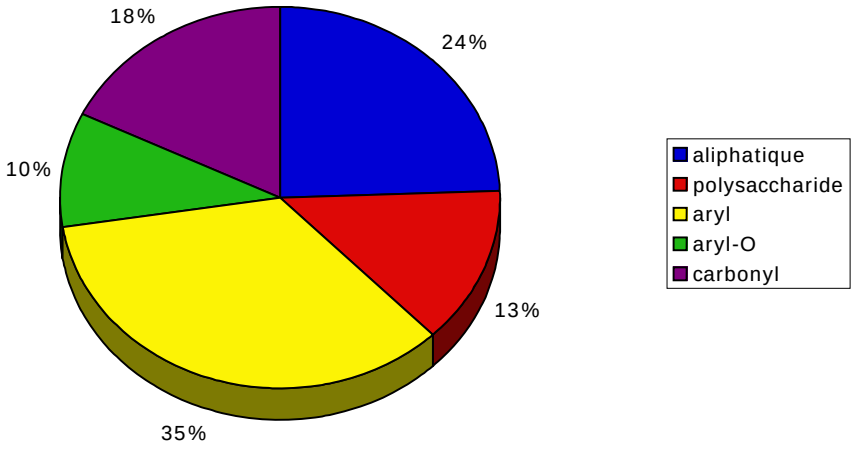



Figure 3: Composition de la fraction humique pour la modalité NR

**Modalité NA**

L'analyse de la composition de la fraction humique est présentée sur la figure 4. Elle est très similaire à celle obtenue pour NR. La différence majeure est une proportion de C carbonyl reduite de moitié.

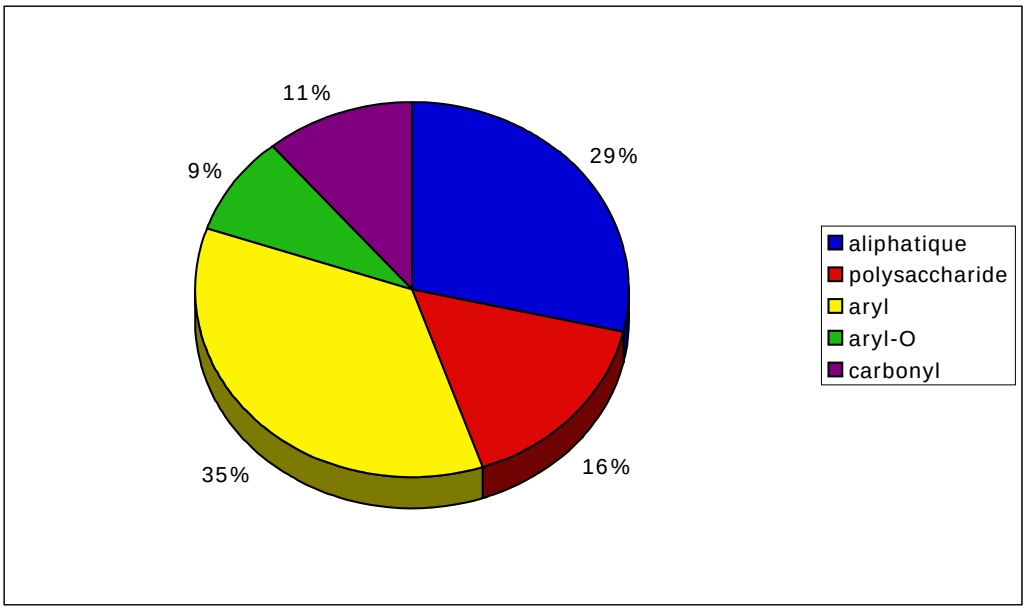



Figure 4: Composition de la fraction humique pour la modalité NA

Au point de vue de répartition C aliphatique/C aromatique, on observe un equilibre 50-50 quasi parfait.

**Modalité PR**

La composition de la matière organique dans la fraction humique (ici la modalité Peu Récent fig. 5) ressemble à celle observé pour les situations NR et NA. Par ailleurs , avec 43% de C aliphatique et 41% de C aromatique, on est dans la même situation que précedemment, où l'on avait un équilibre ebtre ces deux grands type de carbone.

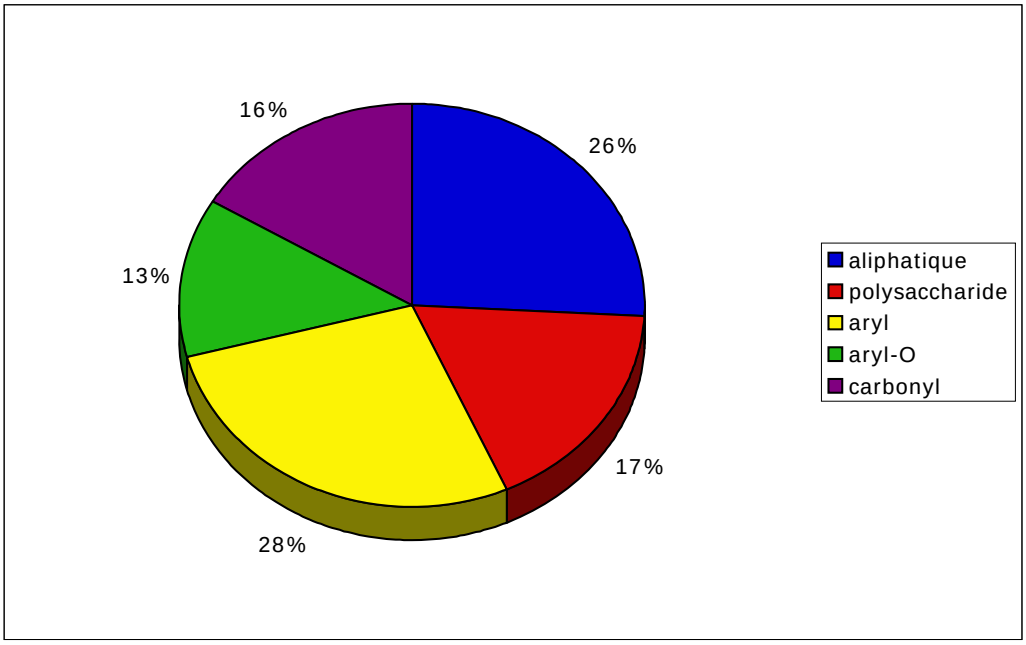



Figure 5: Composition de la fraction humique pour la modalité PR

**Modalité PA:**

Pour cette modalité, la détermination de la composition de la MO a conduit une fois encore à une répartition qui a déjà été observée. De même, la répartition C aliphatique vs C aromatique est toujours 50-50 aux erreurs expérimentales près. Cependant on peut souligner une moins bonne qualité des spectres dans l'ensemble. Cela a une incidence sur la précision des proportions indiqués, mais la tendance générale reste inchangée.

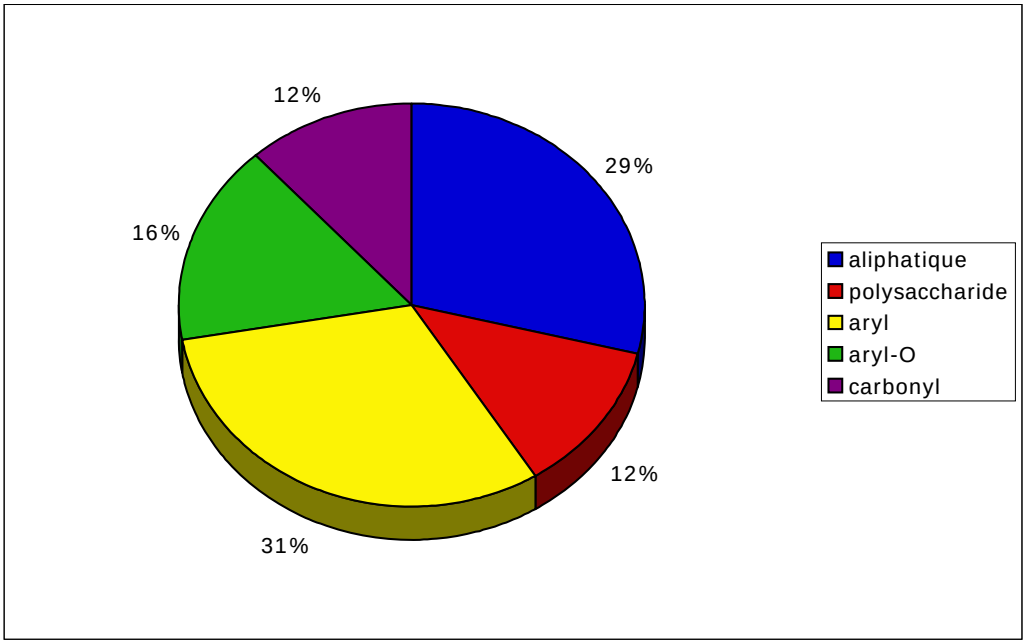



Figure 6: Composition de la fraction humique pour la modalité PA

**Modalité T**

A l'opposé des échantillons étudiés jusqu'ici, la composition "témoin" se caractérise par une forte proportion d'alcanes (env. la moitié du C visible, Fig. 7). Ceci se répercute naturellement sur les proportions de C insaturés (aryl, et aryl-O) qui ne représentent plus que 25% du carbone. La répartition C aliphatique-C aromatique-C carbonyl de 63-24-13% se démarque nettement des situations étudiées jusqu'ici.

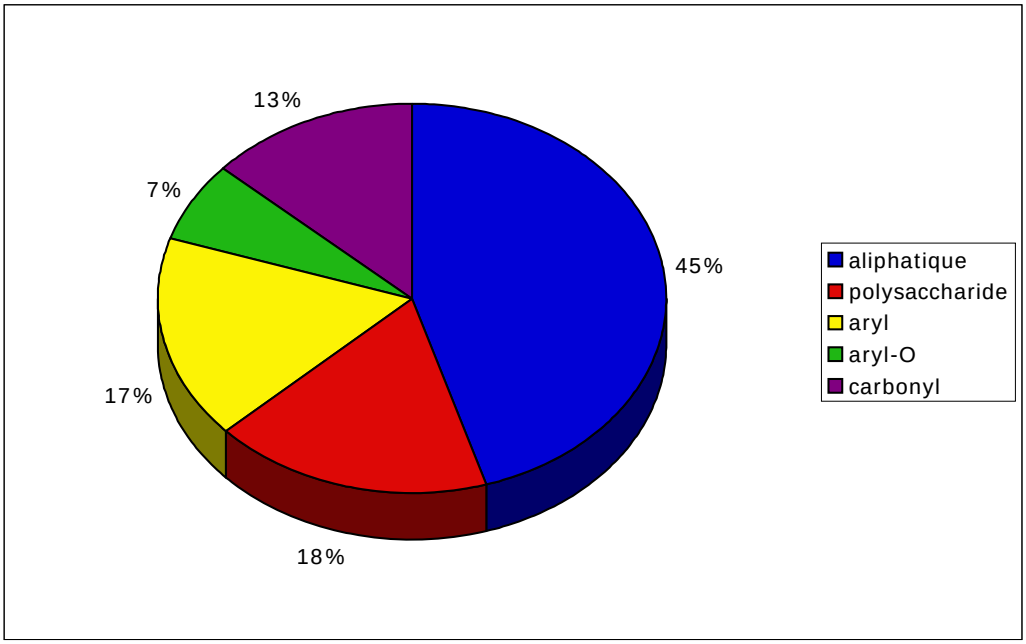



Figure 7: Composition de la fraction humique pour la modalité T

Bilan

Pour la modalité T, on obtient une composition de la fraction humique dominée par les carbones aliphatiques (plus de deux fois plus nombreux que les C aromatiques). Ceci n'est pas un résultat inhabituel pour ce type de fraction, même si l'on s'attend d'habitude à une plus forte proportion de composés aromatiques.

Dès lors que l'on s'intéresse à des placettes qui ont été concernées par le feu, les différneces sont effacées et ce quels que soit la fréquence ou l'age des feux. Les différences entre les proportions des différentes familles de C organiques n'excèdent pas l'incertitude expérimentale. Ainsi pour la fraction humique de la matière organique, on n'est pas en mesure de distinguer les différentes modalités en analysant la composition. Les figures 8 et 9 illustrent bien cette "invariance" et soulignent que seul la modalité T a un comportement différent

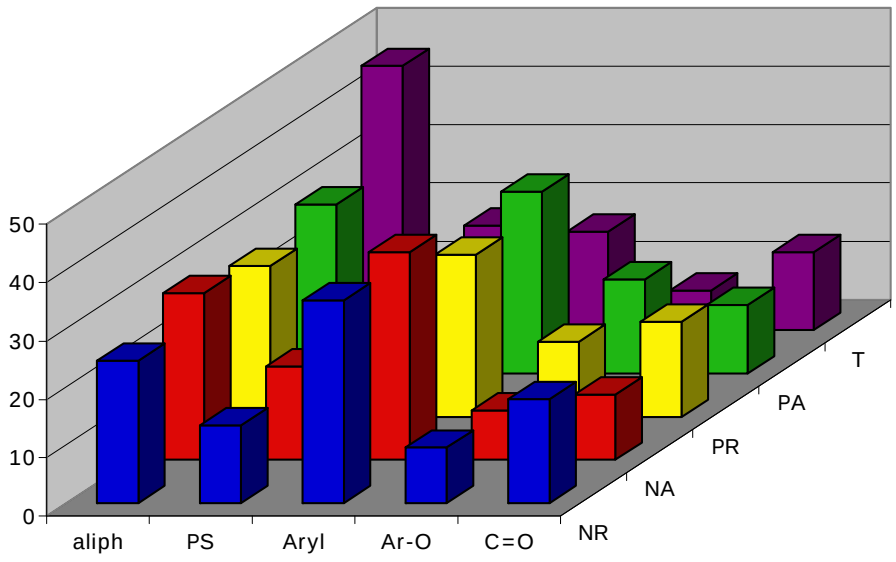



Figure 8: Comparaison des compositions de MO fraction humique

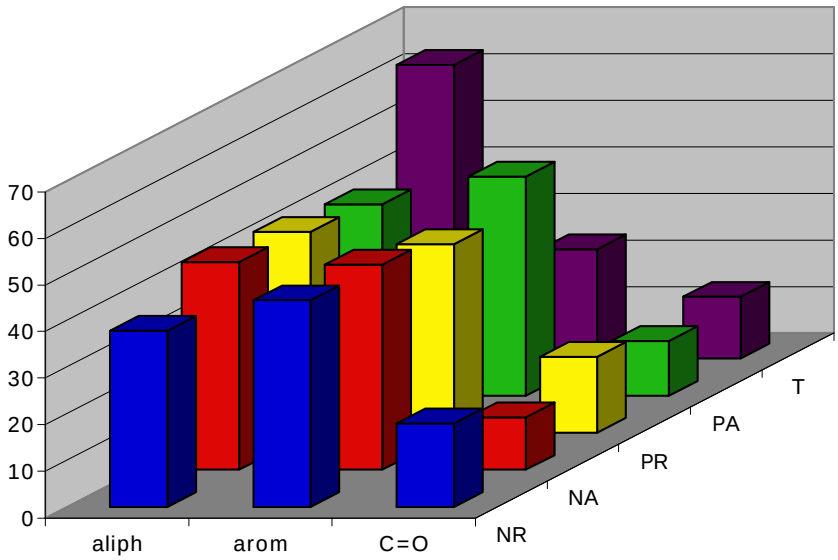



Figure 9: Comparaison des répartitions C aliph/ C arom. pour la MO fraction humique

## Fractions fulviques

Quelle que soit la modalité les spectres obtenus avec les fractions fulviques ne présentent aucun signal exploitable et ceci même après 12k accumulations. Ceci démontre la présence d'un forte proportion d'éléments paramagnétiques dans les échantillons. Dans l'hypothèse qu'il s'agit du fer, on peut expliquer cette proportion par:

- les composés fulviques forment des complexes avec du fer monomèrique ou sous forme d'oligomères (Rose et al., 1998). Les extractions alcalines puis acides sont sont effets sur cette fraction du Fe puisque sa solubilité est régie par la matière organique.

- l'acidification à pH=1 est susceptible de solubiliser des formes inorganiques du Fe, qui se retrouvent donc dans le surnageant après centrifugation (et donc dans le lyophilisat) et gênent ainsi l'observation des C fulviques.

- les espèces fer ne sont pas dissoutes mais on une taille trop faible (colloïdes) pour être précipitées dans nos conditions de centrifugation.

Quel que soit le mécanisme impliqué, cette présence de fer implique un traitement supplémentaire. Une des techniques couramment utilisée consiste à dissoudre les phases minérales avec de l'acide fluorhydrique (HF). L'HF réagit avec les silicates pour former du $SiF_4$ qui est un gaz volatile (Robl and Davis, 1993) et permet ainsi de dissoudre les minéraux silicatés et indirectement certains minéraux possédant du fer. La qualité des spectres de RMN $^{13}C$ de la MO est ainsi améliorée grâce à (i) la dissolution d'une partie du matériel paramagnétique ; et (ii) l'enrichissement en C de la fraction organique (Smernik and Oades, 2000). Le protocole suivi consiste en plusieurs répétitions de la séquence traitement HF (temps de contact 2 h)-centrifugation- lavage (de Junet et al., 2007).

La problématique de l'analyse de la matière organique par RMN a été étudié par plusieurs auteurs (e.g. Schmidt *et al.*, 1997; Schöning *et al.*, 2005). Le rapport molaire C/Fe est souvent mis en avant comme étant un paramètre important pour l'obtention de spectre $^{13}C$ exploitables. Les valeurs de ce rapport C/Fe pour lesquelles on obtient des données de bonne qualité sont variables: ainsi Gonçalves *et al.* (2000) obtiennent des spectres avec C/Fe = 2.8, alors que d'autres auteurs estiment qu'il faut des valeurs bien supérieures (Schöning *et al.*, 2005; Arshard *et al.* 1988).

Pour nos échantillons, l'augmentation du nombre de traitement HF améliore effectivement la qualité des spectres dans certains cas (Figure 10). Ces spectres sont enregistrés dans des conditions identiques que précédemment, à l'exception du nombre de scans qui a été réduit à typiquement 8k. En effet, le but même des traitements est d' obtenir des phases organiques "propres", et cela doit se traduire par des temps d'analyses plus court. Il apparaît rapidement que l'on ne peut pas définir de protocole strandard applicable à tous les échantillons; 4 traitements HF peuvent être suffisant pour un échantillon donné, alors que ceci se revèle insuffisant pour un autre échantillon. Dès lors, toute comparaison de la nature de la matière organique entre les différentes placettes et même modalités devient impossible, puisque les protocoles sont différents. Par ailleurs, multiplier les traitements HF induit i)de fortes pertes en C organique (50-85%); on est alors en droit de s'interroger sur la représentativité de la MO observée dans ces conditions, et ii) une modification possible de la nature de la matière organique; dans certaines études HF n'a pas d'effects notables sur la nature et structure de la MO (Rumpel et al., 2006; Gonçalves et al., 2003), alors que d'autres données montrent des modifications importantes suite au traitement HF (Schmidt et al., 1997; Eusterhues et al., 2007). Dans notre cas, étant donné que l'état initial n'est pas connu (spectres bruité), on n'est malheureusement pas en mesure d'estimer dans quel mesure les traitements HF ont modifiés la nature des phases organiques.

L'aspect structuration par la matière organique est très difficile à aborder compte tenu des difficultés rencontrées pour l'isoler. Il n'apparaît pas pertinent d'entreprendre des expériences visant à se prononcer sur le rôle structurant de la MO lorsqu'il subsiste des interrogations sérieuses quant à la représentativité et l'intégrité même des phases organiques isolées.

Références:


Arshard M., Ripmeester J., and Schnitzer M. (1988) Attempts to improve solid state $^{13}C$ NMR spectra of whole mineral soils. *Canadian Journal of Soil Science* **68**, 593-602.

de Junet A., Basile-Doelsch I., Templier J., Masion A., Marol C., Legros S., Borschneck D., Derenne S., and Balesdent J. (2007) Characterization of organic matter associated with mineral phases in an Andosol. *International Symposium on organic matter dynamics in agro-ecosystems*, Poitiers, 16-19th July.

Eusterhues K., Rumpel C., and Kögel-Knabner I. (2007) Composition and radiocarbon age of HF-resistant soil organic matter in a Podzol and a Cambisol. *Organic Geochemistry* **38**, 1356-1372.

Gonçalves C. N., Dalmolin R. S. D., Dick D. P., Knicker H., Klamt E., and Kogel-Knabner I. (2003) The effect of 10% HF treatment on the resolution of CPMAS $^{13}C$ NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferralsols. *Geoderma* **116**(3-4), 373-392. Kogel-Knabner I. (2000) Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *Organic Geochemistry* **31**(7-8), 609-625.

Robl T. and Davis B. (1993) Comparison of the HF-HCl and HF-$BF_3$ maceration techniques and the chemistry of resultant organic concentrates. *Organic Geochemistry* **20**, 249-255.

Rose J., Vilge A., Olivie-Lauquet G., Masion A., Frechou C., and Bottero J.-Y. (1998) Iron speciation in natural organic matter colloids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **136**, 11-19.

Rumpel C., Rabia N., Derenne S., Quenea K., Eusterhues K., Kogel-Knabner I., and Mariotti A. (2006) Alteration of soil organic matter following treatment with hydrofluoric acid (HF). *Organic Geochemistry* **37**(11), 1437-1451.

Schmidt M. V., Knicker H., Hatcher P. G., and Kögel-Knabner I. (1997) Improvement of 13C and 15N CPMAS NMR Spectra of Bulk Soils, Particle Size Fractions and Organic Material by Treatment with 10% Hydrofluoric Acid. *European Journal of Soil Science* **48**, 319-328.

Schöning I., Knicker H., and Kögel-Knabner I. (2005) Intimate association between O/N-alkyl carbon and iron oxides in clay fractions of forest soils. *Organic Geochemistry* **36**, 1378-1390.Smernik R. J. and Oades J. M. (2000) The use of spin counting for determining quantitation in solid state 13C NMR spectra of natural organic matter: 2. HF-treated soil fractions. *Geoderma* **96**(3), 159-171.

Stevenson F. J. (1994) Humus chemistry : genesis, composition, reactions. Wiley.New York.

Wojciechowicz O. (2005) Recyclage agricole des dechets organiques dans les sols tropicaux : evolution et speciation des matieres organiques (ile de la Reunion). *Rapport de stage Master II, Université Paul Cézanne*.

**Annexe 5.7 : physique du sol**

INRA EMMAH (ex. CSE)

***Matériels et Méthodes***

**1- Le sol**
Massif des Maures
2 horizons 0-10 et 10-20 cm
Sols très peu profonds
Réseau initial de 25 parcelles groupées par 5 traitements, complété en 2008.

**2- Les prélèvements**
**2.1 Pour analyses**
Prélèvement homogénéisé par parcelle, issu de 5 prélèvements ponctuels tamisés à 2 mm, 1 kg par horizon conservé en armoire frigorifique

**2.2 Pour propriétés hydrodynamiques et hydrophobicité**
Pour l'interprétation des tests d'infiltration *in situ*, des prélèvements destructifs sont réalisés pour calculer la teneur en eau gravimétrique initiale et finale. Initialement, 3 prélèvements remaniés et homogénéisés sont réalisés aux alentours immédiats de l'infiltromètre. Pour l'état final, on prélève un cylindre non remanié de 100 $cm^3$ au droit de l'infiltromètre, ce qui permet de calculer la teneur en eau massique finale, la masse volumique apparente et donc les teneurs en eau massique et la porosité.
Des cylindres (hauteur 7 cm, diamètre 15 cm) sont prélevés de façon non remaniée dans les différentes parcelles pour l'horizon de surface du sol, débarrassé de l'éventuelle couche organique. Des difficultés de prélèvements dues à la faible cohérence du sol n'ont pas permis de réaliser ces prélèvements sur toutes les parcelles. Seules les parcelles suivantes ont été étudiées : I1, I2, I5 et I7.
Les prélèvements homogénéisés sont utilisés pour la courbe de rétention et les tests d'hydrophobicité.

**2.3 Pour Imprégnations**
Nous avons utilisé une méthode d'imprégnation *in situ* à partir de la surface du sol par de la résine époxy. Après durcissement de la résine (24h), un échantillon non remanié est extrait. Cet échantillon, ainsi stabilisé par l'imprégnation, est transporté au laboratoire ou l'imprégnation est complétée.
Une parcelle par traitement a été choisie, sur des critères de facilité d'accès. Il s'agit des parcelles I2, I6, I12, I16, I26. Deux sites ont été étudiés sur chaque placette.

**3- Les méthodes utilisées**
**3.1 Analyses de sol**
Analyses de sol réalisées par le Laboratoire d'Analyse de Sols et Arras (INRA) :
granulométrie 8 fractions : < 2µm ; 2-20 et 20-50 ; 50-100, 100-200, 200-500, 500-1000, 1000-2000
teneur en C organique et N total, rapport C/N
pH eau
CEC, $Ca^{++}$, $Mg^{++}$, $K^{+}$, $Na^{+}$

**3.2 Tests d'infiltration in situ**
Deux méthodes complémentaires ont été utilisées *in situ*. Dans un premier temps, nous avons mis en œuvre un infiltromètre à charge positive. Un cylindre de diamètre 15 cm est légèrement enfoncé

à la surface du sol, un cordon étanche constitué d'une pâte de bentonite déposé sur le pourtour du cylindre à la surface du sol assure l'étanchéité latérale. Des volumes d'eau identiques sont apportés successivement à l'intérieur de ce cylindre. Chaque volume d'eau correspond à une hauteur d'eau de 7 mm. Le temps nécessaire à l'infiltration totale de chaque volume est enregistré. Dans un deuxième temps, pour éviter les problèmes d'hétérogénéité de l'infiltration et de fuite latérale, nous avons utilisé un infiltromètre à succion (DECAGON, 2005). Le diamètre de l'embase en contact avec le sol est de 3cm, la succion imposée est de 2 cm. On note là aussi la courbe d'infiltration cumulée I(t) (mm).

L'analyse de la courbe d'infiltration cumulée peut être réalisée de différentes façons. Nous avons testé trois méthodes différentes, détaillées dans le tableau 1, correspondant à des degrés de complexité décroissante. L'utilisation de la méthode Beerkan (Braud *et al*., 2004; Lassabatere *et al*., 2006) permet de remonter à la courbe totale de conductivité hydraulique et à la sorptivité du sol en ajustant un modèle théorique à la courbe d'infiltration cumulée I(t). En utilisant la méthode de Vandervaere *et al*. (1997), nous pouvons remonter à la valeur de la conductivité hydraulique à saturation et à la sorptivité du sol en analysant la courbe $dI/d\sqrt{t}$. La méthode de Zhang (1997) utilisée dans (DECAGON, 2005) est une variante de la précédente basée sur l'analyse de la courbe I(t).

Tableau 1 : caractéristiques des trois méthodes utilisées pour l'analyse des courbes d'infiltration cumulées et pour la détermination des paramètres hydrodynamiques.

| Méthode Utilisée | Paramètres déterminés | Mesures nécessaires |
|---|---|---|
| Beerkan (Braud *et al*., 2004; Lassabatere *et al*., 2006) | Courbe de conductivité hydraulique $K(\theta)$ (m $s^{-1}$)<br>Sorptivité $S(\theta_i,\theta_f)$ (m s-$^{0.5}$) | Infiltration cumulée I(t) (mm)<br>Teneurs en eau initiale $q_i$ et finale $\theta_f$ ($m^3$ $m^{-3}$)<br>Courbe granulométrique |
| Vandervaere *et al*. (1997) | Conductivité hydraulique $K(\theta_f)$ (m $s^{-1}$)<br>Sorptivité $S(\theta_i,\theta_f)$ (m s-$^{0.5}$) | Infiltration cumulée I(t) (mm)<br>Teneurs en eau initiale $\theta_i$ et finale $\theta_f$ ($m^3$ $m^{-3}$) |
| Zhang (1997) | Conductivité hydraulique $K(q_f)$ (m $s^{-1}$)<br>Sorptivité $S(\theta_i,\theta_f)$ (m s-$^{0.5}$) | Infiltration cumulée I(t) (mm)<br>Texture du sol |

### 3.3 Méthode Wind au laboratoire

Afin de valider les méthodes d'interprétation des essais d'infiltration in situ, des prélèvements cylindriques (diamètre 15 cm, hauteur 7 cm) non remaniés ont été réalisés à proximité immédiate des essais d'infiltration. Ces cylindres ont été traités au laboratoire selon la méthode Wind (Tamari *et al.*, 1993).

Du fait des difficultés de prélèvements (sols très caillouteux, sols très peu cohérents) et à des difficultés expérimentales au laboratoire (hydrophobicité très marquée), nous n'avons réalisé des prélèvements que sur quelques placettes. Les parcelles prélevées sont les suivantes : I1, I2, I5, I7 (horizon de surface).

### 3.4 Courbe de rétention

Les courbes de rétention ont été obtenues au laboratoire sur presses de Richards suivant la norme NF ISO11274 (AFNOR, 1997) en utilisant la fraction tamisée à 2 mm des prélèvements homogénéisés par parcelle et par horizon. Les pressions imposées ont été : 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3, 5 et 15 bars (5 répétitions par pression).

### 3.5 Hydrophobicité

Du fait de nombreux problèmes expérimentaux mettant en évidence une forte hydrophobicité des sols, nous avons décidé de caractériser cette hydrophobicité par un test indirect de laboratoire sur les prélèvements homogénéisés. Deux tests indicateurs sont généralement utilisés dans la littérature : le test WDPT (Water Droplet Penetration Time) et le test MED (Molarity of the Ethanol Droplet) (e.g. Doerr et Shakesby, 1998). Doerr (1998) a montré que les deux tests étaient équivalents pour classer relativement des sols les uns par rapport aux autres, mais des différences étaient présentes pour les fortes hydrophobicité. Le test WDPT mesure le temps de pénétration d'une gouttelette d'eau déposée à la surface d'un échantillon de sol : **il mesure donc la persistance de l'hydrophobicité du milieu en présence d'un apport d'eau**. Le test MED consiste à mesurer le temps d'infiltration d'une gouttelette d'un mélange eau-éthanol déposée à la surface de l'échantillon. La concentration en éthanol décroît jusqu'à une limite tant que la goutte pénètre rapidement dans le milieu. La concentration limite en éthanol donne la classe d'hydrophobicité. **Ce test mesure donc l'intensité de l'hydrophobicité du milieu**. Pour des raisons de standardisation et de rapidité, nous avons utilisé le test MED. Toutes les placettes et horizons ont été testés.

### 3.6 Caractérisation de la macroporosité par imprégnation *in situ* et prises de vue

*Imprégnation in situ.*

L'imprégnation *in situ* de sols humides avec une résine époxy est une technique utilisée par plusieurs auteurs (McBratney *et al*, 1991; Mooney *et al*, 1997, 1998; Moran *et al* 1989; Pierret *et al* 1998). Cependant, le protocole doit être adapté à chaque utilisation du fait de l'évolution rapide des références industrielles des composants, des facteurs influençant la polymérisation *in situ*, ou des spécificités du milieu à imprégner. Ainsi, un protocole spécifique d'imprégnation de sol *in situ* par de la résine époxy a été mis au point dans le cadre de ce projet (Queynard, 2007). Les références et proportions des composants utilisés sont données dans le tableau suivant.

Tableau 2 : références des composants utilisés dans la préparation du mélange pour imprégnation in situ de sol, et proportions utilisées sur les différentes parcelles.

| | Résine | Durcisseur | Diluant | Colorant |
|---|---|---|---|---|
| Référence | Araldite GY783 | Aradur 2963 | EP17 | Fluorescéine |
| Mélange pour la parcelle 2 (ml) | 67 % (126 ml) | 33 % (32 ml) | 0 % | 0.1 % en pondéral (0.63 g) |
| Mélange pour les parcelles 6, 12, 16, 26 | 50 % (94 ml) | 25 % (48 ml) | 25 % (48 ml) | 0.1 % en pondéral (O.63 g) |

Un cylindre est légèrement enfoncé dans le sol, le mélange est versé en une seule fois dans ce cylindre. 24 h après, l'échantillon imprégné est prélevé. Les blocs récupérés sont relativement gros. Ils ont un diamètre allant de 15 à 20 cm et une hauteur de 10 à 15 cm. Le dessous des blocs est ré-imprégné au laboratoire. Après 48h de séchage, une coupe verticale passant par l'axe du bloc et une coupe horizontale réalisée sur une des moitiés de bloc ainsi obtenues sont réalisées. La coupe horizontale est faite entre 2 et 3 cm de profondeur. Nous obtenons donc deux coupes par blocs. Tous les pores n'étant pas comblés, les coupes sont ré-imprégnées au laboratoire en appliquant le mélange au pinceau sur la surface de la coupe (Moran et al., 1989). Après 24h de séchage, les blocs sont poncés à l'aide d'une ponceuse à bande afin d'obtenir une surface la plus lisse possible. Par cette méthode, nous avons accès à des pores de diamètre supérieur à 100 µm (McBratney et al, 1991), ce qui correspond essentiellement à la macroporosité.

*Prises de vue.*
Les lames sont placées dans une chambre noire sous éclairage UV. Toutes les photos sont réalisées avec le même appareil photo numérique (Bridge SONY DSC R1) et avec les mêmes réglages optiques. Les réglages de l'appareil sont les suivants :

- Mode : 10 millions de pixels
- Format de la photo : RAW
- Couleur : Adobe RGB
- Saturation : normale
- Contraste : maximal
- Netteté : normale
- Lumière : Tungstène
- Diaphragme : 8
- Temps de pose : 3 s
- Filtre UV (référence Kodak n°2) : il est placé sur l'appareil photo et sera présent tout au long de la séance photos

Un réglet présent à la surface de la section photographiée permet de déterminer l'échelle de chaque prise de vue : celle-ci a varié entre 203 et 223 pixels/cm.

*Analyse d'Images*
Les images sont traitées par ImageJ (http://rsb.info.nih.gov/ij/) après transformation de l'image couleur RGB en image en niveau de gris (Marcelino et al, 2007). Un seuillage choisi manuellement en fonction de l'histogramme des niveaux de gris permet une binérisation de l'image. Les pores apparaissent en blanc. Une procédure est mise en œuvre pour éliminer de l'image les artéfacts dus aux poussières éventuellement présentes au milieu des pores.
La porosité est calculée comme le rapport entre le nombre de pixels blancs (les pores) et le nombre total de pixel de la zone d'intérêt. Il s'agit donc d'une porosité surfacique.
La distribution de la taille des pores, normalisée par la surface de la zone d'intérêt de la section photographiée, est également caractérisée.

**3.7 Caractérisation de la stabilité structurale du sol par granulométrie laser.**
Des échantillons ont été prélevés (le mode de prélèvement est identique aux échantillons remaniés) sur 5 sites sur chaque parcelle en 2007. Les échantillons sont tamisés à 2 mm et séchés à l'air. Les analyses portent sur la fraction inférieure à 500 µm, qui est la limite de détection de notre granulomètre laser ().
1 g d'échantillon est injecté dans le bac de mélange du granulomètre rempli d'eau. La granulométrie apparente est mesurée régulièrement : l'analyse de l'évolution de la granulométrie apparente permet de caractériser la stabilité structurale de l'échantillon. Ceci est une adaptation du protocole de mesure de la stabilité structurale proposée par Le Bissonnais (1996) pour le « pré-traitement 1 » correspondant à une réhumectation rapide d'un échantillon séché à l'air. Ce test caractérise l'importance du « slaking », un des mécanismes de la désagrégation structurale. Il est représentatif du comportement in situ d'un sol sec soumis à une pluie de forte intensité (Le Bissonnais, 1996), ce qui correspond aux orages de printemps et d'automne dans le massif des Maures.

Cependant, cette caractérisation n'a pu aboutir, du fait de la défection d'un étudiant prévu sur cette expérimentation en 2007. Seuls quelques résultats préliminaires concernant deux traitements extrêmes (parcelle I5 : « Nombreux-Récents », et parcelle I26 : « Témoin ») sont présentés. L'ensemble des échantillons devraient être étudiés au cours de la période 2008-2009.

Une synthèse de l'ensemble des mesures réalisées sur les différentes placettes est indiquée dans le tableau 3.

Tableau 3 : synthèse des analyses réalisées sur les différentes placettes. Une croix (X) correspond à un prélèvement unique ou à un prélèvement homogénéisé. Un chiffre correspond au nombre de prélèvements ou d'analyses réalisées.

| Traitement | Parcelle | Horizon | Analyse LAS[1,2] | MED[1,2] | Rétention[1,2] | Wind[2] | BeerKan[2] | Decagon[2] | Imprégnation[3] | Stabilité structurale[3] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombreux - Récents | I1 | A | X | X | X | X | 4 | X | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I2 | A | X | X | X | X | 8 | X | 2 | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I3 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I4 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I5 | A | X | X | X | X | 4 | X | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | X | | 5 |
| Nombreux - Anciens | I42 | A | | X | X | X | 4 | X | | |
| | | B | | X | X | | | | | |
| | I6 | A | X | X | X | | | | 2 | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I7 | A | X | X | X | X | 3 | X | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | X | | 5 |
| | I8 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I9 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I10 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| Peu –Récents | I11 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I12 | A | X | X | X | | | | 2 | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I13 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I14 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I15 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |

Tableau 3 (suite) : synthèse des analyses réalisées sur les différentes placettes. Une croix (X) correspond à un prélèvement unique ou à un prélèvement homogénéisé. Un chiffre correspond au nombre de prélèvements ou d'analyses réalisées.

| Traitement | Parcelle | Horizon | Analyse LAS[1,2] | MED[1,2] | Rétention[1,2] | Wind[2] | BeerKan[2] | Decagon[2] | Imprégnation[3] | Stabilité structurale[3] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Peu - Anciens | I16 | A | X | X | X | | | | 2 | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I17 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I18 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I20 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I24 | A | X | X | X | | 4 | X | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| Témoin | I21 | A | X | X | X | | 4 | X | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I22 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I23 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | 2 | 5 |
| | I26 | A | X | X | X | X | 4 | X | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | X | | 5 |
| | I27 | A | X | X | X | | | | | 5 |
| | | B | X | X | X | | | | | 5 |
| | I39 | A | | X | X | X | 4 | X | | |
| | | B | | X | X | | | | | |
| Nombreux – Très Récents[5] | I7Bis | A | | X | | | | | | |
| | I28 | A | | X | | | | | | |
| | | B | | X | | | | | | |
| | I29 | A | | X | | | | | | |
| | I30 | A | | X | | | | | | |
| | I31 | A | | X | | | | | | |
| Témoin très Ancien[5] | I33 | A | | X | | | | | | |
| | | B | | X | | | | | | |

[1] : prélèvement homogénéisé par parcelle et par traitement, tamisé à 2 mm
[2] : prélèvements mai 2006 ; [3] : imprégnations juin 2007 ; [4] : prélèvements avril 2007
[5] : prélèvements complémentaires réalisés en 2008.

## ***Résultats***

### Analyses de Sol

Seuls quelques résultats sont présentés dans le corps du texte.

### *Texture*

Les résultats sont présentés dans la figure 1. On remarque l'homogénéité texturale des sols étudiés, pour les deux horizons, avec un texture sablo-limoneuse à limono-sableuse. Pour l'horizon A (respec. Horizon B), le taux moyen de particules de taille argileuse est de 9.1% ± 1.7% (respec. 9.4% ± 1.7%) et le taux de particules sableuses est de 73.1% ± 3.7% (respec. 70.9% ± 3.4%). Cette homogénéité texturale est un élément nécessaire à la suite du projet : les éventuellement différences de valeurs des paramètres et/ou indicateurs ne pourront pas s'expliquer par des différences de texture du sol.

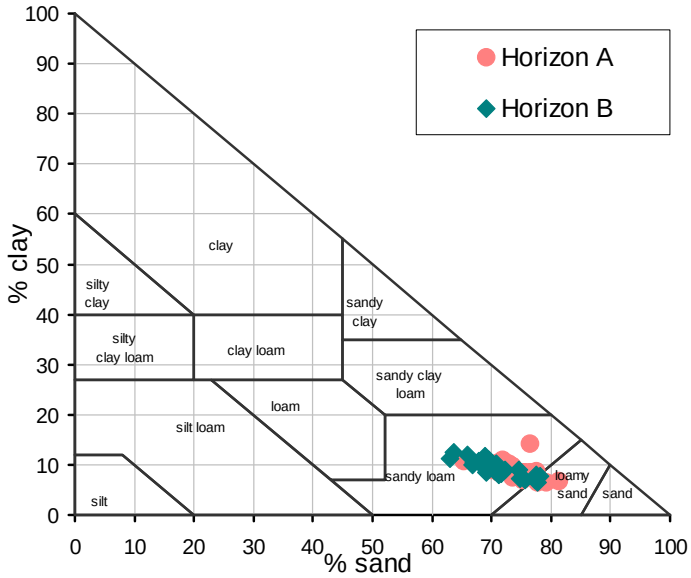



Figure 1 : textures du sol des placettes étudiées.

### *Carbone organique (Corg) et Azote total (Ntot)*

Les taux Corg le rapport Corg/Ntot sont présentés sur les figures 2a et b.

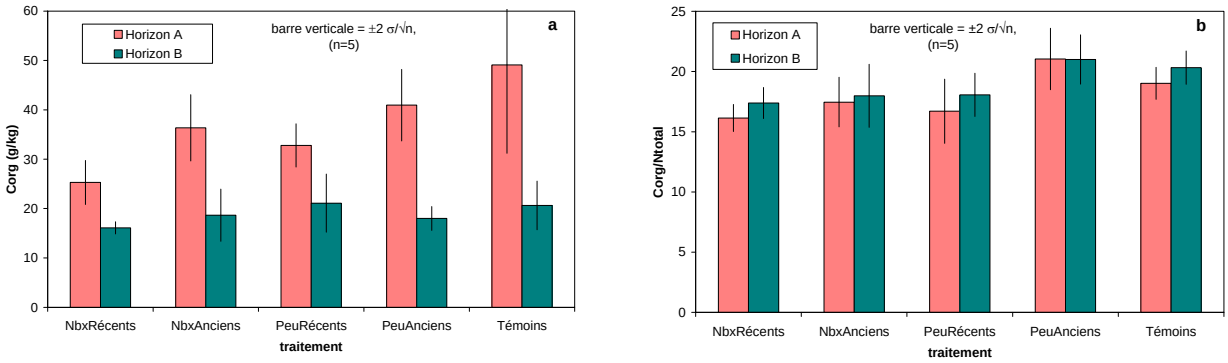



Figure 2 : taux de carbone organique moyen (a) et rapport C/N moyen (b) dans les deux horizons des placettes étudiées. Les résultats sont regroupés par traitement.

Les quantités de Corg sont ordonnées par traitement pour l'horizon A : plus le nombre de feux est important et/ou récent, plus le taux de Corg est faible. Inversement, le taux de Corg augmente avec la période depuis le dernier feux. On peut envisager une régénération du sol par apport de matière organique depuis la végétation recolonisant le sol depuis le dernier feu. Cependant, ces valeurs moyennes cachent une forte variabilité qui ne peut s'expliquer ni par la date du dernier feu, ni par le

nombre de feux depuis 1950. Au seuil P=5%, seul le traitement Nombreux-Récents se différencie des traitements Nombreux-Anciens, Peu-Récents et Peu-Anciens, les autres traitements ne présentant pas de taux de Corg significativement différents (P=5%). En regroupant les traitements pour obtenir les modalités [Nombreux ; Peu ; Témoin] d'une part et [Anciens ; Récents ; Témoin] d'autre part, seule les modalités Anciens et Récents ont des taux de Corg significativement différents (P=5%). Le faible nombre de données et la forte variabilité au sein du traitement Témoin explique que cette modalité ne peut pas s'individualiser facilement. Pour l'horizon B, les taux sont très homogènes au sein d'un même traitement et entre traitements.
Concernant le rapport C/N, celui-ci est relativement stable quel que soit le traitement (entre 15 et 20) et les variabilités intra-traitements ne permettent pas les différencier entre eux : en première analyse, **le rapport C/N n'est pas un indicateur pertinent de la dégradation des sols sous l'effet des incendies de forêts dans le massif des Maures.**

***CEC***
La CEC est directement reliée à la quantité de matière organique présente, c'est à dire au taux de Corg. Une régression linéaire sur les valeurs moyennes par traitement donne pour l'horizon A :

$$CEC = 0.209 \cdot Corg + 5.26 \quad (R^2=0.98),$$

où la CEC est exprimée en cmol+/kg et Corg en g/kg. Ceci s'explique par le fait que parmi les deux principaux complexes d'échanges présents dans le sol (l'argile et la matière organique), seul le taux de matière organique varie en fonction du traitement, alors que le taux d'argile est très homogène.

**Infiltrométrie in situ** (Baussaron, 2006)
De nombreuses difficultés de mises en oeuvre de la méthode BeerKan sont apparues : sols en pente, sols peu profonds avec présence de discontinuité, infiltration hétérogène due à une hydrophobicité très marquée à la surface du sol, difficulté de prélèvements pour la mesure de la densité et de l'humidité finale. Ainsi, très peu de données ont été finalement exploitables, malgré une adaptation du protocole. Ces données partielles ne permettent pas une comparaison des différentes placettes.
La conductivité hydraulique à saturation Ksat (mm $h^{-1}$) de la surface du sol est portée sur la figure 3 en fonction du traitement. Les valeurs estimées sont élevées, de l'ordre de 100 mm $h^{-1}$, mais conformes à la texture limono-sableuse des sols en place. On remarque aussi une forte variabilité intra-parcelle et intra-traitement : l'écartype calculé sur l'ensemble des données, après transformation en log décimal des valeurs de Ksat, est de 0.43 alors qu'il varie entre 0.31 et 0.57 au sein des différents traitements.

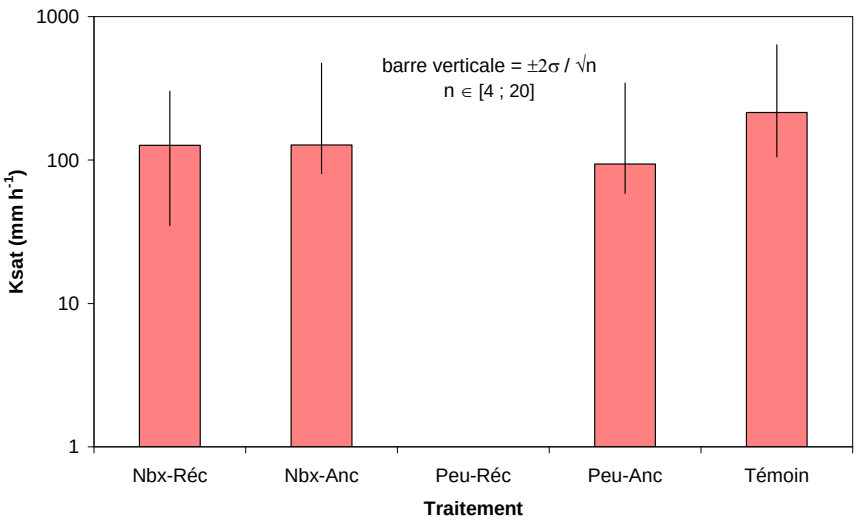



Figure 3 : valeurs de Ksat (mm $h^{-1}$) en fonction des traitements.

Les valeurs de conductivité à saturation sont très étroitement reliées aux plus grands pores présents. L'étude de la macroporosité par analyse d'image montre que la fraction la plus grossière de la macroporosité est peu variable d'un traitement à l'autre, ce qui explique que les Ksat soient similaires d'un traitement à l'autre. Cependant, la seule valeur de Ksat ne permet pas de classifier les différents traitements en fonction de leur comportement hydrologique. En effet, l'infiltration va dépendre d'une part de l'hydrophobicité, d'autre part des propriétés hydrodynamiques dans le domaine non saturé et enfin de la variabilité intra-parcellaire et de la structure spatiale de cette variabilité.

**Caractérisation hydrodynamique au laboratoire** (Baussaron, 2006)

***Méthode de Wind***

Des difficultés expérimentales non prévues (faible cohérence des échantillons, forte hydrophobicité rendant la réhumectation des échantillons très longue) ont contraints à diminuer le nombre d'échantillons initialement prévu. Ces données partielles ne permettent pas une comparaison des différentes placettes. Seuls les échantillons I1, I2, I5 et I7 ont été traités, les échantillons I39, I42 et I26 sont en attente.

Les valeurs des paramètres du modèle de Mualem-Van Genuchten (Van Genuchten, 1980) sont donnés dans le tableau 4.

Tableau 4 : ajustement du modèle de Mualem-Van Genuchten aux courbes de rétention et de conductivité hydraulique

| Parcelle | Courbe de rétention h(θ) | | | | Courbe de conductivité hydraulique K(h) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $\theta_s$ ($m^3\ m^{-3}$) | $\theta_r$ ($m^3\ m^{-3}$) | α ($m^{-1}$) | n (-) | α ($m^{-1}$) | n (-) | $K_{sat}$ ($mm\ h^{-1}$) |
| I1 | 0.348 | 0 | 7.597 | 1.192 | 2.962 | 1.1900 | 14 |
| I2 | 0.330 | 0 | 3.235 | 1.203 | 2.898 | 1.241 | 26 |
| I5 | 0.370 | 0.134 | 3.210 | 1.424 | 2.386 | 1.041 | 67 |
| I7 | 0.219 | 0 | 2.692 | 1.275 | 3.268 | 1.1900 | 29 |

***Courbes de rétention sur fraction remaniée***

Les courbes de rétention des deux horizons sont portées sur les figures 4a et b.

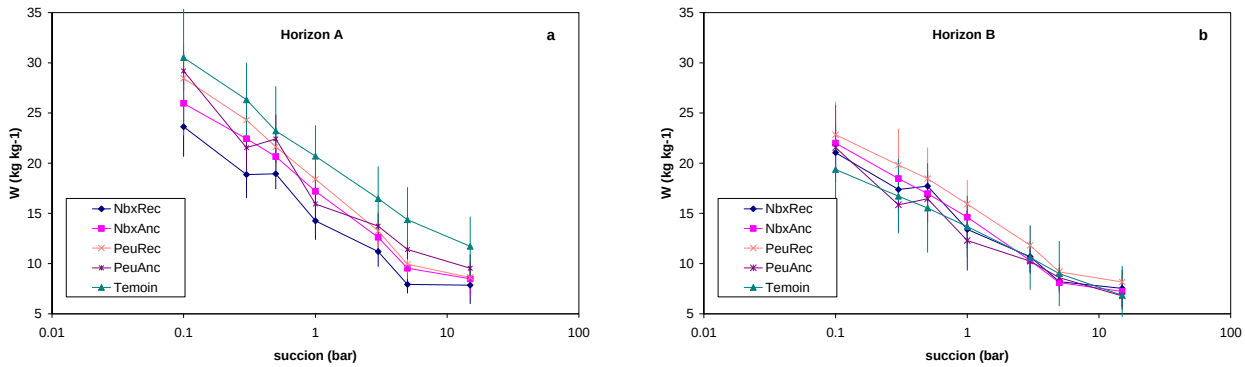



Figure 4 : courbes de rétention sur fraction fine (< 2 mm) des échantillons homogénéisés sur les horizons A (a) et B (b).

Concernant l'horizon B, les courbes de rétention sont peu différenciées les unes des autres : dans la gamme de mesure (entre une succion de 0.1 bar et 15 bars), l'occurrence des incendies n'a pas d'influence significative sur la courbe de rétention obtenue sur fraction fine. Dans cette gamme de succion, les rayons de pores concernés sont compris entre 15 µm et 0.1 µm, il s'agit donc

essentiellement de la microporosité et d'une fraction de la mésoporosité. Hors, la microporosité est le résultat de l'arrangement élémentaire des particules constitutives du sol : elle est donc fortement reliée à la texture du sol et à la quantité de matière organique, deux variables que l'on a trouvées très homogènes entre les modalités.

Concernant l'horizon A, d'un point de vue qualitatif, on peut distinguer sur le graphe trois séries de courbes qui sont ordonnées de la façon suivante : modalité « Nombreux-Récents », puis les modalités « Nombreux-Anciens », « Peu-Récents » et « Peu-Anciens » et enfin la modalité « témoin » :

- La courbe de rétention du traitement « témoin » représente le milieu qui pour un potentiel donné stocke le plus d'eau,
- La courbe de rétention du traitement « Nombreux-Récents » représente au contraire le milieu qui stocke le moins d'eau,
- Les trois autres modalités sont intermédiaires.

La réserve utile du sol, estimée comme la différence entre les humidités à 0.1 bar et 15 bars, est donnée dans le tableau 5. Les différences entre modalités, identifiées qualitativement sur les courbes de rétention, ne se retrouvent pas dans ce tableau. Ainsi, il semblerait que l'effet des modalités sur la courbe de rétention concerne une diminution de la méso et/ou de la macroporosité, sans modification du spectre poral de la microporosité, ce qui se traduirait par une translation verticale des courbes de rétention (cf. figure 4a).

Tableau 5 : valeurs de réserve utile (kg/kg) estimée à partir de la courbe de rétention comme la différence entre les humidités pondérales à 0.1 bars et 15 bars. L'incertitude (2 écart-type) d'estimation est donné entre parenthèses (n=5).

| Traitement | Horizon A | Horizon B |
|---|---|---|
| Nombreux-Récents | 0.158 (0.035) | 0.135 (0.025) |
| Nombreux-anciens | 0.175 (0.035) | 0.148 (0.015) |
| Peu-Anciens | 0.198 (0.033) | 0.147 (0.026) |
| Peu-Récents | 0.197 (0.023) | 0.148 (0.028) |
| Témoins | 0.188 (0.070) | 0.125 (0.028) |

Les courbes de rétention ont été ajustées par le modèle de Van-Genuchten (1980) :

$$\frac{W - W_r}{W_s - W_r} = \left(1 + \left(\alpha \cdot |h|\right)^n\right)^{-m}$$

avec $m = 1-1/n$, $h$ est la succion exprimée en m, $\alpha$ ($m^{-1}$), et en fixant la valeur de l'humidité résiduelle $W_r$ à 0. Du fait du nombre réduit de points dans la gamme des fortes humidités (entre la saturation et une succion de 0.1 bar), les valeurs des paramètres sont à prendre avec prudence. Les résultats sont donnés dans le tableau 6.

Tableau 6 : ajustement des paramètres du modèle de Van Genuchten à la courbe de rétention. La teneur en eau résiduelle est fixée à 0.

| Traitement | Horizon A | | | Horizon B | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $W_s$ (kg kg$^{-1}$) | α (m$^{-1}$) | n (-) | $W_s$ (kg kg$^{-1}$) | α (m$^{-1}$) | n (-) |
| Nombreux-Anciens | 0.263 | 0.686 | 1.2892 | 0.228 | 0.538 | 1.2744 |
| Nombreux-Récents | 0.278 | 0.424 | 1.3096 | 0.239 | 0.544 | 1.2935 |
| Peu-Anciens | 0.309 | 0.487 | 1.3168 | 0.243 | 0.419 | 1.2825 |
| Peu-Récents | 0.350[&] | 1.577 | 1.2488 | 0.250[$] | 1.295 | 1.2508 |
| Témoins | 0.350 | 1.104 | 1.2161 | 0.206 | 0.477 | 1.2536 |

[&] : $W_s$ fixée à 0.350 pour permettre la convergence de l'ajustement
[$] : $W_s$ fixée à 0.250 pour permettre la convergence de l'ajustement

**Caractérisation de l'hydrophobicité** (Baussaron, 2006)
L'hydrophobicité a été caractérisée par la méthode MED (Doerr, 1998 ; Doerr & Shakseby, 1988). Elle est caractérisée par un index sur une échelle allant de 1 (échantillon non hydrophobe) à 7 (échantillon très hydrophobe) sur des échantillons séchés à l'air. Nous n'avons pas caractérisé l'hydrophobicité des échantillons en fonction de leur humidité. Les résultats sont présentés sur la figure 5.

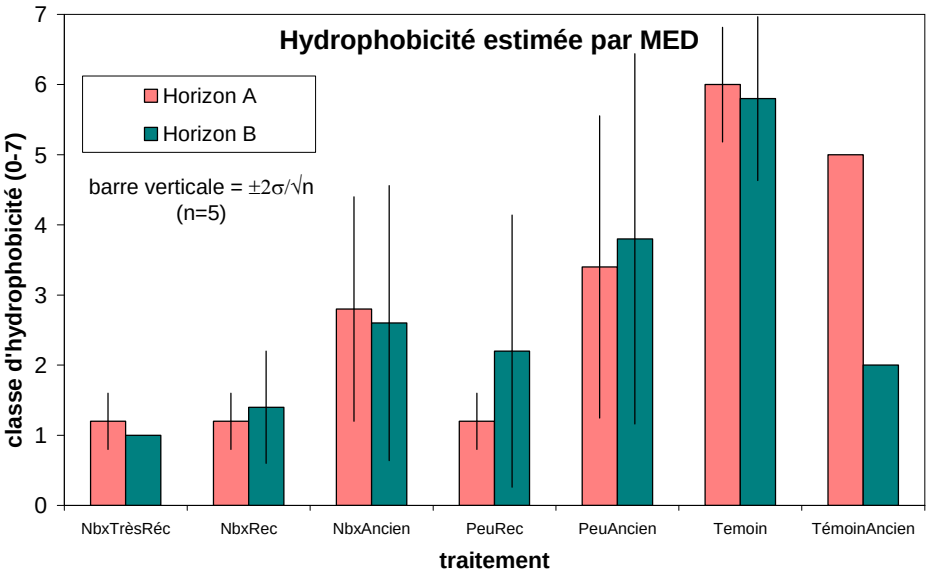



Figure 5 : classes d'hydrophobicité sur les échantillons homogénéisés estimées par la méthode MED.

Globalement, on observe que l'hydrophobicité est d'autant plus élevée que la période depuis le dernier feu est importante : l'hydrophobicité est maximale sur les parcelles «Témoin », et minimale sur les parcelles ayant été brûlées récemment. Dans ce cas, on attribue l'hydrophobicité non pas à la création de molécules hydrophobes lors de l'incendie, mais à la litière en décomposition qui est importante sur les parcelles témoins ou n'ayant pas subi d'incendie depuis une longue période, alors

que la litière est peu présente après un incendie récent. Ceci est confirmé par la relation existante entre la classe d'hydrophobicité et le taux de Corg (cf. figure 6).

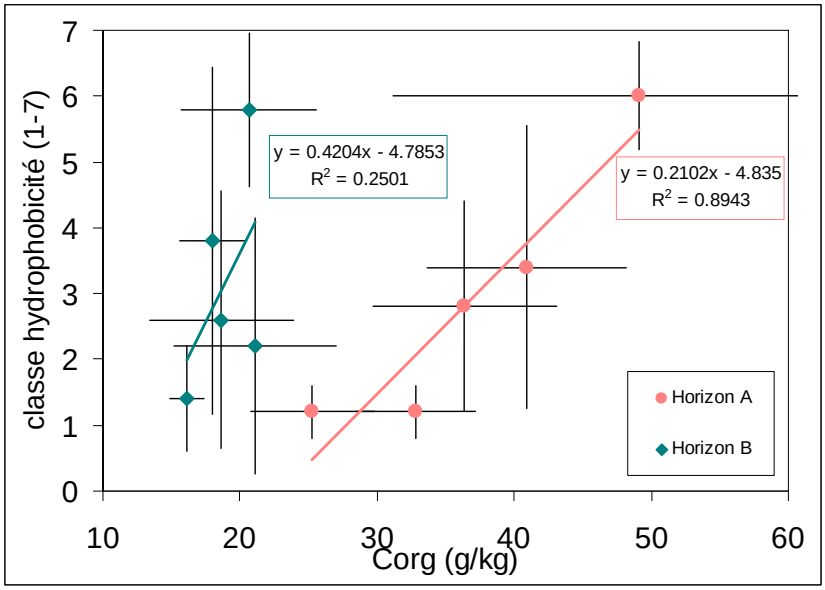



Figure 6 : relation entre la quantité de matière organique estimée par Corg et la classe d'hydrophobicité estimée par la méthode MED sur échantillons tamisés à 2 mm et séchés à l'air.

Quel que soit le traitement, la variabilité intra-traitement est importante, tout particulièrement pour les horizons B ainsi que pour les horizons A des traitements « Nombreux-Anciens » et « Peu-Anciens ». Ces traitements sont les plus hétérogènes en terme de durée séparant la date de prélèvement des échantillons du dernier incendie. La figure 7 montre la relation entre la date du dernier feu et la classe d'hydrophobicité.

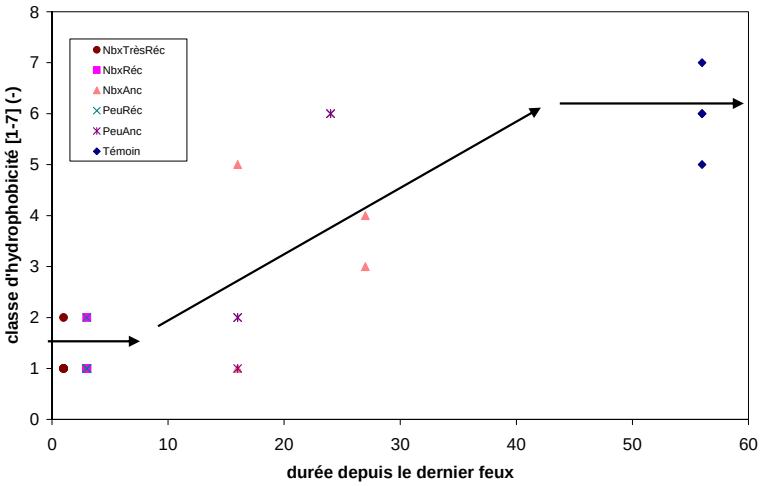



Figure 7 : relation entre la classe d'hydrophobicité et la durée depuis le denier feux sur la parcelle. Les différents symboles correspondent au traitement, la parcelle I33 n'est pas représentée. Les flèches représentent la trajectoire possible d'évolution de l'hydrophobicité.

Immédiatement après un incendie et pendant plusieurs années (de l'ordre de 5 ans), l'hydrophobicité disparaît. Lorsque la période de temps depuis le dernier incendie est importante (de l'ordre de 40 ans), l'hydrophobicité devient maximale. Un modèle logistique a été ajusté aux données ($R^2$ = 0.75, RMSE = 1.0) qui rend compte de la dynamique d''évolution de l'hydrophobicité :

$$y = (1+\varepsilon) + \frac{6-\varepsilon}{1+\exp(-(a+b\cdot t))},$$

où $y$ (-) est la classe d'hydrophobicité, $t$ (an) le temps depuis le dernier incendie, $\varepsilon$=-0.040 (-), $a$=-3.755 (-), $b$=0.159 (an$^{-1}$).

L'hydrophobicité pourrait être un indicateur de la date du dernier incendie, mais elle n'est pas reliée à la fréquence de ces incendies. Cependant, la durée depuis le dernier incendie n'est qu'un des facteurs explicatifs, le type de végétation recolonisant la parcelle après incendie pourrait expliquer la variance résiduelle.

**Caractérisation de la macroporosité** (Queynard, 2007)
Les résultats concernant les mises au point méthodologiques sont décrits dans Queynard (2007). Seuls les résultats concernant l'interprétation des photos sont présentés ici. Ils concernent un prélèvement unique réalisé sur les parcelles suivantes (une parcelle par modalité) : I2, I6, I12, I16, I26.
La figure 7a représente la porosité surfacique (cm$^2$ cm$^{-2}$) en fonction du traitement. On rappelle que seuls les pores de diamètres supérieurs à 100 µm sont identifiés, ce qui correspond à la macroporosité du sol. La parcelle témoin présente une macroporosité (15.6 %) supérieure aux autres parcelles : l'occurrence d'un ou plusieurs incendies a donc un impact direct sur la macroporosité. Au sein de la modalité « Nombreux », les macroporosités mesurées sur les parcelles « Nombreux-Récents » (9.4 %) et « Nombreux-Anciens » (9.8 %) sont similaires, alors que sur la modalité « Peu », la macroporosité augmente entre la parcelle « Peu-Récents » (8.7 %) et la parcelle « Peu-Anciens » (13.8 %).

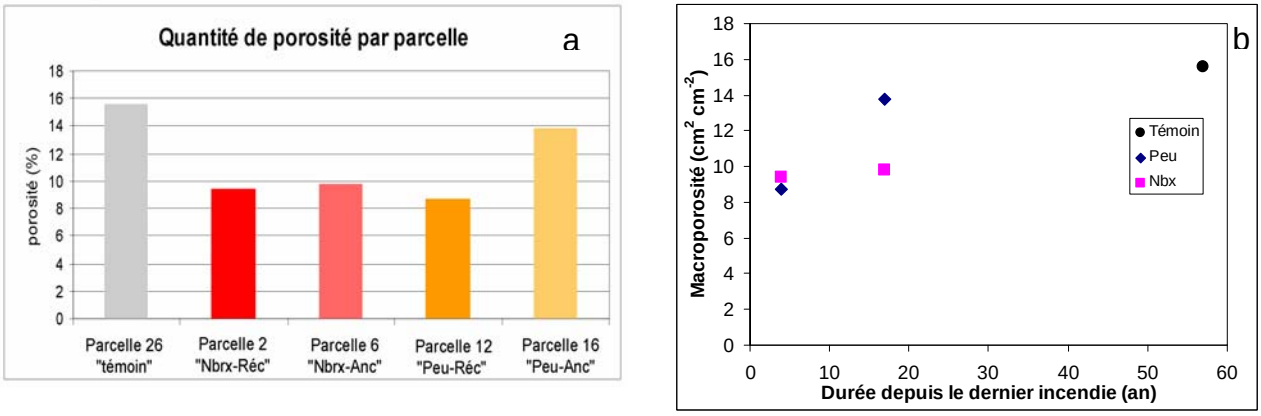



Figure 7 : évolution de la macroporosité en fonction de la modalité (a) et en fonction de la durée depuis le dernier incendie (b).

Lorsque la fréquence des incendies est faible (modalité « Peu »), la macroporosité présente une diminution temporaire et on assiste à une restauration progressive de cette macroporosité. Lorsque la fréquence est importante (modalité « Nombreux »), la diminution de la macroporosité est soit irréversible, soit très lentement réversible (cf. figure 7b).

Les spectres de porosité obtenus sur les différentes parcelles sont présentés figure 8. Les baisses de macroporosité sur les traitements « Nombreux-Récents » et « Nombreux-Anciens » sont dues à une disparition des macropores de petites tailles (section de pore inférieure à 0.01 cm², soit un diamètre inférieur à 100 µm, ce qui correspond à la limite de résolution de la méthode)

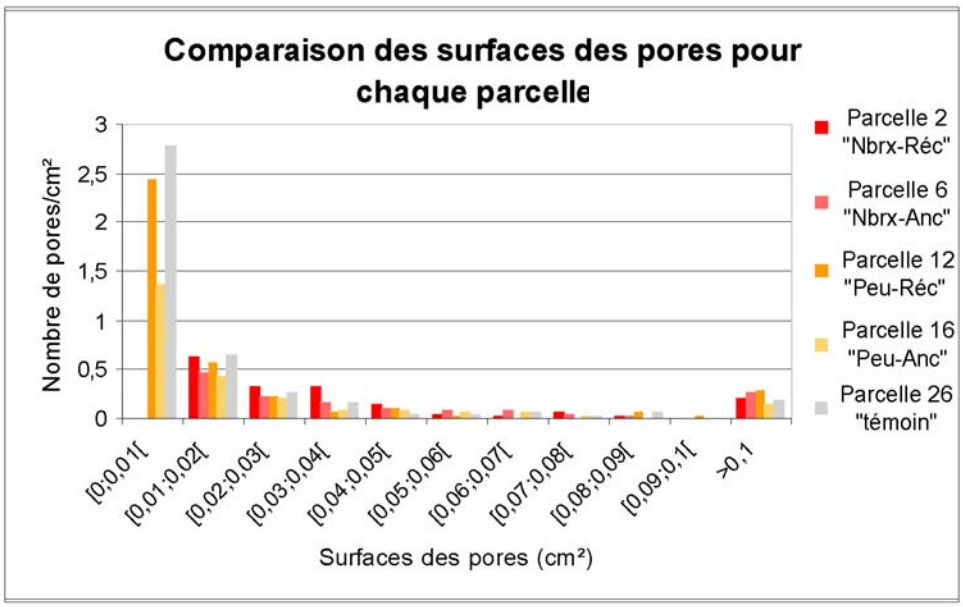



Figure 8 : spectre de macroporosité en fonction des traitements.

Ces résultats partiels montrent que l'estimation de la macroporosité par imprégnation in situ et traitement d'image pourrait être un indicateur de la dégradation du milieu, en terme de volume poral : lorsque la fréquence des incendies est importante, la macroporosité de petite taille disparaît ou se reconstitue très lentement. Cependant ces résultats doivent être confirmés par des prélèvements supplémentaires et par une analyse de sensibilité plus approfondie de la méthode, ce qui n'a pu être fait dans le cadre de ce projet.

**Caractérisation de la stabilité structurale** (résultats préliminaires)
Les résultats sont portés sur la figure 9.

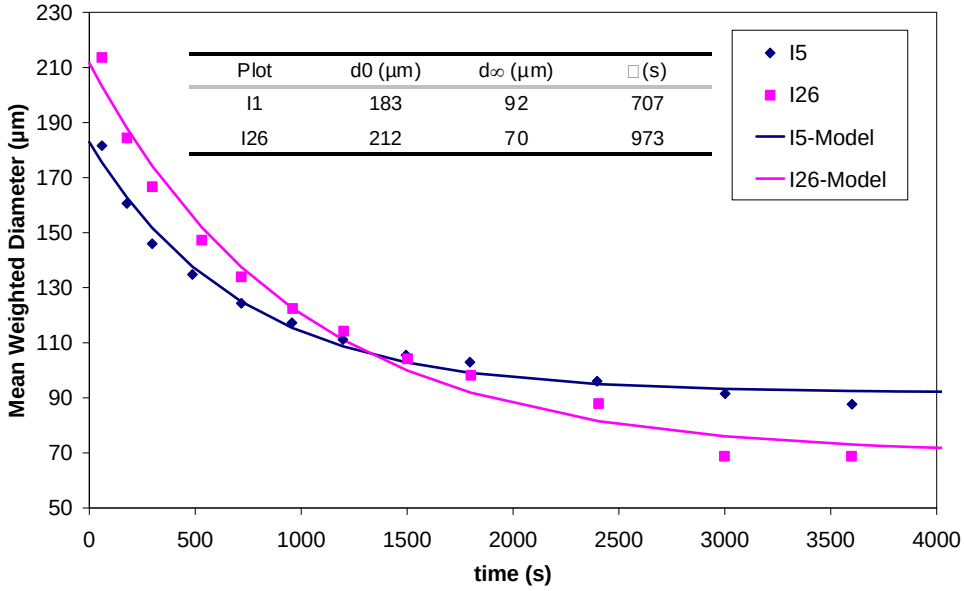



Figure 9 :évolution du diamètre moyen pondéré (MWD : Mean Weighted Diameter) en fonction du temps d'agitation *t* dans le granulomètre laser.

On remarque une évolution contrastée du MWD au cours du temps selon la parcelle : pour la parcelle I5, le MWD initial est plus faible, le MWD asymptotique semble plus élevé et l'évolution est plus lente que pour la parcelle I26. Ceci est confirmé par l'ajustement d'un modèle exponentiel aux données dont l'expression est :

$$\phi = \phi_0 + (\phi_\infty - \phi_0) \cdot \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right),$$

où $\phi$ (µm) est le MWD, $t$ le temps (s), $\phi_0$ (µm) est le MWD initial, $\phi_\infty$ (µm) est le MWD asymptotique et $\tau$ (s) est une constante de temps. Ceci semblerait signifier que le sol de la parcelle I5 est plus stable que celui de la parcelle I26, ce qui est contre-intuitif par rapport aux modalités et à la littérature.
L'acquisition de ces données doit cependant se poursuivre avant de conclure définitivement.

**Conclusion partielle**

Le sol a été caractérisé d'un point de vue physique (hydrophobicité, macroporosité, stabilité structurale, granulométrie), chimique (CEC, pH, Ntotal…), biologique (Corg), et hydrodynamique (courbes de rétention et de conductivité hydraulique). Les principaux résultats sont les suivants :

- Le sol (horizons A et B) est homogène d'un point de vue granulométrique sur l'ensemble des parcelles, avec une texture limono-sableuse à sablo-limoneuse ;
- La quantité de matière organique (Corg) est ordonnée selon les traitements dans l'horizon A et homogène dans l'horizon B, mais la forte variabilité intra-traitement ne permet pas de différencier systématiquement les modalités. Cette variabilité ne peut pas s'expliquer par l'historique des incendies de forêts, et d'autres facteurs explicatifs doivent être recherchés (type de végétation recolonisant la parcelle après incendie par exemple). Le rapport C/N est très stable entre les traitements et à l'intérieur de chaque traitement : il n'est pas un indicateur de dégradation du milieu. La CEC est liée fortement ($R^2$=0.98) et linéairement à Corg, le taux d'argile étant homogène sur toutes les parcelles ;
- La classe d'hydrophobicité estimée par la méthode MED sur la fraction fine séchée à l'air est la plus importante sur les parcelles témoins, et la plus faible sur les parcelles récemment incendiées. Elle est directement corrélée à Corg dans l'horizon A. La variabilité intra-traitement est cependant forte et peu s'expliquer partiellement par la période s'étant écoulée entre le dernier feu et la date de prélèvement. Une évolution temporelle de l'hydrophobicité a pu être notée, mais cette relation est lâche et nécessiterait d'être complétée par des parcelles ayant subi des chroniques d'incendies différentes : l'hydrophobicité **pourrait alors être reliée, en première approximation, à la date du dernier feux**. Cependant, la durée depuis le dernier incendie n'est qu'un des facteurs explicatifs, le type de végétation recolonisant la parcelle après incendie pourrait expliquer la variance résiduelle ;
- La stabilité structurale n'a pas pu être déterminée, seuls des résultats préliminaires sont disponibles qui doivent être complétés avant de conclure définitivement. L'utilisation du granulomètre laser, qui peut être pour partie automatisée et amélioré ainsi la répétabilité, semble cependant intéressante dans un but de comparaison entre modalités ;
- La technique d'imprégnation in situ par une résine epoxy couplée à l'analyse d'image des coupes obtenues, est prometteuse. La macroporosité et son spectre ont pu être obtenus sur une parcelle au sein de chaque modalité. Il semble, mais les résultats devraient être complétés, qu'**elle puisse être utilisée comme un indicateur de dégradation du milieu**, car elle est sensible d'une part à la date du dernier feu et d'autres part à la répétition des incendies. La diminution de macroporosité sous l'effet de l'incendie, réversible rapidement dans le cas d'une faible fréquence mais irréversible ou très lentement réversible dans le cas d'occurrences fréquentes, peut être attribuée à la disparition des pores les plus fins de cette macroporosité (limité entre méso- et macroporosité) ;
- Les courbes de rétention obtenues sur fraction fine en laboratoire sont peu différenciées dans l'horizon B mais elles sont ordonnées selon les modalités dans l'horizon A : pour une succion donnée, la quantité d'eau retenue dans le sol est d'autant plus faible que la fréquence d'incendies est élevée et que la date du dernier incendie est proche. Cependant,

les réserves utiles calculées à partir de ces courbes ne montrent pas de différences significatives entre traitements : les courbes de rétention sont translatées entre elles, les différences concernent une gamme de succion comprise entre 0 (saturation) et 0.1 bar, ce qui correspond au domaine de la macroporosité et de la mésoporosité. Concernant les courbes de conductivité hydraulique, les données sont partielles et en cours de traitement.

**Bibliographie :**


AFNOR, 1999. *Qualité des Sols, volume 2*, Afnor Ed, 199-226.

Baussaron A., 2006. *Caractérisation physique et hydrodynamique d'un sol sous forêt : influence de la répétition et de la fréquence des incendies de forêts sur ces propriétés*. Rapport de stage M1, UAPV-INRA, 25 p + annexes.

Braud I., A. D. De Condappa, J.M. Soria, R. Haverkamp, R. Angulo-Jaramillo, S. Galle et M. Vauclin, 2004. *Use of scaled forms of the infiltration equation for the estimation of unsaturated soil hydraulic properties (the Beerkan method)*, European Journal of Soil Science, 56 (3), 361-374.

DECAGON, 2007. Mini Disk infiltrometer, user's manual. DECAGON Ed, 22 p.

Doerr, S.H., 1998. *On standardizing the 'water drop penetration time' and the 'molarity of an ethanol droplet' techniques to classify soil hydrophobicity: A case study using medium textured* soils. Earth Surface Processes and Landforms, 23 (7), 663-668.

Doerr S.H. et R.A. Shakesby, 1998. *Spatial variability of soil hydrophobicity in fire-prone eucalyptus and pine forests*. Soil Science, 163 (4), 313-324.

Lassabatere L., R. Angulo-Jaramillo, J.M.S. Ugalde, R. Cuenca, I. Braud, R. Haverkamp. 2006. *Beerkan estimation of soil transfer parameters through infiltration experiments – BEST*. Soil Science Society of America Journal, 70(2), 521-532.

Le Bissonnais Y., 1996. *Aggregate stability and assessment of soil crustability and erodibility: I. Theory and methodology*. European Journal of Soil Science, 47, 225-237.

McBratney A.B, Moran C.J, Stewart J.B, Cattle S.R, Koppi A.J, 1991. *Modifications to a method of rapid assessment of soil macropore structure by image analysis*. Geoderma, 53, 255-274.

Marcelino V, Cnudde V, Vansteelandt S, Caro F, 2007. *An evaluation of 2D-image analysis techniques for measuring soil microporosity*. European Journal of Soil Science, 58, 133-140.

Mooney S.J, Holden N.M, Collins J.F, Ward S.M, 1997. *A suitability evaluation of selected impregnants for in situ preparation of structural images of milled peat*. Geoderma, 81, 241-249.

Mooney S.J, Holden N.M, Ward S.M, Collins J.F, 1998. *The rapid preparation of structural images from undisturbed, non-cohesive material (milled peat)*. Geoderma, 86, 159-168.

Moran C.J, McBratney A.B, Koppi A.J, 1989. *A rapid analysis method for soil pore structure: I. Specimen preparation and digital binary image production*. Soil.Sci. Soc. Am. J., 53, 921-928.

Pierret A, Capowiez Y, Moran C.J, Kretzchmar A, 1998. *X-ray computed tomography to quantify tree rooting spatial distributions*. Geoderma, 90, 307-326

Queynard L., 2007. *Mise au point d'une méthode d'imprégnation « in situ » de sols forestiers après incendie de forêt par de la résine époxy. Caractérisation de l'impact du feu sur la macroporosité*. Rapport de stage M1, UAPV-INRA, 69p.

Tamari S., L. Bruckler, J. Halbertsma et J. Chadoeuf, 1993. *A simple method for determining soil hydraulic properties in the laboratory*. Soil Science Society of America Journal, 57 (3), 642-651.

Vandervaere J.P. *et al.*,1997. *Estimating hydraulic conductivity of crusted soils using disc infiltromètres and minitensiometers*, Journal of Hydrology, 188-189, 203-223.

Van Genuchten M. Th., 1980. *A closed-form equation for predicting hydraulic conductivity of unsaturated soils*. Soil Science Society of America Journal, 44, 892-898.

## Annexe 5.8 : Constitution du site Internet du projet IRISE

Groupement d'Intérêt Public Médias-France

**Liste des personnes impliquées :**

- Michel Hoepffner, Directeur de Recherche de l'IRD, Directeur adjoint de Médias-France
- Jean-Luc Boichard, Ingénieur Divisionnaire de Météo-France, Chef de l'Equipe Informatique de Médias-France
- Ingénieurs et techniciens en CDD

Etat d'avancement des travaux : site Internet réalisé, disponible à : http://irise.mediasfrance.org, en attente de fourniture des données et métadonnées du projet qui sont en cours de formalisation, suite aux relevés et analyses réalisées en 2008 et qui ne sont pas toutes disponibles.

Nombre de jours consacrés au travail par Médias-France jusqu'en fin Juillet 2008 :

- Chercheur : 5 jours
- Ingénieur : 40 jours

Le site est constitué de 2 parties :

- une partie publique ouverte à tous, en anglais, pour les informations principales. Une version française est en cours de préparation par le coordinateur et sera ajoutée en 2008
- une partie intranet réservée aux membres du projet avec accès par mot clef, en français dans un premier temps,

avec, pour la partie publique :

- Descriptif du projet en français et en anglais.
- Liste des partenaires
- Liste et coordonnées des personnes impliquées dans le projet
- Information sur l'état d'avancement du projet (phases de terrain, remise de rapports)
- Base de méta-données (descriptif de l'ensemble des données qui sont récoltées)
- Liste des publications et rapports se rapportant au projet
- Liste des post-docs, thèses, stages (en cours, réalisés, proposés) sur le projet

Et pour la partie réservée

- Calendrier officiel des évènements (rencontres, séminaires, terrain, travaux, démarrage de thèses, dates à réserver,...).
- Calendrier mobile pour recherche de dates communes à un évènement particulier.
- Historique permanent et mis à jour en continu des messages de coordination et informations importantes
- Forum
- Budget (prévisions et suivi)
- Bases de données géo-référencées et cartes correspondantes.
- Formulaires de dépôt de données et métadonnées
- Formulaires d'accès aux données et Metadonnées

Ce site est maintenu sur deux serveurs de Medias France et accessible via le réseau Renater